

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

KATEDRA FARMACEUTICKÉ CHEMIE A KONTROLY LÉČIV



DIZERTAČNÍ PRÁCE

DERIVÁTY THIAZOLU JAKO POTENCIÁLNÍ LÉČIVA

Školitel: Doc. RNDr. Veronika Opletalová, Ph.D.

Doktorský studijní program: Farmaceutická chemie

**Hradec Králové
2013**

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracoval samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpal, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu..

.....
Jan Doležel

PODĚKOVÁNÍ

Rád bych poděkoval všem, kteří mi pomáhali během celého studia, a tak přispěli i k vypracování této práce. Kolegům z laboratoře PharmDr. Zbyňkovi Musilovi, Ph.D., Mgr. Pavlu Petrikovi, PharmDr. Kamilovi Kopeckému Ph.D., a Doc. PharmDr. Petru Zimčickovi, Ph.D., za cenné připomínky, podněty a příjemné chvíle strávené nejen odbornými diskuzemi.

Poděkování dále patří rovněž Doc. RNDr. Vladimíru Buchtovi, CSc., Mgr. Marcelu Vejsově, Ph.D. a paní Idě Dufkové za stanovení antibakteriální a antifungální aktivity, všem zainteresovaným členům projektu TAACF za stanovení antimykobakteriální aktivity.

Upřímný dík Doc. PharmDr. Jiřímu Kunešovi, CSc. patří za změření a interpretaci NMR spekter, také však Doc. PharmDr. Josefu Jampílkovi, Ph.D. za experimentální stanovení lipofility, UV spekter a za pomoc při finalizaci publikací a finanční podporu. Dále bych rád poděkoval paní Věnceslavě Hronové za měření elementárních analýz a paní Ivě Vencovské za měření IČ spekter.

Rád bych také chtěl poděkovat RNDr. Kataríně Kráľové, Ph.D. za experimentální hodnocení připravených látek na fotosyntetické procesy, Ing. Pavlovi Skálovi, Ph.D. za pomoc při dokončení této práce a manželce PharmDr. Evě Doleželové, Ph.D. za trpělivost a především podporu během postgraduálního studia.

Můj největší dík však patří Doc. RNDr. Veronice Opletalové, Ph.D., která mě odborným a přátelským způsobem vedla během celého studia a jejíž nejen odborné rady a připomínky mi byly a budou cenným přínosem i v životě.

Tato dizertační práce vznikla za podpory specifického vysokoškolského výzkumu SVV 267 001 a byla finančně podpořena výzkumným záměrem MŠMT 0021620822 a grantem FRVŠ 661/2007.

na aromatickém jádře byla zjištěna téměř 90% redukce chlorofylu. Vliv ostatních hodnocených sloučenin na fotosyntetické procesy nebyl významný.

very low by all prepared compounds. 90% reduction of chlorophyll content in alga *Chlorella vulgaris* was found in the group of nitrobenzylidenerhodnines. The influence of other compounds on photosynthetic processes was not significant.

OBSAH

PODĚKOVÁNÍ	3
ABSTRAKT	4
ABSTRACT	6
OBSAH	8
2. ÚVOD	12
3. CÍLE PRÁCE	13
4. TEORETICKÁ ČÁST	16
4.1. ZÁKLADNÍ TAXONOMIE HUB	16
4.2. ONEMOCNĚNÍ VYVOLÁVANÁ VYBRANÝMI PATOGENNÍMI FUNGÁLNÍMI KMENY	17
4.2.1. Infekční choroby vyvolané <i>Candida</i> spp.	17
4.2.2. Infekční choroby vyvolané <i>Trichosporon asahii</i>	20
4.2.3. Infekční choroby vyvolané <i>Aspergillus fumigatus</i>	21
4.2.4. Infekční choroby vyvolané <i>Lichtheimia corymbifera</i>	22
4.2.5. Infekční choroby vyvolané <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	23
4.3. ZÁKLADNÍ TAXONOMIE BAKTERÍ	24
4.4. ONEMOCNĚNÍ VYVOLÁVANÁ VYBRANÝMI PATOGENNÍMI BAKTERIÁLNÍMI KMENY	25
4.4.1. Infekční choroby vyvolané <i>Staphylococcus aureus</i>	25
4.4.2. Infekční choroby vyvolané <i>Staphylococcus epidermidis</i>	28
4.4.3. Infekční choroby vyvolané <i>Enterococcus</i> spp.	29
4.4.4. Infekční choroby vyvolané <i>Escherichia coli</i>	31
4.4.5. Infekční choroby vyvolané <i>Klebsiella pneumoniae</i>	32
4.4.6. Infekční choroby vyvolané <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	34
4.4.7. Infekční choroby vyvolané <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	36
4.5. BIOLOGICKÉ VLASTNOSTI DERIVÁTŮ THIAZOLU	39
4.5.1. Antifungální vlastnosti derivátů thiazolu	39
4.5.2. Antibakteriální vlastnosti derivátů thiazolu	41
4.5.3. Antimykobakteriální vlastnosti derivátů thiazolu	46
4.5.4. Antivirotické vlastnosti derivátů thiazolu	48
4.5.5. Antidiabetické vlastnosti derivátů thiazolu	51
4.5.6. Protizánětlivé vlastnosti derivátů thiazolu	52
4.5.7. Vliv derivátů thiazolu na fotosyntézu (včetně herbicidní aktivity)	54
5. METODICKÁ ČÁST	57
5.1. METODY PŘÍPRAVY 5-SUBSTITUOVANÉHO PYRAZINKARBONITRILU	57
5.2. METODY PŘÍPRAVY 5-SUBSTITUOVANÉHO ACETYLPYRAZINU	58
5.3. METODY PŘÍPRAVY PYRAZINKARBALDEHYDU	60
5.4. METODY PŘÍPRAVY 5-ARYLALKYLIDENRHODANINŮ	61
5.5. METODY PŘÍPRAVY THIOSEMIKARBAZONŮ	63
5.6. METODY CYKLIZACE THIOSEMIKARBAZONŮ	64
6. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	65
6.1. CHEMIKÁLIE A REAGENCIE	65
6.2. POSTUPY PŘÍPRAVY MEZIPRODUKTŮ A FINÁLNÍCH PRODUKTŮ	66
6.2.1. Příprava pyrazinkarbaldehydu	66
6.2.2. Příprava 5-substituovaných pyrazinkarbonitrilů	67
6.2.3. Příprava 5-(substituovaných) 2-acetylpyrazinů	67
6.2.4. Příprava 3-(2-hydroxyethyl)rhodaninu	68
6.2.5. Postup přípravy derivátů 5-(1-arylalkylidene)rhodaninu	68
6.2.6. Příprava 5-(1-arylalkyliden)rhodaninoctové kyseliny	69
6.2.7. Příprava thiosemikarbazonů	69
6.2.8. Cyklizace thiosemikarbazonů	69
6.3. INSTRUMENTÁLNÍ METODY	70
6.4. CHARAKTERISTIKY PŘIPRAVENÝCH SLOUČENIN	71
6.5. STANOVENÍ LIPOFILITY PŘIPRAVENÝCH SLOUČENIN	99

7. BIOLOGICKÉ HODNOCENÍ	103
7.1. HODNOCENÍ ANTIFUNGÁLNÍ AKTIVITY	103
7.1.1. <i>Hodnocení závislosti antifungální aktivity a lipofility testovaných sloučenin</i>	111
7.2. HODNOCENÍ ANTIBAKTERIÁLNÍ AKTIVITY	116
7.2.1. <i>Hodnocení závislosti antibakteriální aktivity a lipofility připravených sloučenin</i>	124
7.3. HODNOCENÍ ANTIMYKOBAKTERIÁLNÍ AKTIVITY	125
7.4. HODNOCENÍ HERBICIDNÍ AKTIVITY	130
7.4.1. <i>Hodnocení vlivu na obsah chlorofylu v řasách <i>Chlorella vulgaris</i></i>	130
7.4.2. <i>Hodnocení vlivu na fotosyntetickou aktivitu chloroplastů</i>	130
8. DISKUSE	134
9. ZÁVĚR	144

1. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AF	<i>Aspergillus fumigatus</i>
AFTOL	Assembling the Fungal Tree of Life
AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome
AmB	Amfotericin B
ARO	Anesteziologicko-resuscitační oddělení
ATB	Antibiotika
BAC	Bacitracin-zinečnatý komplex
CA	<i>Candida albicans</i>
CA-MRSA	Community-Acquired methicilin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
CAPD	Kontinuální ambulantní peritoneální dialýza
CG	<i>Candida glabrata</i>
CIPR	Ciprofloxacin-hydrochlorid
CK	<i>Candida krusei</i>
CNS	Centrální nervový systém
COX	Cyklooxygenasa
CT	<i>Candida tropicalis</i>
DCMU	3-(3,4-Dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea
DCPIP	2,6-dichlorfenol-indofenol
DIBAL-H	Diisobutylaluminium hydrid
DM	Diabetes mellitus
DMSO	Dimethylsulfoxid
EARSS	European Antimicrobial Resistance Surveillance System
EC	<i>Escherichia coli</i>
EF	<i>Enterococcus sp.</i>
EHEC	Enterohemoragická <i>Escherichia coli</i>
EIEC	Enteroinvazivní <i>Escherichia coli</i>
EMRSA	Endemický methicilin-rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
EPEC	Enteropatogenní <i>Escherichia coli</i>
ESAT	Early Secreted Antigen
ESBL	Extended-Spectrum β -Lactamases
ETEC	Enterotoxigenní <i>Escherichia coli</i>
GIT	Gastrointestinální trakt
HA-MRSA	Health care-Acquired methicilin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
HCV	Hepatitis C virus
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HPLC	High-performance liquid chromatography
HSCT	Hematopoetic Stem Cell Transplantation
CHOPN	Chronická obstrukční plicní nemoc
IČ	Infračervená spektrofotometrie
JIP	Jednotka intenzivní péče
KP	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

KP-E	<i>Klebsiella pneumoniae</i> – ESBL positive
LC	<i>Lichtheimia corymbifera</i>
LL-DAP-AT	Diaminopimelát aminotransferasy
LOX	Lipooxygenasa
MDR TB	Multi Drug-Resistant Tuberculosis
MIC	Minimální inhibiční koncentrace
MRSA	Methicilin-rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
MRSE	Meticillin-rezistentní <i>Staphylococcus epidermidis</i>
NEOM	Neomycin-sulfát
NMR	Nukleární magnetická rezonance
NNRTIs	NonNucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors
NSAIDs	Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug
OER	Oxygen Evolution Rate
PA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PBPs	Penicillin-Binding Proteins
PDE	Fosfodiesterasa
PEN	Penicillin G-draselná sůl
PHEN	Fenoxymethylpenicilin-draselná sůl
PMT	Protein mannosyltransferasa
PS II	Fotosystém II
QRSA	Chinolon-rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
SAR	Structure activity relationship
SDA	Sabouraudův dextrosový agar
SE	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
SSSS	Staphylococcal Scalded Skin Syndrome
TA	<i>Trichosporon asahii</i>
TAACF	Tuberculosis Antimicrobial Acquisition and Coordinating Facility
TB	Tuberkulóza
THF	Tetrahydrofuran
TLC	Thin layer chromatography
TM	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>
TNF-alfa	Tumor nekrotizující faktor alfa
TSS	Toxic Shock Syndrome
TSST	Toxic Shock Syndrome Toxin
UV	Ultračervená spektrofotometre
USA	Spojené státy americké
VISA	Vankomycin-intermediárně rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
VRE	Vankomycin-rezistentní <i>Enterococcus spp.</i>
VRSA	Vankomycin-rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
WHO	World Health Organisation
XDR TB	Extensively Drug-Resistant Tuberculosis

2. ÚVOD

Živé mikroorganismy jako jsou bakterie, viry, plísně nebo parazité svou přítomností v různých ekosystémech ovlivňují své okolí buď pozitivně, neutrálně nebo negativně. Například v tenkém a tlustém střevě člověka sídlí přibližně 100 bilionů symbiotických bakterií na povrchu menším než 100 m². Pokud však mají mikroorganismy příznivé podmínky k růstu, množí se bez ohledu na jakoukoliv rovnováhu. Porušením rovnováhy mezi jimi a člověkem se pro něj stávají patogenní. Kontrola nad choroboplodnou invazí však není jednoduchá a dosavadní chemoterapie či profylaxie ji nedokážeme uspokojivě udržet. Přizpůsobivost umožňuje přežít, a proto je soustavný výzkum a vývoj v oblasti nových antimikrobních látek pro člověka obligatorní. Současným problémem je přizpůsobivost patogenů proti stávajícím obranným prostředkům. Nejen, že je to nová výzva k vědecké činnosti, vzrůstající rezistence mikrobů má sociální, ekologický a ekonomický dopad na celou společnost.

Deriváty thiazolu již v minulosti prokázaly v několika terapeutických oblastech a experimentálních testech, že jsou vhodnou skupinou k dalšímu výzkumu potenciálních léčiv. Výsledky antimikrobních vlastností ukazují, že představují jednu z mnoha cest, kudy se výzkum nových chemických entit může ubírat.

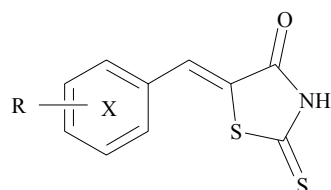
3. CÍLE PRÁCE


Jedním z cílů bylo připravit kondezační produkty rhodaninu s aromatickými a heteroaromatickými aldehydy (**1**) a podrobit je hodnocení na antimikrobní a herbicidní aktivitu. Vedle toho byla věnována pozornost přípravě derivátů 5-(1-arylethyliden)rhodaninu (**2**). Kromě acetofenonu vycházela syntéza těchto sloučenin z nesubstituovaného a 5-substituovaných 2-acetylpyrazinů. Látky odvozené od ketonů však nejevily výraznější antifungální, ani antimykobakteriální aktivitu. Rovněž vliv na fotosyntetické procesy byl zanedbatelný. Největší překážkou však byla obtížná rozpustnost připravených látek a tím spojené problémy s testováním. Látky během kultivace často precipitovaly a tím byla snížena schopnost evaluovat jejich biologickou aktivitu¹. Dalším cílem této práce, která navazovala na předchozí činnost, bylo připravit rozpustnější deriváty. Postupně byly připraveny další série *N*-substituovaných analog některých výše zmíněných strukturních skupin zavedením hydrofilní funkční skupiny do rhodaninového skeletu (**3**, **4**).

Snahou bylo též připravit nejen deriváty rhodaninu, ale i jiné thiazolové deriváty. Dalším cílem bylo tedy připravit strukturně podobné látky s jiným spojovacím řetězcem mezi (hetero)aromatickým a thiazolidinovým kruhem. Takto byly získány látky s alkylidenhydrazonovým můstkem 5-(1-hetarylmethyliden)hydrazonothiazolidin-4-ony a 5-(1-hetarylethyliden)hydrazonothiazolidin-4-ony (**5**).

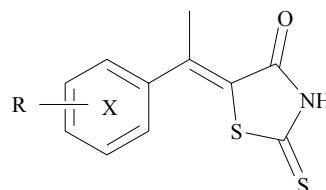
Hlavním cílem práce bylo u všech připravených látek zhodnotit vztah mezi chemickou strukturou a vlivem na *in vitro* růst vybraných patogenních hub a bakterií. Některé molekuly pak byly dále testovány v TAACF (Tuberculosis Antimicrobial Acquisition and Coordinating Facility) jako potenciální antituberkulotika a ve spolupráci s Chemickým Ústavem Přírodovědecké fakulty Univerzity Komenského v Bratislavě na herbicidní aktivitu. Struktury připravených látek jsou znázorněny v následujících tabulkách 1 – 5.

Tabulka 1.



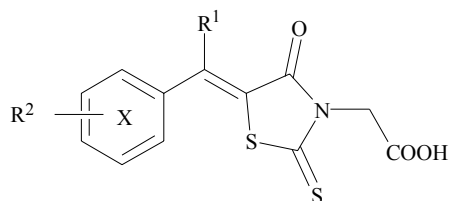
Kód látky	X	R
1a	C	H
1b	C	2-OH
1c	C	3-OH
1d	C	4-OH
1e	C	2,4-OH
1f	C	3-OCH ₃ -4-OH
1g	C	2-OCH ₃
1h	C	3-OCH ₃
1ch	C	4-OCH ₃
1i	C	2-F
1j	C	3-F
1k	C	4-F
1l	C	2-Cl
1m	C	3-Cl
1n	C	4-Cl
1o	C	2-Br
1p	C	3-Br
1q	C	4-Br
1r	C	2-NO ₂
1s	C	3-NO ₂
1t	C	4-NO ₂
1u	C	4-N(CH ₃) ₂
1v		H
1w	2-N	H
1x	3-N	H
1y	4-N	H
1z	2,4-N	H

Tabulka 2.



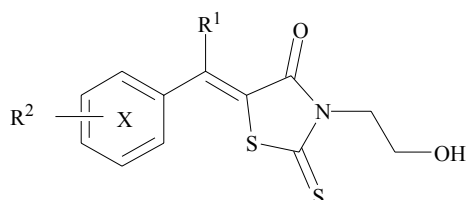
Kód látky	X	R
2a	C	H
2b	2,4-N	H
2c	2,4-N	propyl
2d	2,4-N	isopropyl
2e	2,4-N	butyl
2f	2,4-N	isobutyl
2g	2,4-N	<i>t</i> -butyl

Tabulka 3.



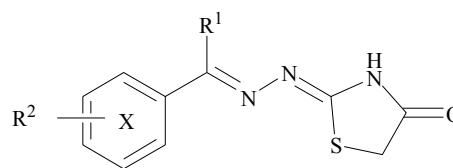
Kód látky	X	R1	R2
3a	C	H	H
3b	2-N	H	H
3c	3-N	H	H
3d	4-N	H	H
3e	2,4-N	H	H
3f	2,4-N	CH3	H
3g	2,4-N	CH3	butyl
3h	2,4-N	CH3	<i>t</i> -butyl
3ch	2,4-N	CH3	

Tabulka 4.



Kód látky	X	R1	R2
4a	C	H	2-NO ₂
4b	C	H	3-NO ₂
4c	C	H	4-NO ₂
4d	2-N	H	H
4e	2,4-N	CH ₃	propyl
4f	2,4-N	CH ₃	isopropyl
4g	2,4-N	CH ₃	butyl
4h	2,4-N	CH ₃	isobutyl
4ch	2,4-N	CH ₃	<i>Terc.</i> -butyl
4i	2,4-N	CH ₃	pentyl
4j	2,4-N	CH ₃	hexyl

Tabulka 5.



Kód látky	X	R1	R2
5a	2-N	H	H
5b	3-N	H	H
5c	2-N	CH ₃	H
5d	3-N	CH ₃	H
5e	2,4-N	H	H
5f	2,4-N	CH ₃	propyl
5g	2,4-N	CH ₃	isopropyl
5h	2,4-N	CH ₃	butyl
5ch	2,4-N	CH ₃	isobutyl
5i	2,4-N	CH ₃	pentyl
5j	2,4-N	CH ₃	hexyl
5k	2,4-N	CH ₃	
5l	2,4-N	CH ₃	

4. TEORETICKÁ ČÁST

4.1. Základní taxonomie hub

Houby (*Fungi*, dříve také *Mycophyta*) tvoří samostatnou říši živých eukaryotních heterotrofních organismů, která se dříve řadila k rostlinám. Taxonomicky spadá do soustavy *Vitae* (živé organismy), domény *Eucaryota* (jaderní) a nadříše *Unikonta*.

Zástupce této velké skupiny organismů lze nalézt po celé Zemi. Je známo kolem 1 500 000 druhů, mezi které patří významní saprofyti, paraziti, symbionti a průmyslově využívané druhy. Mají znaky živočichů i rostlin, žijí ve vodě (většinou sladké), půdě, na nebo v tělech organismů, či jiném organickém materiálu (potraviny, kůže, dřevo, papír, textilie a dalších)².

Dříve taxonomie hub rozlišovala mezi nižšími a vyššími houbami, moderní klasifikace využívá nejen morfologicko-anatomických, ale především fylogenetických souvislostí na základě molekulárních analýz. Vývoj v oblasti taxonomie je dynamický proces, poslední komplexní systematika byla zpracována v r. 2007 v rámci projektu AFTOL (Assembling the Fungal Tree of Life)³. Na ni později navázaly další fylogenetické studie vybraných taxonů^{4,5}.

Dnešní zjednodušená klasifikace zahrnuje následujících 8 oddělení⁶.

- *Chytridiomycota*
- *Zygomycota*
- *Ascomycota*
- *Basidiomycota*
- *Deuteromycota*
- *Blastocladiomycota*
- *Glomeromycota*
- *Neocallimastigomycota*

4.2. Onemocnění vyvolávaná vybranými patogenními fungálními kmeny

4.2.1. Infekční choroby vyvolané *Candida spp.*

Oddělení	Třída	Podtřída	Řád	Čeleď	Rod	Druh
<i>Ascomycota</i>		└ <i>Saccharomycetes</i> ,				
		└ <i>Saccharomycetidae</i>				
			└ <i>Saccharomycetales</i>			
				└ <i>Incertae sedis</i>		
					└ <i>Candida</i>	<i>albicans</i> ⁷
						<i>krusei</i> ⁷
						<i>tropicalis</i> ⁷
						<i>glabrata</i> ⁷

Kandidy se označují jako nepravé houby, morfologicky a růstem připomínající kvasinky. Rostou spíše v prostředí chudém na sacharidy a bohatém na bílkoviny, kde tvoří spory, nebo vláknité struktury (pseudohyfy, hyfy). Nejčastějším původcem kandidóz je *Candida albicans*. Infekce způsobuje i *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* a *Candida quillermondii*. Kmeny rodu *Candida* přirozeně kolonizují sliznici dutiny ústní a tlustého střeva. Jsou považovány za fakultativní patogeny. Vysokou adhezenci ke slizničním receptorům má zejména *Candida albicans*. Může vyvolat lokální infekční až invazivní onemocnění, pokud proliferované hyfy překonají anatomické bariéry a prorostou do tkání a vyvinou zánětlivou reakci s následnou destrukcí. Příčinou bývá snížená buněčná imunita a další specifické stavy jako je diabetes, neutropenie, nádorová onemocnění, cytostatická protinádorová terapie a léčba širokospektrými antibiotiky. Orgánové postižení se rozvíjí u pacientů s onemocněním vyžadujícím hospitalizaci a po rozsáhlejších chirurgických a transplantačních výkonech⁸. Z klinického hlediska můžeme dělit kandidové afekce na méně závažné povrchové (superficiální) a závažné invazivní formy.

Superficiální kandidózy

Infekce sliznice ústní mají různý klinický obraz a různorodou závažnost s akutním i chronickým průběhem. Původcem orálních forem je nejčastěji *C. albicans*, méně často jiné, méně patogenní druhy označované jako "non-albicans" druhy (*C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis* a další). Rezervoárem je v tomto případě zubní mikrobiální povlak. Klinicky se orální infekce projevuje tvorbou typického bílého povlaku na sliznici s tvorbou bělavých

pseudomembrán (tzv. *soor*), nebo netypicky pouze vytvořením erytému na sliznici. Mezi nejčastější klinické formy orální kandidózy patří:

- Akutní pseudomembranózní forma vzniká náhle u imunosuprimovaných jedinců při onkologických a hematologických malignitách, imunodeficientních pacientů s HIV (Human Immunodeficiency Virus), diabetes mellitus nebo při dlouhodobé kortikosteroidní léčbě. Má tendenci k spontánní regresi a zhojení. Není zde ale vyloučena další diseminace s intenzivnějšími lokálními a někdy i celkovými projevy vyžadující antimykotickou terapii⁹.
- Chronická pseudomembranózní kandidóza (též kandidóza orofaryngeální) představuje nejzávažnější orální formou kandidózy. Má na rozdíl od akutní formy chroničtější charakter, rozvíjí se pozvolna týdny až měsíce. Charakteristická je tvorba rozsáhlých bělavých pseudomembrán kdekoli na zarudlé ústní sliznici i orofaryngu. Postižení jedinci ji vnímají subjektivně jako mírnou infekci neúměrné závažnosti postižení. Typická je xerostomie s lokální bolestivostí. Postižení mohou být kuřáci, těžce imunoalterovaní jedinci, pacienti prodávající cytotoxickou a imunosupresivní terapii nebo s destruovaným parodontem s chronickými zánětlivými ulceracemi. V tomto stádiu je vysoké riziko další diseminace v organismu, ke spontánnímu zhojení nedochází. Léčba zahrnuje primárně úpravy ústní hygieny, ošetření chrupu, eliminaci kouření a podávání antiseptik s antimykotickými účinky, případně systémová triazolová antimykotika⁹.
- Erytematózní kandidóza je méně častá a klinicky méně závažná akutní forma bezpovlakové orální kandidózy. Afekce nemá typický kvasinkovitý vzhled. Vyskytuje se zejména při léčbě širokospektrými antibiotiky ve formě akutní glositidy se zarudlou, na dotek citlivou až bolestivou sliznicí. V terapii se uplatní lokální antiseptika, přechodně antimykotika. Chronická nebo také atrofická forma postihuje jedince se snímatelnými zubními protézami v oblasti kontaktu náhrady se sliznicí a to hlavně při nedostatečné hygieně snímatelných protéz⁹.
- *Lingua villosa nigra* je méně obvyklou formou lokalizovanou na hřbetu jazyka. Příčiny vzniku nejsou zcela jasné, uvažuje se o kombinaci kvasinkové orální infekce s vedlejšími účinky antiseptik, zubních past, kosmetiky, kouření a antibiotik. Může také provázet pseudomembranózní formy. Terapie předpokládá odstranění příčiny

infekce, opakované odstraňování povlaku ze hřbetu jazyka a užití lokálních antimykotik⁹.

Vaginální formy jsou lokalizovány na pohlavních orgánech, jsou velmi nepříjemné, ale bohužel velmi časté především u žen. Onemocnění vzniká porušením rovnováhy mikroorganismů poševní sliznice, kdy se kandidy stávají patogeny. Typické je svědění, tvarohovité výtoky, opakované záněty pochvy či dělohy jako následek kandidózy. U mužů se příznaky kandidózy (začervenalý penis, pálení předkožky, bolesti varlat) objevují později, často jsou jejich pohlavní orgány projevů kandidózy ušetřeny.

Kožní formy vznikají zvláště na vlhkých a teplých částech těla s nedostatečným přívodem vzduchu jako podpaží, mezíprstí u nohou, v tříselech nebo pod prsy. Jedná se o klinicky méně závažné formy mykóz, jsou však nepříjemné svým typickým zápachem, zarudnutím a svěděním. Léčba je prováděna pomocí lokálních antimykotik.

Invazivní kandidózy (kandidémie)

Invazivní kandidóza patří mezi nejčastější oportunní mykotické infekce a negativně ovlivňuje morbiditu a mortalitu u hematoonkologických pacientů, imunosuprimovaných a pacientů v resuscitačním zajištění na jednotkách intenzivní péče. Incidence v 80. letech 20. století dosahovala až 8 %, od 90 .let poklesla masivním zavedením flukonazolu do profylaxe. V současné době se v Evropě pohybuje mezi 2,2 – 4,3 na 100 000 obyvatel. Mezi hlavní patogenní kmeny invazivní infekce patří *C. albicans*, *C. glabrata* a *C. tropicalis*, dominantní postavení (50 %) v zastoupení kmene *Candida spp.* má v České republice *Candida albicans*¹⁰.

Systémovou invazivní infekcí jsou nejvíce ohroženi pacienti po allogenní transplantaci kostní dřeně, s akutní leukémií, po prodělaném chirurgickém zákroku v břišní dutině (např. s nekrotizující pankreatitidou), s těžkou neutropenií nebo pacienti s AIDS (Acquired Immunodeficiency Syndrome). Klinická manifestace infekce je nespecifickou formou sepse, kultivace z hemokultury mohou být pozitivní pouze v pozdějším průběhu onemocnění. Sérologické testování nebo molekulární metody dosud nejsou v klinické praxi běžně používány. Nebezpečnost mykotické infekce tedy spočívá především v obtížném určení diagnózy. V počátku onemocnění lze jen velmi obtížně odlišit kolonizaci od bakteriální infekce. Nejčastěji se vyskytující primární infekce bakteriální etiologie prodlouženým podáváním širokospektrých antibiotik se postupně mění na fungální

kolonizaci. U oslabeného pacienta tato kolonizace následně propuká v invazivní mykotickou infekci s nezřídka smíšeným kultivačním nálezem¹¹.

Farmakologická léčba zahrnuje profylaktické podání flukonazolu, u rizikových pacientů je možno v první linii podat echinokandiny nebo amfotericin B (AmB). Po identifikaci konkrétního druhu hematogenní infekce se v závislosti na citlivosti kmene doporučuje alespoň 14 dní podávat triazoly (flukonazol, vorikonazol), přípravky obsahující amfotericin B (konvenční c-AmB, lipidové formy AmB) nebo echinokandiny (kasprofungin, anidulafungin, mikafungin)¹⁰.

4.2.2. Infekční choroby vyvolané *Trichosporon asahii*

Oddělení	Třída	Podtřída	Řád	Čeleď	Rod	Druh
						<i>Basidiomycota</i>
						└ <i>Tremellomycetes</i>
						└ <i>Incertae sedis</i>
						└ <i>Tremellales</i>
						└ <i>Trichosporonaceae</i>
						└ <i>Trichosporon asahii</i> ⁷

Trichosporon asahii (dříve též *Trichosporon beigelii*) je oportunní houba široce zastoupená v půdě, stojících i tekoucích vodách. Nalézt ji můžeme ve zvířecích výkalech. U člověka je součástí přirozené kožní mikroflóry, izolovat lze rovněž z močového, respiračního a gastrointestinálního traktu. Její patogenita je relativně nízká, klinicky významná manifestace infekce se dotýká imunosuprimovaných jedinců. Nejčastěji je infekce spojena s leukémií, transplantací orgánů, mnohočetným myelomem, aplastickou anemií, lymfomem, solidními nádory a AIDS. Systémové infekce jsou přítomny nejčastěji v měkkých tkáních (játra, slezina, plíce a trávicí ústrojí). Infekce u imunokompetentních pacientů představují endoftalmitidy po chirurgické extrakci katarakty, endokarditidy obvykle po vložení chlopní srdečních, peritonitidy u pacientů na kontinuální ambulantní peritoneální dialýze (CAPD), infekce spojené s intravenózní aplikací drog nebo dermatomykotické postižení vlasů charakterizované tvorbou drobných uzlíků, tzv. bílá piedra^{12,13,14,15}.

Farmakoterapie systémových infekcí zahrnuje podávání antimykotik (vorikonazol, posakonazol, ravukonazol). Použití echinokandinů, nebo amfotericinu B se kvůli nižší účinnosti nebo vysoké toxicitě nejeví jako optimální¹⁶.

4.2.3. Infekční choroby vyvolané *Aspergillus fumigatus*

Oddělení	Třída	Podtřída	Řád	Čeleď	Rod	Druh
<i>Ascomycota</i>		└ <i>Eurotiomycetes</i>				
			└ <i>Eurotiomycetidae</i>			
				└ <i>Eurotiales</i>		
					└ <i>Trichocomaceae</i>	
						└ <i>Aspergillus fumigatus</i> ⁷

Aspergillus fumigatus (česky kropidlák zakouřený, dříve označován také *Aspergillus brasiliensis*) je rychle rostoucí všudepřítomná vzdušná saprofytická patogenní houba nebezpečná člověku i jiným živočichům. Jde o jeden z nejčastěji se vyskytujících patogenních fungálních kmenů. Vyskytuje se v kazících se potravinách, skladovaných produktech, ve vlhkém teplém prostředí (kompost, ale i zvlhčovací systémy, obytné prostředí). *Aspergillus* může kolonizovat povrch pokožky, ale často také vnitřní prostory jako nosní dutiny, ale i dolní dýchací cesty. Zvýšená diseminace infekce tímto kmenem způsobuje alergické reakce (aspergilová akutní/chronická sinusitida), u imunosuprimovaných osob vyvolává těžší infekci respiračního systému až smrt. Typickým projevem je dušnost, únava, vykašlávání aspergilových hmot až hemoptýza. Nákaza vzniká především vdechnutím¹⁷. Stav, při němž *Aspergillus* vyplňuje větší části preformované plicní dutiny se označuje jako aspergilom. Jedná se převážně o asymptomatický stav nebo je přítomna hemoptýza. Kromě rozsáhlé infiltrace klinický stav pacienta provází horečka, bolest na hrudi, kašel a hemoptýza. Jako aspergilóza (invazivní aspergilóza) se označuje stav, při němž jsou hematogenním rozsevem zasaženy plíce (nekrotizující pneumonie), paranasální siny, srdce (endokarditida), mozek (aspergilová meningoencefalitida) i další orgány (endoftalmitida). Jde o nejnebezpečnější formu afekce se špatnou prognózou, expozice imunosuprimovaných jedinců *Aspergillus fumigatus* (po prodělané cytotoxické terapii, po transplantaci solidních orgánů nebo kmenových buněk (HSCT – Hematopoetic Stem Cell Transplantation) často končí

fatálně¹⁸. Dochází k rozsáhlému rozpadu plicní tkáně a průniku mikroba do cévního systému, kde vyvolá tvorbu trombů. Infikované tromby jsou rozsety krevním oběhem do vzdálených orgánů^{19,20}.

Alergická aspergilóza se léčí kortikoidy (prednisonem). Aspergilom je nutné odstranit chirurgicky. Při invazivní aspergilóze je léčebné schéma podobné jako v případě invazivní kandidózy (azoly – vorikonazol, posakonazol, itrakonazol, amfotericiny, echinokandiny – kaspofungin, anidulafungin, mikafungin). V salvážové terapii jsou možné kombinace²¹.

4.2.4. Infekční choroby vyvolané *Lichtheimia corymbifera*

Oddělení	Třída	Podtřída	Řád	Čeleď	Rod	Druh
	<i>Zygomycota</i>					
		└ <i>Incertae sedis</i>				
			└ <i>Incertae sedis</i>			
				└ <i>Mucorales</i>		
					└ <i>Cunninghamellaceae</i>	
						└ <i>Lichtheimia corymbifera</i> ⁷

Lichtheimia corymbifera (dříve označována *Absidia corymbifera*, též *Mycoclados corymbifer*) je kosmopolitní termofilní vláknitá houba. Vyskytuje se převážně v půdě, na hnilém ovoci nebo pečivu. V roce 1977 v USA a v r. 2008 ve Velké Británii a dalších Evropských zemích byla zaznamenána epidemie v hospitalizační péči²². U skotu způsobuje potraty a mastitidy²³. Spolu s dalšími plísněmi řádu *Mucorales* (*Rhizopus*, *Rhizomucor*) způsobuje závažné infekční onemocnění označované jako mukormykóza. Nebezpečné jsou zvláště mykózy paranasálních sinů a s nimi související následné infekce CNS (např. meningoencefalitida). Diseminace může probíhat také do GIT, plic nebo se projevuje dermatomykózou. Popsané jsou také srdeční absidiové endokarditidy²⁴. Manifestace absidiové infekce do centrálního nervového systému jsou na rozdíl od invazivních kandidóz a aspergilóz poměrně vzácné, častěji jsou pozorované infikované rány a popáleniny²⁵. U nakažených jedinců, kde dochází k invazi patogenu do krevního oběhu, okluzi cév a následné nekróze, je progresse velmi rychlá a pokud není včas zahájena léčba, je prognóza infaustní. Nejvíce jsou mykormykotickou infekcí ohroženi pacienti s diabetes mellitus, hematologickými malignitami, pacienti chronicky užívající kortikosteroidy nebo další imunosupresivní léčbu, případně transplantovaní nebo jinak imunokompromitovaní jedinci. Vedle toho jsou popsány i afekce u imunokompetentních jedinců. Úmrtnost

pokročilých systémových infekcí je navzdory současně používaným postupům antifungální terapie stále vysoká (nad 50 %) ²⁶.

Léčba systémových afekcí vyžaduje vyjma srdečních infekcí kompletní chirurgickou resekci zasažené oblasti (tkáně) v kombinaci s antimykotickou chemoterapií. Většina izolátů je rezistentní k flukonazolu, vorikonazolu i echinokandinům. Zlatým standardem léčby je amfotericin B, dále posakonazol, případně dle druhové citlivosti itrakonazol ²⁷.

4.2.5. Infekční choroby vyvolané *Trichophyton mentagrophytes*

Oddělení	Třída	Podtřída	Řád	Čeleď	Rod	Druh
	<i>Ascomycota</i>					
		└ <i>Eurotiomycetes</i>				
			└ <i>Eurotiomycetidae</i>			
				└ <i>Onygenales</i>		
					└ <i>Arthrodermataceae</i>	
						└ <i>Trichophyton mentagrophytes</i> ⁷

Trichophyton mentagrophytes, var. *mentagrophytes* (dříve označován také *Microsporum mentagrophytes*, *Sporotrichum mentagrophytes*, *Ectotrichophyton mentagrophytes*, *Ctenomyces mentagrophytes*, *Spiralia mentagrophytes*, *Sabouraudites mentagrophytes*, nebo *Microides mentagrophytes*) je keratinofilní plíseň náležící do skupiny fungálních patogenů označovaných jako dermatofyty. Vyskytuje se po celém světě a kromě člověka často kolonizuje jiné divoké i domestikované živočišné hostitele (psi, králíci, ovce, ptáci, myši, kočky, divoká prasata a další) ¹². Patogenita je způsobena schopností produkovat keratolytické enzymy jako například keratinasu, elastasu a jiné proteasy ²⁸.

U člověka vyvolává hlavně superficiální dermatomykózy, zasažena bývá nejčastěji kůže a kožní adnex (vlasy, nehty). Spolu s dalšími zástupci rodu *Trichophyton spp.* je tato plíseň zodpovědná za frekventované infekční onemocnění označované jako atletická noha (*Tinea pedis*), které patří mezi nejčastější kožní mykózu. Mezi patogenetické faktory patří vlhké a teplé mikroklima v obuvi. Díky ubikviterně se vyskytujícím spórám, které jsou virulentní až několik měsíců ve společných prostorách sprch, umývár, saun, hotelových pokojů, a bazénů je snadné se s touto infekcí setkat v běžném životě ²⁹. Postižené jsou interdigitální

prostory, ve kterých se tvoří macerované vrstvy kůže, eroze a ragády (intertriginózní typ), pokud jsou přítomny drobné puchýřky na zánětlivém podkladě, mluvíme o dyshidroziformním typu. Pokročilou formou je skvamózně hyperkeratotická forma, charakterizována ohraničenými hyperkeratózami na okrajích nohou, patách a koncích prstů, někdy se může olupovat i celé chodidlo. Současná infekce nehtů bývá hlavním diagnostickým znakem. Nebezpečné jsou komplikace s přítomností erozí a ragád mezi prsty, které mohou sekundárně vyvolat erysipel. Jako *tinea unguium* nebo *onychomycosis* se označuje plíseň nehtů. Kromě *Trichophyton mentagrophytes* ji způsobují další dermatofyty (*Trichophyton rubrum*), méně často kvasinky rodu *Candida spp.* Afekce se projevuje postupným pronikáním patogenní plísně z hyponychia do nehtového lůžka. Distálně-laterální typ onychomykózy je typický deformovaným, povětšinou žlutě zbarveným až drobným okrajem nehtu s případnou pozdější subunguální hyperkeratózou v celém rozsahu³⁰.

Spektrum farmakoterapeutických možností je velmi široké. Superficiální afekce jsou léčeny lokálně specificky azolovými antimykotiky (ketokonazol, bifonazol, klotrimazol, mikonazol, ekonazol), allylaminy (terbinafin, naftifin), antibiotiky (nystatin) a dalšími (flucytosin, cyklopirox-olamin, amorolfín). Na mírnější klinické formy jsou použitelná antimykotika nespecifická, kam řadíme např. jod a jeho deriváty, organická barviva, hydroxychinoliny, síru a její sloučeniny, kvartérní amoniové sloučeniny, nenasycené mastné kyseliny nebo fenoly. V případě na lokální léčbu rezistentních nebo rekurentních onychomykóz je často kombinován lokální přístup se systémovým podáváním terbinafinu nebo itraconazolu^{30,31}.

4.3. Základní taxonomie bakterií

Bakterie tvoří nejrozsáhlejší skupinu prokaryotních organizmů na světě. Jejich velikost se pohybuje od 0,3 do 10 μm . Podle odhadů žije na Zemi kolem 10^7 až 10^9 druhů. Jsou všudypřítomné, kolonizují půdu, ovzduší, vodu i mnohobuněčné organizmy³².

Bakterie (*Bacteria*, někdy také *Eubacteria* nebo *Bacteriophyta*) tvoří samostatnou doménu, která taxonomicky spadá do soustavy živých organismů (*Vitae*)⁶. Systematické dělení bakterií nemá oficiálně ukotvenou strukturu, nejkompletnější přehled poskytuje Bergeyho manuál systematické bakteriologie. Toto kompendium je publikováno periodicky

a zohledňuje nejnovější výzkumy v oblasti evoluční bakteriologie. První vydání z roku 1984, kde klasifikace byla založená na fenotypu, bylo v roce 2001 aktualizováno. Druhé vydání popisuje hlavní vlastnosti všech známých prokaryot na základě poznatků získaných sekvenováním ribosomální RNA a genomických studií kombinovaných s fenotypickými informacemi³³. Tento zcela nový fylogenetický taxonomický systém dělí bakterie do následujících 30 kmenů, které se dále dělí do tříd (podtříd), řádů...atd.

- | | | |
|--------------------------|------------------------------|--------------------------------|
| • <i>Acidobacteria</i> | • <i>Cyanobacteria</i> | • <i>Nitrospira</i> |
| • <i>Actinobacteria</i> | • <i>Deferribacteres</i> | • <i>Planctomycetes</i> |
| • <i>Aquificae</i> | • <i>Deinococcus-Thermus</i> | • <i>Proteobacteria</i> |
| • <i>Armatimonadetes</i> | • <i>Dictyoglomi</i> | • <i>Spirochaetes</i> |
| • <i>Bacteroidetes</i> | • <i>Elusimicrobia</i> | • <i>Synergistetes</i> |
| • <i>Caldiserica</i> | • <i>Fibrobacteres</i> | • <i>Tenericutes</i> |
| • <i>Chlamydiae</i> | • <i>Firmicutes</i> | • <i>Thermodesulfobacteria</i> |
| • <i>Chlorobi</i> | • <i>Fusobacteria</i> | • <i>Thermomicrobia</i> |
| • <i>Chloroflexi</i> | • <i>Gemmatimonadetes</i> | • <i>Thermotogae</i> |
| • <i>Chrysiogenetes</i> | • <i>Lentisphaerae</i> | • <i>Verrucomicrobia</i> |

4.4. Onemocnění vyvolávaná vybranými patogenními bakteriálními kmeny

4.4.1. Infekční choroby vyvolané *Staphylococcus aureus*

Kmen	Třída	Řád	Čeleď	Rod	Druh
<i>Firmicutes</i>					
	└ <i>Bacilli</i>				
		└ <i>Bacillales</i>			
			└ <i>Staphylococcaceae</i>		
				└ <i>Staphylococcus aureus</i> ³³	

Staphylococcus aureus (česky zlatý stafylokok) je již od konce 19. st. známý fakultativní anaerobní grampozitivní kok. Název pochází z řeckého slova *staphyle* – hrozen a *kokkos* – bobule, neboť tvoří pod mikroskopem shluky kulovitých tvarů hroznovitého tvaru. Je poměrně odolný vůči nepříznivým okolním podmínkám (vysoká teplota,

hypertonické prostředí, sucho). Zlatý stafylokok přirozeně kolonizuje prakticky všechny teplokrevné živočichy včetně člověka od prvních dnů života (kůže, sliznice, GIT, dýchací a urogenitální trakt), prevalence v lidské populaci se pohybuje v rozmezí 20 – 50 %, z čehož přibližně třetina jsou trvalí nosiči. Za normálních okolností je lidský organizmus vůči stafylokokové infekci poměrně značně odolný, vyvolaná infekční onemocnění vznikají v důsledku imunosuprese, vysoké infekční dávky virulentního kmene nebo při chirurgickém zákroku, traumatech, katetrizaci, umělých náhradách, při diabetu, hematologických malignitách apod¹⁷. Přenos stafylokokové infekce se uskutečňuje vzduchem, přímým stykem s nemocným (otevřené léze), časté jsou alimentární otravy nebo endogenně.

Virulence spočívá ve schopnosti *S. aureus* produkovat velkého množství biologicky aktivních látek, které můžeme rozdělit na:

- adhezivní faktory (koagulasa, clumping faktor), které polymerizují fibrinogen na fibrin, polysacharidové komponenty, které umožňují vazbu na vhodný povrch
- propagační a transportní faktory (hemolyziny), které způsobují hemolýzu erytrocytů
- ochranné faktory (exoproteiny – např. Panton-Valentinův leukocidin), které jsou produkovány proti obranným schopnostem hostitele
- toxiny (exfoliativní toxiny, toxin syndromu toxického šoku - TSST „Toxic Shock Syndrome Toxin“, enterotoxiny), které způsobují invazivní toxinózy, alimentární otravy

Stafylokokové toxinózy

Mezi nejčastější kožní infekce *S. aureus* patří impetigo – zejména u novorozenců a kojenců, které se projevuje tvorbou puchýřků, jenž jsou vyplněny tekutinou, nebo tvoří krusty. Časté jsou afekce vlasové, kožní i podkožní tkáně – furunkly, tvořící drobné abscesy charakterizované secernující hnisavou tekutinou, agregáty více furunklů se nazývají karbunkuly³⁴. Závažnější forma tzv. syndrom opažené kůže (Ritterova nemoc) je toxická exfoliativní toxinóza, kdy rozvinutá generalizovaná dermatitida připomíná stav opaření³⁵.

Enterotoxikosis staphylococcica je akutní alimentární otrava *S. aureus* s velmi krátkou inkubační dobou (1 – 6 hod.), s prudkým začátkem, zvracením a průjmy a celkovou

dehydratací. Příznaky obvykle během 24 hodin vymizí. Příčinou onemocnění je enterotoxin⁸.

Toxický šokový syndrom (TSS –Toxic Shock Syndrome) je vyvolán toxinem TSST-1 produkovaným při kolonizaci sliznic. Typickým projevem senzitivních jedinců k tomuto toxinu (nemají dostatečné hladiny antitoxinu) je horečka, difúzní erytém, průjmy, bolesti svalů. Pacient může být dezorientovaný, ztrácet vědomí až kolabovat v důsledku selhání jater a ledvin³⁶.

Závažné jsou rovněž orgánové infekce (osteomyelitida, endokarditida, septická artritida, tromboflebitida), afekce vnitřních tkání (příušní žlázy, ledviny, játra, CNS), krve a nejčastěji u dětí stafylokokové pneumonie. Projevují se nejčastěji horečkou s lokalizovanou bolestí nebo bez ní.

Celosvětovým problémem jsou multirezistentní kmeny *S. aureus*, především nejvýznamnější MRSA (meticilin-rezistentní *S. aureus*), mimo to také EMRSA (endemický methicilin-rezistentní *S. aureus*), VISA (Vankomycin-intermediárně rezistentní *S. aureus*), VRSA (Vankomycin-rezistentní *S. aureus*), QRSA (Chinolon-rezistentní *S. aureus*). Výskyt tohoto patogenu je v invazivních infekcích od roku 2000 sledován celoevropským monitorovacím systémem EARSS (European Antimicrobial Resistance Surveillance System). V České republice vzrostla např. prevalence invazivních infekcí způsobených MRSA od r. 2000 do r. 2005 o více než 10 %. Monitoring invazivních forem MRSA a vypracování doporučených postupů pro léčbu je od roku 2005 v ČR v prioritách tzv. Akčního plánu národního zdraví vypracovaného na základě doporučení expertů WHO (World Health Organisation)³⁷.

Zvláště nebezpečné jsou nozokomiální stafylokokové infekce vyvolávané endemickými kmeny s širokou multirezistencí jako například nemocniční MRSA (HA-MRSA –Health care-Acquired MRSA) k antibiotikům na JIP a v porodnicích, kde vyvolávají lokální epidemie. Nosičem je zpravidla ošetřující personál, lůžkoviny, oděv nebo dlouhodobě hospitalizovaní pacienti.

Vzhledem k tomu, že komunitní meticilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA - Community-Acquired *S. aureus*) způsobuje více než polovinu všech stafylokokových infekcí, nemusí být empirická terapie peniciliny nebo cefalosporiny dostatečná^{38,39}. Někteří odborníci doporučují kombinovanou léčbu penicilinasa-rezistentními peniciliny nebo cefalosporiny a klindamycin nebo chinolony. V doporučení můžeme také nalézt

monoterapii klindamycinem, trimethoprim-sulfamethoxazolem, rifampicinem, doxycyklinem, nebo chinolony, případně kombinace. Klindamycin je preferovaná ambulantní antibiotická léčba (ve srovnání s trimetoprim-sulfametoxazol) v regionech s relativně nízkým výskytem rezistence na klindamycin⁴⁰.

Impetigo a další drobné kožní infekce (tj. povrchové nebo lokalizované infekce) mohou být léčeny mupirocinem nebo retapamulinem. V případě rozsáhlejších nebo závažnějších forem kožních infekcí jsou terapeutické postupy jako v případě MRSA⁴¹.

Při Ritterově nemoci (SSSS – Staphylococcal Scalded Skin Syndrome) stejně jako u jiných toxinem zprostředkovaných infekcí jsou intravenózně podávány vysoké dávky oxacilinu, nebo první generace cefalosporinů, jako cefazolin, případně obě zmíněná ATB v kombinaci s klindamycinem⁴².

Léčba stafylokokové osteomyelitidy nebo septické artritidy se zahajuje polosyntetickým penicilinem (např. oxacilinem), klindamycin je volbou ve většině případů komunitně získaných osteomyelitid. U pacientů s alergií na penicilin je alternativou podání první generace cefalosporinů nebo klindamycinu, při intoleranci vankomycin nebo linezolid⁴³.

Při život ohrožující stafylokokové endokarditidě se kombinují β -laktamová ATB a aminoglykosidy. U pacientů s MRSA je možno kombinovat vankomycin s aminoglykosidy. Některé typy infekčních endokarditid jsou citlivé na rifampicin, který je vždy podáván v kombinaci. Terapie obvykle trvá nejméně 4 týdny⁴⁴.

4.4.2. Infekční choroby vyvolané *Staphylococcus epidermidis*

Kmen	Třída	Řád	Čeleď	Rod	Druh
<i>Firmicutes</i>					
	└	<i>Bacilli</i>			
		└	<i>Bacillales</i>		
			└	<i>Staphylococcaceae</i>	
				└	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ³³

Staphylococcus epidermidis (dříve také *S. albus*) je typický anaerobní oportunní patogen, ačkoliv se dobře množí i v aerobním prostředí⁴⁵. Patří do skupiny koagulas-negativních stafylokoků. Od zlatého stafylokoka se liší tvorbou bílých kolonií (zlatý

stafylokok tvoří žluté) a především tím, že neprodukuje tolik enzymů a toxinů. Vyskytuje se u teplotokrevných živočichů, v potravinách nebo na polymerních površích. U člověka je součástí přirozené flóry, nalézt ho můžeme na kůži, v axilách, inguinální krajině, perineu, mezi prsty nebo v nosohltanu. U imunokompetentních jedinců má nízký patogenní potenciál, afekce se projevuje u imunokompromitovaných jedinců a to zejména endogenně. Exogenní infekce je spíše nozokomiální příčinou⁴⁶.

Virulence *S. epidermidis* spočívá podobně jako u *S. aureus* ve schopnosti tvořit biofilm (sliz) na polymerech díky tvorbě sulfátové polysacharidové substanci, čímž mimo jiné zabraňuje průniku ATB, imunoglobulinů nebo fagocytů. Navíc umožňuje vazbu na vytvořený biofilm dalším patogenům^{47,48}.

Kvůli dobré adhezi na umělé hmoty, katétrů, umělé srdeční chlopně, klouby apod. jsou afekce spojovány především s invazivními zákroky v hospitalizační péči. *S. epidermidis* je nejčastější původce katéetrové sepse⁴⁹. Podílí se také na infekcích CNS (meningitidy), endoftalmitidách, infekcích močových cest nebo endokarditid u osob s vadami srdečních chlopní⁵⁰.

Obecně platí, že léčba závisí na antibiogramu. Při lokálních afekcích lze použít mupirocin. Infekce u hospitalizovaných osob mají často chronický průběh, protože probíhají uvnitř biofilmů. Nezbytné je odstranění napadeného materiálu (katétr, venózní port). V případě resistance k oxacilinu je lékem volby vankomycin nebo teikoplanin^{51,52,53}. V případě podezření na endokarditidu je vzhledem k vysokému podílu MRSE (meticillin-rezistentní *S. epidermidis*) primární terapie vankomycinem v kombinaci s rifampicinem nebo aminoglykosidy (gentamicin). U dětských meningitid v případě MRSE je popsáno použití linezolidu⁵⁴. Ve vývoji jsou neustále antimikrobní materiály, stejně jako potenciální profylaktická vakcinace⁵⁵.

4.4.3. Infekční choroby vyvolané *Enterococcus spp.*

Kmen	Třída	Řád	Čeleď	Rod
	<i>Firmicutes</i>			
	└ <i>Bacilli</i>			
		└ <i>Lactobacillales</i>		
			└ <i>Enterococcaceae</i>	
				└ <i>Enterococcus</i> ³³

Skupinu fakultativních grampozitivních anaerobních bakterií z rodu *Enterococcus* nazvanou podle francouzského slova „éenterocoque“ popsal na konci 19. století Thiercelin⁵⁶. Enterokoky tvoří několik desítek druhů, kam patří nejrozšířenější *E. faecalis* a *E. faecium*. Tito všudypřítomní komenzálové přežívají i ve velice nepříznivém prostředí, jsou přirozenou součástí GITu především v tlustém střevě (10^7 /g stolice) a izolovat je lze také z respiračního nebo urogenitálního traktu⁵⁷. Do konce 20. století byly považovány za patogeny s minimálním klinickým impaktem, postupem času byl pozorován vzrůst infekčních onemocnění při hospitalizacích, na JIP nebo po invazivních chirurgických výkonech. Faktorem je obligatorní antibiotická rezistence, resp. multirezistence, která má vyšší význam než samotná virulence. Epidemiologové v USA registrují až 12 % všech nozokomiálních infekcí způsobených *E. faecalis*, ve Velké Británii bylo v roce 2005 hlášeno kolem 7 tisíc bakteriemií *Enterococcus spp.*, což představuje 8% meziroční nárůst^{58,59}. Virulence spočívá zejména ve schopnosti adheze k buňkám hostitelské tkáně s produkcí biofilmu pomocí enzymů cytolyzinu, proteasy, hyaluronidasy a extracelulárního superoxidu⁵⁷.

Enterokoky dnes můžeme řadit mezi závažné podmíněné patogeny. Bakteriální infekce může být endogenní (superinfekce), exogenní, často však nozokomiální, kdy prodlužuje dobu hospitalizace a mortalitu. Postižení jedinci bývají vyššího věku, imunokompromitovaní, nebo jinak predisponovaní⁶⁰. Enterokoky jsou zodpovědné za 10 % infekcí močového ústrojí s nejvyšším podílem *E. faecalis* (>70 %), *E. faecium* (~10 %) a *E. durans* (<10 %)⁶¹. Významně se podílejí v etiologii infekčních endokarditid po prodělaných enterokokových bakteriemiích (až 20 % všech endokarditid)⁶². Klinicky nejzávažnější jsou však multirezistentní infekce nozokomiálního původu (vankomycin-rezistentní enterokoky, VRE), mnohdy s vážným až fatálním průběhem. Mezi rizikové faktory vzniku infekce patří katétry, rozsáhlé popáleniny, infekce urogenitálního traktu, dutiny břišní nebo předchozí antibiotická léčba. Vzácně se vyskytují infekce CNS (meningitidy), především u novorozenců a dospělých po neurochirurgických invazivních zákrocích⁶³.

Enterokoky jsou citlivé k β -laktamovým antibiotikům (peniciliny, cefalosporiny, karbapenemy). Aminoglykosidy (gentamicin, streptomycin) lze použít v monoterapii nebo v kombinaci s β -laktamy. K potlačení enterokokové infekce vyvolané rezistentními kmeny se používá glykopeptid vankomycin, případně teikoplanin (u infekcí CNS intratekálně).

U infekcí způsobených VRE je možné podat daptomycin, linezolid, nebo novější streptograminy (quinupristin + dalbopristin)^{64,65}.

4.4.4. Infekční choroby vyvolané *Escherichia coli*

Kmen	Třída	Řád	Čeleď	Rod	Druh
	<i>Proteobacteria</i>				
	└ <i>Gammaproteobacteria</i>				
		└ <i>Enterobacteriales</i>			
			└ <i>Enterobacteriaceae</i>		
				└ <i>Escherichia coli</i> ³³	

Escherichia coli (dříve také *Bacterium coli*) byla objevena německým bakteriologem Theodorem Escherichem na konci 19.století. *E. coli* je pyogenní gramnegativní tyčka, která kolonizuje distální část zažívacího traktu teplokrevných živočichů včetně člověka již od narození. Člověku je přítomnost *E.coli* ve střevním traktu prospěšná díky produkci některých látek zabráňujícím přemnožení patogenů (koliciny), podílí se na tvorbě vitamínu K⁶⁶. Patří mezi nejlépe prostudované známé bakterie a díky rychlému růstu na levných kultivačních médiích je hojně využívána biotechnologickém průmyslu a genovém inženýrství (výroba rekombinantního inzulínu, lidského růstového hormonu, interferonů, indiga)^{67,68}. Přítomnost *E. coli* v pitné vodě také běžně slouží jako identifikátor fekálního znečištění.

U zdravých jedinců přítomná *E. coli* nevyvolává infekční onemocnění. Ke vzniku endogenního střevního onemocnění dochází v případě narušení přirozené eumikrobie (častá ATB léčba, imunosuprese), patogenními kmeny produkujícími toxiny a adhezivní komponenty nebo extraintestinálním rozsevem do dalších tělních kompartmentů (močový trakt, peritoneum, infikované rány, CNS). V posledním případě se uplatňují méně obvyklé kmeny se zvýšenou rezistencí proti baktericidii séra a fagocytóze, které disponují polysacharidovým kapsulárním antigenem, nebo které pomocí tzv. proteinových fimbrií adherují na sliznici močového traktu (uropatogenní *E. coli*). Exogenní nákazy jsou většinou způsobeny alimentární cestou⁶⁹.

Kromě častých infekcí močových cest jsou typické patogenní afekce *E. coli* střevní průjemová onemocnění orientovaná především v tlustém střevě. Patogenita se projevuje

různými mechanizmy. Dle klinického obrazu se sérotypy enteropatogenních kmenů *E. coli* rozdělují do následujících skupin⁸.

- Enteropatogenní *E. coli* (EPEC) – způsobuje především novorozenecké a kojenecké průjmy. Zdrojem jsou zdraví jedinci (personál porodnic, matky). Neprodukují toxiny, ale může docházet k vážné dehydrataci s fatálním průběhem.
- Enterotoxigenní *E. coli* (ETEC) – původce vodnatých průjmů v oblastech se sníženou hygienou, přenos je uskutečněn kontaminovanou vodou nebo alimentárně. Charakteristická produkce termostabilních a nebo termolabilních enterotoxinů.
- Enteroinvazivní *E. coli* (EIEC) – způsobuje horečnaté průjmy provázející tenezmy, někdy s příměsí krve nebo hlenu ve stolici. Příčinou jsou defekty střevní sliznice, v nichž se bakterie množí.
- Enterohemoragická *E. coli* (EHEC) – původce prudkých průjmů často provázených hemolyticko-uremickým syndromem, hemoragickou cystitidou nebo balanitidou s vážnou až infaustní prognózou. Charakteristická produkce verotoxinu (také shigella toxin, shiga-like toxin). Zdrojem bývá špatně tepelně ošetřené hovězí maso.

Mezi hlavní zásady léčby intestinálních forem infekcí patří rehydratace včetně přísunu elektrolytů a dieta. U těžších forem s velkými ztrátami tekutin je nutná hospitalizace. Ve farmakoterapii je možné použití střevních dezinficiencí (kloroxin, nifuroxazid) současně s adsorbencii. Antibiotická terapie je vyhrazena pro závažnější formy extraintestinálních afekcí (novorozenecké sepse, meningitidy), kde lékem volby je kombinace ampicilin + gentamicin, alternativně ampicilin + cefotaxim. Infekce močových cest zejména u žen zahrnuje kombinační léčbu sulfametoazol + trimetoprim⁸.

4.4.5. Infekční choroby vyvolané *Klebsiella pneumoniae*

Kmen	Třída	Řád	Čeleď	Rod	Druh
	<i>Proteobacteria</i>				
	└ <i>Gammaproteobacteria</i>				
		└ <i>Enterobacteriales</i>			
			└ <i>Enterobacteriaceae</i>		
				└ <i>Klebsiella pneumoniae</i> ³³	

Klebsiella pneumoniae (podle německého bakteriologa Edwina Klebse) je gramnegativní anaerobní fakultativní tyčka, která u člověka běžně kolonizuje trávicí a dýchací trakt, ústa a kůži. Vyskytuje se také ve vodě a půdě, kde dokáže za anaerobních podmínek využít dusík. *K. pneumoniae* je oportunní patogen, vyššímu riziku infekce jsou vystaveni imunokompromitovaní jedinci, u kterých může vyvolat komunitní pneumonie, nebo pacienti v hospitalizační péči⁸. Je jedním z nejčastějších příčin primárních infekcí močového traktu, u novorozenců je často zodpovědný za nozokomiální průjemová onemocnění. Komplikace nozokomiálních pneumonií a infekcí močových cest představuje prodloužení doby hospitalizace, vyšší mortalitu a pochopitelně i nárůst nákladů na zdravotní péči⁷⁰. V menší míře jsou pozorovány infekce spojené s invazivními zákroky (peritoneální dialýza, katétry), bakteriémie nebo infekce horních cest dýchacích.

K. pneumoniae neprodukuje žádný exotoxin, virulence spočívá v tvorbě antigenů na povrchu buňky. Rozlišujeme 2 druhy těchto antigenů - lipopolysacharid (O antigen) a kapsulární polysacharid (K antigen), jejichž struktura tvoří základ pro klasifikaci různých sérotypů⁷¹. Mezi další faktory virulence patří fimbrie, které se podílejí na adhezi, nebo produkci bakteriocinů – klebocinů¹⁷.

Vysoký klinicko-epidemiologický význam mají kmeny produkující β -laktamasy, resp. širokospektré β -laktamasy (ESBL – Extended-Spectrum β -Lactamases), které rozkládají β -laktamová ATB a jsou většinou odolné i proti inhibitorům β -laktamasy s výjimkou cefalosporinů 3. generace a karbapenemů. V České Republice se nozokomiální prevalence ESBL-pozitivní *K. pneumoniae* pohybuje od 13 % na standardních odděleních až 39 % na JIP, kde jsou nejčastěji zodpovědné za bronchopneumonie a infekce močových cest⁷². Dle zprávy z pravidelného monitorování infekčních nemocí v Evropě se procento ESBL-pozitivních *K. pneumoniae* (KP-E) multirezistentních k 3. generaci cefalosporinů, fluorochinolonům a aminoglykosidům v České Republice pohybuje v rozmezí 25 – 50 %⁷³. Postupně dochází i k záchytu kmenů rezistentních na karbapenemy, které bývají poslední volbou léčby⁷⁴.

Ambulantní léčba komunitní pneumonie je empirická, neexistuje ustálený konsenzus pro volbu optimální farmakoterapie. Mezi léky volby patří aminopeniciliny (amoxicilin), cefalosporiny a 2. generace, nebo v případě nesnášenlivosti β -laktamových ATB tetracykliny a makrolidy⁷⁵. Běžné infekce močových cest jsou *a priori* léčeny kombinací sulfametoxazol + trimetoprim, nebo fluorochinolony. Iničiální antibiotická terapie závažných infekcí v intenzivní péči zejména proti KP-E zahrnuje použití karbapenemů

(meropenem, imipenem), případně kombinaci piperacilin/tazobaktam⁷⁶. Od použití cefalosporinů 3. generace proti KP-E se díky vysokému nárůstu rezistence upouští⁷⁷. KP-E jsou citlivé proti novějším karbapenemům (ertapenem, faropenem) a ATB z řady cefamycinů (cefoxitin, cefotetan)^{78,79,80,81}.

4.4.6. Infekční choroby vyvolané *Pseudomonas aeruginosa*

Kmen	Třída	Řád	Čeleď	Rod	Druh
	<i>Proteobacteria</i>				
	└ <i>Gammaproteobacteria</i>				
		└ <i>Pseudomonadales</i>			
			└ <i>Pseudomonadaceae</i>		
				└ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ³³	

Pseudomonas aeruginosa je gramnegativní aerobní nefermentující bakterie, klinicky nejvýznamnější z rodu *Pseudomonas*. Přirozeným rezervoárem *P. aeruginosa* je půda, rostliny a odpadní vody, vlhké prostředí je nezbytným předpokladem pro kolonizaci rostlin, zvířat a lidí (v čisté vodě se nemnoží). U člověka kolonizuje hlavně sliznice respiračního a močového traktu a močových cest. *P. aeruginosa* je oportunní patogen, u zdravých jedinců běžně nevyvolává infekční onemocnění, kromě nemocných s cystickou fibrózou, u kterých běžně vyvolává komunitní pneumonie se závažným až letálním průběhem⁸². Infektogenní charakter je spíše spojován s prostředím hospitalizační péče s vyšší kontaminací (ARO, JIP), kde infikuje přístrojovou techniku a lékařské nástroje (katétry, umělá plicní ventilace, nebulizéry, roztoky pro intravenózní aplikaci, dezinfekční prostředky) a způsobuje nozokomiální infekce, nebo s jedinci s oslabenou obranyschopností (imunosuprimovaní, hematoonkologičtí pacienti, neutropenici, leukopenici, pacienti s rozsáhlými popáleninami apod.). Uvádí se, že z 11 % nozokomiálních pneumonií je způsobeno gramnegativními bakteriemi, kde *P. aeruginosa* je zastoupena v 65 %⁸³.

Virulence spočívá jednak v produkci faktorů vázaných na samotnou bakteriální buňku (extracelulární polysacharid, slizová vrstva, stěnový lipopolysacharid), jednak v produkci extracelulárních složek (enzymy, toxiny, pigmenty). Extracelulární polysacharid je povahou alginát a je vyvářen ve velkém množství u mukoidních kmenů, kde obsahuje

mikrokolonie, které je chrání před obranou hostitele (např. u cystické fibrózy). Lipopolysacharidové komplexy označované jako endotoxin vystupují navenek jako antigeny, které brání opsonizaci. Extracelulární produkty zahrnují hlavně proteolytické enzymy, které štěpí fibrin, kolagen, elastin, kasein, dále hemolyziny, toxiny (cytotoxin)⁸². Z hlediska mechanismu působení je lze také dělit do následujících skupin⁸⁴:

- adheziny - umožňují adhezi na povrchu (epitel, polymery)
- invaziny - zodpovědné za penetraci mikroba do buněk hostitele
- agresiny - poškozují a ovlivňují enzymatickou činnost hostitelské buňky
- impediny - modifikují imunitní odpověď hostitele

Faktory virulence jsou řízeny pomocí komunikačního mechanismu mezi bakteriemi, tzv. *quorum-sensing* systému, který umožňuje řídit geny podílející se na tvorbě biofilmu, produkci toxinů. Takto je regulováno *quorum-sensing* systémem více než 30 faktorů virulence⁸⁵.

Kromě nozokomiálních pneumonií a uroinfekcí, komunitních pneumonií u pacientů s cystickou fibrózou může být *P. aeruginosa* zodpovědná za enterokolitidu, sepsi, či meningitidu u nedonošených nebo nově narozených dětí. Povrchová kolonizace může také manifestovat do ran nebo oka, kdy infekce může vést až ke ztrátě zraku. Pseudomonádové infekce se také podílejí na vzniku endokarditid, otitis media nebo externa, osteomyelitid nebo bakteriemií⁸⁶.

Farmakoterapie infekcí způsobených *P. aeruginosa* je obtížná kvůli její schopnosti rychle vyvinout rezistenci k prakticky všem původně účinným ATB i v průběhu léčby zvláště u vysoce virulentních nozokomiálních forem. Drobné infekční ulcerace v oku a uchu lze zvládnout topickými preparáty s obsahem aminoglykosidu, nebo chinolonu⁸⁶. Těžší endoftalmitidy vyžadují agresivnější léčbu i parenterálními preparáty. Pokud pomíneme úvodní empirickou léčbu širokospektrými ATB, mohou být pseudomonádové infekce léčeny β -laktamy (tikarcilin, piperacilin), chinolony (ciprofloxacin, ofloxacin), polymyxinem B, kolistinem. Právě kolistin bývá účinný u rezistentních kmenů^{82,87,88}. Cefalosporiny mohou být použity v monoterapii nebo v kombinaci s aminoglykosidy, fluorochinolony nebo karbapenemy. Pro pacienty předléčené β -laktamy je vhodné podání aminoglykosidu a karbapenemu⁸³.

4.4.7. Infekční choroby vyvolané *Mycobacterium tuberculosis*

Kmen	Třída	Podtřída	Řád	Podřád	Čeleď	Rod	Druh
	<i>Actinobacteria</i>						
		└ <i>Actinobacteria</i>					
			└ <i>Actinobacteridae</i>				
				└ <i>Actinomycetales</i>			
					└ <i>Corynebacterineae</i>		
						└ <i>Mycobacteriaceae</i>	
							└ <i>Mycobacterium tuberculosis</i> ³³

Mycobacterium tuberculosis (někdy také Kochův bacil) je obligátní aerobní patogenní tyčka, kterou objevil německý lékař a bakteriolog Robert Koch na konci 19. století. Název rodu *Mycobacterium* pochází z řeckého *mykes* – plísně, protože je růstem a vzhledem kolonií připomínají, a *bacterion* – tyčka. *M. tuberculosis* patří do skupiny tzv. klasických mykobakterií, na rozdíl od dalších zástupců rodu *Mycobacterium* se vyskytuje a přenáší výhradně mezi lidmi a vyvolává chronické infekční zejména plicní onemocnění tuberkulózu (TB)⁸⁹. Pro *M. tuberculosis* je charakteristická acidorezistence, alkalirezistence a alkoholrezistence. Má silnou buněčnou stěnu, která se skládá z peptidoglykanu, arabinogalaktanu, lipoarabinomannanu a mykolových kyselin, které jsou zodpovědné za její lipoidní charakter. Proto se také špatně barví organickými barvivy nebo Gramovým barvivem, k vizualizaci se používá barvení podle Ziehla-Neelsena⁹⁰.

V Evropském regionu TB díky povinné prevenci a monitoringu nepředstavuje vážnou hrozbu (rok 2012: incidence – 47/100 000 osob, úmrtnost 6,7/100 000 osob)⁹¹, globální incidence hovoří o téměř 9 mil. nových případů v roce 2011 (incidence ~130/100 000 osob, úmrtnost ~20/100 000 osob), z čehož 13 % všech nových případů je spojeno se konkomitantní HIV infekcí⁹². Drtivá většina nově hlášených případů spadá do rozvojových zemí. Incidence i mortalita celosvětově postupně klesá (mezi 2010 a 2011 o 2,2 %), v České republice se za posledních 21 let incidence snížila z 22/100 000 osob (1990) na současných 6/100 000 osob (2011)⁹³.

Tuberkulóza (z lat. tuberculum - uzlíček), dříve nazývaná též souchotiny, úbytě nebo ftisis (odtud lékařská disciplína ftizeologie) je specifické chronické zánětlivé onemocnění, které může postihnout jakýkoliv orgán, avšak nejčastěji jsou zasaženy plíce (85 %). Dalších 15 % zahrnuje nejvíce postižení lymfatických uzlin, kostí a kloubů (5 %), mozkových plen, urogenitálního traktu, peritonea, perikardu, GITu^{94,95}. Přenos nákazy se uskutečňuje

kapénkově, přímým dotykem s nosičem (inokulace), nebo alimentární cestou. Bránou vstupu *M. tuberculosis* jsou nejčastěji plíce. Infekční dávka je malá, TB může být vyvolána i méně než 10 mikroorganismy. Nosičství může být i bezpříznakové, nakažené osoby šíří infekci často i před stanovením diagnózy⁹⁶.

Patogenita virulentních typů H37Rv není dosud plně objasněna. Bakterie při průniku bronchoalveolů interagují s mannosovými a nebo komplementovými receptory makrofágů, kterým znemožňují fagocytovat, resp. dozrávat ve fagosomy a fúzovat s lysosomy, a ve kterých přežívají, množí se a diseminují po těle lymfatickou cestou⁹⁷. Na interakci se podílí jak samotná buněčná stěna – zejména toxický glykolipid dimykolát trehalózy (tzv. cord-factor), tak přítomné antigeny jako arabinogalaktan, peptidoglykan a další glykolipidy⁹⁸. Postupně jsou objevovány další specifické antigeny jako např. ESAT-6 (Early Secreted Antigen), které hrají úlohu při cytolýze infikovaných makrofágů a jsou považovány za faktory virulence⁹⁹.

Z klinického hlediska se rozlišují dvě stádia onemocnění. V prvotní fázi (primární TB) dochází k infiltraci bronchoalveolární části respiračního traktu, kde mají mykobakterie příznivé podmínky pro množení (vlhkost, přísun kyslíku). U imunokompetentních osob se daří fagocytovat a zabít patogeny lytickými procesy. U osob se sníženou imunitou pak mykobakterie v makrofázích dozrávají, inhibují fagocytózu a diseminují lymfatickými uzlinami. Prasknutím buněčné stěny makrofágu se namnožené bakterie uvolňují do extracelulárních prostor. Specifická imunitní odpověď nastává po více jak měsíci od kontaktu patogenu s hostitelem. Probíhající zánět je charakterizován tvorbou ložisek granulární tkáně, tzv. granulomů. Pokud granulom nekrotizuje a nabývá sýrovité konzistence, hovoříme o kaseinifikaci. Zánětlivé ložisko v plicním parenchymu s regionální lymfadenitidou se nazývá primární tuberkulózní komplex. Hostitel je v tomto stádiu obvykle bezpříznakový nebo se objevují příznaky podobné chřipce. Perzistence mykobakterií může po zhojení zánětlivého ložiska přetrvávat i několik desítek let^{8,90,100}. Přibližně u 10 % infikovaných jedinců dochází k rozvoji druhého závažnějšího stádia, tzv. postprimární TB a to jednak v důsledku exogenní superinfekce z nového zdroje, nebo endogenně oslabením imunitního systému a znovuzmnožením již infikovaného hostitele. Infiltrace probíhá spíše do horních segmentů plicních laloků. V této fázi kaseózní ložiska kolikvují a v postiženém úseku vzniká kaverna s optimálními podmínkami pro další množení patogenu. Zkapalněný kasein se navíc může rozšířit do bronchů, kde se zakládají nová ložiska infekce (tzv. miliární rozsev). Kromě kavitární formy probíhá

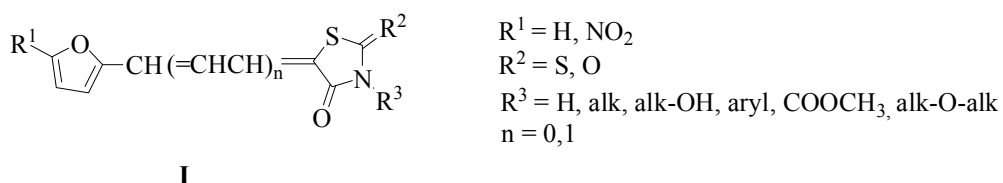
extrapulmonární rozsev infekce do jiných tělních kompartmentů (viz výše). Možný je v případě porušení cévní stěny i hematogenní rozsev. Tento stav provází horečnaté stavy, pocení, nechutenství, únava a další příznaky v závislosti na zasažené části organismu. V patogenezi se uplatňuje TNF-alfa, jenž se uvolňuje při destrukci plicního parenchymu. Pro plicní tuberkulózu je typická bolest na hrudi se zpočátku suchým kašlem, později dochází k dušnosti, vykašlávání sputa až hemoptýze. Onemocnění v této fázi má sklon spíše ke chronicitě, ke spontánní remisi dochází jen zřídka, střídají se fáze vzplanutí a útlumu zánětu v závislosti na stavu imunitního systému, neléčení pacienti umírají^{8,100}.

Prevence TB zahrnuje očkování atenuovaným živým kmenem *Mycobacterium bovis*, tzv. BCG vakcínou (z fran. Bacille de Calmette et Guérin). Vakcinace nedokáže bezpečně zabránit plicní TB, ale zabraňuje generalizaci infekce (akutní miliární rozsev, meningoencefalitida) a úmrtí. Farmakoterapie pulmonární a extrapulmonární formy TB se řídí shodným režimem a spočívá v dvoufázovém procesu, kdy se v úvodní fázi podává kombinace čtyř nebo pěti antituberkulotik za hospitalizace. Iniciální fáze trvá 2 – 3 měsíce, po čemž následuje udržovací fáze s dvěma až třemi antituberkulotickými preparáty. Tato fáze trvá 4 – 5 měsíců a při dobré compliance pacienta může probíhat ambulantně. Mezi dlouhodobě a nejúčinnější používané léky první volby patří baktericidní izoniazid, rifampicin, pyrazinamid, streptomycin a bakteriostatický etambutol. Za monorezistentní TB je označováno onemocnění s *in vitro* rezistencí na uvedené léky první volby. Při rezistenci na více než jedno antituberkulotikum první volby se současným výskytem rezistence na isoniazid a rifampicin hovoříme o polyrezistenci až multirezistenci (MDR TB – Multi Drug-Resistant Tuberculosis). Mezi léky druhé volby v případě MDR TB patří aminoglykosidy – amikacin, kanamycin, dále kapreomycin, fluorochinolony, ethionamid, prothionamid, cykloserin, terizidon, thiacetazon, klofazimin, *para*-aminosalicylová kyselina), které jsou ale méně účinné a zároveň toxičtější. Jako XDR TB – Extensively Drug-Resistant Tuberculosis – (4 – 19 % MDR TB) se označují komplikované formy TB s extenzivní lékovou rezistencí, kdy léčebné možnosti jsou omezené. Doporučená doba léčby je minimálně 18 měsíců, pokud je pacient bakteriologicky pozitivní po 36 měsících, měla by být léčba ukončena. Po takové době je však prognóza onemocnění velmi nepříznivá^{94,101}.

4.5. Biologické vlastnosti derivátů thiazolu

4.5.1. Antifungální vlastnosti derivátů thiazolu

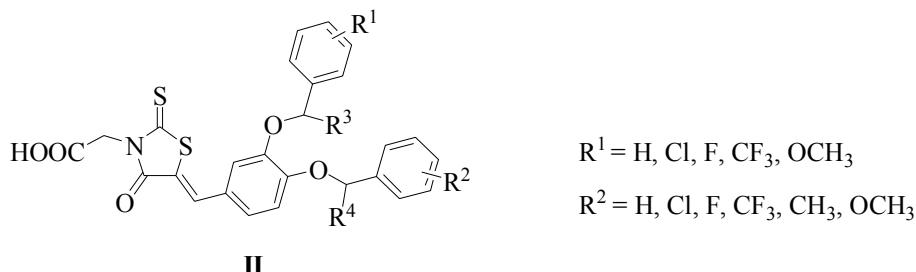
Systematickému výzkumu derivátů thiazolu je v oblasti potenciálních antimikrobních látek dlouhodobě věnována pozornost. Již v druhé polovině 20. století se několik autorů věnovalo právě této struktuře a hodnocení antifungální aktivity jejich derivátů. Série 5-(5-nitrofurfuryliden)rhodaninů, 5-(5-nitrofurfuryliden)thiazolidin-2,4-dionů a jejich *N*-substituovaných analog byla připravena Mallickem a Martinem (**I**). Srovnatelná účinnost s metronidazolem a amfotericinem B v inhibici růstu byla pozorována u některých derivátů na kmenech *Candida albicans*, *Trichomonas vaginalis* a *Trichophyton mentagrophytes*¹⁰². Esenciální vliv na aktivitu připravených látek měla nitroskupina na furanu, látky bez nitrosubstituce byly neaktivní.



V tomto období se zabývali také další autoři antifungální aktivitou derivátů 5-benzylidenrhodaninu se substitucí nitroskupiny v aromatické části, nebo s aromatickou *N*-substitucí rhodaninového kruhu typu polynitrofenylového typu. Popsány a hodnoceny na antifungální aktivitu byly také další 5-benzylidenrhodaniny a 5-naftylidenrhodaniny se substitucí hydroxyly v aromatické části molekuly. Avšak díky zcela odlišné metodě hodnocení inhibičních koncentrací a absenci pozitivních kontrol účinnosti nejsou výsledky účinnosti inhibice růstu vybraných patogenních hub jasně interpretovatelné^{103,104,105}. Později bylo popsáno několik dalších derivátů 5-benzylidenrhodaninu a 5-(1-pyridylalkyliden)rhodaninu na širokém spektru patogenních hub Sortinem *et al.*, z nichž některé jsou rovněž součástí i této práce v rozšířeném spektru biologického hodnocení. Nejúčinnější sloučeniny nesly fluor nebo trifluormethylovou skupinu na aromatickém jádře, avšak žádná z nich nedosáhla v *in vitro* testech srovnatelných inhibičních koncentrací jako kontrola (amfotericin B, terbinafin, ketokonazol). Heteroaromatické analogy nevykazovaly účinnost žádnou¹⁰⁶.

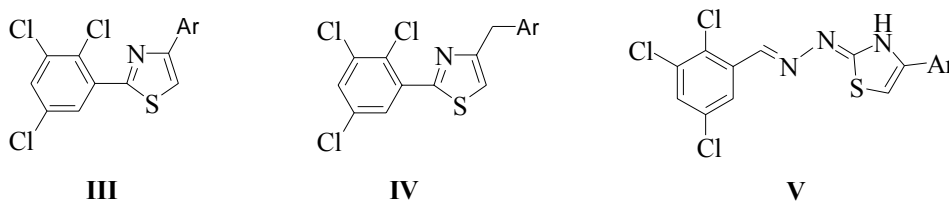
Zajímavou studii vlivu struktury analog 5-benzylidenrhodaninoctové kyseliny (**II**) na schopnost *in vitro* inhibice proteinu mannosyltransferasy (PMT1) provedl Orchard *et al.*¹⁰⁷.

PMT1 patří do skupiny mannosyltransferasových enzymů, které hrají klíčovou roli v biogenezi buněčné stěny některých hub (*Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*), ale i některých eukaryot¹⁰⁸.

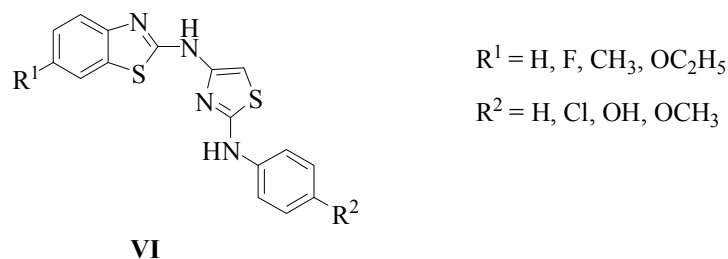


Esenciální pro účinnost byla přítomnost karboxymethylové skupiny na thiazolidinovém kruhu a současně dva benzyloxy substituenty aromátu v polohách *meta* a *para*. Substituce pouze jedním benzyloxy substituentem vedla k rapidnímu snížení inhibiční aktivity vůči PMT1. Další derivace benzyloxo seskupení (R^1 a R^2) nevedla k výraznému posunu v inhibiční aktivitě. Výraznější vliv mělo zavedením dalších substituentů (R^3 a R^4) do postranního řetězce (methyl, ethyl, CF_3), aktivitu ovlivňovala rovněž konformace, např. inhibice PMT1 byla u (*S*)-methylderivátu (R^4) několikanásobně vyšší, než (*R*)-methylderivátu, ale v případě triflormethylsubstituce tento efekt pozorován nebyl. Naopak náhrada fenylu za pyridyl v *meta* poloze k fenylu vedla k úplné ztrátě aktivity.

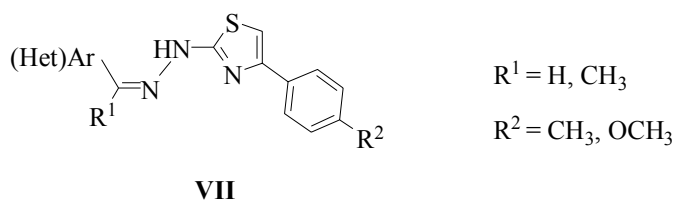
Z dalších studií derivátů thiazolu (**III**, **IV**) a hydrazonothiazolu (**V**) hodnotících *in vitro* antifungální aktivitu na kmenech *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton mentagrophytes* a *Penicillium marneffei* je práce Karegoudara *et al.*¹⁰⁹ Téměř všechny připravené struktury vykazovaly míru inhibice růstu srovnatelnou s kontrolou ciklopiroxolaminem.



Výsledky *in vitro* testování disubstituovaných derivátů thiazolu (**VI**) proti kmenům *Candida albicans* a *Aspergillus niger* byly prezentovány v nedávno publikované práci Amnerkara a Bhusariho¹¹⁰. Výsledné inhibiční koncentrace sice nedosáhly účinnosti flukonazolu, ale některé deriváty se substitucí benzothiazolového kruhu fluorem byly pouze 2× – 3× méně účinné.



Z dalších recentních publikací je nutné zmínit preparativní studii série disubstituovaných derivátů thiazolu (**VII**), jež byla podrobena *in vitro* hodnocení antifungální aktivity proti pěti druhům kmene *Candida spp.*¹¹¹ U všech připravených látek byl pozorován podobný trend vývoje aktivity proti testovaným druhům od nejcitlivější *C. albicans* → *C. glabrata* → *C. sakè* → *C. krusei* → *C. tropicalis*.



Vliv heterocyklického nebo aromatického substituentu Het(Ar) nebyl jednoznačný, nejvyšší aktivitu prokázaly deriváty nesoucí v molekule thiofen-2-yl, pyridin-4-yl. Účinnost těchto látek byla shodná, nebo dokonce převyšovala kontrolní klotrimazol/flukonazol.

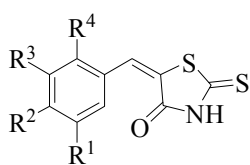
4.5.2. Antibakteriální vlastnosti derivátů thiazolu

Deriváty thiazolu prokázaly, že jsou aktivní i v oblasti potenciálních antibakteriálních látek. Výše zmíněná práce z druhé poloviny 20. století autorů Mallicka a Martina byla také zaměřena na *in vitro* hodnocení 5-(5-nitrofurfuryliden)rhodaninů, 5-(5-nitrofurfuryliden)thiazolidin-2,4-dionů a jejich *N*-substituovaných analog (**I**) proti bakteriálních kmenům *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* a *Pseudomonas aeruginosa*¹⁰². Z hlediska SAR nebyla *N*-substituce jednoznačná. V případě alkylnaloga schopnost inhibice bakteriálního růstu s prodlužováním nebo větvením alkylsubstituentu progresivně klesala, naproti tomu signifikantní rozdíl byl pozorován ve prospěch fenylanaloga ve srovnání např.

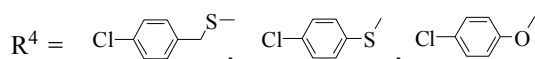
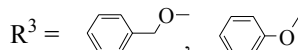
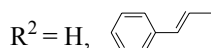
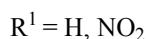
s methylanalogem. Obecně však byla pozorována vyšší účinnost derivátů thiazolidin-2,4-dionu a podobně jako v případě antifungální aktivity byla přítomnost nitroskupiny na uranovém kruhu pro účinek nezbytná.

Dalšími deriváty 5-benzylidenrhodaninu, resp. azoderivátů, 5-naftylidenrhodaninu a arylidenthiazolidin-2,4-dionu ovlivňující inhibici růstu některých bakteriálních kmenů se později zabývali i další autoři, ale vzhledem k absenci pozitivní kontroly a odlišnému způsobu biologického testování nejsou výsledky příliš interpretovatelné^{105,112}.

Význam nitroskupiny v molekule, jakožto bakteriostaticky aktivní substrukturální jednotky potvrdil i Sim *et al.*¹¹³, který se zabýval studiem vlivu 5-benzylidenrhodaninů (**VIII**) na enzym UDP-*N*-acetylmuramát/L-alaninligasu (MurC), jenž se podílí na biosyntéze peptidoglykanu ve stěně bakterií¹¹⁴ ($R^1 = \text{NO}_2$). Nízká inhibiční aktivita byla zaznamenána proti *Staphylococcus aureus*, růst *Escherichia coli* nebyl těmito sloučeninami ovlivněn. Roli na tomto může hrát skutečnost, že u grampozitivních bakterií tvoří peptidoglykan významný podíl na skladbě buněčné stěny (až 90 %), zatímco u gramnegativních kmenů se jedná o přibližně 20 %.

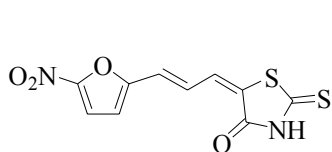


VIII

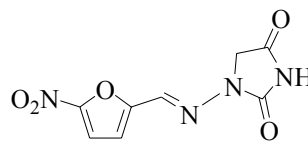


Zajímavou práci představil Grant *et al.*, který testoval *in vitro* antibakteriální účinnost série benzylidenrhodaninů a (hetero)arylalkylidenrhodaninů na inhibitorech β -laktamasy třídy A a C izolované z kmenů *Enterobacter cloacae* OC 4080 (enzym třídy C – P99) a *Escherichia coli* OC 4075 (enzym třídy A – TEM-1)¹¹⁵. Benzylidenrhodaniny nevykazovaly téměř žádnou aktivitu, avšak některé deriváty s delším alkylidenovým řetězcem mezi (hetero)aromatickou částí molekuly a rhodaninem byly srovnatelně účinné s tazobaktamem v inhibici P99. Nejúčinnější derivát (**IX**) byl dále testován na výše uvedených kmenech a na dalších kmenech produkujících především β -laktamasy třídy C. Jako kontroly byly použity piperacilin a tazobaktam. Ve všech případech byla připravená látka několikanásobně účinnější než kontrolní antibiotika. Výměna thioxoskupiny v rhodaninovém cyklu za karbonylovou vedla k výraznému snížení

účinnosti. Za klíčový strukturální prvek považovali autoři nitrofuranovou část, která je rovněž zodpovědná za účinnost např. ve známém chemoterapeutiku nitrofurantoinu (**X**)¹¹⁶.

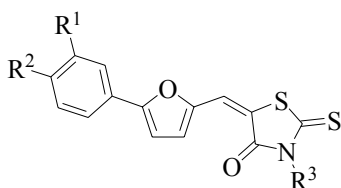


IX

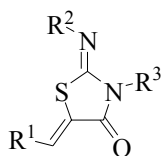
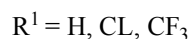


X

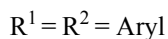
Interakci strukturálně podobných derivátů *N*-substituovaného 5-furfurylidenrhodaninu s aromatickou substitucí na furanovém jádře (**XI**) a (hetero)arylideniminothiazolidinonu (**XII**) s transpeptidasami a *in vitro* antibakteriální aktivitu proti některým grampozitivním a gramnegativním kmenům studovala Zervosen *et al.*¹¹⁷ Transpeptidasy, nazývané také PBPs (Penicillin-Binding Proteins), katalyzují poslední krok syntézy peptidoglykanu ve stěně některých bakterií. Inhibice transpeptidas specifickou tvorbou acylenzymu je typická především pro některá β -laktamová antibiotika.



XI

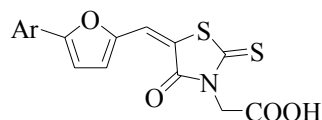


XII

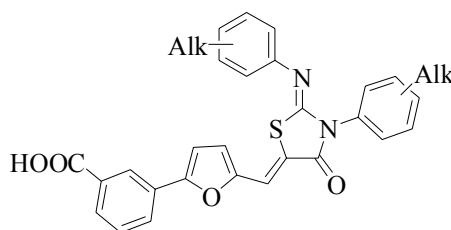


Některé sloučeniny vykazovaly srovnatelnou aktivitu proti některým grampozitivním a gramnegativním bakteriálním kmenům ve srovnání s ampicilinem nebo cefotaximem kromě kmenů *Streptococcus* spp. a *E. coli*. Naopak v případě methicilin-rezistentního kmene *Staphylococcus aureus* (MRSA) a vankomycin-rezistentního kmene *Enterococcus faecium* (VRE) byla účinnost všech připravených látek ve srovnání s kontrolami několikanásobně vyšší. Interakce připravených látek s PBP byla na několika typech PBP *in vitro* experimentálně hodnocena, avšak specifická inhibice prokázána nebyla.

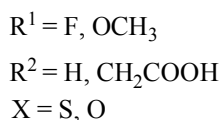
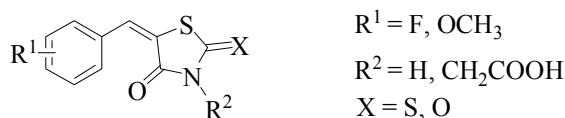
Zajímavé výsledky přinesla také studie některých 5-furfurylidenrhodaninoctových kyselin (**XIII**) na toxicitu, biodegradabilitu v plazmě, chemickou stabilitu a schopnost metabolizace v hepatocytech. Z hlediska tohoto potenciálu nebyla u testovaných sloučenin pozorovány výraznější toxicita, látky byly chemicky i v plazmě stabilní a měly velmi malý efekt v inhibici cytochromů P450s¹¹⁸.

**XIII**

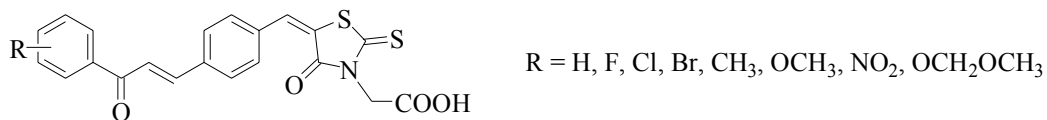
Bakteriostaticky účinné deriváty furfurylideniminothiazolidinonu nedávno připravil také Pan *et al.*¹¹⁹ Z připravených sloučenin byly účinné pouze deriváty nesoucí 3-karboxyfenyl v poloze 5 furanového kruhu (**XIV**). Esterifikace volné karboxylové skupiny vedla ke ztrátě účinnosti. Deriváty bez furanového kruhu nebyly účinné. Tuto závislost mezi strukturou a účinkem později potvrdil další studií, která mimo jiné prokázala nezbytnost karboxylu v *meta* poloze. Analog s karboxylem v *para* poloze byl 4× méně účinný¹²⁰.

**XIV**

Z dalších studií zabývající se syntézou a antibakteriálními vlastnostmi derivátů odvozených od benzylidenrhodaninu, resp. benzylidethiazolidin-2,4-onu (**XV**) je nutné zmínit práci Tomašiče *et al.*¹²¹ Slibnou účinnost proti *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 však měl pouze 2,3,4-trifluorderivátbenzylidenrhodaninu. Jeho methoxyanalog inhiboval růst bakterií při koncentraci 16× vyšší, záměna thioxoskupiny za karbonylovou v rhodaninovém kruhu měla na inhibici negativní vliv, stejně jako *N*-substituce kboxymethylovým zbytkem.

**XV**

Signifikantnějších výsledků v inhibici růstu *Staphylococcus* spp., včetně methicilin a chinolon-rezistentních kmenů (MRSA, QRSA) bylo dosaženo ve skupině derivátů benzylidenrhodaninoctových kyselin Chenem *et al.*¹²² (**XVI**).



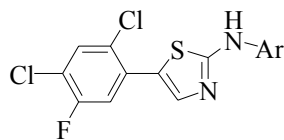
XVI

Mezi nejúčinnější patřily deriváty se substitucí dimethylem, methoxylem, halogenderiváty a nitroderivát. Míra inhibice růstu v případě MRSA byla srovnatelná s kontrolním norfloxacinem a 2× – 8× nižší v případě QRSA ve srovnání s oxacilinem.

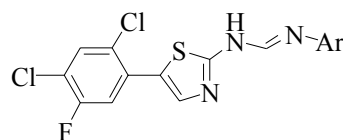
Vysoká antibakteriální aktivita proti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Bacillus subtilis* byla pozorována u výše uvedených nasycených thiazolových, resp. hydrazonothiazolových derivátů (**III**, **IV**, **V**). Připravené látky byly schopností inhibice růstu bakterií komparovány s ciprofloxacinem.

Na základě publikovaných výsledků lze napříč celou skupinou derivátů konstatovat srovnatelnou účinnost u všech bakteriálních kmenů. Vliv hydrazonové skupiny v molekule **IV** autoři blíže nekomentují a z dosažených víceméně konstantních hodnot inhibičních koncentrací neplyne signifikantní strukturní závislost.

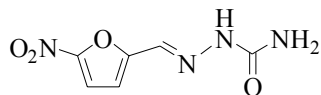
Holla *et al.* připravil sérii látek s obdobnou strukturou. Disubstituované deriváty 2-arylamino-5-fenylthiazolu (**XVII**) a 2-arylidenhydrazono-5-fenylthiazol (**XVIII**) byly podrobeny biologickému hodnocení proti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Klebsiella pneumoniae*. V *in vitro* testech byla u některých derivátů prokázána shodná účinnost s kontrolou, dnes spíše obsolétním topickým antibiotikem nitrofurazonem (**XIX**)¹²³.



XVII



XVIII



XIX

Biologická aktivita strukturně příbuzných derivátů (VI) připravených Amnerkarem a Bhusarim¹¹⁰ byla hodnocena proti *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* a *Bacillus subtilis*. Mezi nejúčinnější patřil halogenderivát ($R^1 = F$, $R^2 = Cl$) na benzothiazolovém a benzenovém kruhu proti *E. coli* a *P. aeruginosa* ve srovnání s ampicilinem a ciprofloxacinem. Inhibiční koncentrace byly $2\times - 3\times$ vyšší. V případě *S. aureus* a *B. subtilis* byla pozorována $3\times - 8\times$ vyšší koncentrace u nejúčinnějšího derivátu se substitucí fluorem na benzothiazolovém kruhu a methoxyfenylem než u ciprofloxacinu a ampicilinu. Schopnost inhibice růstu testovaných kmenů u ostatních derivátů se projevovovala řádově v inhibičních koncentracích $20\times - 40\times$ vyšších.

4.5.3. Antimykobakteriální vlastnosti derivátů thiazolu

Tuberkulostatické vlastnosti byly v *in vitro* testech rovněž pozorovány u některých derivátů thiazolu. Mechanismus účinku dle autorů spočíval v inhibici syntézy buněčné stěny *Mycobacterium tuberculosis*. Buněčnou stěnu mykobakterií tvoří mykolová kyselina, na kterou jsou na vnější straně navázány mastné kyseliny. Ve střední části buněčné membrány je mykolová kyselina esterifikována polymerizovaným arabinogalaktanem (AG) tvořeným z D-galaktofuranosylových a D-arabinofuranosylových zbytků. Ten je pak přes disacharid α -L-rhamnosyl-(1 \rightarrow 3)- α -D-N-acetyl-glukosaminosyl-1-fosfát se zbytkem muramové kyseliny spojen v peptidoglykan⁹⁰.

Biosyntéza deoxythymidin-difosfát-rhamnosy (dTDP- β -L-rhamnosa) je katalyzována čtyřmi enzymy (RmlA – RmlD), kdy substrát dTDP- β -L-rhamnosa přes několik mezikroků z výchozího α -D-glukosy-1-fosfátu (α -D-Glc-1-P). Rhamnosylové části (dTDP- β -L-rhamnosa) jsou substrátem enzymu rhamnosyltransferasy (kódované genem *wbbL*), který v procesu biosyntézy buněčné stěny inkorporuje dTDP-rhamnosu do arabinogalaktanu (schéma 1).

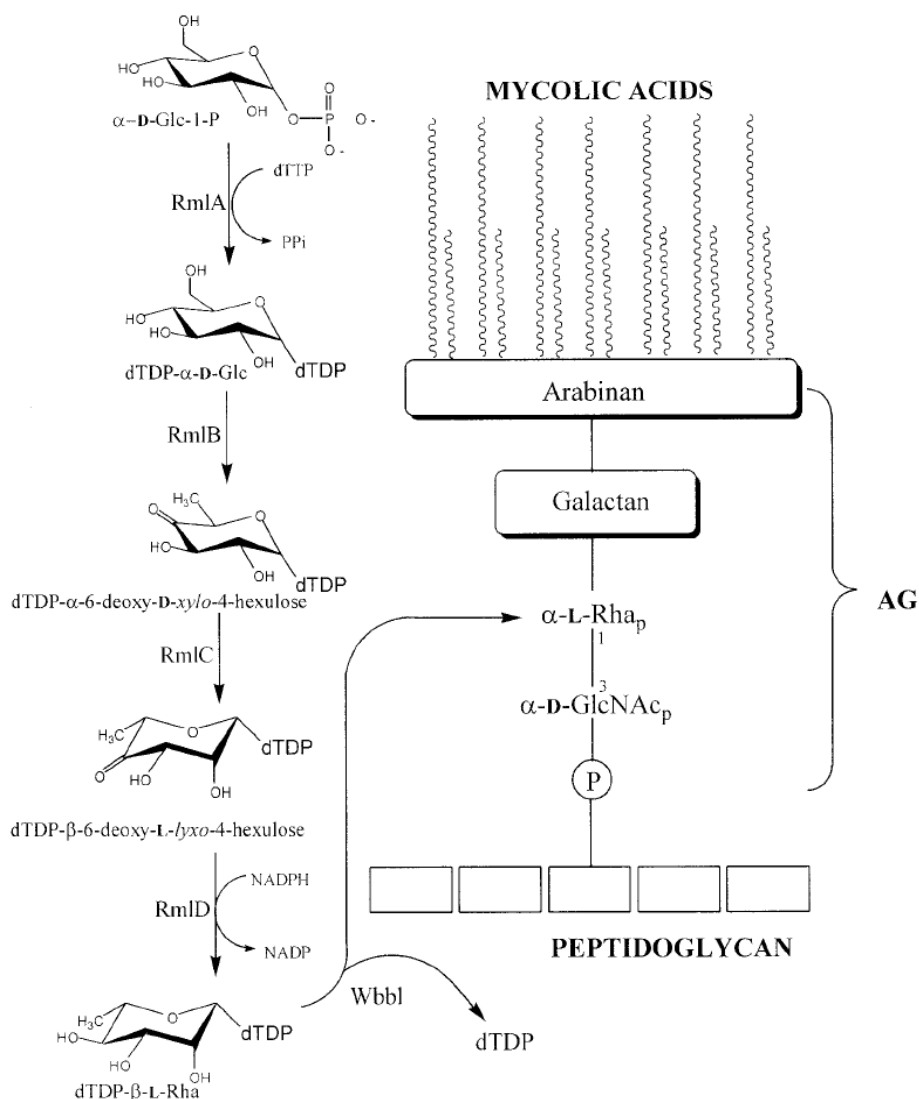
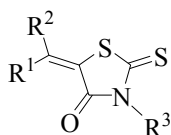


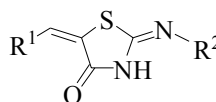
Schéma 1. Biosyntéza buněčné stěny *Mycobacterium tuberculosis* (převzato z lit.¹²⁴)

Schopnost inhibovat biosyntézu mykobakteriální stěny některých derivátů rhodaninu a iminothiazolidinonu byla specificky hodnocena na izolovaných enzimech RmlA, RmlB, RmlC a RmlD. Kromě toho byly látky testovány na kulturách *Mycobacterium tuberculosis*. Ve studii Maa *et al.*¹²⁴ se míra inhibice enzymů RmlB, RmlC a RmlD u strukturních typů (XX) a (XXI) pohybovala v rozmezí 80–97 %. Hodnoty minimálních inhibičních

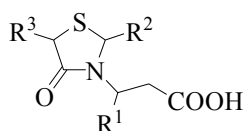
koncentrací v *in vitro* testech na *M. tuberculosis* však nedosahovaly tak uspokojivých hodnot. Ve studii thiazolidinonů (XXII) Baboglua *et al.*¹²⁵ se míra inhibice růstu *M. tuberculosis* pohybovala od 50 do 100 %, avšak při relativně vysokých hladinách koncentrace. Schopnost inhibice enzymů Rml byla prověřena pouze u dvou vybraných derivátů, nejvyšší hodnoty inhibice (70 %) bylo dosaženo v případě RmlD, enzymy RmlB a RmlC byly inhibovány přibližně z 50 %.



XX



XXI



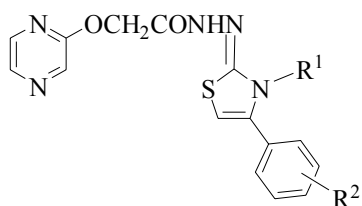
XXII

R¹ = alkyl, aryl, CH₂SCH₃

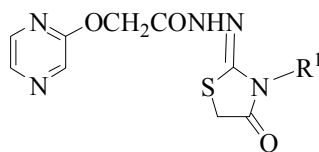
R² = aryl

R³ = H, CH₃

Bonde *et al.*¹²⁶ připravil početnou sérii derivátů thiazolinu a thiazolidinonu (XXIII, XXIV), kterou podrobil *in vitro* hodnocení proti *Mycobacterium tuberculosis*. Pozitivní kontrolou byl rifampicin a isoniazid. Aktivita připravených látek byla 20× – 100× nižší než u rifampicinu a mnohonásobně nižší, než u isoniazidu, avšak u jednoho derivátu (R¹ = 4-chlor-2-nitrofenyl, R² = 4-chlor) byla inhibiční koncentrace hodnocena po 14 dnech srovnatelná s rifampicinem.



XXIII



XXIV

R¹ = alkyl, aryl

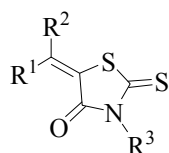
R² = H, F, Cl, Br, OH, CH₃

4.5.4. Antivirotické vlastnosti deriváty thiazolu

První zmínky o antivirotických vlastnostech derivátů thiazolu pocházejí ze 70. let 20. století. V hledáčku tehdejšího výzkumu se ocitl především rhodanin a jeho deriváty.

Eggers a jeho skupina se intenzivně zabývali studiem interakce mezi rhodaninem nebo jeho deriváty a s buněčnou stěnou echoviru 12^{127,128}. Účinnost derivátů rhodaninu na multiplikaci echoviru 12 však nedosáhla na rhodanin samotný, který v nejvyšší míře selektivně blokuje replikaci tím, že inhibuje uvolnění nukleových kyselin z proteinového pouzdra echoviru 12¹²⁹.

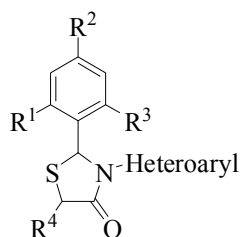
Významnější práce v oblasti výzkumu potenciálních antivirotik odvozených od thiazolu jsou datovány spíše do první dekády 21. století. V oblasti vývoje potenciálních virostatik odvozených od derivátů arylalkylidenrhodaninu (**XXV**) a thiazolidinonu (**XXVI**) proti hepatitidě vyvolané HCV (Hepatitis C Virus) byly publikovány výsledky inhibice virových proteas (NS3 a NS5B), jenž hrají důležitou roli v replikaci HCV.

**XXV**

R¹ = aryl, heteroaryl

R² = H, CH₃

R³ = vinyl, CH₂COOH, CH₂COOCH₃, aryl

**XXVI**

R¹ = R³ = H, F, Cl, Br

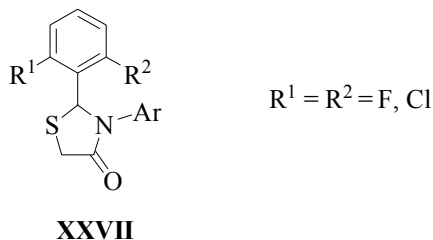
R² = H, F, N(CH₃)₂, heteroaryl

R⁴ = H, CH₃

Za středně aktivní (IC₅₀ = 15 – 71 μmol/l) se dají označit arylalkylidenrhodaninové deriváty¹³⁰. Slibné výsledky byly zaznamenány u některých derivátů thiazolidinonu. Některé deriváty s pyridinovou substitucí na thiazolidinovém jádře a halogen substitucí v aromatické části (IC₅₀ ≈ 32 μmol/l) překračovaly 95% inhibici HCV proteasy subtypu NS5B¹³¹.

Derivátům rhodaninu je věnována rovněž pozornost v oblasti výzkumu antivirotik proti viru lidské imunodeficiencie (HIV). Signifikantní účinnost derivátů 2,3-diarylthiazolidinonu (**XXVII**), jakožto nenukleosidových inhibitorů reverzní transkriptasy (NNRTIs – NonNucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors), byla pozorována proti HIV-1¹³². Potenciální antiretrovirotika tohoto typu byla hodnocena jak z hlediska účinnosti, tak cytotoxicity na MT-4 buňkách. Účinnost byla stanovena pomocí parametru EC₅₀, což je koncentrace, při které je dosaženo snížení HIV-1 indukovaného

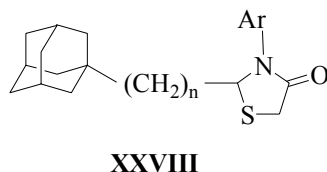
cytopatického efektu o 50 %. Cytotoxicita byla stanovena pomocí parametru CC_{50} , což je koncentrace, při které je 50% životaschopnost MT-4 buněk.



Hodnoty EC_{50} se nezdálo pohybovaly v nanomolárních koncentracích ($EC_{50} = 30 - 800$ nmol/l), přičemž hodnoty CC_{50} byly řádově na mikromolární úrovni ($CC_{50} = 30 - 70$ μ mol/l), což predikuje velice nízkou toxicitu. Z hlediska SAR byly účinnější deriváty v nesoucí pyridinylovou substituci na dusíku thiazolidinového kruhu. Nejlepších výsledků bylo navíc dosaženo, pokud poloha 6 pyridinového cyklu obsahovala methylovou skupinu, či atom bromu¹³².

Stejná pracovní skupina později publikovala výsledky antivirotického hodnocení dalších derivátů 2,3-diarylthiazolidinonu. Podobně, jako v předchozím případě byly neúčinnější deriváty obsahující 6-brompyridylový substituent, záměna za 6-methylpyrazinyl vedla spíše k poklesu účinnosti. Přestože se rozmezí hodnot inhibičních koncentrací mezi deriváty lišily v některých případech i stonásobně, diskuzí nad vztahem struktury a účinku se autoři studie blíže nezabývali¹³³.

Strukturně velmi podobná adamantyl analoga připravil Balzarini *et al.*, kdy substituent v poloze 3 thiazolidinového kruhu tvořily substituovaný fenyl, substituovaný pyridyl, substituovaný pyrimidinyl a dimethylaminoethyl (**XXVIII**).

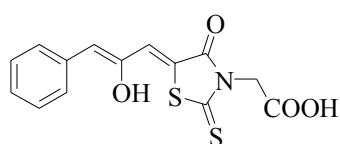


Všechny připravené látky byly podrobeny *in vitro* testování proti HIV-1 a HIV-2 na lidských T-lymfocytech, tzv. CEM buňkách. Nejvyšší schopnost potlačit cytopatický vliv HIV-1 byl pozorován u 4,6-dimethylpyrimidin-2-yl derivátu. Ve srovnání s kontrolním NNRTI nevirapinem byl tento efekt 5× nižší při dvakrát nižší toxicitě. U ostatních derivátů byla účinnost několikanásobně nižší, účinnější byly deriváty s methylenovým, nebo

ethylenovým můstkem mezi adamantanem a thiazolidinem. Podobná závislost byla pozorovatelná i u typu HIV-2¹³⁴.

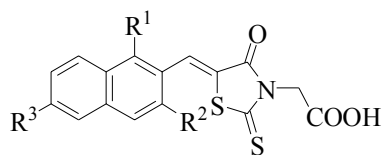
4.5.5. Antidiabetické vlastnosti derivátů thiazolu

Úspěch v experimentálních studiích a následně v klinické praxi zaznamenal například derivát rhodaninoctové kyseliny epalrestat (**XXIX**) jako inhibitor aldosa reduktasy v léčbě diabetických neuropatií objevený již v r. 1982¹³⁵.



XXIX

Vývojem inhibitorů aldosa reduktasy se později zabývali i další autoři. Fresneau *et al.* připravil sérii derivátů 2-[5-(naftalen-2-yl)methyliden]-4-oxo-2-thioxothiazolidin-3-yl)octové kyseliny (**XXX**) a 2-[5-(naftalen-2-yl)methyliden]-2,4-dioxothiazolidin-3-yl)octové kyseliny (**XXXI**), z nichž některé deriváty měly v *in vitro* testech srovnatelnou účinnost s epalrestatem. Schopnost inhibovat aldosa reduktasu byla v případě 2-oxoanalog několikanásobně nižší než u 2-thioxoanalog¹³⁶. Další 2-oxoanalogy byly připraveny Brunem *et al.* (**XXXII**), kdy některé připravené sloučeniny dosahovaly účinnosti aldosa reduktasového inhibitoru tolrestatu¹³⁷, který však později nebyl uznán ve stejné indikaci jako bezpečný, či účinný¹³⁸.

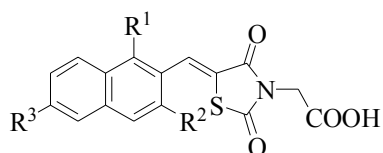


XXX

R¹ = H, Br, NO₂, OCH₃

R² = H, Br, Cl, OCH₃

R³ = H, OCH₃

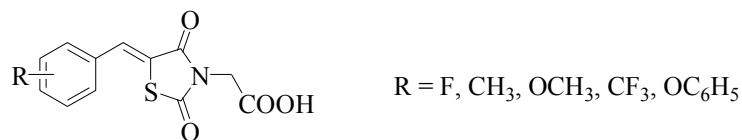


XXXI

R¹ = H, Br, NO₂, OCH₃

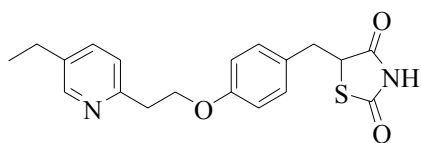
R² = H, Br, Cl, OCH₃

R³ = H, OCH₃

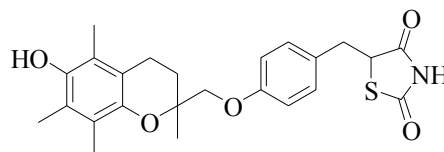


XXXII

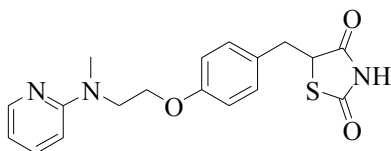
Další uplatnění našly deriváty 2,4-thiazolidindionu v oblasti léčby diabetu v roce 1996, kdy byl farmaceutickou společností Takeda uveden na japonský trh stimulátor uvolňování endogenního insulinu – pioglitazon (**XXXIII**) určený k léčbě insulin-rezistentního diabetes mellitus (DM) 2. typu. O rok později následoval troglitazon společnosti Sankyo (**XXXIV**), který se však dnes kvůli hepatotoxicitě nepoužívá¹³⁹. Posledním z derivátů 2,4 thiazolidindionu používaných k léčbě DM typu 2 – rosiglitazon (**XXXV**), vyvinutý společností GlaxoSmithKline a uvedený na trh v roce 2000, byl však v roce 2010 pro zvýšený výskyt srdečních záchvatů stažen z trhu¹⁴⁰. V současné době je analog 2,4-thiazolidindionu – englitazon (**XXXVI**) a další látky označené jako G1262570, JTT-501 a MCC-555 ve fázi klinického testování^{141,142}.



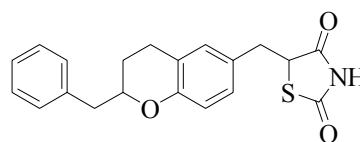
XXXIII



XXXIV



XXXV

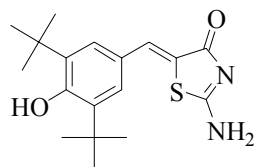


XXXVI

4.5.6. Protizánětlivé vlastnosti derivátů thiazolu

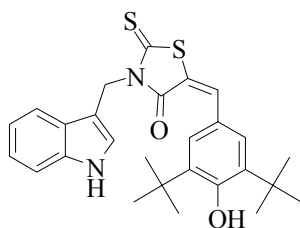
Do jiné terapeutické oblasti vysoce potentních biologicky aktivních derivátů thiazolu patří látka pod názvem darbufelon (**XXXVII**) jako neselektivní inhibitor cyklooxygenasy a 5-lipooxygenasy COX/5-LOX. Slibné výsledky klinického testování předurčily tuto molekulu jako potenciální léčivo v léčbě revmatoidní artritidy. Ve srovnání s klasickými NSAIDs (Non-Steroid Antiinflammatory Drugs) prokázala tato látka

v dosavadních klinických studiích superioritu¹⁴³. Z hlediska vztahu mezi aktivitou a strukturou (SAR) bylo zjištěno, že za protizánětlivý a antioxidační efekt darbufelonu je zodpovědné bis(*terc*-butyl)fenolové seskupení.

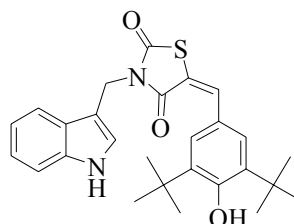


XXXVII

Do další skupiny látek nesoucí thiazolidinový kruh s vysokým potenciálem redukovat zánětlivé a edematózní procesy patří např. látky strukturně podobné darbufelonu s označením GS26 (XXXVIII) a GS28 (XXXIX), které v *in vivo* experimentálních modelech dosahovaly ve sledovaném parametru snížení otoku navozeného karagenanem nebo dextranem srovnatelné účinnosti s indometacinem¹⁴⁴.



XXXVIII

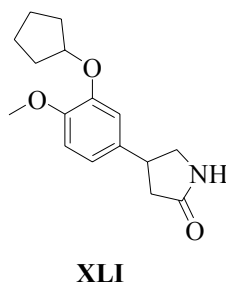
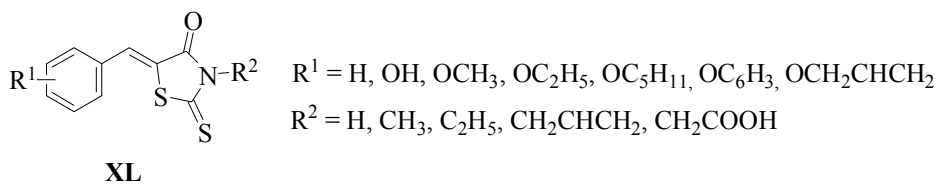


XXXIX

Protizánětlivé vlastnosti derivátů a 4-aryl-2-[2-(heteroarylalkyliden)hydrazinyl]thiazolu (VII) a 2-arylamino-5-fenylthiazolu (VIII) byly na myších s navozenou edematózní zánětlivou reakcí karagenanem hodnoceny oproti běžně používanému NSAD ibuprofenu. Některé deriváty byly ve schopnosti potlačit otok stejně účinné jako kontrola, některé dosahovaly srovnatelné účinnosti¹²³.

V oblasti protizánětlivých sloučenin zkoumaných jako potenciální antiastmatika a látky ovlivňující zánět v průběhu chronické obstrukční pulmomární nemoci (CHOPN) cestou inhibice fosfodiesterasy (PDE) byly vyvinuty deriváty benzylidenrhodaninu (XL) Irvinem *et al.*¹⁴⁵. Jednalo se převážně o di(tri)substituované alkoxyderiváty v aromatické části molekuly, v heterocyklické pak o *N*-substituci alkyly (methyl, ethyl alkyl), karboxymethylem nebo benzylem. Zatímco v případě subtypu PDE 3A látky buď nevykazovaly žádnou aktivitu, nebo hodnoty inhibiční koncentrace IC₅₀ několikanásobně převyšovaly kontrolu, v případě subtypu PDE 4B byla inhibice u některých látek

srovnatelná, nebo vyšší, než v případě kontroly – inhibitoru fosfodiesterasy 1. generace – rolipramu (**XLI**).



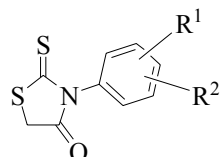
4.5.7. Vliv derivátů thiazolu na fotosyntézu (včetně herbicidní aktivity)

Herbicidy jsou látky, které ovlivňují růst rostlin. Specifické působení na procesy v rostlinách by mělo zaručovat vysoký bezpečnostní profil mezi savci a životním prostředím. Navzdory tomu jsou stále komerčně používané takové látky, které by byly k savcům dostatečně inertní. Vhodným cílem pro výzkum a vývoj herbicidů je snaha ovlivnění fotosyntetických procesů, které jsou pro zelené rostliny jedinečné. Zelené rostlinné pigmenty mají schopnost absorbované světlo svázaným systémem chloroplastů konvertovat na energii ve formě adenosintrifosfátu. Vliv na fotosystém II (PS II) je tak nadále důležitým cílem zásahu do procesů rostlinného růstu, o čemž svědčí i současné používání několika desítek herbicidních prostředků, jejichž mechanismus působení vyvstává právě z ovlivnění fotosyntézy.

Inhibitory elektronového transportu PS II se vážou na D1 protein reakčního centra PS II centra a tím blokují přenos elektronů na plastochinon, který se nalézá v thylakoidní membráně chloroplastů. Inhibice elektronového transportu zabraňuje konverzi absorbované světelné energie na energii elektrochemickou, čímž se modifikuje chlorofyl a zároveň produkuje singletový kyslík, který vyvolává peroxidaci membránových lipidů¹⁴⁶.

Interakci herbicidů s fotosyntetickým aparátem a model pro orientaci herbicidů v rámci třídimenzionální struktury jejich cíle - D1 proteinu PS II, popsal Draber *et al.*¹⁴⁷

Vliv derivátů thiazolu na fyziologii rostlin byl již v minulosti bohatě popsán¹⁴⁸. Jako potenciální herbicidy byly patentovány některé deriváty 5-arylalkylidenrhodaninu a 3-arylrhodaninu patentovány (XLII), 5-(5-barbituryliden)rhodanin inhiboval růst řas ve vodě při relativně nízkých koncentracích^{149,150,151}.

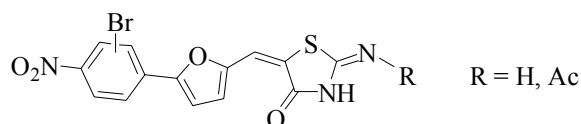


$R^1 = \text{H, F, Cl, CF}_3, \text{Br, OH, NO}_2, \text{Me, Et, Pro, Bu, C}_6\text{H}_5$

$R^2 = \text{H, F, Cl, CF}_3, \text{Br, Me, Et, OCH}_3$

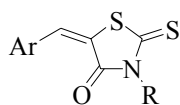
XLII

Herbicidní účinnost byla pozorována také u komplexů přechodných kovů s rhodaninem¹⁵². U derivátů arylalkylidenrhodaninu (XLIII) a iminothiazolidinonu (XLIV) byla prokázána schopnost inhibice enzymu diaminopimelát aminotransferasy LL-DAP-AT (schéma 2), který katalyzuje syntézu L-lysinu v rostlinách a bakteriích, ale nikoliv u savců, které získávají tuto esenciální aminokyselinu stravou. Specifické inhibitory tohoto enzymu by tak mohly potenciálně sloužit jako pro savce netoxické herbicidy nebo antibiotika¹⁵³.



$R = \text{H, Ac}$

XLIII



$R = \text{H, Et, NH}_2, \text{NHAc}$

XLIV

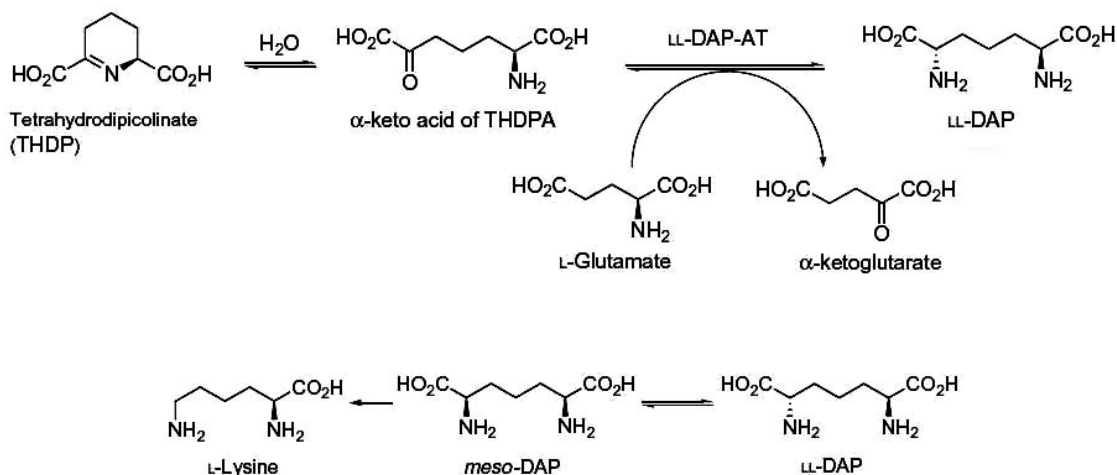
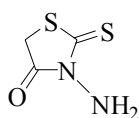


Schéma 2. Biosyntéza L-Lysinu v rostlinách a chlamydiích (převzato z lit.¹⁵³)

Muro *et al.* sledoval schopnost ovlivňovat růst rostlinných druhů *Scenedesmus acutus* a *Marchantia polymorpha* L. v přítomnosti rhodaninu. Inhibice růstu a degradace chlorofylu byla u rhodaninu pozorována při velmi nízké koncentraci (1 mmol/l)¹⁵⁴. V jiné studii rhodanin a rhodaninoctová kyselina silně inhibovaly růst *Daucus carota* L., var. *sativa* DC. při koncentraci 30 nmol/l. Obě sloučeniny také inhibovaly klíčení semen *Daucus carota* L., var. *sativa* DC. a *Sesamum indicum* při koncentraci 1 mmol/l. Syntéza chlorofylu uvnitř kotyledonu *Brassica rapa* L. byla silně inhibována v přítomnosti rhodaninu při koncentraci 300 nmol/l¹⁵⁵. Podobné výsledky míry ovlivnění růstu zelených rostlin byly později pozorovány s *N*-aminorhodaninem (XLV)^{156,157}. Přítomnost volné aminoskupiny na dusíku byla pro vyšší inhibiční aktivity nezbytná. *N*-methylderivát, nebo acetylace volné aminoskupiny vedla ke snížené schopnosti inhibice růstu.



XLV

5. METODICKÁ ČÁST

5.1. Metody přípravy 5-substituovaného pyrazinkarbonitrilu

Pyrazinkarbonitril a jeho 5-substituované deriváty se staly jedním ze základních strukturálních prvků cílových sloučenin. Metodika této části je proto zaměřena především na možnosti přípravy 5-substituovaných analog pyrazinkarbonitrilu.

Pyrazinový skelet, jakožto elektron-deficientní heteroaromát, je inertní k elektrofilní substituci. Vhodnou metodou substituce, jenž byla použita i v této práci je homolytická alkylace¹⁵⁸. Výchozí látkou pro substituční alkylační reakce byl komerčně dostupný pyrazinkarbonitril. 5-substituované deriváty byly připraveny metodou homolytické alkylace postupem dříve vypracovaným na Katedře farmaceutické chemie (schéma 3)^{159,160,161,162,163,164,165,166}. Během reakce vzniká alkylující radikál dekarboxylací karboxylové kyseliny za přítomnosti peroxodisíranu amonného a dusičnanu stříbrného (schéma 4). Substituce probíhá přednostně do polohy 5 pyrazinového jádra díky zápornému mezomernímu efektu nitrilové skupiny^{167,168}. Substituce může rovněž v závislosti na charakteru heteroaromatického jádra, reakčních podmínkách a velikosti substituentu probíhat i do dalších poloh. Vznikat tak mohou disubstituované i trisubstituované deriváty. V případě, že by heteroaromatický kruh nesl substituent s kladným mezomerním efektem, substituce by pravděpodobně probíhala do polohy 3¹⁶⁸.

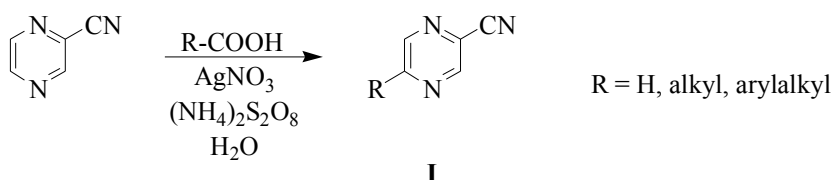


Schéma 3. Obecná příprava 5-alkylsubstituovaného pyrazinkarbonitrilu

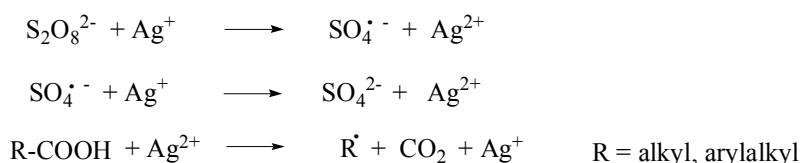


Schéma 4. Mechanismus vzniku alkylového radikálu z karboxylové kyseliny

Schimizu *et al.*¹⁶⁹ dříve popsal přípravu 5-substituovaného pyrazinkarbonitrilu přímou amoxidací 2,5-dimethylpyrazinu v přítomnosti katalyzátoru tvořeném z paramolybdenátu amonného a dusičnanu čeritého v prostředí kyseliny dusičné. Složení katalyzátoru

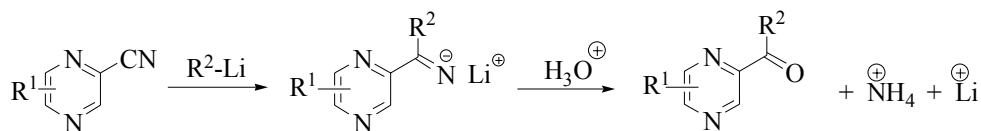
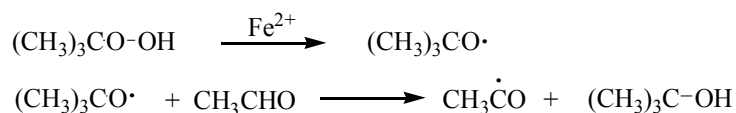
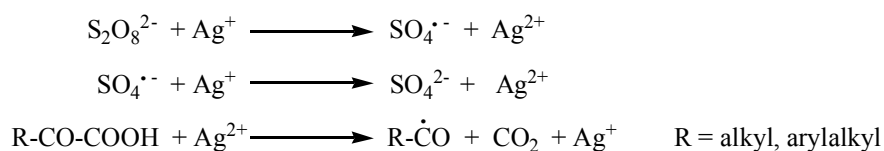
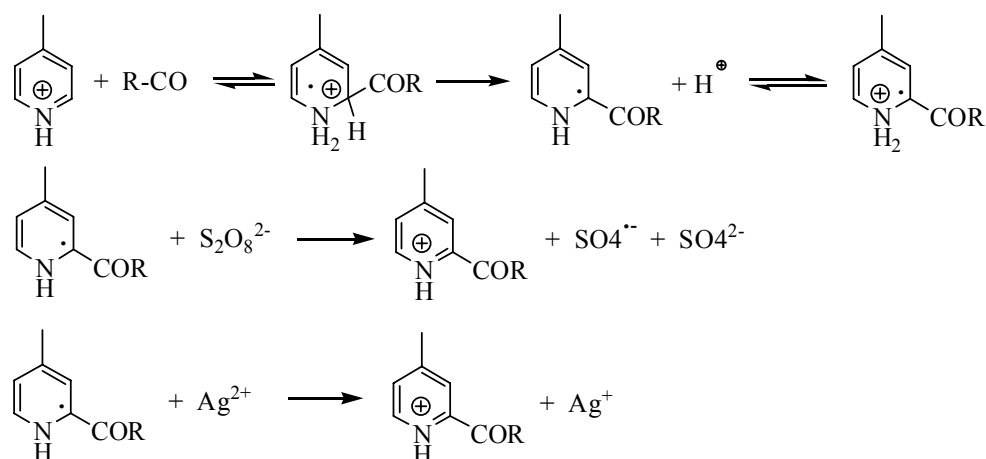


Schéma 6. Obecný mechanismus reakce organolitných sloučenin s nitrily

Heteroaromatické jádro pyrazinu, resp. substituovaného pyrazin lze také úspěšně substituovat homolytickou acetylací (tzv. Minisciho reakce)^{174,175,176}. Acylující radikál vznikne buď oxidací aldehydu v prostředí redoxního systému tvořeného *tert.*-butylhydroperoxidem a síranem železnatým (schéma 7)^{177,178}, nebo dekarboxylací α -ketokyseliny pomocí peroxodisíranu amonného a dusičnanu stříbrného podobně jako v případě dekarboxylace karboxylových kyselin popsáné výše (schéma 4)^{177,178,179}. Reakce se na rozdíl od homolytické alkylace musí provádět za mírnějších podmínek (nižší teplota), neboť hrozí dekarboxylace acylového radikálu R-CO \cdot) díky rychlejší oxidaci α -ketokyseliny. Vznik vedlejších produktů – alkylovaných derivátů heteroaromatického kruhu je však při této reakci nevyhnutelný. Regioselektce acylace pyrazinového skeletu je dále závislá na charakteru substituentu. Heterocykl nesoucí substituent se záporným mezomerním efektem je substituován přednostně do polohy 5, v opačném případě do sousední polohy¹⁶⁸ tohoto substituentu, shodně, jako v případě homolytické alkylace. Mechanismus homolytické acylace popsal Fontana *et al.* na pyridinovém jádře (schéma 9)¹⁷⁹.

Schéma 7. Vznik acylového radikálu z acetaldehydu (převzato z lit.¹⁷⁴)Schéma 8. Vznik acylového radikálu z α -ketokyseliny (převzato z lit.¹⁷⁹)

Schéma 9. Mechanismus acylace heteroaromatického jádra (převzato z lit.¹⁷⁹)

5.3. Metody přípravy pyrazinkarbaldehydu

Přímá jednostupňová příprava pyrazinaldehydu z pyrazinkarbonitrilu nebyla dosud popsána. Pyrazinkarbaldehyd lze získat třístupňovou syntézou z pyrazinkarboxylové kyseliny. V prvním kroku vzniká esterifikací methanolem methylester kyseliny pyrazinkarboxylové, který je v dalším kroku redukován ve vodném prostředí pomocí tetrahydroborátu sodného na 2-hydroxymethylpyrazin. Posledním krokem je parciální oxidace primárního alkoholu v ultrazvukové lázni za přítomnosti oxidu manganičitého v acetonu (schéma 10)^{180,181}.

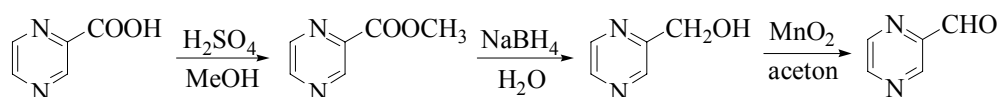


Schéma 10. Reakční schéma syntézy pyrazinkarbaldehydu.

Jiný způsob parciální oxidace primárního alkoholu popsali Nowak, Ligiero nebo Gopalakrishnan *et al.*, kdy byl pro redukci methylesteru použit LiAlH_4 v bezvodém THF při nízkých teplotách (kolem -80°C)^{182,183,184}.

Jednou z možností přímého získání pyrazinkarbaldehydu z pyrazinkarbonitrilu by mohla být redukce nitrilové skupiny za pomoci kovů (Sn^{2+} , Raneyův nikl). V první polovině 20. století byla Henry Stephenem popsána příprava aldehydu z nitrilu známá jako Stephenova syntéza aldehydů (schéma 11). Substrátem pro reakci byly alifatické nebo aromatické nitrily. Reakce probíhá v kyselém prostředí v přítomnosti chloridu cínatého podle

schématu 8. Později byla provedena reakce, kdy výchozím nitrilem byl 3-kyanopyridin¹⁸⁵. Backeberg *et al.* popsal redukci některých aromatických nitrilů Raneyovým niklem¹⁸⁶. Z heteroaromatických nitrilů byla dále popsána přímá redukce např. u pyridinu pomocí DIBAL-H (diisobutylaluminium-hydrid) v mikrovlnném reaktoru nebo za pomoci paladia jako katalytického hydrogenačního činidla^{187,188}.

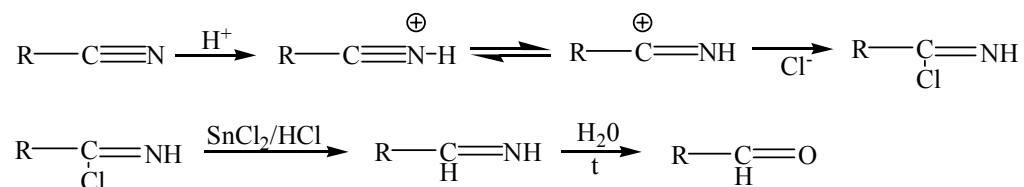
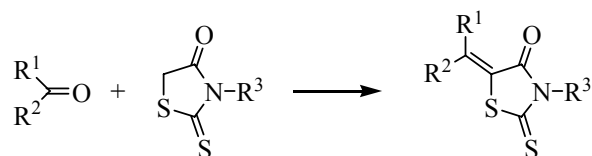


Schéma 11. Stephenova syntéza aldehydů (převzato z lit.¹⁸⁹)

5.4. Metody přípravy 5-arylalkylidenrhodaninů

Tato část metodiky je věnována kondenzačním produktům aldehydů/ketonů s rhodaninem, resp. *N*-substituovaným rhodaninem, jako finálními látkami s potenciální antimikrobní aktivitou. Rhodanin (2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-on), připravený již v roce 1877 Nenckim¹⁹⁰ a jeho *N*-substituované deriváty jsou velmi reaktivní molekuly, které nabízejí celou řadu reakcí. Vedle substitučních reakcí na jádře (především *N*-substituce – alkylace¹⁹¹, Mannichovy baze¹⁹²) mají největší význam kondenzační reakce s karbonylovými sloučeninami díky aktivní methylenové skupině v poloze 5. Ochtně podléhají kondenzaci se všemi aromatickými, alifatickými i nenasycenými aldehydy. Reakce s ketony probíhají obtížněji (schéma 12.)¹⁹³.



R¹ = H, CH₃

R² = fenylyl, subst. fenylyl, pyridyl, pyrazinyl, 5-subst. pyrazinyl

R³ = H, CH₂CH₂OH, CH₂COOH

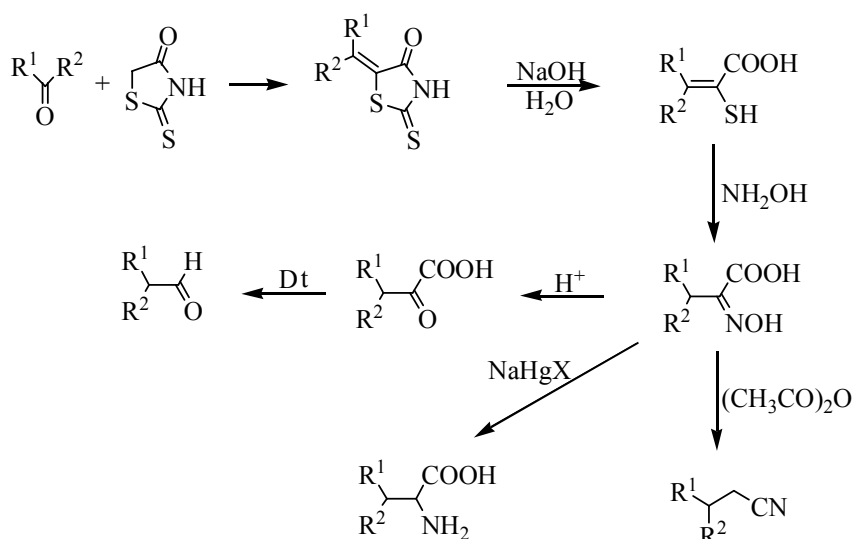
Schéma 12. Kondenzace rhodaninu a *N*-substituovaných rhodaninů s karbonylovými sloučeninami

Rhodanin jako substrát kondenzačních reakcí lze snadno získat reakcí chloroctanu sodného s dithiokarbamátem amonným připraveným z amoniaku a sirouhlíku (schéma 13.)¹⁹⁴.

Schéma 13. Elementární příprava rhodaninu (převzato z lit.¹⁹⁴)

Vlastní reakce aldehydů/ketonů s rhodaninem probíhá buď v slabě alkalickém prostředí Knoevenagelovým mechanismem¹⁹⁵, katalyzována směsí chloridu amonného ve vodně-alkoholickém roztoku, nebo v kyselém prostředí, kdy je reakce katalyzována ekvimolárním množstvím octanu sodného a acetanhydridu v prostředí ledové kyseliny octové. První způsob je šetrnější a osvědčil se zejména při přípravě kondenzačních produktů z ketonů^{193,196}. Kyselě katalyzovou reakcí byly výhradně připraveny cílové látky **3a** – **3ch**. V ostatních případech byl aplikován první zmíněný postup.

Kondenzace karbonylových sloučenin s rhodaninem je dnes současně označována jako Gränacherova syntéza, kterou již v r. 1922 popsal Gränacher¹⁹⁷ a kterou lze mimo jiné využít k přípravě homologických aldehydů, nitrilů, aminokyselin a ketokyselin (schéma 14.).

Schéma 14. Gränacherova syntéza (převzato z lit.¹⁹³)

5.5. Metody přípravy thiosemikarbazonů

Thiosemikarbazony, jako meziprodukty finálních látek **5a** – **5l** byly získány nukleofilní adicí thiosemikarbazidu na příslušný aldehyd nebo keton. Adice nukleofilního činidla na karbonyl je obecně znázorněna ve schématu 15.

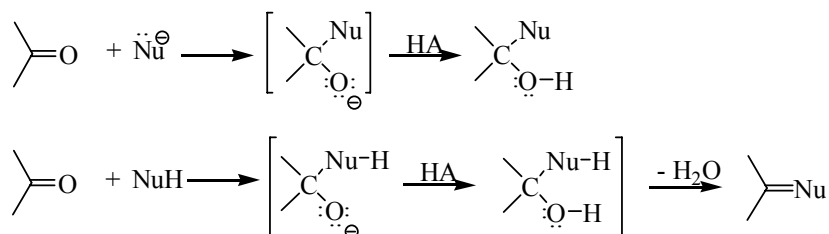


Schéma 15. Nukleofilní adice na karbonyl (převzato z lit.¹⁹⁸)

Reakce se však nezastaví ve stádiu primárního aduktu, ale následuje přenos protonu z rozpouštědla a případně eliminace vody (podle reakčních podmínek, struktury substrátu a nukleofilu)¹⁹⁹. Způsob adice thiosemikarbazidu na příslušný aldehyd/keton je znázorněn schématem 16.

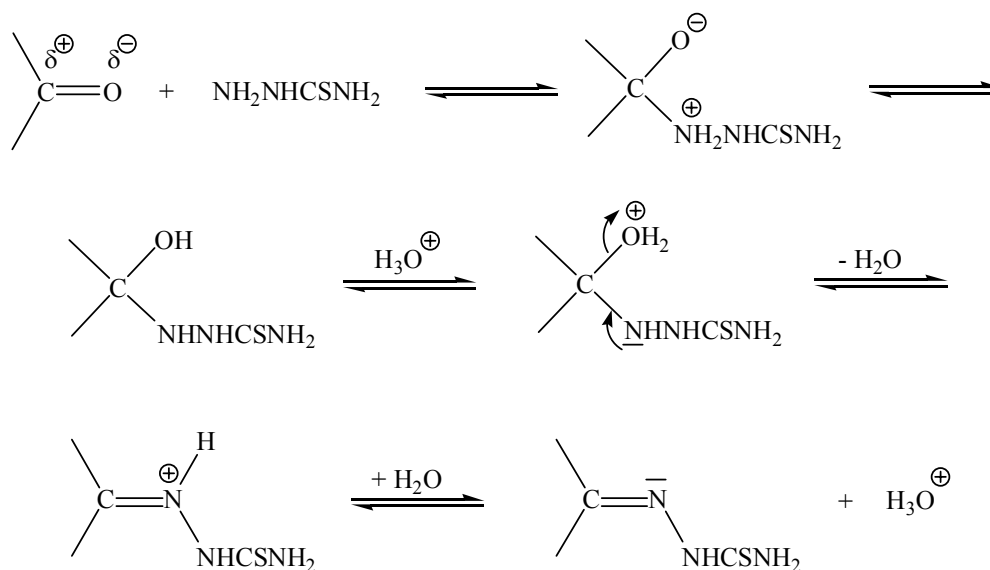


Schéma 16. Adice thiosemikarbazidu na karbonylovou funkční skupinu (převzato z lit.²⁰⁰)

δNukleofilní adice mohou být kyselce i bazicky katalyzovány. Metodou kyselé katalýzy vzniká reaktivnější konjugovaná kyselina substrátu. Při této reakci je důležité volit reakční podmínky tak, aby byl nukleofil v dostatečném množství v reakční směsi, neboť rovněž podléhá v kyselém prostředí protonaci. V situaci, kdy je reakce katalyzována bazicky, nukleofil se mění na reaktivnější konjugovanou bázi (schéma 17.).

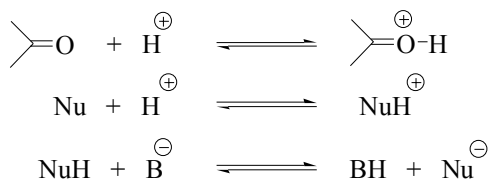


Schéma 17. Vznik konjugátu substrátu v kyselém prostředí, protonace nukleofilního činidla, vznik konjugované báze v bazickém prostředí

5.6. Metody cyklizace thiosemikarbazonů

Thiosemikarbazony jsou *N,S*-nukleofily a mohou být použity přípravě derivátů thiazolidin-4-onu nebo pseudothiohydantoinů. Cyklizace thiosemikarbazonů může být provedena několika způsoby např. s α -halogenkyselinami, maleinanhydridem, maleinimidy či s aroylakrylovými kyselinami (schéma 18.)^{201,202,203}. V této práci byla pro cyklizaci použita kyselina chloroctová s přidavkem chloroctanu sodného v ethanolu.

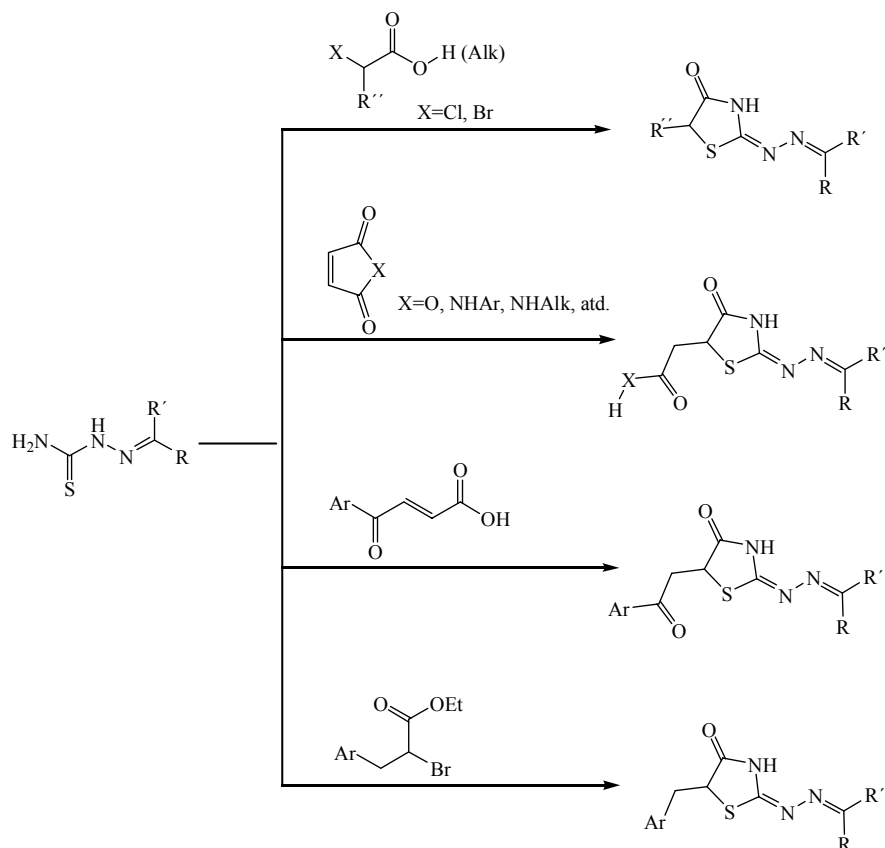


Schéma 18. Možnosti cyklizace thiosemikarbazonů (převzato z lit.²⁰¹)

6. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

6.1. Chemikálie a reagensie

Pro syntetické postupy byly použity komerčně dostupné substance:

- pyridin-2-karbaldehyd, 99% (Aldrich)
- pyridin-3-karbaldehyd, 98% (Aldrich)
- pyridin-4-karbaldehyd, 97% (Aldrich)
- (4-oxo-2-thioxothiazolidin-3-yl)octová kyselina, purum (Fluka)
- thiosemikarbazid, purum (Fluka)
- chloroctová kyselina, purum (Fluka)
- pyrazinkarboxylová kyselina, 99% (Fluka)
- tetrahydroborat sodný, purum p. a. (Fluka)
- oxid mangančitý, srážený, aktivní pro syntézu (Merck)
- pyrazinkarbonitril, 99% (Aldrich)
- anhydrid kyseliny maleinové, puriss. (Fluka)
- 4-dimethylaminobenzaldehyd, p. a. (Lachema Brno)
- 2,4-dihydroxybenzaldehyd, 98 % (Avocado)
- 4-chlorbenzaldehyd, purum (Fluka)
- 2-brombenzaldehyd
- 3-brombenzaldehyd
- 2-chlorbenzaldehyd
- 3-chlorbenzaldehyd
- 2-fluorbenzaldehyd
- 3-fluorbenzaldehyd
- 4-fluorbenzaldehyd
- furan-2-karboxaldehyd
- 2-nitrobenzaldehyd (Loba-Chemie)
- 3-nitrobenzaldehyd (Fluka)
- 4-nitrobenzaldehyd (Lachema)
- vanilin BP 80 (Zdravotnické zásobování)
- benzaldehyd, čistý (VEB Laborchemie)
- salicylaldehyd, p. a. (Reachim)
- 3-hydroxybenzaldehyd pro syntézu (Merck)
- 4-hydroxybenzaldehyd pro syntézu (Merck)
- rhodanin, puriss. p. a. (Fluka)
- 4-dimethylaminobenzaldehyd, p. a. (Lachema Brno)
- 2,4-dihydroxybenzaldehyd, 98% (Avocado)
- 4-chlorbenzaldehyd, purum (Fluka)
- 2-methoxybenzaldehyd, purum (Fluka)
- 3-methoxybenzaldehyd (Sigma)
- 4-methoxybenzaldehyd, purum (Fluka)
- 2-brombenzaldehyd, purum (Fluka)
- methanol
- ethanol, (bezv.)
- ethanolamin
- sirouhlík

- acethanhydrid
- kyselina octová, konc.
- kyselina sírová, konc.
- kyselina chlorovodíková
- chloroetan sodný
- peroxidisíran amonný
- hydrogenuhličitan sodný
- síran sodný, bezvodý
- diethylether
- ethyl-acetát
- lékařský benzín
- toluen
- aceton
- chloroform
- hydroxid sodný

6.2. Postupy přípravy meziproduktů a finálních produktů

6.2.1. Příprava pyrazinkarbaldehydu (viz schéma 10)

Esterifikace pyrazinkarboxylové kyseliny

Směs 0,1 mol pyrazinkarboxylové kyseliny, 50 ml methanolu a 0,3 ml koncentrované kyseliny sírové byla zahřívána do varu po dobu 6 hodin. Po ochlazení byla zneutralizována pevným hydrogenuhličitanem sodným a zfiltrována. Z filtrátu byl oddestilován methanol na vakuové odparce. Výtěžnost reakce se pohybovala kolem 95 %. Totožnost produktu byla ověřena pomocí TLC (soustava benzín + ethylacetát 1:1, v/v), jako standard byl použit dříve připravený methylester kyseliny pyrazinkarboxylové.

Redukce methylesteru kyseliny pyrazinkarboxylové tetrahydroboratem sodným

Směs 0,1 mol methylesteru kyseliny pyrazinkarboxylové a 0,5 mol tetrahydroboratu sodného ve 250 ml vody byla míchána 3 hodiny při laboratorní teplotě. Ke směsi bylo přidáno 150 ml ethanolu a takové množství uhličitanu draselného, aby se oddělily dvě fáze. Poté byla směs kontinuálně extrahována ethylacetátem. Směs výchozí látky a produktu byla rozdělena pomocí sloupcové chromatografie (soustava toluen + aceton, 1:1, v/v). Výtěžnost reakce se pohybovala kolem 90 %.

Oxidace pyrazin-2-ylmethanolu aktivním MnO₂

Směs 0,028 mol 2-hydroxymethylpyrazinu, 150 ml acetonu a 15 g MnO₂ se ponechala reagovat v ultrazvukové lázni za laboratorní teploty po dobu 4 hodin. Poté byl MnO₂ odfiltrován a filtr byl důkladně promyt acetonem. Z filtrátu se oddestiloval aceton na vakuové odparce a odparek obsahující směs pyrazinkarbaldehydu a nezreagovaného 2-hydroxymethylpyrazinu byl rozdělen chromatograficky (soustava benzín + ethylacetát, 3:2, v/v). Výtěžnost reakce se pohybovala kolem 40 %.

6.2.2. Příprava 5-substituovaných pyrazinkarbonitrilů (viz schéma 3)

K 0,1 mol pyrazinkarbonitrilu bylo přidáno 300 ml destilované vody zahřáté na 80 °C. Poté bylo přidáno 0,01 mol dusičnanu stříbrného a 0,1 mol příslušné karboxylové kyseliny. Za stálého míchání byl 30 minut přikapáván roztok 0,11 mol peroxidisíranu amonného v 70 ml destilované vody. Směs byla ponechána za stálého míchání ještě dalších 30 minut. Teplota celé reakce byla udržována v rozmezí 75 – 80 °C. Po zchladnutí bylo upraveno pH na hodnotu 9, 10% roztokem hydroxidu sodného. Následně byla směs kontinuálně extrahována etherem. V dalším kroku byla etherová vrstva vysušena bezvodým síranem sodným. Po odfiltrování sušidla a odpaření rozpouštědla byla směs podrobena dělení sloupcovou chromatografií. Jako adsorbent byl použit Silikagel Fluka 60 (0,063 – 0,2 mm), 500 g, mobilní fázi tvořila směs benzín + ethyl-acetát (8:2, v/v). Výtěžnost reakce se pohybovala od 40 do 70 % v závislosti na použité karboxylové kyselině. Totožnost a čistota meziproductů byla ověřena pomocí tenkovrstvé chromatografie TLC.

6.2.3. Příprava 5-(substituovaných) 2-acetylpyrazinů (viz schéma 5)

K 0,114 mol methylmagnesiumjodidu v 75 ml bezvodého etheru se po kapkách přidalo 0,0682 mol odpovídajícího pyrazinkarbonitrilu ve 30 ml bezvodého etheru v průběhu 30 – 45 minut. Po celou dobu byla reakce chlazená ledem a solí a udržována pod 0 °C. Po skončení reakce se směs při této teplotě nechala ještě hodinu míchat. Následně byla reakční směs vylita na drcený led a bylo přidáno 19 ml zředěné kyseliny chlorovodíkové (1:1, v/v), přičemž bylo dbáno na to, aby teplota nepřesáhla 10 °C. Poté byla směs 5 – 10 hod. kontinuálně extrahována etherem. Po skončení extrakce byla

etherová vrstva oddělena, vysušena bezvodým síranem sodným a následně zfiltrována. Produkt byl odpařen do sucha a čištěn destilací. Totožnost a čistota připravených látek byla ověřena pomocí teploty varu a tenkovrstvé chromatografie TLC.

6.2.4. Příprava 3-(2-hydroxyethyl)rhodaninu

3-(2-hydroxyethyl)rhodanin (*N*-hydroxyethylrhodanin), jako surovina pro syntézu kondenzačních produktů *N*-substituovaného rhodaninu s aldehydy a ketony (4a - 4j), byl připraven podle dříve publikovaného postupu z 2-aminoethanolu, sirouhlíku a chloracetátu sodného²⁰⁴.

Do ochlazeného roztoku 0,01 mol 2-aminoethanolu v 10 ml bezvodého ethanolu byl po kapkách za stálého míchání přidán roztok 0,04 mol sirouhlíku v 8 ml etheru. Reakční směs chlazená ledem a solí byla ponechána další 3 hodiny za stálého míchání. Poté byla směs míchána dalších 30 minut při laboratorní teplotě. Spodní žlutozelená vrstva reakční směsi byla oddělena, ochlazená v ledové lázni a za stálého míchání k ní byl přikapáván vychlazený roztok 0,027 mol chloracetátu sodného v 6 ml vody po dobu 150 minut. Roztok byl ponechán za stálého míchání při laboratorní teplotě dalších 30 minut a poté byl postupně přidán k 6M kyselině chlorovodíkové přivedené k varu. Finální produkt vznikl ochlazením směsi jako žlutý olej, který byl extrahován do chloroformu. Extrakt byl sušen bezvodým síranem sodným. Po oddestilování chloroformu byl získán čistý produkt jako žlutý olej. Výtěžnost reakce se pohybovala kolem 80 %.

6.2.5. Postup přípravy derivátů 5-(1-arylalkylidene)rhodaninu (1a – 1z, 2a - 2g, 4a – 4j) (viz schéma 12)

Směs ekvimolárního množství aldehydu/ketonu a rhodaninu, resp. *N*-hydroxyethylrhodaninu (0,015 mol), koncentrovaného vodného roztoku amoniaku (1,1 ml) a ethanolu (15 ml) byla pod zpětným chladičem přivedena k varu. K čiré vroucí směsi byl přidán roztok chloridu amonného (1,0 g) ve 2 ml destilované vody zahřátý na teplotu 80 °C. Směs byla ponechána za varu pod zpětným chladičem další 2 hodiny v případě, kdy byl jako reagent použit aldehyd, nebo 5 hodin v případě ketonu. Poté byla směs ochlazená a vyloučená pevná látka odfiltrována a několikrát promyta vodným ethanolem (1:1, v/v; cca 50 ml). Finální produkt byl přečištěn krystalizací z bezvodého ethanolu.

6.2.6. Přípravy 5-(1-arylalkyliden)rhodaninoctové kyseliny (3a - 3ch) (viz schéma 12)

Ke směsi ekvimolárního množství aldehydu/ketonu (0,015 mol) rozpuštěného v ledové kyselině octové bylo přidáno ekvimolární množství octanu sodného a acetanhydridu. Reakční směs byla pod zpětným chladičem zahřívána k varu po dobu 3 hodin. Po zchladnutí byly vyloučené krystaly zfiltrány a několikrát promyty destilovanou vodou (cca 50 ml) a následně vodným ethanolem (1:1, v/v, cca 50 ml). Finální produkt byl přečištěn krystalizací z koncentrované kyseliny octové.

6.2.7. Příprava thiosemikarbazonů (viz schéma 16)

K 0,01 mol 5-substituovaného acetylpyrazinu připraveného podle postupu uvedeného v bodě 6.2.3. bylo přidáno ekvimolární množství thiosemikarbazidu rozpuštěného ve 12 ml methanolu. K této směsi byly přidány 3 – 4 kapky konc. kyseliny octové. Směs byla zahřívána za varu 4 hodiny. Vyloučené krystaly byly promyty vodou a následně vodným ethanolem (1:1, v/v, 50 ml). Produkty byly čištěny krystalizací z ethanolu. Výtěžnost reakce se pohybovala v rozmezí od 60 % do 70 %.

6.2.8. Cyklizace thiosemikarbazonů (viz schéma 18)

K 7 mmol thiosemikarbazonu připraveného dle postupu uvedeného v bodě 6.2.7. bylo přidáno 1,5 násobné ekvimolární množství kyseliny chloroctové a 8 ml 1,5% (w/w) roztoku acetátu odného rozpuštěného v ethanolu. Směs byla zahřívána k varu po dobu 10 hodin. Vyloučené krystaly byly promyty vodou a následně vodným ethanolem (1:1, v/v, 50 ml). Produkty byly čištěny krystalizací z ethanolu. Výtěžnost reakce se pohybovala v rozmezí od 35 % do 55 %.

6.3. Instrumentální metody

Sloupcové chromatografie byly prováděny za použití silikagelu 60 Fluka (0,063 - 0,2 mm), případně Kiesegelu 60 (0,040 – 0,063 mm), Merck. Mobilní fázi pro dělení meziproductů tvořila směs benzin + ethyl-acetát (8:2, 6:4, 1:1). TLC chromatografie byla prováděna na hliníkových deskách TLC Alufolien, Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck).

Vzorky látek pro analýzu byly sušeny 24 hodin v exsikátoru nad oxidem fosforečným při tlaku 1,33 kPa.

Teploty tání byly stanoveny na mikrovýhřevném bloku Bötia a pomocí přístroje Start Termoblock SMP30 (Start Scientific, GB) a nebyly korigovány.

Elementární analýzy byly provedeny na analyzátoru EA 1110 CHNS firmy Carlo Erba.

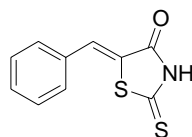
IČ analýza byla provedena na spektrofotometru NICOLET 6700 metodou ATR. Vlnočty jsou uváděny v cm^{-1} .

^1H NMR a ^{13}C NMR spektra byla měřena na přístroji VARIAN Mercury-V_xBB 300 v DMSO-*d*₆. Chemické posuny jsou uvedeny jako hodnoty δ v ppm a jsou nepřímo vztaženy k tetramethylsilanu (TMS) za použití signálu rozpouštědla (2,49 pro ^1H a 39,7 pro ^{13}C v DMSO-*d*₆). Interakční konstanty J jsou uvedeny v Hz.

Experimentální stanovení lipofility a UV spekter (λ , nm) bylo provedeno na HPLC („High-performance liquid chromatography“) separačním modulu Waters Alliance 2695 XE s chromatografickým softwarem Millennium³²® Chromatography Manager Software, Waters 2004 na koloně Symmetry® C₁₈ 5 μm , 4,6 \times 250 mm. Mobilní fázi tvořila směs methanol + voda 70:30 (v/v), průtok 0,9 ml/min, nástřik 30 μl , teplota kolony 30 °C, teplota vzorku 10 °C. Detekce byla provedena pomocí Waters Photodiode Array Detector 2996 (Waters Corp., Milford, MA, U.S.A.) při koncentraci $8 \cdot 10^{-4}$ M v methanolu při vlnové délce 210 nm. Roztok KI v methanolu byl použit pro stanovení mrtvého času (T_D). Retenční čas (T_R) byl měřen v minutách. Log ϵ (log molárního absorpčního koeficientu ϵ) byl vypočten na absolutním maximu vlnové délky λ_{max} jednotlivých sloučenin.

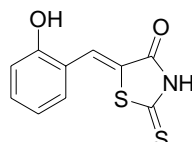
6.4. Charakteristiky připravených sloučenin

(5Z)-5-Benzyliden-2-thioxothiazolidin-4-on (1a)

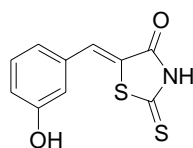


Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 65 %. **T.t.** 206–207 °C (lit.: 208–210 °C – *Z*-izomer, ethanol²⁰⁵, 204–205 °C – konfigurace ani rozpouštědlo neuvedeno²⁰⁶, 204–205 °C – konfigurace neuvedena, methanol²⁰⁷, 199–200 °C – konfigurace neuvedena, ethanol–voda²⁰⁸). **Elementární analýza** C₁₀H₇NOS₂ (M.h. 221,30) vypočteno (%): C, 54,27; H, 3,19; N, 6,33; S, 28,98; nalezeno (%): C, 54,03; H, 3,13; N, 6,35; S, 26,42. **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 376,0 / 3,31. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3154 (NH); 1700 (C=O); 1236 (C=S). **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 7,63 (1H, s, CH); 7,61–7,45 (5H, m, H-2, H-3, H-4, H-5, H-6). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 195,9; 169,6; 133,2; 131,9; 131,0; 130,7; 129,7; 125,7.

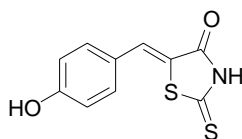
(5Z)-5-(2-Hydroxybenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (1b)



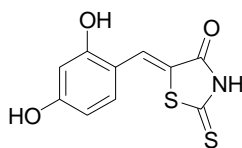
Produkt byl získán jako žluto-oranžová krystalická látka. Výtěžek 57 %. **T.t.** 219–226 °C (lit.: 225–226 °C – *Z*-izomer, methanol, 224–225 °C – *E*-izomer, chloroform^{209,210}, 200 °C – konfigurace neuvedena, ethanol²¹¹, 220 °C – *E*-izomer, rozpouštědlo neuvedeno²¹², 197–198 °C – konfigurace neuvedena, methanol²⁰⁷, 218 °C – konfigurace neuvedena, rozpouštědlo neuvedeno²¹³). **Elementární analýza** C₁₀H₇NO₂S₂ (M.h. 237,30) vypočteno (%): C, 50,61; H, 2,97; N, 5,90; S, 27,03; nalezeno (%): C, 50,81; H, 2,94; N, 5,83; S, 26,93. **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 394,1 / 3,38. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3153 (NH); 1700 (C=O); 1238 (C=S). **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 13,73 (1H, bs, NH); 10,66 (1H, bs, OH); 7,84 (1H, s, CH); 7,37–7,26 (2H, m, H-4 a H-6); 6,99–6,90 (2H, m, H-3 a H-5). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 196,2; 169,8; 157,8; 133,0; 129,5; 127,5; 124,0; 120,2; 120,1; 116,4.

(5Z)-5-(3-Hydroxybenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (1c)

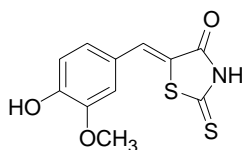
Produkt byl získán jako žluto-oranžová krystalická látka. Výtěžek 64 %. **T.t.** 244–251 °C (lit.: 253–255 °C – *E*-izomer, rozpouštědlo neuvedeno²¹², 240–245 °C – konfigurace neuvedena, methanol²⁰⁷, 244 °C – konfigurace neuvedena, rozpouštědlo neuvedeno²¹³. **Elementární analýza** C₁₀H₇NO₂S₂ (M.h. 237,30) vypočteno (%): C, 50,61; H, 2,97; N, 5,90; S, 27,03; nalezeno (%): C, 50,45; H, 2,80; N, 5,93; S, 25,39. **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 365,0 / 3,38. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3343 (OH); 3169 (NH); 1699 (C=O); 1211 (C=S). **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 9,86 (1H, bs, OH); 7,53 (1H, s, CH); 7,32 (1H, t, *J* = 8,0, H-5); 7,06–7,01 (1H, m, H-6); 6,96 (1H, t, *J* = 1,9, H-2); 6,91–6,86 (1H, m, H-4). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 196,0; 169,6; 158,2; 134,3; 132,1; 130,8; 125,5; 122,1; 118,3; 116,4.

(5Z)-5-(4-Hydroxybenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (1d)

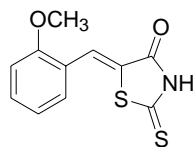
Produkt byl získán jako oranžová krystalická látka. Výtěžek 78 %. **T.t.** 294–295 °C (lit.: 276–278 °C – *Z*-izomer, ethanol²⁰⁵, 293–295 °C – *E*-izomer, rozpouštědlo neuvedeno²¹², 285 °C – konfigurace neuvedena, ethanol/²¹⁴, 275–285 °C – konfigurace neuvedena, ethanol²⁰⁸, 218–220 °C – konfigurace neuvedena, methanol²⁰⁷, 275 °C – konfigurace neuvedena, rozpouštědlo neuvedeno²¹³, **Elementární analýza** C₁₀H₇NO₂S₂ (M.h. 237,30) vypočteno (%): C, 50,61; H, 2,97; N, 5,90; S, 27,03; nalezeno (%): C, 50,42; H, 2,91; N, 5,82; S, 25,94. **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 392,9 / 3,35. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3393 (OH); 3145 (NH); 1688 (C=O); 1234 (C=S). **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 10,42 (1H, bs, OH); 7,55 (1H, s, CH); 7,50–7,41 (2H, m, AA', BB', H-2 a H-6); 6,95–6,87 (2H, m, AA', BB', H-3 a H-5). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 195,7; 169,7; 130,6; 133,3; 132,7; 124,2; 121,1; 116,8.

(5Z)-5-(2,4-Dihydroxybenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (1e)

Produkt byl získán jako oranžová krystalická látka. Výtěžek 81 %. **T.t.** 272–276 °C – za rozkladu (lit.: 162–163 °C – konfigurace neurčena, dimethylformamid/voda²¹⁵). **Elementární analýza** C₁₀H₇NO₃S₂ (M.h. 253,30) vypočteno (%): C, 47,42; H, 2,79; N, 5,53; S, 25,32; nalezeno (%): C, 46,27; H, 3,40; N, 6,45; S, 24,03. **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 407,3 / 3,41. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3197, 3139 (NH); 1683 (C=O). **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 10,48 (2H, bs, OH); 7,73 (1H, s, CH); 7,13 (1H, d, *J* = 9,1 Hz, H6'); 6,44–6,34 (2H, m, H3', H5'). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 197,2; 172,4; 162,1; 159,8; 131,1; 126,7; 120,9; 112,4; 108,9; 102,7.

(5Z)-5-(4-Hydroxy-3-methoxybenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (1f)

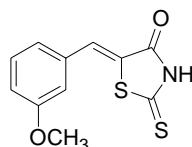
Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 75 %. **T.t.** 233–234 °C (lit.: 227–228 °C – konfigurace neuvedena, aceton²¹⁶). **Elementární analýza** C₁₁H₉NO₃S₂ (M.h. 267,32) vypočteno (%): C, 49,42; H, 3,39; N, 5,24; S, 23,99; nalezeno (%): C, 49,46; H, 3,17; N, 5,24; S, 22,56. **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 406,1 / 3,33. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3340(OH); 3269 (NH); 1714 (C=O); 1240 (C=S). **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 10,09 (1H, bs, OH); 7,56 (1H, s, CH); 7,14 (1H, d, *J* = 2,1, H-2); 7,07 (1H, dd, *J* = 8,4 a 2,1, H-6); 6,92 (1H, d, *J* = 8,4, H-5); 3,82 (3H, s, OCH₃). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 195,7; 169,7; 150,2; 148,3; 133,0; 125,3; 124,6; 121,3; 116,6; 114,5; 55,8.

(5Z)-5-(2-Methoxybenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (1g)

Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 95 %. **T.t.** 258 °C (lit.: 251 °C – konfigurace neuvedena, ethanol²¹⁵, 198–200 °C – konfigurace neuvedena, methanol²¹⁵).

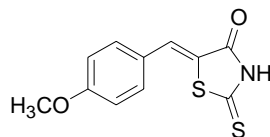
Elementární analýza $C_{11}H_9NO_2S_2$ (M.h. 251,32) vypočteno (%): C, 52,57; H, 3,61; N, 5,57; S, 25,52; nalezeno (%): C, 52,87; H, 3,34; N, 5,67; S, 25,09. **UV (nm)**, $\lambda_{max}/\log \epsilon$: 389,2 / 3,46. **IČ** (KBr, cm^{-1}): 3447, 3141(NH); 1705 (C=O). **1H NMR** (300 MHz, DMSO- d_6), δ : 13,76 (1H, bs, NH); 7,78 (1H, s, CH); 7,53–7,44 (1H, m, H4'); 7,37 (1H, dd, $J = 7,7$ Hz, $J = 1,7$ Hz, H6'); 7,14 (1H, d, $J = 7,7$ Hz, H3'); 7,08 (1H, t, $J = 7,7$ Hz, H5'); 3,88 (3H, s, OCH₃). **^{13}C NMR** (75 MHz, DMSO- d_6), δ : 196,3; 169,6; 158,3; 133,2; 129,9; 126,9; 125,5; 121,5; 121,4; 112,2; 56,0.

(5Z)-5-(3-Methoxybenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (1h)



Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 81 %. **T.t.** 235°C (lit.: 232°C – konfigurace neuvědena, ethanol²¹⁵, 227 °C – konfigurace neuvědena, kyselina octová²¹⁵, 229–230 °C – konfigurace neuvědena, nitrobenzen²¹⁵, 165–170 °C – konfigurace neuvědena, methanol²¹⁵). **Elementární analýza** $C_{11}H_9NO_2S_2$ (M.h. 251,32) vypočteno (%): C, 52,57; H, 3,61; N, 5,57; S, 25,52; nalezeno (%): C, 52,73; H, 5,43; N, 5,65; S, 25,87. **UV (nm)**, $\lambda_{max}/\log \epsilon$: 379,6 / 3,41. **IČ** (KBr, cm^{-1}): 3151 (NH); 1698 (C=O). **1H NMR** (300 MHz, DMSO- d_6), δ : 13,82 (1H, bs, NH); 7,60 (1H, s, CH); 7,44 (1H, t, $J = 8,1$ Hz, H5'); 7,16–7,03 (3H, m, H2', H4', H6'); 3,79 (3H, s, OCH₃). **^{13}C NMR** (75 MHz, DMSO- d_6), δ : 195,8; 169,5; 159,9; 134,5; 131,8; 130,7; 126,0; 122,6; 116,9; 115,8; 55,5.

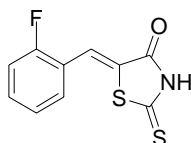
(5Z)-5-(4-Methoxybenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (1ch)



Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 90 %. **T.t.** 260–261°C (lit.: 262 °C – Z-izomer, rozpouštědlo neuvědeno²¹⁵, 257–259 °C – Z-izomer, ethanol²¹⁵, 242,5 °C – Z-izomer, dimethylformamid²¹⁵, 233–235 °C – E-izomer, ethyl- acetát/hexan²¹⁵, 261–262 °C – konfigurace neuvědena, dimethylformamid/voda²¹⁵, 250–251 °C – konfigurace neuvědena, ethanol²¹⁵, 230–242 °C – konfigurace neuvědena, kyselina octová²¹⁵, 207–208 °C – konfigurace neuvědena, methanol²¹⁵). **Elementární analýza** $C_{11}H_9NO_2S_2$ (M.h. 251,32) vypočteno (%): C, 52,57; H, 3,61; N, 5,57; S, 25,52; nalezeno (%): C, 52,25; H,

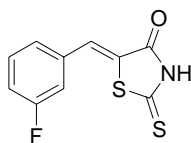
3,60; N, 5,75; S, 27,94. **UV (nm)**, $\lambda_{\max}/\log \epsilon$: 385,6 / 3,48. **IČ** (KBr, cm^{-1}): 3448, 3137 (NH); 1687 (C=O). **^1H NMR** (300 MHz, DMSO- d_6), δ : 13,72 (1H, bs, NH); 7,59 (1H, s, CH); 7,58–7,50 (2H, m, AA', BB', H2', H6'); 7,13–7,05 (2H, m, AA', BB', H3', H5'); 3,82 (3H, s, OCH₃). **^{13}C NMR** (75 MHz, DMSO- d_6), δ : 195,7; 169,6; 161,5; 132,9; 132,1; 125,7; 122,4; 115,3; 55,8.

(5Z)-5-(2-Fluorbenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (1i)



Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 67 %. **T.t.** 201–203 °C – za rozkladu (lit.: 201–203 °C – *Z*-izomer, rozpouštědlo neuvedeno²¹⁵, 164,85 °C (*Z*-izomer, dimethylformamid²¹⁵, 65 °C – *Z*-izomer, etanol²¹⁵). **Elementární analýza** C₁₀H₆FNOS₂ (M.h. 239,29) vypočteno (%): C, 50,19; H, 2,53; N, 5,85; S, 26,80; nalezeno (%): C, 50,27; H, 2,70; N, 6,11; S, 26,42. **IČ** (KBr, cm^{-1}): 3441, 3159 (NH); 1698 (C=O). **UV (nm)**, $\lambda_{\max}/\log \epsilon$: 370,0 / 3,48. **IČ** (KBr): 3441, 3159 (NH); 1698 (C=O). **^1H NMR** (300 MHz, DMSO- d_6), δ : 13,91 (1H, bs, NH); 7,59 (1H, s, CH); 7,58–7,32 (4H, m, H3', H4', H5', H6'). **^{13}C NMR** (75 MHz, DMSO- d_6), δ : 195,6; 169,4; 160,8 (d, $J = 252,3$ Hz); 133,3 (d, $J = 8,6$ Hz); 129,6; 128,3; 125,8 (d, $J = 3,5$ Hz); 122,5 (d, $J = 6,3$ Hz); 121,1 (d, $J = 11,5$ Hz); 116,5 (d, $J = 21,3$ Hz).

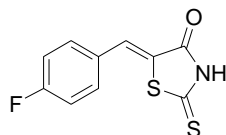
(5Z)-5-(3-Fluorbenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (1j)



Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 46 %. **T.t.** 199–200 °C – za rozkladu (lit.: 201 °C – *Z*-izomer, rozpouštědlo neuvedeno²¹⁵). **Elementární analýza** C₁₀H₆FNOS₂ (M.h. 239,29) vypočteno (%): C, 50,19; H, 2,53; N, 5,85; S, 26,80; nalezeno (%): C, 50,36; H, 2,72; N, 6,05; S, 26,31. **IČ** (KBr, cm^{-1}): 3391, 3184 (NH); 1705 (C=O). **UV (nm)**, $\lambda_{\max}/\log \epsilon$: 384,2 / 3,47. **IČ** (KBr): 3391, 3184 (NH); 1705 (C=O). **^1H NMR** (300 MHz, DMSO- d_6), δ : 13,88 (1H, bs, NH); 7,63 (1H, s, CH); 7,62–7,52 (1H, m, H6'); 7,48–7,29 (3H, m, H2', H4', H5'). **^{13}C NMR** (75 MHz, DMSO- d_6), δ : 195,6; 169,5; 162,5

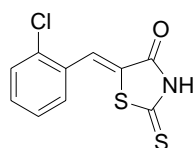
(d, $J = 245,3$ Hz); 135,5 (d, $J = 8,1$ Hz); 131,7 (d, $J = 8,7$ Hz); 130,2 (d, $J = 2,3$ Hz); 127,4; 126,1 (d, $J = 8,9$ Hz); 117,7 (d, $J = 21,4$ Hz); 117,3 (d, $J = 22,5$ Hz).

(5Z)-5-(4-Fluorbenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (1k)

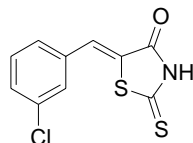


Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 78 %. **T.t.** 225–227 °C (lit.: 214–215 °C – konfigurace neuvedena, benzen/ethanol²¹⁵, 217–219 °C – *E*-izomer, ethylacetát/hexan²¹⁵, 221,85 °C – *Z*-izomer, dimethylformamid²¹⁵, 219 °C – *Z*-izomer, ethanol²¹⁵). **Elementární analýza** C₁₀H₆FNOS₂ (M.h. 239,29) vypočteno (%): C, 50,19; H, 2,53; N, 5,85; S, 26,80; nalezeno (%): C, 50,00; H, 2,51; N, 5,87; S, 26,74. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3103 (NH); 1724 (C=O). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 386,7 / 3,45. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 13,83 (1H, bs, NH); 7,70–7,60 (2H, m, H2', H6'); 7,64 (1H, s overlapped, CH); 7,58–7,32 (2H, m, H3', H5'). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 195,8; 169,6; 163,2 (d, $J = 251,7$ Hz); 133,2 (d, $J = 8,7$ Hz); 130,7; 129,9 (d, $J = 3,4$ Hz); 125,4 (d, $J = 2,9$ Hz); 116,8 (d, $J = 21,9$ Hz).

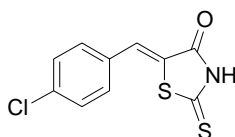
(5Z)-5-(2-Chlorbenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (1l)



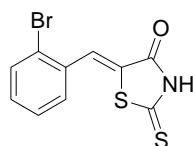
Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 48 %. **T.t.** 191–193 °C (lit.: 169 °C – konfigurace neuvedena, ethanol²¹⁵, 192 °C – konfigurace neuvedena, kyselina octová²¹⁵). **Elementární analýza** C₁₀H₆ClNOS₂ (M.h. 255,74) vypočteno (%): C, 46,96; H, 2,36; N, 5,48; S, 25,08; nalezeno (%): C, 47,06; H, 2,38; N, 5,41; S, 25,49. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3435, 3069 (NH); 1734; 1698 (C=O). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 365,0 / 3,29. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 13,93 (1H, bs, NH); 7,74 (1H, s, CH); 7,66–7,60 (1H, m, H3'); 7,54–7,47 (3H, m, H4', H5', H6'). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 195,7; 169,3; 135,0; 132,3; 131,0; 130,7; 129,5; 129,3; 128,5; 126,3.

(5Z)-5-(3-Chlorbenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (1m)

Produkt byl získán jako žlutooranžová krystalická látka. Výtěžek 76 %. **T.t.** 234–235 °C – za rozkladu (lit.: 233 °C – (Z-izomer, kyselina octová²¹⁵). **Elementární analýza** C₁₀H₆ClNOS₂ (M.h. 255,74) vypočteno (%): C, 46,96; H, 2,36; N, 5,48; S, 25,08; nalezeno (%): C, 46,86; H, 2,28; N, 5,48; S, 25,71. **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 376,2 / 3,31. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3435, 3109 (NH); 1718 (C=O). **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 13,90 (1H, bs, NH); 7,68 (1H, s, CH); 7,62–7,47 (4H, m, H2', H4', H5', H6'). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 195,5; 169,4; 135,3; 134,2; 131,4; 130,5; 130,4; 130,0; 128,3; 127,5.

(5Z)-5-(4-Chlorbenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (1n)

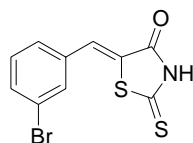
Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 88 %. **T.t.** 232–233 °C – za rozkladu (lit.: 227–230 °C – Z-izomer, ethyl-acetát/hexan²¹⁵, 231–232 °C – konfigurace neuvedena, kyselina octová²¹⁵, 227 °C – konfigurace neuvedena, ethanol/xylen²¹⁵). **Elementární analýza** C₁₀H₆ClNOS₂ (M.h. 255,74) vypočteno (%): C, 46,96; H, 2,36; N, 5,48; S, 25,08; nalezeno (%): C, 46,87; H, 2,78; N, 5,60; S, 24,02. **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 379,6 / 3,36. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3150 (NH); 1709 (C=O). **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 13,87 (1H, bs, NH); 7,62 (1H, s, CH); 7,60–7,58 (4H, m, H2', H3', H5', H6'). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 195,6; 169,5; 135,6; 132,3; 132,1; 130,4; 129,7; 126,5.

(5Z)-5-(2-Brombenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (1o)

Produkt byl získán jako světle žlutá krystalická látka. Výtěžek 59 %. **T.t.** 185–186 °C – za rozkladu (lit.: 183,5 °C – Z-izomer, kyselina octová²¹⁵, 189 °C – Z-izomer, ethanol²¹⁵).

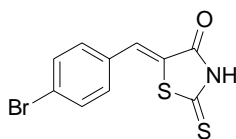
Elementární analýza $C_{10}H_6BrNOS_2$ (M.h. 300,19) vypočteno (%): C, 40,01; H, 2,01; N, 4,67; S, 21,36; nalezeno (%): C, 39,90; H, 1,89; N, 4,62; S, 22,01. **UV (nm)**, $\lambda_{max}/\log \epsilon$: 365,0 / 3,46. **IČ** (KBr, cm^{-1}): 3445, 3096 (NH); 1732; 1702 (C=O). **1H NMR** (300 MHz, DMSO- d_6), δ : 13,97 (1H, bs, NH); 7,82–7,78 (1H, m, H3'); 7,70 (1H, s, CH); 7,61–7,47 (2H, m, H4', H6'); 7,45–7,37 (1H, m, H5'). **^{13}C NMR** (75 MHz, DMSO- d_6), δ : 195,8; 169,3; 133,9; 132,7; 132,4; 129,6; 129,3; 129,1; 129,0; 125,9.

(5Z)-5-(3-Brombenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (1p)

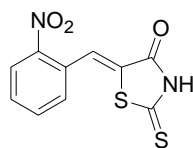


Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 45 %. **T.t.** 244–246 °C – za rozkladu (lit.: 238 °C – Z-izomer, kyselina octová²¹⁵). **Elementární analýza** $C_{10}H_6BrNOS_2$ (M.h. 300,19) vypočteno (%): C, 40,01; H, 2,01; N, 4,67; S, 21,36; nalezeno (%): C, 40,14; H, 1,98; N, 4,53; S, 22,19. **IČ** (KBr, cm^{-1}): 3435, 3111 (NH); 1717 (C=O). **UV (nm)**, $\lambda_{max}/\log \epsilon$: 379,9 / 3,46. **1H NMR** (300 MHz, DMSO- d_6), δ : 13,88 (1H, bs, NH); 7,80 (1H, s, H2'); 7,71–7,64 (1H, m, H4'); 7,61 (1H, s, CH); 7,55 (1H, d, $J = 7,6$ Hz, H6'); 7,48 (1H, t, $J = 7,6$ Hz, H5'). **^{13}C NMR** (75 MHz, DMSO- d_6), δ : 195,6; 169,5; 135,6; 133,4; 133,3; 131,6; 129,9; 128,7; 127,5; 122,7.

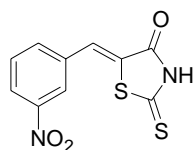
(5Z)-5-(4-Brombenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (1q)



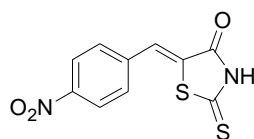
Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 92 %. **T.t.** 238°C (lit.: 231 °C – Z-izomer, ethanol²¹⁷, 237–238 °C - konfigurace neuvedena, kyselina octová²¹⁵). **Elementární analýza** $C_{10}H_6BrNOS_2$ (M.h. 300,19) vypočteno (%): C, 40,01; H, 2,01; N, 4,67; S, 21,36; nalezeno (%): C, 39,95; H, 1,87; N, 4,64; S, 21,78. **IČ** (KBr, cm^{-1}): 3442, 3150 (NH); 1708 (C=O). **UV (nm)**, $\lambda_{max}/\log \epsilon$: 382,0 / 3,39. **1H NMR** (300 MHz, DMSO- d_6), δ : 7,76–7,69 (2H, m, AA', BB', H2', H6'); 7,60 (1H, s, CH); 7,55–7,49 (2H, m, AA', BB', H3', H5'). **^{13}C NMR** (75 MHz, DMSO- d_6), δ : 195,6; 169,5; 132,6; 132,4; 132,4; 130,5; 126,5; 124,5.

(5Z)-5-(2-Nitrobenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (1r)

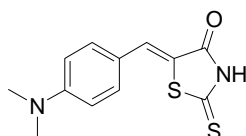
Produkt byl získán jako žluto-zelená krystalická látka. Výtěžek 68 %. **T.t.** 190–195 °C (lit.: 204–206 °C – *E*-izomer, rozpouštědlo neuvedeno²¹⁵, 204–205 °C – konfigurace neuvedena, methanol²¹⁵, 188–189 °C – konfigurace neuvedena, vodný ethanol²¹⁵). **Elementární analýza** C₁₀H₆N₂O₃S₂ (M.h. 266,30) vypočteno (%): C, 45,10; H, 2,27; N, 10,52; S, 24,08; nalezeno (%): C, 43,78; H, 1,53; N, 10,14; S, 26,31. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3469, 3447 (NH); 1735 (C=O); 1234 (C=S). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 361,0 / 3,46. **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 8,22 (1H, dd, *J*=8,21 Hz, *J*=1,4 Hz, H3'); 8,02 (1H, s, CH), 7,93–7,86 (1H, m, H5'); 7,78–7,69 (2H, m, H4', H6'); 4,95 (1H, t, *J*=6,1 Hz, OH); 4,12 (2H, t, *J*=6,1 Hz, NCH₂); 3,66 (2H, q, *J*=6,1 Hz, OCH₂). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 194,2; 166,6; 148,1; 134,9; 131,6; 129,6; 129,3; 129,0; 127,4; 125,8; 56,9; 46,9.

(5Z)-5-(3-Nitrobenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (1s)

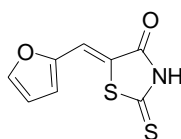
Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 71 %. **T.t.** 257–263 °C (lit.: 264–265 °C – konfigurace neuvedena, benzen/methanol, 245–255 – konfigurace neuvedena, kyselina octová, 273–275 – *E*-izomer, rozpouštědlo neuvedeno)²¹⁵. **Elementární analýza** C₁₀H₆N₂O₃S₂ (M.h. 266,30) vypočteno (%): C, 45,10; H, 2,27; N, 10,52; S, 24,08; nalezeno (%): C, 44,64; H, 2,41; N, 11,07; S, 24,32. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3437, 3255, 3182 (NH); 1728 (C=O); 1229 (C=S). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 366,4 / 3,38. **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 8,47 (1H, t, *J*=1,9 Hz, H2'); 8,33–8,27 (1H, m, H4'); 8,02 (1H, d, *J*=8,0 Hz, H6'); 7,94 (1H, s, CH); 7,82 (1H, t, *J*=8,0 Hz, H5'); 4,93 (1H, t, *J*=6,0 Hz, OH); 4,12 (2H, t, *J*=6,0 Hz, NCH₂); 3,65 (2H, q, *J*=6,0 Hz, OCH₂). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 193,4; 167,1; 148,5; 135,9; 134,8; 131,3; 130,2; 125,7; 125,2; 125,0; 56,9; 46,9.

(5Z)-5-(4-Nitrobenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (1t)

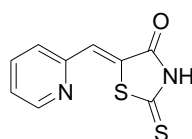
Produkt byl získán jako žluto-oranžová krystalická látka. Výtěžek 58 %. **T.t.** 272–276 °C (lit.: 273–274 °C – konfigurace neuvedena, aceton/methanol, 259 °C – konfigurace neuvedena, aceton, 255–256 °C – konfigurace neuvedena, voda/dimethylformamid, 250 °C – konfigurace neuvedena, kyselina octová, 250–252 °C – konfigurace neuvedena, ethanol, 277–278 °C – *E*-izomer, rozpouštědlo neuvedeno)²¹⁵. **Elementární analýza** C₁₀H₆N₂O₃S₂ (M.h. 266,30) vypočteno (%): C, 45,10; H, 2,27; N, 10,52; S, 24,08; nalezeno (%): C, 45,15; H, 2,28; N, 11,52; S, 24,31. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3274, 3105 (NH); 1728 (C=O); 1226 (C=S). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 386,8 / 3,39. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 8,39-8,26 (2H, m, AA', BB', H3', H5'); 7,91-7,84 (2H, m, AA', BB', H2', H6'); 7,88 (1H, s, overlapped, CH); 4,94 (1H, bs, OH); 4,11 (2H, t, *J*=5,9 Hz, NCH₂); 3,73-3,59 (2H, m, OCH₂). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 193,6; 167,2; 147,8; 139,3; 131,7; 129,8; 127,1; 124,6; 56,9; 46,9.

(5Z)-5-(4-Dimethylaminobenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (1u)

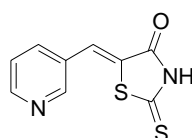
Produkt byl získán jako oranžově-červená krystalická látka. Výtěžek 58 %. **T.t.** 283–286 °C – za rozkladu (lit.: 275–280 °C – konfigurace neuvedena, ethanol, 261–262 °C – konfigurace neuvedena, dimethylformamid/voda)²¹⁵. **Elementární analýza** C₁₂H₁₂N₂OS₂ (M.h. 264,37) vypočteno (%): C, 54,52; H, 4,58; N, 10,60; S, 24,26; nalezeno (%): C, 54,38; H, 4,75; N, 10,68; S, 22,70. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3138 (NH); 1683 (C=O). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 463,0 / 3,39. **¹H-NMR** spektrum (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 13,55 (1H, bs, NH); 7,49 (1H, s, CH); 7,45–7,36 (2H, m, AA', BB', H2', H6'); 6,84–6,76 (2H, m, AA', BB', H3', H5'); 3,01 (6H, s, NCH₃). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 195,2; 169,6; 151,9; 133,5; 133,1; 120,0; 117,5; 112,4; 39,8.

(5Z)-5-(Furan-2-ylmethyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (1v)

Produkt byl získán jako oranžová krystalická látka. Výtěžek 55 %. **T.t.** 235–237 °C – za rozkladu (lit.: 229–231 °C – konfigurace neuvedena, ethanol, 238 °C – *Z*-izomer, ethanol)²¹⁵. **Elementární analýza** C₈H₅NO₂S₂ (M.h. 211,26) vypočteno (%): C, 45,48; H, 2,39; N, 6,36; S, 30,36; nalezeno (%): C, 45,44; H, 2,48; N, 6,43; S, 30,44. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3441, 3141 (NH); 1689 (C=O). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 395,1 / 3,29. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 13,67 (1H, bs, NH); 8,09 (1H, dd, *J* = 1,9 Hz, *J* = 0,69 Hz, H5); 7,47 (1H, s, CH); 7,16 (1H, dd, *J* = 3,6 Hz, *J* = 0,6 Hz, H3); 6,75 (1H, dd, *J* = 3,6 Hz, *J* = 1,9 Hz, H4). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 196,7; 169,2; 149,6; 148,5; 122,6; 120,1; 117,9; 114,1.

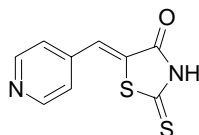
(5Z)-5-Pyridin-2-ylmethyliden-2-thioxothiazolidin-4-on (1w)

Produkt byl získán jako žlutozelená krystalická látka. Výtěžek 70 %. **T.t.** 269–272 °C. (lit.: 257–260 °C – *Z*-izomer, ethanol, 253–258 °C – konfigurace neuvedena, methanol, 247–250 °C – konfigurace neuvedena, ethanol, 243–245 °C – konfigurace neuvedena, ethanol)²¹⁵. **Elementární analýza** C₉H₆N₂OS₂ (M.h. 222,29) vypočteno (%): C, 48,63; H, 2,72; N, 12,60; S, 28,85; nalezeno (%): C, 48,26; H, 2,65; N, 12,82; S, 28,90. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3412 (NH); 1726 (C=O). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 349,9 / 3,44. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 13,66 (1H, bs, NH); 8,77 (1H, d, *J* = 4,7 Hz, H6'); 7,94 (1H, dt, *J* = 7,6 Hz, *J* = 1,8 Hz, H4'); 7,88 (1H, d, *J* = 7,6 Hz, H3'); 7,67 (1H, s, CH); 7,45–7,39 (1H, m, H5'). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 202,2; 169,5; 151,3; 149,7; 137,8; 129,9; 128,3; 127,6; 124,2.

(5Z)-5-Pyridin-3-ylmethyliden-2-thioxothiazolidin-4-on (1x)

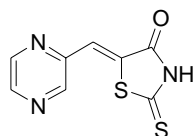
Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 68 %. **T.t.** 309–313 °C – za rozkladu. (lit.: 318–320 °C – konfigurace neuvedena, dimethylformamid, 300 °C – konfigurace neuvedena, vodná kys. octová, 285–288 °C – konfigurace neuvedena, methanol, 295 °C – *Z*-izomer, ethanol)²¹⁵. **Elementární analýza** C₉H₆N₂OS₂ (M.h. 222,29) vypočteno (%): C, 48,63; H, 2,72; N, 12,60; S, 28,85; nalezeno (%): C, 48,49; H, 2,81; N, 12,41; S, 28,45. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3431 (NH); 1709 (C=O). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 356,7 / 3,46. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 8,82 (1H, d, *J* = 1,9 Hz, H2); 8,62 (1H, dd, *J* = 4,8 Hz, *J* = 1,9 Hz, H6); 7,96–7,88 (1H, m, H4); 7,66 (1H, s CH); 8,62 (1H, dd, *J* = 4,8 Hz, *J* = 1,9 Hz, H5). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 195,5; 169,4; 151,9; 150,9; 136,5; 129,3; 128,3; 128,0; 124,5.

(5*Z*)-5-Pyridin-4-ylmethyliden-2-thioxothiazolidin-4-on (1y)



Produkt byl získán jako žlutooranžová krystalická látka. Výtěžek 87 %. **T.t.** 320–322 °C – za rozkladu. (lit.: 320–322 °C – konfigurace neuvedena, dimethylformamid, 295–305 °C – konfigurace neuvedena, butan-2-on, 279 °C – konfigurace neuvedena, nitrobenzen)²¹⁵. **Elementární analýza** C₉H₆N₂OS₂ (M.h. 222,29) vypočteno (%): C, 48,63; H, 2,72; N, 12,60; S, 28,85; nalezeno (%): C, 48,53; H, 3,22; N, 12,68; S, 29,12. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3420 (NH); 1701 (C=O). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 358,1 / 3,46. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 8,74–8,68 (2H, m, H2', H6'); 7,55 (1H, s, CH); 7,54–7,50 (2H, m, H3', H5').

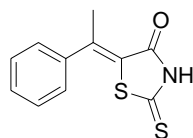
(5*Z*)-5-Pyrazin-2-ylmethyliden-2-thioxothiazolidin-4-on (1z)



Produkt byl získán jako oranžová krystalická látka. Výtěžek 57 %. **T.t.** 310 °C – za rozkladu. **Elementární analýza** C₈H₅N₃OS₂ (M.h. 223,27) vypočteno (%): C, 43,03; H, 2,26; N, 18,82; S, 28,72; nalezeno (%): C, 43,12; H, 1,96; N, 18,72; S, 28,29. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3198 (NH); 1715 (C=O). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 374,8 / 3,39. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 13,78 (1H, bs, NH); 9,09 (1H, d, *J* = 1,4 Hz, H3'); 8,85 – 8,80 (1H, m, H5');

8,63 (1H, d, $J = 2,7$ Hz, H6'); 7,73 (1H, s, CH). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6), δ : 200,9; 169,3; 148,6; 147,4; 144,6; 144,4; 132,2; 124,2.

(5Z)-5-(1-Fenylethyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (2a)



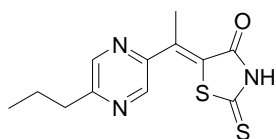
Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 60 %. **T.t.** 169–171 °C (lit.: 166–168 °C – Z-izomer, ethyl-acetát²¹⁸). **Elementární analýza** C₁₁H₉NOS₂ (M.h. 235,33) vypočteno (%): C, 56,14; H, 3,85; N, 5,95; S, 27,25; nalezeno (%): C, 55,78; H, 3,89; N, 5,81; S, 26,75. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3152, 3058 (NH); 1693 (C=O); 1490 (C(=S)NH); 761 (C=S). **UV (nm)**, $\lambda_{\text{max}}/\log \epsilon$: 353,5 / 3,37. **^1H NMR** (300 MHz, DMSO- d_6), δ : 7,52–7,40 (5H, m, H2', H3', H4', H5', H6'); 2,64 (3H, s, CH₃). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6), δ : 195,8; 167,9; 149,6; 142,0; 129,9; 129,2; 126,9; 124,8; 20,9.

(5Z)-5-(1-Pyrazin-2-ylethyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (2b)



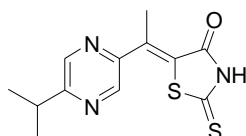
Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 45 %. **T.t.** neurčena (látka netála ani při 350°C). **Elementární analýza** C₉H₇N₃OS₂ (M.h. 237,29) vypočteno (%): C, 45,55; H, 2,97; N, 17,71; S, 27,02; nalezeno (%): C, 45,06; H, 3,05; N, 17,60; S, 27,04. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3178,3074,3021 (NH); 1693 (C=O); 1484 (C(=S)NH); 756 (C=S). **UV (nm)**, $\lambda_{\text{max}}/\log \epsilon$: 386,8 / 3,14. **^1H NMR** (300 MHz, DMSO- d_6), δ : 9,27 (1H, d, $J = 1,38$ Hz, H3'); 8,86 (1H, dd, $J = 2,47$ Hz, $J = 1,37$ Hz, H5'); 8,70 (1H, d, $J = 2,47$ Hz, H6'); 2,85 (3H, s, CH₃). ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6), δ : 202,0; 170,1; 150,1; 145,9; 144,7; 142,8; 137,8; 127,0; 15,4.

(5Z)-5-[1-(5-Propylpyrazin-2-yl)ethyliden]-2-thioxothiazolidin-4-on (2c)



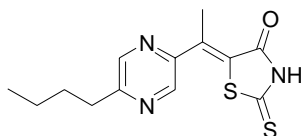
Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 78 %. **T.t.** 229–231 °C. **Elementární analýza** C₁₂H₁₃N₃OS₂ (M.h. = 279,38) vypočteno (%): C, 51,59; H, 4,69; N, 15,04; S, 22,95; nalezeno (%): C, 51,49; H, 4,75; N, 15,02; S, 23,23. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3038 (NH); 2962,2931,2857 (CH-alif.); 1703 (C=O); 1478 (C(=S)NH); 754 (C=S). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 386,8 / 3,16. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 9,16 (1H, d, *J* = 1,24 Hz, H3'); 8,75 (1H, d, *J* = 1,24 Hz, H6'); 2,82 (3H, s overlapped, CH₃); 2,81 (2H, t, overlapped, *J* = 7,42 Hz, CH₂); 1,80–1,64 (2H, m, CH₂); 0,91 (3H, t, *J* = 7,41 Hz, CH₃). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 201,5; 169,6; 157,0; 147,0; 144,4; 141,7; 137,7; 125,3; 36,6; 22,0; 14,8; 13,8.

(5Z)-5-[1-(5-Isopropylpyrazin-2-yl)ethyliden]-2-thioxothiazolidin-4-on (2d)



Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 76 %. **T.t.** 245–247 °C. **Elementární analýza** C₁₂H₁₃N₃OS₂ (M.h. = 279,38) vypočteno (%): C, 51,59; H, 4,69; N, 15,04; S, 22,95; nalezeno (%): C, 51,37; H, 4,80; N, 14,92; S, 23,32. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3177,3023 (NH); 2971,2930,2850 (CH-alif.); 1705 (C=O); 1478 (C(=S)NH); 753 (C=S). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 386,8 / 3,15. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 9,18 (1H, d, *J* = 1,38 Hz, H3'); 8,80 (1H, d, *J* = 1,38 Hz, H6'); 3,24–3,06 (1H, m, CH); 2,83 (3H, s, CH₃); 1,28 (6H, d, *J* = 6,86 Hz, CH₃). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 201,5; 169,6; 161,5; 147,2; 144,3; 140,6; 137,6; 125,3; 22,2; 22,0; 14,8.

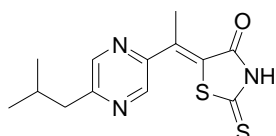
(5Z)-5-[1-(5-Butylpyrazin-2-yl)ethyliden]-2-thioxothiazolidin-4-on (2e)



Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 41 %. **T.t.** 216–218 °C. **Elementární analýza** C₁₃H₁₅N₃OS₂ (M.h. = 293,41) vypočteno (%): C, 53,22; H, 5,45; N, 14,32; S, 21,86; nalezeno (%): C, 52,87; H, 5,20; N, 14,14; S, 21,69. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3042 (NH); 2957, 2930, 2857 (CH-allif.); 1701 (C=O); 1479 (C(=S)NH); 754 (C=S). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 389,2 / 3,24. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 9,17–9,14 (1H, m, H3'); 8,76–8,73 (1H, m, H6'); 2,82 (3H, s overlapped, CH₃); 2,83 (2H, t, overlapped, *J* = 7,42 Hz,

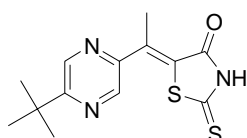
CH₂); 1,75–1,62 (2H, m, CH₂); 1,39–1,24 (2H, m, CH₂); 0,89 (3H, t, $J = 7,41$ Hz, CH₃). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 201,5; 169,6; 157,2; 147,0; 144,4; 141,7; 137,7; 125,3; 34,3; 30,8; 22,0; 14,8; 13,9.

(5Z)-5-[1-(5-Isobutylpyrazin-2-yl)ethyliden]-2-thioxothiazolidin-4-on (2f)

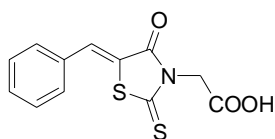


Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 58 %. T.t. 238–240 °C. **Elementární analýza** C₁₃H₁₅N₃OS₂ (M.h. = 293,41) vypočteno (%): C, 53,22; H, 5,45; N, 14,32; S, 21,86; nalezeno (%): C, 53,02; H, 5,18; N, 14,29; S, 21,65. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3016 (NH); 2956, 2930, 2866, 2850 (CH-allif.); 1708 (C=O); 1478 (C(=S)NH); 753 (C=S). **UV (nm)**, $\lambda_{\max}/\log \epsilon$: 386,8 / 3,18. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 9,17 (1H, d, $J = 1,38$ Hz, H3'); 8,73 (1H, d, $J = 1,38$ Hz, H6'); 2,83 (3H, s, CH₃); 2,71 (2H, d, $J = 7,00$, CH₂); 2,17–2,00 (1H, m, CH); 0,89 (6H, d, $J = 7,00$ Hz, CH₃). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 201,5; 169,6; 156,3; 147,0; 144,5; 142,1; 137,7; 125,3; 43,6; 28,6; 22,3; 14,8.

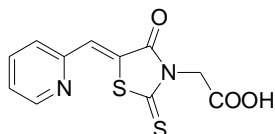
(5Z)-5-[1-(5-*tert*-Butylpyrazin-2-yl)ethyliden]-2-thioxothiazolidin-4-on (2g)



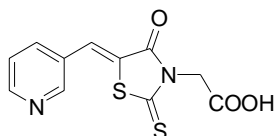
Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 43 %. T.t. 220–222 °C. **Elementární analýza** C₁₃H₁₅N₃OS₂ (M.h. = 293,41) vypočteno (%): C, 53,22; H, 5,45; N, 14,32; S, 21,86; nalezeno (%): C, 52,47; H, 5,18; N, 13,95; S, 21,38. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3161, 3089 (NH); 2963, 2861 (CH-allif.); 1705 (C=O); 1484 (C(=S)NH); 766 (C=S). **UV (nm)**, $\lambda_{\max}/\log \epsilon$: 389,2 / 3,11. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 9,19 (1H, d, $J = 1,64$ Hz, H3'); 8,96 (1H, d, $J = 1,65$ Hz, H6'); 2,84 (3H, s, CH₃); 1,37 (9H, s, CH₃). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 201,6; 169,7; 163,4; 146,8; 143,7; 139,1; 137,5; 125,4; 36,8; 29,6; 14,8.

(5Z)- (5-Benzyliden-4-oxo-2-thioxothiazolidin-3-yl)octová kyselina (3a)

Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 66 %. **T.t.** 247–248 °C (lit.: 186 °C – *E*-izomer, rozpouštědlo neuvedeno²¹⁵, 240 °C – *E*-izomer, kyselina octová²¹⁹, 202–205 °C – konfigurace neuvedena, dimethylformamid/ voda²¹⁵). **Elementární analýza** C₁₂H₉NO₃S₂ (M.h. 279,33) vypočteno (%): C, 51,60; H, 3,25; N, 5,01; S, 22,96; nalezeno (%): C, 51,23; H, 3,08; N, 4,99; S, 20,75. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3017 (CH); 1731 (C=O(OH)); 1707 (C=O); 759 (C=S). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 375,6 / 3,28. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 7,89 (1H, s, CH); 7,70 - 7,63 (2H, m, H2', H6'); 7,60 - 7,51 (3H, m, H3', H4', H5'); 4,74 (2H, s, NCH₂). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 193,5; 167,5; 166,6; 134,2; 133,0; 131,4; 131,0; 129,8; 122,0; 45,2.

(5Z)- [4-Oxo-5-(pyridin-2-ylmethyliden)-2-thioxothiazolidin-3-yl]octová kyselina (3b)

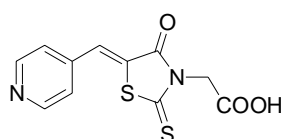
Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 76 %. **T.t.** 260–261 °C (lit.: 253–254 °C, kyselina. octová²²⁰). **Elementární analýza** C₁₁H₈N₂O₃S₂ (M.h. 280,32) vypočteno (%): C, 47,13; H, 2,88; N, 9,99; S, 22,88; nalezeno (%): C, 46,75; H, 3,12; N, 9,81; S, 22,59. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3042 (CH); 1740 (C=O(OH)); 1705 (C=O); 750 (C=S). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 384,4 / 3,29. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 8,81 (1H, d, *J* = 4,7 Hz, H6); 8,03 - 7,92 (2H, m, H4, H5); 7,90 (1H, s, CH); 7,50 - 7,43 (1H, m, H3); 4,73 (2H, s, NCH₂). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 199,9; 167,6; 166,7; 151,2; 149,8; 138,0; 129,7; 128,7; 126,4; 124,6; 44,8.

(5Z)-[4-Oxo-5-(pyridin-3-ylmethyliden)-2-thioxothiazolidin-3-yl]octová kyselina (3c)

Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 61 %. **T.t.** 257–258 °C (lit.: 261–264 °C, ethanol/kyselina. octová²²¹). **Elementární analýza** C₁₁H₈N₂O₃S₂ (M.h. 280,32)

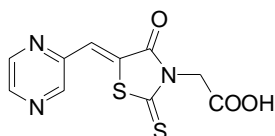
vypočteno (%): C, 47,13; H, 2,88; N, 9,99; S, 22,88; nalezeno (%): C, 46,89; H, 3,15; N, 9,86; S, 23,18. **IČ** (KBr, cm^{-1}): 1704 (C=O); 745 (C=S). **UV (nm)**, $\lambda_{\text{max}}/\log \epsilon$: 388,9 / 3,29. **^1H NMR** (300 MHz, DMSO- d_6), δ : 8,90 (1H, d, $J = 2,3$ Hz, H2); 8,67 (1H, d, $J = 4,7$ Hz, H6); 8,02 (1H, d, $J = 7,9$ Hz, H4); 7,94 (1H, s, CH); 7,59 (1H, dd, $J = 7,9$ Hz, $J = 4,7$ Hz, H5); 4,75 (2H, s, NCH₂). **^{13}C NMR** (75 MHz, DMSO- d_6), δ : 193,1; 167,5; 166,4; 152,2; 151,4; 136,9; 130,9; 129,2; 124,6; 124,3; 45,3.

(5Z)-[4-Oxo-5-(pyridin-4-ylmethyliden)-2-thioxothiazolidin-3-yl]octová kyselina (3d)

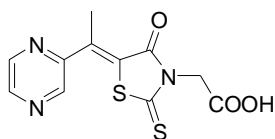


Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 80 %. **T.t.** 277 - 280 °C (lit.: 263 - 266 °C - ethanol/kyselina. octová²²¹). **Elementární analýza** C₁₁H₈N₂O₃S₂ (M.h. 280,32) vypočteno (%): C, 47,13; H, 2,88; N, 9,99; S, 22,88; nalezeno (%): C, 46,89; H, 3,15; N, 9,86; S, 23,18. **IČ** (KBr, cm^{-1}): 1704 (C=O); 745 (C=S). **UV (nm)**, $\lambda_{\text{max}}/\log \epsilon$: 388,9 / 3,29. **^1H NMR** (300 MHz, DMSO- d_6), δ : 8,90 (1H, d, $J = 2,3$ Hz, H2); 8,67 (1H, d, $J = 4,7$ Hz, H6); 8,02 (1H, d, $J = 7,9$ Hz, H4); 7,94 (1H, s, CH); 7,59 (1H, dd, $J = 7,9$ Hz, $J = 4,7$ Hz, H5); 4,75 (2H, s, NCH₂). **^{13}C NMR** (75 MHz, DMSO- d_6), δ : 193,1; 167,5; 166,4; 152,2; 151,4; 136,9; 130,9; 129,2; 124,6; 124,3; 45,3.

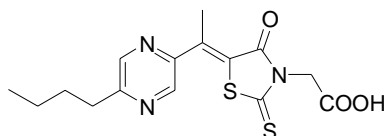
(5Z)- [4-Oxo-5-(pyrazin-2-ylmethyliden)-2-thioxothiazolidin-3-yl]octová kyselina (3e)



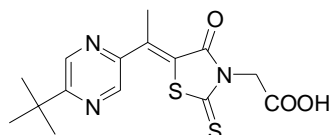
Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 71 %. **T.t.** 266 - 268 °C. **Elementární analýza** C₁₀H₇N₃O₃S₂ (M.h. 281,31) vypočteno (%): C, 42,70; H, 2,51; N, 14,94; S, 22,80; nalezeno (%): C, 42,57; H, 2,83; N, 14,80; S, 25,46. **IČ** (KBr, cm^{-1}): 3051 (CH); 1737 (C=O(OH)); 1709 (C=O); 740 (C=S). **UV (nm)**, $\lambda_{\text{max}}/\log \epsilon$: 389,2 / 3,29. **^1H NMR** (300 MHz, DMSO- d_6), δ : 9,14 (1H, s, H3); 8,87 (1H, s, H5); 8,67 (1H, s, H6); 7,94 (1H, s, CH); 4,57 (2H, s, NCH₂). **^{13}C NMR** (75 MHz, DMSO- d_6), δ : 198,4; 167,4; 166,7; 148,8; 147,4; 144,7; 129,1; 125,6; 46,2.

(5Z)-[4-Oxo-5-(pyrazin-2ylethyliden)-2-thioxothiazolidin-3-yl]octová kyselina (3f)

Produkt byl získán jako tmavě oranžová krystalická látka. Výtěžek 75 %. **T.t.** 261 - 263 °C. **Elementární analýza** C₁₁H₉N₃O₃S₂ (M.h. 295,34) vypočteno (%): C, 44,74; H, 3,07; N, 14,23; S, 21,71; nalezeno (%): C, 44,41; H, 3,20; N, 14,05; S, 21,16. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3412 (C-OH); 3042 (CH); 1716 (C=O); 784 (C=S). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 388,0 / 3,19. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 3,37 (1H, bs, OH); 9,33 (1H, d, *J* = 1,7 Hz, H3); 8,92 - 8,89 (1H, m, H5); 8,74 (1H, d, *J* = 2,5 Hz, H6); 4,71 (2H, s, NCH₂); 2,92 (3H, s, CH₃). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 199,5; 167,7; 166,5; 149,4; 145,7; 144,7; 142,3; 139,5; 123,2; 44,7; 15,5.

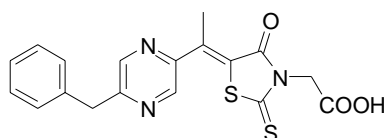
(5Z)-{5-[1-(5-Butylpyrazin-2yl)ethyliden]-4-oxo-2-thioxothiazolidin-4-on-3-yl}octová kyselina (3g)

Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 77 %. **T.t.** 213 - 215 °C. **Elementární analýza** C₁₅H₁₇N₃O₃S₂ (M.h. 351,45) vypočteno (%): C, 51,26; H, 4,88; N, 11,96; S, 18,25; nalezeno (%): C, 50,84; H, 4,89; N, 11,96; S, 17,88. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3398 (C-OH); 1706 (C=O); 758 (C=S). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 388,0 / 3,29. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 9,22 (1H, d, *J* = 1,4 Hz, H3); 8,81 (1H, d, *J* = 1,4 Hz, H6); 4,71 (2H, s, NCH₂); 2,90 (3H, s, CH₃); 2,86 (2H, t, *J* = 7,5 Hz, CH₂); 1,78 - 1,63 (2H, m, CH₂); 1,41 - 1,25 (2H, m, CH₂); 0,90 (3H, t, *J* = 7,5 Hz, CH₃). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 199,5; 167,7; 166,5; 157,7; 146,8; 144,8; 141,7; 139,9; 122,0; 44,7; 34,4; 30,8; 22,0; 15,5; 13,9.

(5Z)-{5-[1-(5-*tert*-Butylpyrazin-2yl)ethyliden]-4-oxo-2-thioxothiazolidin-3-yl}octová kyselina (3h)

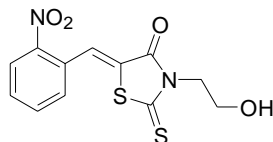
Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 63 %. **T.t.** 254 - 261 °C. **Elementární analýza** C₁₅H₁₇N₃O₃S₂ (M.h. 351,45) vypočteno (%): C, 51,26; H, 4,88; N, 11,96; S, 18,25; nalezeno (%): C, 50,85; H, 5,10; N, 12,12; S, 18,32. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3392 (C-OH); 1703 (C=O); 758 (C=S). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 388,0 / 3,16. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 13,37 (1H, bs, OH); 9,26 (1H, d, *J* = 1,4 Hz, H3); 9,03 (1H, d, *J* = 1,4 Hz, H6); 4,71 (2H, s, NCH₂); 2,92 (3H, s, CH₃); 1,39 (9H, s, CH₃). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 199,6; 167,8; 166,5; 163,9; 146,5; 144,1; 139,7; 139,1; 122,2; 44,7; 36,9; 29,6; 15,5.

(5Z)-{5-[1-(5-Benzylpyrazin-2yl)ethyliden]-4-oxo-2-thioxothiazolidin-3-yl}octová kyselina (3ch)



Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 31 %. **T.t.** 224 - 225 °C. **Elementární analýza** C₁₈H₁₅N₃O₃S₂ (M.h. 385,47) vypočteno (%): C, 56,09; H, 3,92; N, 10,90; S, 16,64; nalezeno (%): C, 55,29; H, 3,96; N, 10,86; S, 16,46. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3436 (C-OH); 1729 (C=O(OH)); 1697 (C=O); 754 (C=S). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 386,8 / 3,32. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 9,22 (1H, d, *J* = 1,4 Hz, H3); 8,88 (1H, d, *J* = 1,4 Hz, H6); 7,36 - 7,18 (5H, m, Ar); 4,70 (2H, s, NCH₂); 4,23 (2H, s, CH₂); 2,89 (3H, s, CH₃). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 199,4; 167,7; 166,5; 156,3; 147,1; 145,0; 141,8; 139,7; 138,5; 129,3; 128,8; 126,8; 122,3; 44,8; 40,9; 15,5.

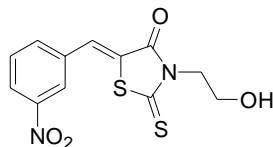
(5Z)-3-(2-Hydroxyethyl)-5-(2-nitrobenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (4a)



Produkt byl získán jako žlutooranžová krystalická látka. Výtěžek 5 %. **T.t.** 105 – 107 °C. **Elementární analýza** C₁₂H₁₀N₂O₄S₂ (M.h. 310,35) vypočteno (%): C, 46,44; H, 3,25; N, 9,03; S, 20,66; nalezeno (%): C, 46,60; H, 3,25; N, 8,96; S, 20,23. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3458 (OH); 1716 (C=O); 1213 (C=S). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 361,0 / 3,46. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 8,22 (1H, dd, *J* = 8,21 Hz, *J* = 1,4 Hz, H3'); 8,02 (1H, s, CH); 7,93 – 7,86 (1H, m, H5'); 7,78–7,69 (2H, m, H4', H6'); 4,95 (1H, t, *J* = 6,1 Hz, OH); 4,12 (2H, t, *J* =

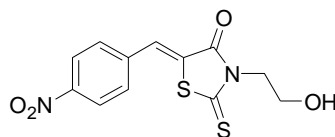
6,1 Hz, NCH₂); 3,66 (2H, q, $J = 6,1$ Hz, OCH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 194,2; 166,6; 148,1; 134,9; 131,6; 129,6; 129,3; 129,0; 127,4; 125,8; 56,9; 46,9.

(5Z)-3-(2-Hydroxyethyl)-5-(3-nitrobenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (4b)

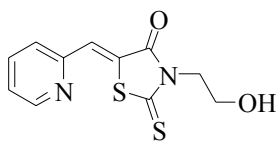


Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 14 %. T.t. 217–220 °C. **Elementární analýza** C₁₂H₁₀N₂O₄S₂ (M.h. 310,35) vypočteno (%): C, 46,44; H, 3,25; N, 9,03; S, 20,66; nalezeno (%): C, 46,79; H, 2,97; N, 9,12; S, 20,46. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3448 (OH); 1716 (C=O); 1228 (C=S). **UV (nm)**, $\lambda_{\max}/\log \epsilon$: 366,4 / 3,38. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 8,47 (1H, t, $J = 1,9$ Hz, H2'); 8,33–8,27 (1H, m, H4'); 8,02 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H6'); 7,94 (1H, s, CH); 7,82 (1H, t, $J = 8,0$ Hz, H5'); 4,93 (1H, t, $J = 6,0$ Hz, OH); 4,12 (2H, t, $J = 6,0$ Hz, NCH₂); 3,65 (2H, q, $J = 6,0$ Hz, OCH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 193,4; 167,1; 148,5; 135,9; 134,8; 131,3; 130,2; 125,7; 125,2; 125,0; 56,9; 46,9.

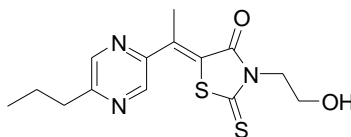
(5Z)-3-(2-Hydroxyethyl)-5-(4-nitrobenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (4c)



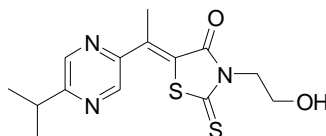
Produkt byl získán jako červenohnědá krystalická látka. Výtěžek 16 %. T.t. 202–205 °C. (lit.: 204–205 °C – *E*-izomer, rozpouštědlo neuvedeno²¹⁵). **Elementární analýza** C₁₂H₁₀N₂O₄S₂ (M.h. 310,35) vypočteno (%): C, 46,44; H, 3,25; N, 9,03; S, 20,66; nalezeno (%): C, 46,66; H, 3,37; N, 8,87; S, 20,15. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3421 (OH); 1713 (C=O); 1219 (C=S). **UV (nm)**, $\lambda_{\max}/\log \epsilon$: 386,8 / 3,39. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 8,39 – 8,26 (2H, m, AA', BB', H3', H5'); 7,91–7,84 (2H, m, AA', BB', H2', H6'); 7,88 (1H, s, overlapped, CH); 4,94 (1H, bs, OH); 4,11 (2H, t, $J = 5,9$ Hz, NCH₂); 3,73–3,59 (2H, m, OCH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 193,6; 167,2; 147,8; 139,3; 131,7; 129,8; 127,1; 124,6; 56,9; 46,9.

(5Z)-3-(2-Hydroxyethyl)-5-(pyridin-2ylmethyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on (4d)

Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 37 %. **T.t.** 224 - 225 °C. **Elementární analýza** C₁₁H₁₀N₂O₂S₂ (M.h. 266,34) vypočteno (%): C, 49,61; H, 3,78; N, 10,52; S, 24,08; nalezeno (%): C, 49,17; H, 3,95; N, 10,37; S, 23,66. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3515 (OH), 1706 (C=O), 753 (C=S). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 363,9 / 3,28. **¹H NMR** (300 M Hz, DMSO-*d*₆), δ: 8,7 (1H, d, *J* = 4,8 Hz, H6'); 8,00-7,91 (2H, m, H3', H6'); 7,81 (1H, s, CH); 7,45-7,42 (1H, m, H4'); 4,92 (1H, t, *J* = 6,0 Hz, OH); 4,11 (2H, t, *J* = 6,0 Hz, NCH); 3,64 (2H, q, *J* = 6,0 Hz, CHO). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 200,0; 167,1; 151,1; 149,3; 137,6; 128,2; 128,1; 126,8; 124,0; 56,7; 45,9.

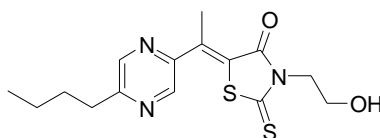
(5Z)-3-(2-Hydroxyethyl)-5-[1-(5-propylpyrazin-2-yl)ethyliden]-2-thioxothiazolidin-4-on (4e)

Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 11 %. **T.t.** 137–139 °C – ethanol. **Elementární analýza** C₁₃H₁₅N₃O₂S₂ (M.h. 309,41) vypočteno (%): C, 51,59; H, 5,30; N, 12,99; S, 19,83; nalezeno (%): C, 51,40; H, 5,37; N, 12,68; S, 18,32. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3330 (OH); 2962, 2874 (CH); 1695 (C=O); 752 (C=S). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 386,8 / 3,12. **¹H NMR** (300 M Hz, DMSO-*d*₆), δ: 9,21 (1H, bs, H3'); 8,79 (1H, bs, H6'); 4,91 (1H, t, *J* = 5,7 Hz, OH); 4,09 (2H, t, *J* = 5,7 Hz, NCH₂); 3,61 (2H, q, *J* = 5,7 Hz, OCH₂); 2,89 (3H, s, overlapped, CH₃); 2,86 (2H, t, overlapped, *J* = 7,2 Hz, CH₂); 1,74 (2H, q, *J* = 7,2 Hz, CH₂); 0,93 (3H, t, *J* = 7,2 Hz, CH₃). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO- *d*₆), δ: 199,6; 166,9; 155,9; 146,8; 144,3; 141,5; 138,1; 122,5; 55,7; 45,7; 36,4; 21,8; 15,1; 13,5.

(5Z)-3-(2-Hydroxyethyl)-5-[1-(5-isopropylpyrazin-2-yl)ethyliden]-2-thioxothiazolidin-4-on (4f)

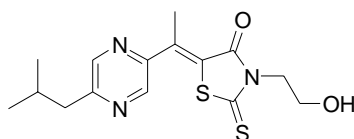
Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 39 %. **T.t.** 125–126 °C – ethanol. **Elementární analýza** C₁₃H₁₅N₃O₂S₂ (M.h. 309,41) vypočteno (%): C, 51,59; H, 5,30; N, 12,99; S, 19,83; nalezeno (%): C, 51,48; H, 5,47; N, 12,95; S, 19,91. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3351 (OH); 2964 (CH); 1702 (C=O); 753(C=S). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 386,8 / 3,10. **¹H NMR** (300 M Hz, DMSO-*d*₆), δ: 9,21 (1H, d, *J* = 1,5 Hz, H3'); 8,84 (1H, d, *J* = 1,5 Hz, H6'); 4,91 (1H, t, *J* = 6,3 Hz, OH); 4,09 (2H, t, *J* = 6,3 Hz, NCH₂); 3,61 (2H, q, *J* = 6,3 Hz, OCH₂); 3,27–3,13 (1H, m, CH); 2,90 (3H, s, CH₃); 1,30 (6H, d, *J* = 6,9 Hz, CH₃). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 199,6; 166,9; 161,3; 150,0; 144,2; 140,3; 138,1; 122,5; 55,7; 45,7; 33,2; 21,7; 15,1.

(5Z)-3-(2-Hydroxyethyl)-5-[1-(5-butylpyrazin-2-yl)ethyliden]-2-thioxothiazolidin-4-on (4g)



Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 28 %. **T.t.** 135–136 °C – ethanol. **Elementární analýza** C₁₄H₁₇N₃O₂S₂ (M.h. 323,43) vypočteno (%): C, 53,39; H, 5,67; N, 12,45; S, 19,00; nalezeno (%): C, 52,77; H, 5,65; N, 12,33; S, 17,57. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3464 (OH); 2954, 2874 (CH); 1700 (C=O); 757 (C=S). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 386,8 / 3,19. **¹H NMR** (300 M Hz, DMSO-*d*₆), δ: 9,20 (1H, d, *J* = 1,5 Hz, H3'); 8,79 (1H, d, *J* = 1,5 Hz, H6'); 4,91 (1H, t, *J* = 6,0 Hz, OH); 4,09 (2H, t, *J* = 6,0 Hz, NCH₂); 3,61 (2H, q, *J* = 6,0 Hz, OCH₂); 2,89 (3H, s, overlapped, CH₃); 2,86 (2H, t, overlapped, *J* = 7,5 Hz, CH₂); 1,70 (2H, pent, *J* = 7,5 Hz, CH₂); 1,33 (2H, sext, *J* = 7,5 Hz, CH₂); 0,91 (3H, t, *J* = 7,5 Hz, CH₃). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 199,5; 166,7; 156,9; 146,6; 144,1; 141,3; 138,0; 122,3; 55,6; 45,6; 34,0; 30,4; 21,6; 15,0; 13,5.

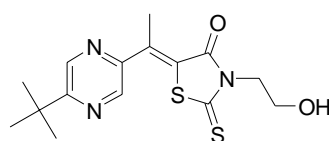
(5Z)-3-(2-Hydroxyethyl)-5-[1-(5-isobutylpyrazin-2-yl)ethyliden]-2-thioxothiazolidin-4-on (4h)



Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 43 %. **T.t.** 131–132 °C – ethanol. **Elementární analýza** C₁₄H₁₇N₃O₂S₂ (M.h. 323,43) vypočteno (%): C, 53,39; H, 5,67; N,

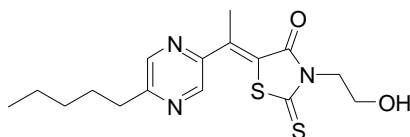
12,45; S, 19,00; nalezeno (%): C, 52,08; H, 5,82; N, 12,35; S, 19,29. **IČ** (KBr, cm^{-1}): 3367 (OH); 2972, 2869 (CH); 1698 (C=O); 751 (C=S). **UV (nm)**, $\lambda_{\text{max}}/\log \epsilon$: 386,8 / 3,14. **^1H NMR** (300 M Hz, DMSO- d_6), δ : 9,22 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H3'); 8,77 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H6'); 4,91 (1H, t, $J = 6,3$ Hz, OH); 4,09 (2H, t, $J = 6,3$ Hz, NCH₂); 3,61 (2H, q, $J = 6,3$ Hz, OCH₂); 2,90 (3H, s, CH₃); 2,73 (2H, d, $J = 6,6$ Hz, CH₂); 2,16–2,04 (1H, m, CH); 0,90 (6H, d, $J = 6,6$ Hz, CH₃). **^{13}C NMR** (75 MHz, DMSO- d_6), δ : 199,6; 166,9; 156,2; 146,8; 144,3; 141,8; 138,1; 122,5; 55,7; 45,7; 43,4; 28,3; 22,1; 15,1.

(5Z)-3-(2-Hydroxyethyl)-5-[1-(5-*tert*-butylpyrazin-2-yl)ethyliden]-2-thioxothiazolidin-4-on (4ch)



Produkt byl získán jako žlutooranžová krystalická látka. Výtěžek 59 %. **T.t.** 129 - 130 °C – ethanol. **Elementární analýza** C₁₄H₁₇N₃O₂S₂ (M.h. 323,43) vypočteno (%): C, 53,39; H, 5,67; N, 12,45; S, 19,00; nalezeno (%): C, 53,14; H, 6,09; N, 11,81; S, 19,69. **IČ** (KBr, cm^{-1}): 3392 (OH); 2963(CH₃); 1701(C=O),753(C=S). **UV (nm)**, $\lambda_{\text{max}}/\log \epsilon$: 386,8 / 3,07. **^1H NMR** (300 MHz, DMSO- d_6), δ : 9,23 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H3'); 9,00 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H6'); 4,91 (1H, t, $J = 6,0$ Hz, OH); 4,09 (2H, t, $J = 6,0$ Hz, NCH₂); 3,61 (2H, q, $J = 6,0$ Hz, OCH₂); 2,90 (3H, s, CH₃); 1,39 (9H, s, CH₃). **^{13}C NMR** (75 MHz, DMSO- d_6), δ : 199,7; 166,9; 163,3; 145,5; 143,6; 138,8; 138,0; 122,6; 56,7; 45,7; 36,6; 18,5; 15,0.

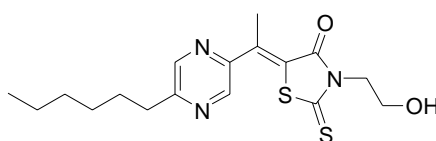
(5Z)-3-(2-Hydroxyethyl)-5-[1-(5-pentylpyrazin-2-yl)ethyliden]-2-thioxothiazolidin-4-on (4i)



Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 24 %. **T.t.** 109–111 °C – ethanol. **Elementární analýza** C₁₅H₁₉N₃O₂S₂ (M.h. 337,46) vypočteno (%): C, 54,67; H, 6,02; N, 11,95; S, 18,25; nalezeno (%): C, 54,71; H, 6,25; N, 12,06; S, 18,73. **IČ** (KBr, cm^{-1}): 3292 (OH); 2930, 2860 (CH); 1692 (C=O); 754 (C=S). **UV (nm)**, $\lambda_{\text{max}}/\log \epsilon$: 389,2 / 3,20. **^1H NMR** (300 M Hz, CDCl₃), δ : 9,20 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H3'); 8,58 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H6'); 4,37 (2H, t, $J = 5,4$ Hz, NCH₂); 3,95 (2H, t, $J = 5,4$ Hz, OCH₂); 2,92 (3H, s, overlapped,

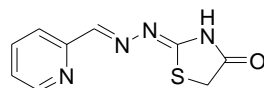
CH₃); 2,87 (2H, t, overlapped, $J = 8,1$ Hz, CH₂); 1,84–1,69 (2H, m, CH₂); 1,38–1,33 (4H, m, CH₂); 0,90 (3H, t, $J = 6,9$ Hz, CH₃). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ : 200,6; 168,3; 157,5; 157,4; 143,6; 141,5; 137,8; 124,6; 60,3; 46,1; 35,4; 31,4; 28,9; 22,4; 15,6; 13,9.

(5Z)-3-(2-Hydroxyethyl)-5-[1-(5-hexylpyrazin-2-yl)ethyliden]-2-thioxothiazolidin-4-on (4j)



Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 31 %. **T.t.** 133–134 °C – ethanol. **Elementární analýza** C₁₆H₂₁N₃O₂S₂ (M.h. 351,49) vypočteno (%): C, 55,86; H, 6,34; N, 11,50; S, 17,55; nalezeno (%): C, 55,27; H, 6,48; N, 11,44; S, 17,66. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3277 (OH); 2929, 2857 (CH); 1692 (C=O), 754 (C=S). **UV (nm)**, $\lambda_{\max}/\log \epsilon$: 389,2 / 3,20. **¹H NMR** (300 MHz, CDCl₃), δ : 9,01 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H3'); 8,55 (1H, d, $J = 1,5$ Hz, H6'); 4,38 (2H, t, $J = 5,7$ Hz, NCH₂); 3,95 (2H, q, $J = 5,7$ Hz, OCH₂); 2,93 (3H, s, overlapped, CH₃); 2,88 (2H, t, overlapped, $J = 7,8$ Hz, CH₂); 1,82 - 1,68 (2H, m, CH₂); 1,40-1,28 (6H, m, CH₂); 0,88 (3H, t, $J = 6,9$ Hz, CH₃). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃), δ : 200,6; 168,3; 157,5; 147,4; 143,6; 141,5; 137,8; 124,0; 60,4; 46,1; 35,5; 31,5; 29,2; 28,9; 22,4; 15,6; 14,0.

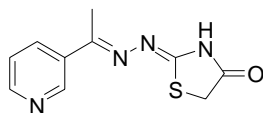
2-(Pyridin-2-ylmethylidenhydrazono)thiazolidin-4-on (5a)



Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 36 %. **T.t.** 262–264 °C – ethanol. (lit.: 251 °C – *E,E*-izomer, rozpouštědlo neuvedeno, 264 °C – *E,E*-izomer, ethanol, 264 °C – *E,E*-izomer, kyselina octová)²¹⁵. **Elementární analýza** C₉H₈N₄OS (M.h. 220,25) vypočteno (%): C, 49,08; H, 3,66; N, 25,44; S, 14,56; nalezeno (%): C, 48,81; H, 3,92; N, 25,03; S, 12,40. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 2933 (CH₂); 2618 (CH); 1706 (C=O). **UV (nm)**, $\lambda_{\max}/\log \epsilon$: 310,6 / 3,35. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 12,12 (1H, bs, NH); 8,63 (1H, d, $J =$

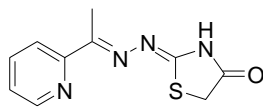
5,3 Hz, H6'); 8,31 (1H, s, CH); 8,00–7,83 (2H, m, H3', H4'); 7,44 (1H, t, $J = 5,3$ Hz, H5'); 3,92 (2H, s, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 174,5; 167,7; 156,5; 153,0; 149,9; 137,1; 125,1; 120,9; 33,4.

2-(Pyridin-3-ylethylidenhydrazono)thiazolidin-4-on (5b)



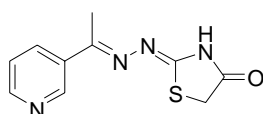
Produkt byl získán jako bílá krystalická látka. Výtěžek 91 %. T.t. 288–291 °C – ethanol. (lit.: 278 °C – *E,E*-izomer, ethanol, 278 °C – *E,E*-izomer, kyselina octová)²¹⁵. **Elementární analýza** C₉H₈N₄OS (M.h. 220,25) vypočteno (%): C, 49,08; H, 3,66; N, 25,44; S, 14,56; nalezeno (%): C, 48,80; H, 3,92; N, 25,32; S, 12,51. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3027 (NH); 2941 (CH₂); 2754 (CH); 1705 (C=O). **UV (nm)**, $\lambda_{\max}/\log \epsilon$: 311,2 / 3,35. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 12,05 (1H, bs, NH); 8,88 (1H, s, H2'); 8,65–8,59 (1H, m, H6'); 8,46 (1H, s, CH); 8,16–8,08 (1H, m, H4'); 7,54–7,42 (1H, m, H5'); 3,91 (2H, s, CH₂). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 174,3; 166,6; 154,0; 151,4; 149,4; 134,2; 130,3; 124,2; 33,3.

2-[1-(Pyridin-2-yl)ethylidenhydrazono]thiazolidin-4-on (5c)



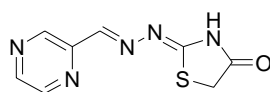
Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 24 %. T.t. 247–250 °C – ethanol. **Elementární analýza** C₁₀H₁₀N₄OS (M.h. 234,28) vypočteno (%): C, 51,27; H, 4,30; N, 23,91; S, 13,69; nalezeno (%): C, 51,38; H, 4,40; N, 23,90; S, 13,97. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3009 (NH); 2929, 2708 (CH); 1710 (C=O); 1625 (C=N). **UV (nm)**, $\lambda_{\max}/\log \epsilon$: 301,9 / 3,35. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 12,10 (1H, bs, NH); 8,65 (1H, d, $J = 5,3$ Hz, H6'); 8,12 – 8,04 (1H, m, H3'); 7,92–7,83 (1H, m, H4'); 7,46–7,39 (1H, m, H5'); 3,87 (2H, s, CH₂); 2,39 (3H, s, CH₃). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 174,2; 165,7; 161,6; 155,3; 149,0; 136,8; 124,7; 120,6; 33,1; 13,8.

2-[1-(Pyridin-3-yl)ethylidenhydrazono]thiazolidin-4-on (5d)



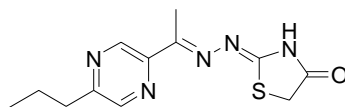
Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 18 %. **T.t.** 243–245 °C – ethanol. **Elementární analýza** C₁₀H₁₀N₄OS (M.h. 234,28) vypočteno (%): C, 51,27; H, 4,30; N, 23,91; S, 13,69; nalezeno (%): C, 50,44; H, 4,20; N, 23,39; S, 13,52. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3028 (NH); 2932, 2769 (CH); 1704 (C=O). **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 12,08 (1H, bs, NH); 9,06 (1H, s, H2'); 8,73–8,67 (1H, m, H6'); 8,39–8,31 (1H, m, H4'); 7,64–7,57 (1H, m, H5'); 3,86 (2H, s, CH₂); 2,40 (3H, s, CH₃). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 174,1; 166,1; 158,1; 148,5; 145,8; 136,0; 134,3; 124,6; 33,1; 14,6.

2-(Pyrazin-2-ylmethylidenhydrazono)thiazolidin-4-on (5e)

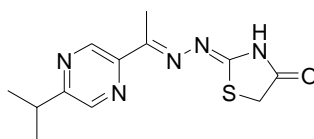


Produkt byl získán jako bílá krystalická látka. Výtěžek 69 %. **T.t.** 283–292 °C – za rozkladu, ethanol. **Elementární analýza** C₈H₇N₅OS (M.h. 221,24) vypočteno (%): C, 43,43; H, 3,19; N, 31,66; S, 14,49; nalezeno (%): C, 43,27; H, 3,16; N, 31,62; S, 14,46. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3057 (NH); 2930 (CH₂); 2734 (CH); 1710 (C=O). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 305,2 / 3,32. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 12,19 (1H, bs, NH); 9,11 (1H, s, H3'); 8,74–8,63 (2H, m, H5', H6'); 8,36 (1H, s, CH); 3,94 (2H, s, CH₂). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 174,5; 169,0; 154,3; 148,6; 145,4; 144,8; 142,8; 33,4.

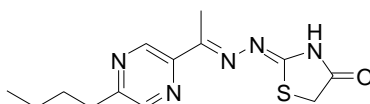
2-[[1-(5-Propylpyrazin-2-yl)ethyliden]hydrazono]thiazolidin-4-on (5f)



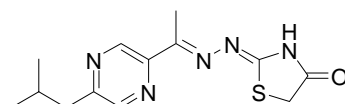
Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 51 %. **T.t.** 216–217 °C – ethanol. **Elementární analýza** C₁₂H₁₅N₅OS (M.h. 277,35) vypočteno (%): C, 51,97; H, 5,45; N, 25,25; S, 11,56; nalezeno (%): C, 51,58; H, 5,49; N, 25,08; S, 11,92. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3016 (NH); 2961 (CH₃); 2871 (CH₂); 1702 (C=O); 1628 (C=N). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 315,3 / 3,27. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 2,11 (1H, bs, NH); 9,10 (1H, d, *J* = 1,5 Hz, H3'); 8,54 (1H, d, *J* = 1,5 Hz, H6'); 3,89 (2H, s, SCH₂); 2,76 (2H, t, *J* = 7,5 Hz, CH₂); 2,37 (3H, s, CH₃), 1,78–1,61 (2H, m, CH₂); 0,90 (3H, t, *J* = 7,5 Hz, CH₃). **¹³C NMR** (75 MHz, CDCl₃), δ: 174,2; 166,7; 160,1; 157,3; 148,2; 143,0; 141,5; 36,6; 36,5; 33,2; 22,2; 13,7.

2-**{[1-(5-Isopropylpyrazin-2-yl)ethyliden]hydrazono}thiazolidin-4-on (5g)**

Produkt byl získán jako bílá krystalická látka. Výtěžek 49 %. **T.t.** 225–226°C – ethanol. **Elementární analýza** C₁₂H₁₅N₅OS (M.h. 277,35) vypočteno (%): C, 51,97; H, 5,45; N, 25,25; S, 11,56; nalezeno (%): C, 51,85; H, 5,50; N, 25,17; S, 12,14. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3082 (NH); 2964 (CH₃); 2826 (CH); 1704 (C=O); 1627 (C=N). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 316,5 / 3,25. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 12,11 (1H, bs, NH); 9,10 (1H, d, *J* = 1,5 Hz, H3'); 8,58 (1H, d, *J* = 1,5 Hz, H6'); 3,90 (2H, s, SCH₂); 3,21–3,04 (1H, m, CH); 2,38 (3H, s, CH₃); 1,26 (6H, d, *J* = 6,9 Hz, CH₃). **¹³C NMR** (75 MHz, CDCl₃), δ: 174,2; 166,7; 161,8; 160,1; 148,4; 141,7; 141,4; 33,2; 22,2; 13,5.

2-**{[1-(5-Butylpyrazin-2-yl)ethyliden]hydrazono}thiazolidin-4-on (5h)**

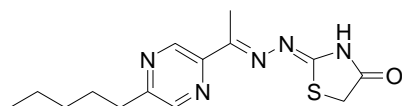
Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 42 %. **T.t.** 210–212°C – ethanol. **Elementární analýza** C₁₃H₁₇N₅OS (M.h. 291,37) vypočteno (%): C, 53,59; H, 5,88; N, 24,04; S, 11,00; nalezeno (%): C, 52,70; H, 5,61; N, 24,00; S, 9,68. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3066 (NH); 2955, 2929 (CH₂); 2869 (CH); 1718 (C=O); 1624 (C=N). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 316,5 / 3,35. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 12,11 (1H, bs, NH); 9,09 (1H, d, *J* = 1,4 Hz, H3'); 8,54 (1H, d, *J* = 1,4 Hz, H6'); 3,89 (2H, s, SCH₂); 2,78 (2H, t, *J* = 7,4 Hz, CH₂); 2,37 (3H, s, CH₃); 1,73–1,58 (2H, m, CH₂); 1,38–1,22 (2H, m, CH₂); 0,88 (3H, t, *J* = 7,4 Hz, CH₃). **¹³C NMR** (75 MHz, CDCl₃), δ: 174,2; 166,7; 160,1; 157,5; 148,2; 142,9; 141,5; 34,2; 33,2; 31,0; 22,0; 13,9; 13,5.

2-**{[1-(5-Isobutylpyrazin-2-yl)ethyliden]hydrazono}thiazolidin-4-on (5ch)**

Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 40 %. **T.t.** 202–204°C – ethanol. **Elementární analýza** C₁₃H₁₇N₅OS (M.h. 291,37) vypočteno (%): C, 53,59; H, 5,88; N, 24,04; S, 11,00; nalezeno (%): C, 53,03; H, 5,79; N, 24,34; S, 10,37. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3070

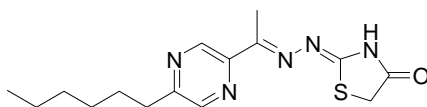
(NH); 2953 (CH₂); 2868 (CH); 1705 (C=O); 1620 (C=N). **UV (nm)**, $\lambda_{\max}/\log \epsilon$: 312,0 / 3,36. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 12,11 (1H, bs, NH); 9,12 (1H, d, $J = 1.4$ Hz, H3'); 8,52 (1H, d, $J = 1.4$ Hz, H6'); 3,90 (2H, s, SCH₂); 2,66 (2H, d, $J = 6.9$ Hz, CH₂); 2,38 (3H, s, CH₃); 2,15–1,97 (1H, m, CH); 0,88 (6H, d, $J = 6,9$ Hz, CH₃). **¹³C NMR** (75 MHz, CDCl₃), δ : 174,2; 166,6; 160,1; 156,6; 148,2; 143,4; 141,5; 43,5; 33,2; 28,6; 22,3; 13,4.

2-**{1-(5-Pentylpyrazin-2-yl)ethylidene}hydrazono**thiazolidin-4-on (5i)

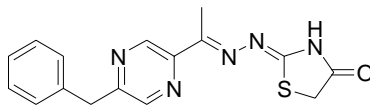


Produkt byl získán jako žlutá krystalická látka. Výtěžek 57 %. **T.t.** 181–182°C – ethanol. **Elementární analýza** C₁₄H₁₉N₅OS (M.h. 305,40) vypočteno (%): C, 55,06; H, 6,27; N, 22,93; S, 10,50; nalezeno (%): C, 55,38; H, 6,37; N, 22,70; S, 10,04. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3083 (NH); 2955, 2862 (CH₂); 1719 (C=O); 1625 (C=N). **UV (nm)**, $\lambda_{\max}/\log \epsilon$: 316,5 / 3,36. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 12,11 (1H, bs, NH); 9,10 (1H, d, $J = 1.4$ Hz, H3'); 8,55 (1H, d, $J = 1.4$ Hz, H6'); 3,89 (2H, s, CH₂); 2,78 (2H, t, $J = 7,3$ Hz, CH₂); 2,37 (3H, s, CH₃); 1,79–1,60 (2H, m, CH₂); 1,38–1,22 (4H, m, CH₂); 0,84 (3H, t, $J = 7.3$ Hz, CH₃). **¹³C NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 174,2; 166,7; 160,2; 157,5; 148,2; 142,9; 141,5; 34,5; 33,2; 31,0; 28,6; 22,1; 14,1; 13,5.

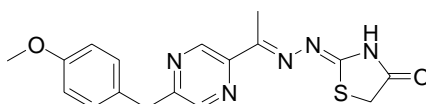
2-**{1-(5-Hexylpyrazin-2-yl)ethyliden}hydrazono**thiazolidin-4-on (5j)



Produkt byl získán jako bílá krystalická látka. Výtěžek 52 %. **T.t.** 162–163°C – ethanol. **Elementární analýza** C₁₅H₂₁N₅OS (M.h. 319,43) vypočteno (%): C, 56,40; H, 6,63; N, 21,92; S, 10,04; nalezeno (%): C, 55,89; H, 6,59; N, 21,88; S, 9,27. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3071 (NH); 2975 (CH₃), 2946, 2922 (CH₂); 1704 (C=O); 1623 (C=N). **UV (nm)**, $\lambda_{\max}/\log \epsilon$: 310,9 / 3,26. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ : 12,11 (1H, bs, NH); 9,10 (1H, d, $J = 1.1$ Hz, H3'); 8,54 (1H, d, $J = 1.1$ Hz, H6'); 3,89 (2H, s, CH₂); 2,78 (2H, t, $J = 7,3$ Hz, CH₂); 2,37 (3H, s, CH₃); 1,75–1,58 (2H, m, CH₂); 1,35–1,18 (6H, m, CH₂); 0,83 (3H, t, $J = 7.3$ Hz, CH₃). **¹³C NMR** (75 MHz, CDCl₃), δ : 174,2; 166,7; 160,1; 157,4; 148,2; 142,9; 141,5; 34,5; 33,2; 31,2; 28,9; 28,5; 22,2; 14,1; 13,4.

2-{{1-(5-Benzylpyrazin-2-yl)ethyliden}hydrazono}thiazolidin-4-on (5k)

Produkt byl získán jako bílá krystalická látka. Výtěžek 86 %. **T.t.** 242–243°C – ethanol. **Elementární analýza** C₁₆H₁₅N₅OS (M.h. 325,39) vypočteno (%): C, 59,06; H, 4,65; N, 21,52; S, 9,85; nalezeno (%): C, 58,79; H, 4,81; N, 21,99; S, 10,22. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3067 (NH); 2930 (CH₂); 2798 (CH); 1702 (C=O); 1625 (C=N). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 317,7 / 3,25. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 12,12 (1H, bs, NH); 9,10 (1H, s, H3'); 8,63 (1H, s, H6'); 7,32–7,16 (5H, m, H2', H3', H4', H5', H6'); 4,16 (2H, s, CH₂); 3,89 (2H, s, CH₂); 2,36 (3H, s, CH₃). **¹³C NMR** (75 MHz, CDCl₃), δ: 174,2; 166,8; 160,0; 156,2; 148,5; 143,1; 141,7; 138,9; 129,2; 128,8; 126,7; 40,8; 33,2; 13,5.

2-{{1-[5-(4-Methoxybenzyl)pyrazin-2-yl]ethyliden}hydrazono}thiazolidin-4-on (5l)

Produkt byl získán jako bílá krystalická látka. Výtěžek 63 %. **T.t.** 223–224 °C – ethanol. **Elementární analýza** C₁₇H₁₇N₅O₂S (M.h. 355,11) vypočteno (%): C, 57,45; H, 4,82; N, 19,70; S, 9,02; nalezeno (%): C, 56,96; H, 4,98; N, 19,99; S, 9,40. **IČ** (KBr, cm⁻¹): 3078 (NH); 2829 (OCH₃); 2929 (CH₂); 1704 (C=O); 1627 (C=N). **UV (nm)**, λ_{max}/log ε: 320,1 / 3,26. **¹H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆), δ: 12,11 (1H, bs, NH); 9,09 (1H, s, H3'); 8,60 (1H, s, H6'); 7,26–7,14 (2H, m, AA', BB', H2', H6'); 6,91–6,78 (2H, m, AA', BB', H3', H5'); 4,09 (2H, s, CH₂); 3,90 (2H, s, CH₂); 3,70 (3H, s, OCH₃); 2,37 (3H, s, CH₃).


6.5. Stanovení lipofilyty připravených sloučenin

Experimentálně byla lipofilita připravených sloučenin stanovena pomocí HPLC způsobem pospaným v části 6.3. Instrumentální metody. Kapacitní faktor *K* byl kalkulován pomocí Millennium32[®] Chromatography Manager Software podle vzorce $K = (T_R - T_D) / T_D$, kde *T_R* byl retenční čas rozpouštědla, *T_D* byl mrtvý čas kolony.

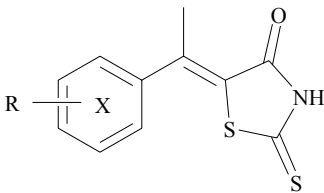
Log P , logaritmus rozdělovacího koeficientu pro soustavu n -oktanol/voda, byl zároveň kalkulován pomocí programu CS ChemOffice Ultra ver. 10.0 (CambridgeSoft, Cambridge, MA, U.S.A.) a ACD/Log P ver. 1.0 (Advanced Chemistry Development Inc., Toronto, Canada). Výsledné logaritmované hodnoty kapacitního faktoru log K všech připravených sloučenin a hodnoty získané pomocí počítačové simulace jsou prezentovány v následujících tabulkách 6 – 10. U látky **5d** nebyla lipofilita experimentálně stanovena.

Tabulka 6. Experimentální hodnoty Log K a kalkulované lipofility (log P) látek 1a – 1z

Kód látky	X	R	Log K	Log P <i>ChemOffice</i> <i>ver. 10.0</i>	Log P ACD/Log P
1a	C	H	0,5122	2,04	2,94 ± 0,76
1b	C	2-OH	0,4664	1,65	2,21 ± 0,76
1c	C	3-OH	0,2744	1,65	2,86 ± 0,77
1d	C	4-OH	0,2641	1,65	2,96 ± 0,77
1e	C	2,4-OH	0,2776	1,26	2,23 ± 0,78
1f	C	3-OCH ₃ -4-OH	0,3553	1,52	2,72 ± 0,78
1g	C	2-OCH ₃	0,5867	1,91	2,95 ± 0,77
1h	C	3-OCH ₃	0,5713	1,91	2,92 ± 0,77
1ch	C	4-OCH ₃	0,5425	1,91	2,89 ± 0,77
1i	C	2-F	0,8108	2,19	2,99 ± 0,81
1j	C	3-F	0,8204	2,19	2,99 ± 0,81
1k	C	4-F	0,7909	2,19	2,99 ± 0,81
1l	C	2-Cl	0,9019	2,59	3,54 ± 0,77
1m	C	3-Cl	1,0270	2,59	3,54 ± 0,77
1n	C	4-Cl	0,5936	2,59	3,54 ± 0,77
1o	C	2-Br	0,9368	2,86	3,91 ± 0,81
1p	C	3-Br	1,0820	2,86	3,71 ± 0,81
1q	C	4-Br	0,6940	2,86	3,71 ± 0,81
1r	C	2-NO ₂	0,2254	2,49	2,67 ± 0,77
1s	C	3-NO ₂	0,2399	2,49	2,67 ± 0,77
1t	C	4-NO ₂	0,2436	2,49	2,67 ± 0,77

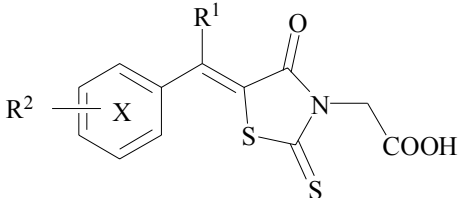
1u	C	4-N(CH ₃) ₂	0,6466	2,32	3,05 ± 0,77
1v		H	0,4656	0,65	2,1 ± 0,77
1w	2-N	H	0,4864	1,12	1,45 ± 0,76
1x	3-N	H	0,4539	0,70	1,70 ± 0,77
1y	4-N	H	0,1878	0,70	1,45 ± 0,76
1z	2,4-N	H	0,2359	-0,22	0,69 ± 0,77

Tabulka 7. Experimentální hodnoty Log *K* a kalkulované lipofility (log *P*) látek 2a – 2g

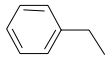


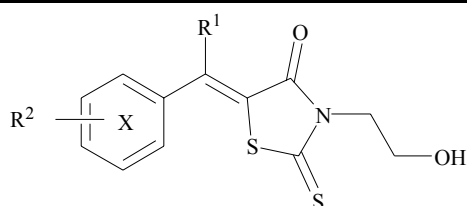
Kód látky	X	R	Log <i>K</i>	Log <i>P</i> <i>ChemOffice</i> <i>ver. 10.0</i>	Log <i>P</i> ACD/Log <i>P</i>
2a	C	H	0,6484	2,21	3,49 ± 0,77
2b	2,4-N	H	0,3187	-0,04	1,25 ± 0,79
2c	2,4-N	propyl	0,7134	1,57	2,77 ± 0,79
2d	2,4-N	isopropyl	0,7365	1,55	2,59 ± 0,79
2e	2,4-N	butyl	0,8872	1,99	3,30 ± 0,79
2f	2,4-N	isobutyl	0,8390	1,90	3,12 ± 0,79
2g	2,4-N	<i>t</i> -butyl	0,9424	2,09	2,93 ± 0,79

Tabulka 8. Experimentální hodnoty Log *K* a kalkulované lipofility (log *P*) látek 3a – 3ch



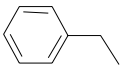

Kód látky	X	R ¹	R ²	Log <i>K</i>	Log <i>P</i> <i>ChemOffice</i> <i>ver. 10.0</i>	Log <i>P</i> ACD/Log <i>P</i>
3a	C	H	H	0,2013	1,54	2,34 ± 0,81
3b	2-N	H	H	0,1399	0,62	0,85 ± 0,82

3c	3-N	H	H	0,1116	0,20	1,10 ± 0,82
3d	4-N	H	H	0,1342	0,20	0,85 ± 0,82
3e	2,4-N	H	H	0,1165	-0,71	0,09 ± 0,82
3f	2,4-N	CH ₃	H	0,1734	-0,54	0,65 ± 0,84
3g	2,4-N	CH ₃	butyl	0,2270	1,49	2,70 ± 0,84
3h	2,4-N	CH ₃	<i>t</i> -butyl	0,2301	1,59	2,33 ± 0,84
3ch	2,4-N	CH ₃		0,2276	1,84	2,64 ± 0,84

Tabulka 9. Experimentální hodnoty Log *K* a kalkulované lipofily (log *P*) látek 4a – 4j

Kód látky	X	R ¹	R ²	Log <i>K</i>	Log <i>P</i> ChemOffice ver. 10.0	Log <i>P</i> ACD/Log <i>P</i>
4a	C	H	2-NO ₂	0,4751	2,04	1,81 ± 0,80
4b	C	H	3-NO ₂	0,6077	2,04	1,81 ± 0,80
4c	C	H	4-NO ₂	0,6349	2,04	1,81 ± 0,80
4d	2-N	H	H	0,3685	0,84	0,58 ± 0,80
4e	2,4-N	CH ₃	propyl	0,7956	1,29	1,90 ± 0,82
4f	2,4-N	CH ₃	isopropyl	0,8097	1,27	1,72 ± 0,82
4g	2,4-N	CH ₃	butyl	0,9887	1,70	2,44 ± 0,82
4h	2,4-N	CH ₃	isobutyl	0,9351	1,62	2,25 ± 0,82
4ch	2,4-N	CH ₃	<i>terc.</i> -butyl	1,0350	1,81	2,07 ± 0,83
4i	2,4-N	CH ₃	pentyl	1,1957	2,12	2,97 ± 0,82
4j	2,4-N	CH ₃	hexyl	1,4117	2,54	3,50 ± 0,82

Tabulka 10. Experimentální hodnoty Log *K* a kalkulované lipofility (log *P*) látek 5a – 5l

Kód látky	X	R ¹	R ²	Log <i>K</i>	Log <i>P</i> ChemOffice ver. 10.0	Log <i>P</i> ACD/Log <i>P</i>
5a	2-N	H	H	0,1949	1,45	1,06 ± 0,79
5b	3-N	H	H	0,1657	1,02	1,07 ± 0,78
5c	2-N	CH ₃	H	0,2334	1,01	0,93 ± 0,79
5d	3-N	CH ₃	H	nezměřeno	0,59	1,23 ± 0,78
5e	2,4-N	H	H	0,1631	0,11	0,47 ± 0,80
5f	2,4-N	CH ₃	propyl	0,4707	1,28	1,86 ± 0,81
5g	2,4-N	CH ₃	isopropyl	0,4801	1,26	1,68 ± 0,81
5h	2,4-N	CH ₃	butyl	0,6218	1,70	2,40 ± 0,81
5ch	2,4-N	CH ₃	isobutyl	0,6075	1,61	2,21 ± 0,81
5i	2,4-N	CH ₃	pentyl	0,8005	2,12	2,93 ± 0,81
5j	2,4-N	CH ₃	hexyl	1,0358	2,53	3,46 ± 0,81
5k	2,4-N	CH ₃		0,5748	2,05	2,33 ± 0,81
5l	2,4-N	CH ₃		0,5340	1,93	2,25 ± 0,82

7. BIOLOGICKÉ HODNOCENÍ

7.1. Hodnocení antifungální aktivity

Antifungální účinnost všech připravených látek byla stanovena na katedře biologických a lékařských věd, Univerzity Karlovy v Praze, Farmaceutické fakulty v Hradci Králové, Doc. V. Buchtou, CSc., Mgr. M. Vejsovou, Ph.D. a kolektivem.

Citlivost fungálních kmenů na připravené látky byla hodnocena mikrodiluční bujónovou metodou^{222,223}. *Candida albicans* ATCC 44859 z pocházela z American Type Culture Collection, Manassas, VA. Ostatní kmeny *Candida tropicalis* 156, *Candida krusei* E 28,

Candida glabrata 20/I, *Trichosporon asahii* 1188, *Aspergillus fumigatus* 231, *Lichtheimia corymbifera* 272 a *Trichophyton mentagrophytes* 445 byly klinické izoláty získané z Ústavu klinické mikrobiologie Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové.


Kmeny byly uchovávány na Sabouraudově dextrosovém agaru (SDA; Difco/Becton Dickinson, Detroit, MI) při 4 °C. Před testováním byl každý kmen pasážován na SDA a inokula byla připravena suspendováním kvasinek, konidií nebo sporangiospor ve sterilním 0,85% fyziologickém roztoku. Hustota buněk byla pomocí Bürkerovy komůrky upravena tak, aby zásobní suspenze obsahovala $(1,0 \pm 0,2) \times 10^5$ CFU ml⁻¹ pro kvasinky a $(1,0 \pm 0,2) \times 10^6$ CFU ml⁻¹ pro plísně. Konečné inokulum bylo připraveno zředěním zásobní suspenze testovacím médiem v poměru 1:20.

Testované sloučeniny byly rozpuštěny v DMSO. Jejich antifungální aktivita pak byla stanovena v tkáňovém kultivačním mediu RPMI 1640 (KlinLab, Česká republika), jehož pH bylo upraveno na hodnotu 7,0 pomocí 0,165 M 3-(*N*-morfolinyl)propansulfonové kyseliny (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Konečná koncentrace DMSO v testovacím médiu byla max. 1 % (v/v) a neovlivňovala přirozený růst hub. Minimální inhibiční koncentrace (MIC), definované jako koncentrace vyvolávající 80% inhibici růstu ve srovnání s kontrolami, byly odečteny fotometricky při OD 540 nm po 24 a 48 hodinách (v případě *T. mentagrophytes* po 72 a 48 hodinách) statické kultivace při teplotě 35 °C.

Flukonazol (Pfizer, New York, NY) a amfotericin B (Sigma-Aldrich) byly použity jako pozitivní kontroly. a byly testovány za následujících podmínek. Výsledky antifungálního hodnocení jsou uvedeny v následující tabulkách 11 – 15.

Tabulka 11. Antifungální aktivita připravených látek 1a – 1z

Kód látky	X	R	MIC/IC ₈₀ (μmol/l)							
			CA	CT	CK	CG	TA	AF	LC	TM
			24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	72h 120h
1a	C	H	125	>250	>250	>250	125	62,5	62,5	31,25
			>250	>250	>250	>250	250	250	62,5	31,25
1b	C	2-OH	>500	>500	>500	>500	>500	250	500	125
			>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
1c	C	3-OH	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	500
			>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
1d	C	4-OH	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	250
			>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
1e	C	2,4-OH	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
			>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
1f	C	3-OCH ₃ - 4-OH	500	>500	>500	>500	500	125	500	125
			>500	>500	>500	>500	>500	500	500	250
1g	C	2-OCH ₃	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
			>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
1h	C	3-OCH ₃	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
			>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
1ch	C	4-OCH ₃	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
			>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
1i	C	2-F	125	125	>250	>250	125	250	62,5	62,5
			125	125	>250	>250	250	250	125	125
1j	C	3-F	125	250	250	250	250	125	62,5	31,25
			250	250	250	250	250	125	62,5	31,25
1k	C	4-F	31,25	>125	>125	>125	>125	>125	62,5	31,25
			62,5	>125	>125	>125	>125	>125	125	62,5
1l	C	2-Cl	125	250	250	250	125	125	31,25	31,25
			125	250	500	250	250	250	125	31,25
1m	C	3-Cl	125	>125	>125	>125	>125	>125	125	62,5
			>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	62,5
1n	C	4-Cl	31,25	>125	>125	>125	62,5	15,62	15,62	15,62
			>125	>125	>125	>125	>125	31,25	>125	62,5
1o	C	2-Br	62,5	125	>250	125	125	62,5	31,25	31,25
			250	250	>250	250	>250	250	62,5	31,25

1p	C	3-Br	>250	>250	>250	>250	>250	>250	125	15,62
			>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	31,25
1q	C	4-Br	62,5	>125	>125	>125	>125	>125	>125	31,25
			>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	62,5
1r	C	2-NO ₂	31,25	500	250	250	62,5	500	500	62,5
			62,5	500	250	250	250	250	250	250
1s	C	3-NO ₂	125	250	>250	>250	>250	62,5	125	62,5
			250	>250	>250	>250	>250	250	250	62,5
1t	C	4-NO ₂	125	125	>125	>125	>125	>125	>125	125
			125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	125
1u	C	4-N(CH ₃) ₂	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
			>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
1v		H	500	>500	>500	>500	500	250	62,5	31,25
			500	>500	>500	>500	500	250	125	62,5
1w	2-N	H	62,5	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
			>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
1x	3-N	H	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
			>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
1y	4-N	H	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
			>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
1z	2,4-N	H	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
			>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
Flukonazol			0,82	1,63	104,5	13,06	3,26	>209	>209	26,12
			3,26	>209	209	52,24	6,53	>209	>209	52,24
Amfotericin B			0,063	0,063	0,063	0,031	0,25	0,125	2	1
			0,125	0,063	0,125	0,125	0,25	0,125	2	1

CA – *Candida albicans*, CT – *Candida tropicalis*, CK – *Candida krusei*, CG – *Candida glabrata*, TA – *Trichosporon asahii*, AF – *Aspergillus fumigatus*, LC – *Lichtheimia corymbifera*, *Trichophyton mentagrophytes*, X – specifikace (hetero)aromatického cyklu.

Tabulka 12. Antifungální aktivita připravených látek 2a – 2g

Kód látky	X	R	MIC/IC ₈₀ (μmol/l)							
			CA	CT	CK	CG	TA	AF	LC	TM
			24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	72h 120h
2a	C	H	125	>125	>125	>125	62,5	>125	62,5	31,25
			125	>125	>125	>125	>125	62,5	125	31,25
2b	2,4-N	H	>62,5	>62,5	>62,5	>62,5	>62,5	>62,5	>62,5	>62,5
			>62,5	>62,5	>62,5	>62,5	>62,5	>62,5	>62,5	>62,5
2c	2,4-N	propyl	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
			>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
2d	2,4-N	isopropyl	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
			>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
2e	2,4-N	butyl	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
			>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
2f	2,4-N	isobutyl	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
			>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
2g	2,4-N	<i>t</i> -butyl	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
			>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
Flukonazol			0,82	1,63	104,5	13,06	3,26	>209	>209	26,12
			3,26	>209	209	52,24	6,53	>209	>209	52,24
Amfotericin B			0,063	0,063	0,063	0,031	0,25	0,125	2	1
			0,125	0,063	0,125	0,125	0,25	0,125	2	1

CA – *Candida albicans*, CT – *Candida tropicalis*, CK – *Candida krusei*, CG – *Candida glabrata*, TA – *Trichosporon asahii*, AF – *Aspergillus fumigatus*, LC – *Lichtheimia corymbifera*, *Trichophyton mentagrophytes*, X – specifikace (hetero)aromatického cyklu.

Tabulka 13. Antifungální aktivita připravených látek 3a – 3ch

Kód látky	X	R ¹	R ²	MIC/IC ₈₀ (μmol/l)							
				CA	CT	CK	CG	TA	AF	LC	TM
				24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	72h 120h
3a	C	H	H	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
3b	2-N	H	H	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
3c	3-N	H	H	>500	500	500	250	500	>500	>500	>500
				>500	>500	>500	500	>500	>500	>500	>500
3d	4-N	H	H	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
3e	2,4-N	H	H	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
3f	2,4-N	CH ₃	H	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
3g	2,4-N	CH ₃	butyl	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
3h	2,4-N	CH ₃	<i>t</i> -butyl	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
3ch	2,4-N	CH ₃		>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Flukonazol				0,82	1,63	104,5	13,06	3,26	>209	>209	26,12
				3,26	>209	209	52,24	6,53	>209	>209	52,24
Amfotericin B				0,063	0,063	0,063	0,031	0,25	0,125	2	1
				0,125	0,063	0,125	0,125	0,25	0,125	2	1

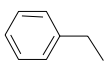
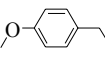
CA – *Candida albicans*, CT – *Candida tropicalis*, CK – *Candida krusei*, CG – *Candida glabrata*, TA – *Trichosporon asahii*, AF – *Aspergillus fumigatus*, LC – *Lichtheimia corymbifera*, *Trichophyton-mentagrophytes*, X – specifikace (hetero)aromatického cyklu.

Tabulka 14. Antifungální aktivita připravených látek 4a – 4j

Kód látky	X	R ¹	R ²	MIC/IC ₈₀ (μmol/l)							
				CA	CT	CK	CG	TA	AF	LC	TM
				24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	72h 120h
4a	C	H	2-NO ₂	125	500	500	250	250	>500	>500	250
				500	>500	500	500	500	>500	>500	250
4b	C	H	3-NO ₂	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
				>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
4c	C	H	4-NO ₂	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	250
				>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	250
4d	2-N	H	H	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
				>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
4e	2,4-N	CH ₃	propyl	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
4f	2,4-N	CH ₃	isopropyl	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
4g	2,4-N	CH ₃	butyl	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
4h	2,4-N	CH ₃	isobutyl	62,5	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
				>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
4ch	2,4-N	CH ₃	t-butyl	62,5	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
				>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
4i	2,4-N	CH ₃	pentyl	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
				>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
4j	2,4-N	CH ₃	hexyl	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
				>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
Flukonazol				0,82	1,63	104,5	13,06	3,26	>209	>209	26,12
				3,26	>209	209	52,24	6,53	>209	>209	52,24
Amfotericin B				0,063	0,063	0,063	0,031	0,25	0,125	2	1
				0,125	0,063	0,125	0,125	0,25	0,125	2	1

CA – *Candida albicans*, CT – *Candida tropicalis*, CK – *Candida krusei*, CG – *Candida glabrata*, TA – *Trichosporon asahii*, AF – *Aspergillus fumigatus*, LC – *Lichtheimia corymbifera*, *Trichophyton mentagrophytes*, X – specifíkace (hetero)aromatického cyklu.

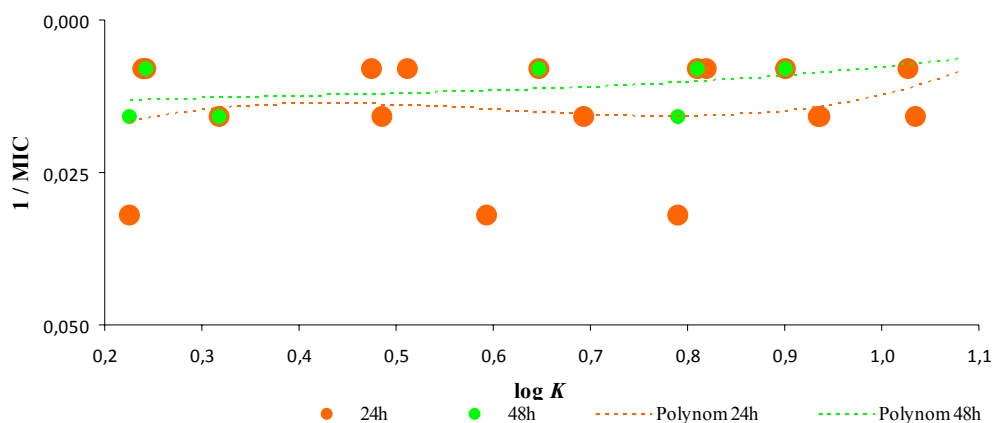
Tabulka 15. Antifungální aktivita připravených látek 5a – 5l

Kód látky	X	R ¹	R ²	MIC/IC ₈₀ (μmol/l)							
				CA	CT	CK	CG	TA	AF	LC	TM
				24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	72h 120h
5a	2-N	H	H	7,81	3,9	7,81	3,9	7,81	15,62	31,25	7,81
				15,62	7,81	7,81	7,81	7,81	62,5	31,25	31,25
5b	3-N	H	H	>250	250	125	125	250	>250	>250	125
				>250	>250	250	125	250	>250	>250	125
5c	2-N	CH ₃	H	7,81	7,81	1,81	0,98	3,9	31,25	15,62	7,81
				7,81	15,62	15,62	0,98	7,81	31,25	31,25	7,81
5d	3-N	CH ₃	H	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
5e	2,4-N	H	H	62,5	125	62,5	15,62	62,5	>250	500	31,25
				62,5	125	125	31,25	62,5	>250	>500	62,5
5f	2,4-N	CH ₃	propyl	7,81	7,81	7,81	3,9	7,81	15,62	15,62	7,81
				7,81	7,81	7,81	3,9	7,81	3,25	15,62	7,81
5g	2,4-N	CH ₃	isopropyl	3,9	7,81	7,81	3,9	7,81	62,5	31,25	7,81
				3,9	15,62	15,62	3,9	7,81	62,5	62,5	7,81
5h	2,4-N	CH ₃	butyl	3,9	3,9	3,9	1,95	3,9	7,81	7,81	3,9
				3,9	3,9	3,9	1,95	3,9	15,62	7,81	3,9
5ch	2,4-N	CH ₃	isobutyl	15,62	>125	>125	7,81	7,81	>125	31,25	31,25
				31,25	>125	>125	7,81	7,81	>125	31,25	31,25
5i	2,4-N	CH ₃	pentyl	7,81	7,81	7,81	7,81	7,81	7,81	7,81	7,81
				7,81	7,81	7,81	7,81	7,81	7,81	31,25	15,62
5j	2,4-N	CH ₃	hexyl	31,25	>125	>125	3,9	7,81	125	125	>125
				31,25	>125	>125	3,9	7,81	>125	125	>125
5k	2,4-N	CH ₃		7,81	15,62	15,62	7,81	15,62	>125	>125	31,25
				15,62	31,25	15,62	7,81	15,62	>125	>125	62,5
5l	2,4-N	CH ₃		7,81	15,62	15,62	7,81	7,81	62,5	31,25	15,62
				7,81	31,25	15,62	7,81	7,81	125	62,5	15,62
Flukonazol				0,82	1,63	104,5	13,06	3,26	>209	>209	26,12
				3,26	>209	209	52,24	6,53	>209	>209	52,24
Amfotericin B				0,063	0,063	0,063	0,031	0,25	0,125	2	1
				0,125	0,063	0,125	0,125	0,25	0,125	2	1

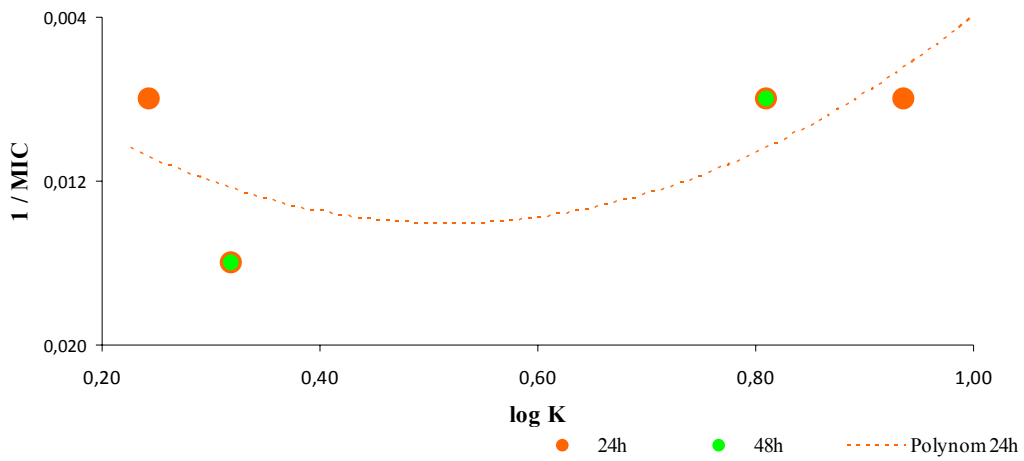
CA – *Candida albicans*, CT – *Candida tropicalis*, CK – *Candida krusei*, CG – *Candida glabrata*, TA – *Trichosporon asahii*, AF – *Aspergillus fumigatus*, LC – *Lichtheimia corymbifera*, *Trichophyton mentagrophytes*, X – specifikace (hetero)aromatického cyklu.

7.1.1. Hodnocení závislosti antifungální aktivity a lipofility testovaných sloučnin

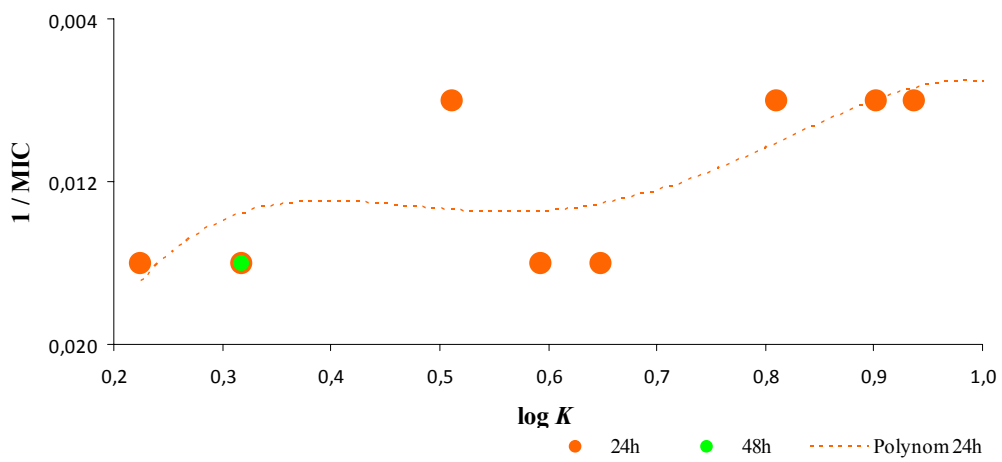
Pro hodnocení závislosti lipofility ($\log K$) a antifungální aktivity vyjádřené jako inverzní hodnota naměřené minimální inhibiční koncentrace ($1/\text{MIC}$ $\mu\text{mol/l}$) byly ve skupině derivátů rhodaninu a *N*-substituovaného rhodaninu (série 1 – 4) vybrány pouze sloučeniny vykazující 80% inhibici při $\text{MIC}/\text{IC}_{80} \leq 125$ $\mu\text{mol/l}$. Zároveň byla pro interpretaci sestavena pomocná polynomičká funkce, jež graficky znázorňuje trend hodnot účinnosti v závislosti na lipofilitě. Analýza nebyla provedena u kmenů, u kterých byly naměřeny hodnoty $\text{MIC}/\text{IC}_{80} > 125$ $\mu\text{mol/l}$. V následujících grafech (graf 1 – 6) jsou znázorněny výsledky odečtené po 24 a 48, resp. 72 a 120 hodinách kultivace včetně trendových křivek.



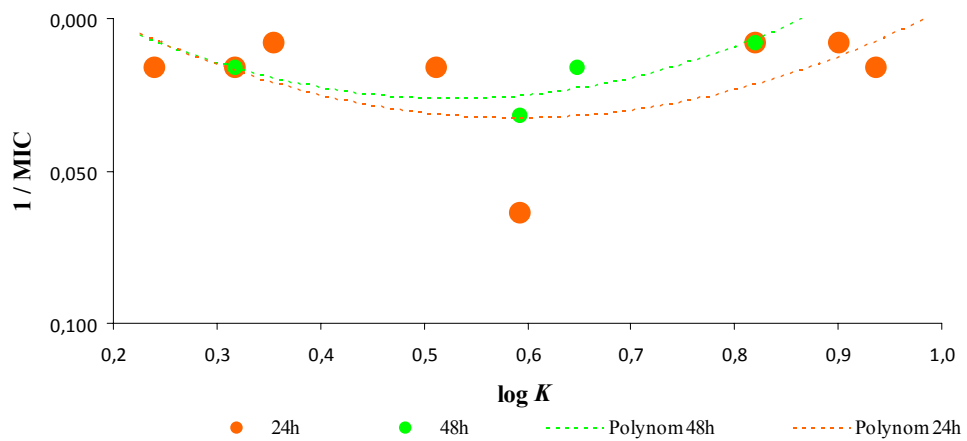
Graf 1. Závislost $1/\text{MIC}$ na $\log K$ u *Candida albicans*



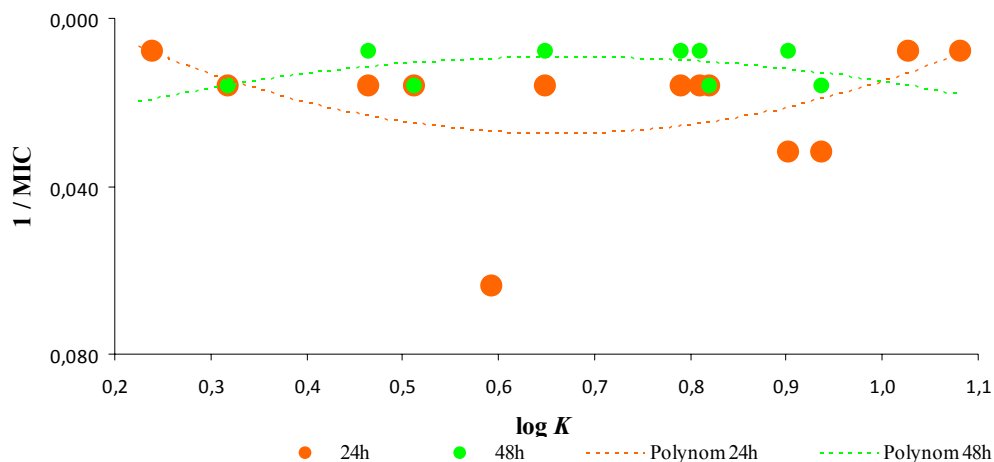
Graf 2. Závislost 1/MIC na $\log K$ u *Candida tropicalis*



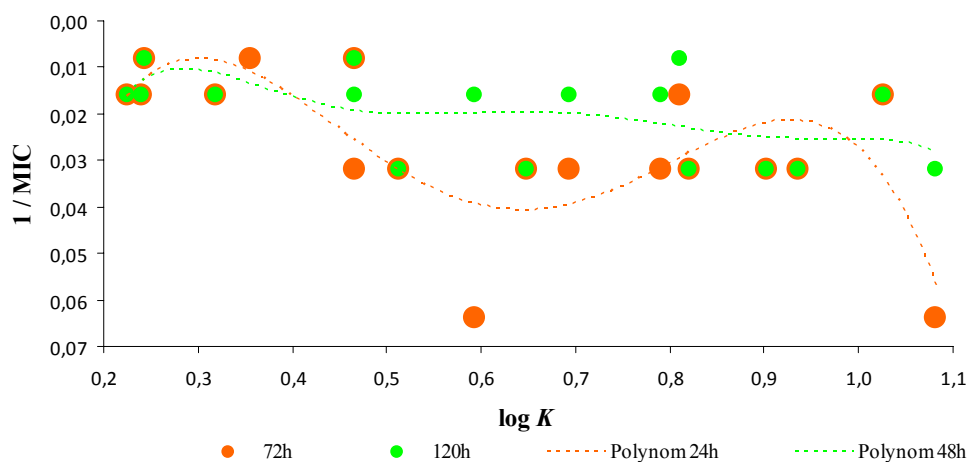
Graf 3. Závislost 1/MIC na $\log K$ u *Trichosporon asahii*



Graf 4. Závislost 1/MIC na $\log K$ u *Aspergillus fumigatus*

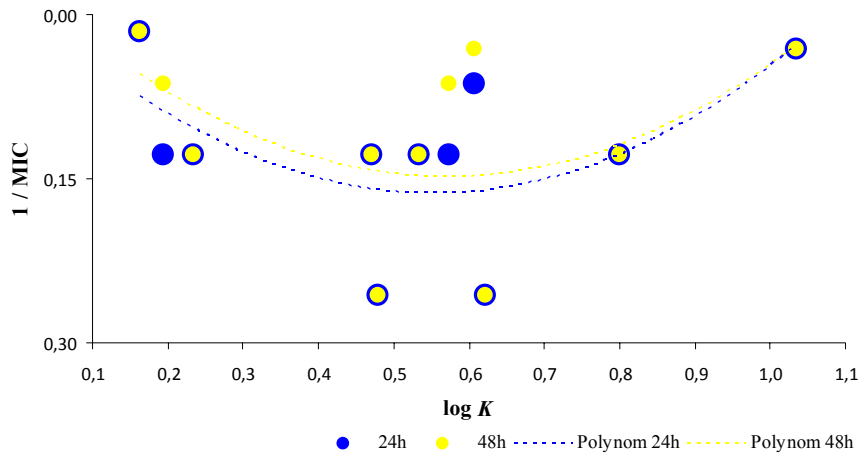


Graf 5. Závislost 1/MIC na log K u *Lichtheimia corymbifera*

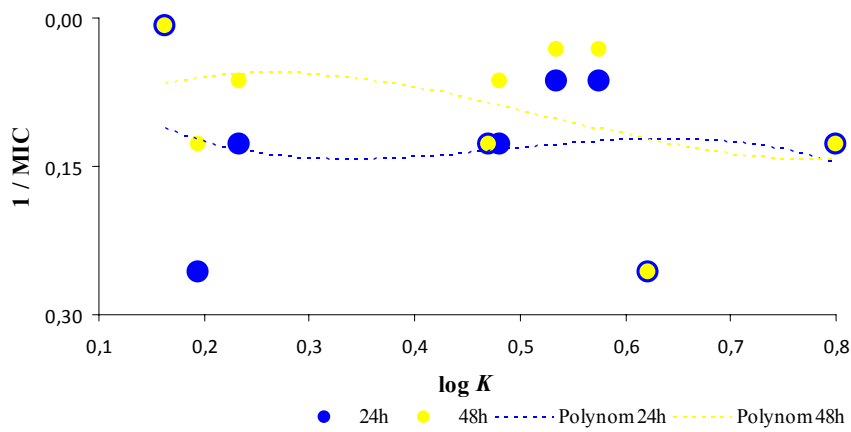


Graf 6. Závislost 1/MIC na log K u *Trichophyton mentagrophytes*

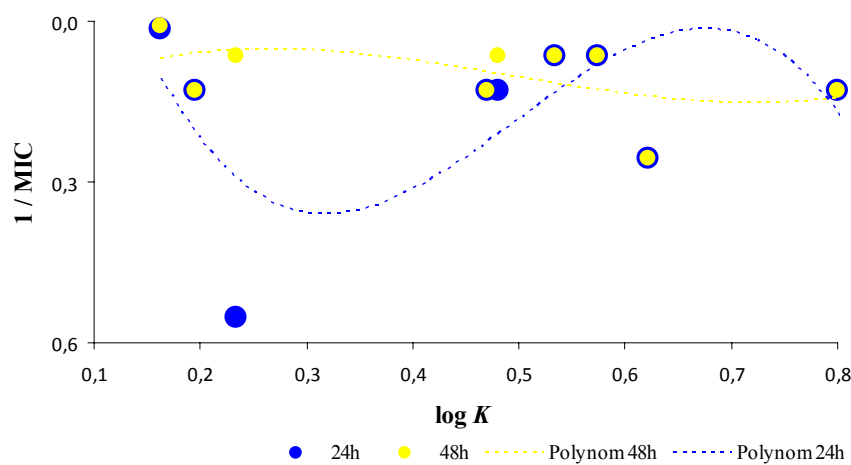
Pro hodnocení závislosti lipofility ($\log K$) a antifungální aktivity vyjádřené jako inverzní hodnota naměřené minimální inhibiční koncentrace ($1/\text{MIC}$ $\mu\text{mol/l}$) byly ve skupině derivátů 5-(1-hetarylalkyliden)hydrazonothiazolidin-4-onu (**5a** – **5l**) vybrány pouze sloučeniny vykazující 80% inhibici při $\text{MIC}/\text{IC}_{80} \leq 125$ $\mu\text{mol/l}$. Zároveň byla pro interpretaci sestavena pomocná polynomická funkce, jež graficky znázorňuje trend hodnot účinnosti v závislosti na lipofilitě. Analýza nebyla provedena u kmenů, u kterých byly naměřeny hodnoty $\text{MIC}/\text{IC}_{80} > 125$ $\mu\text{mol/l}$. V následujících grafech (graf 7 – 14) jsou znázorněny výsledky odečtené po 24 a 48, resp. 72 a 120 hodinách kultivace včetně trendových křivek.



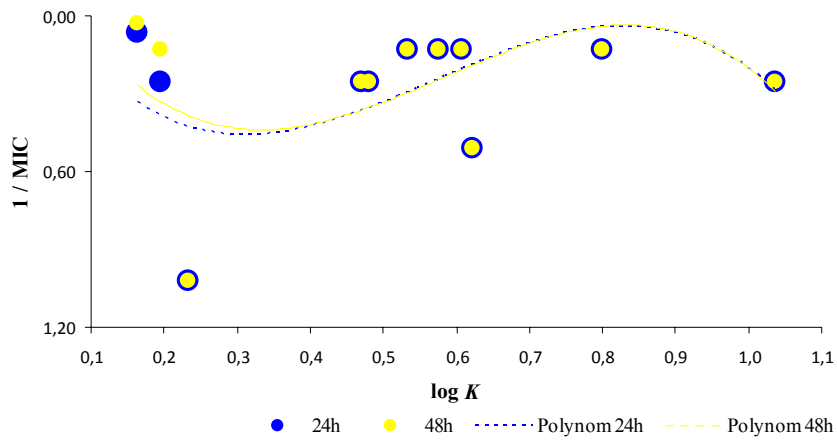
Graf 7. Závislost $1/MIC$ na $\log K$ u *Candida albicans*



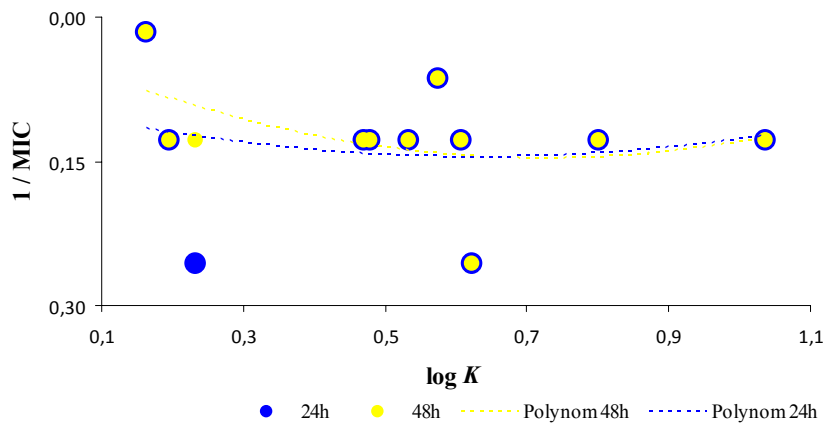
Graf 8. Závislost $1/MIC$ na $\log K$ u *Candida tropicalis*



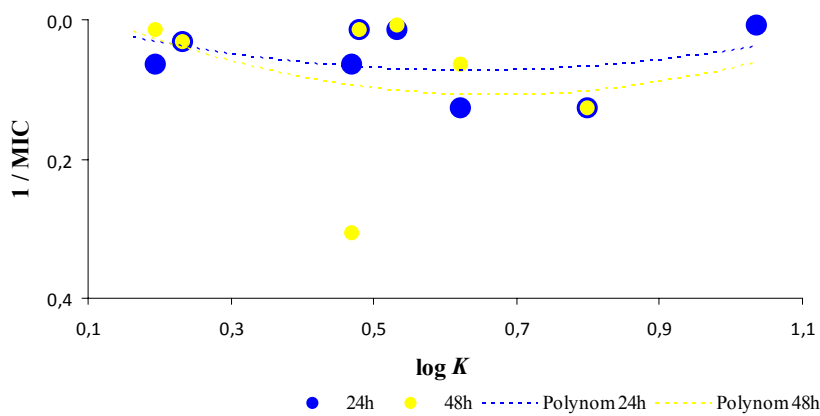
Graf 9. Závislost $1/MIC$ na $\log K$ u *Candida krusei*



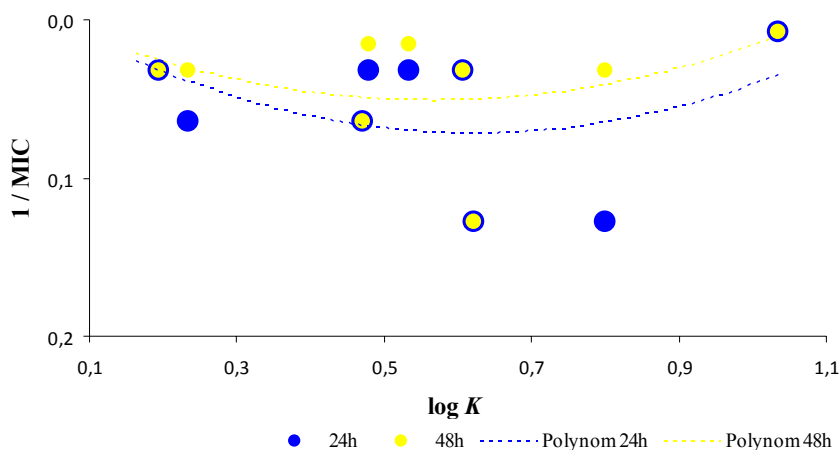
Graf 10. Závislost $1/MIC$ na $\log K$ u *Candida glabrata*



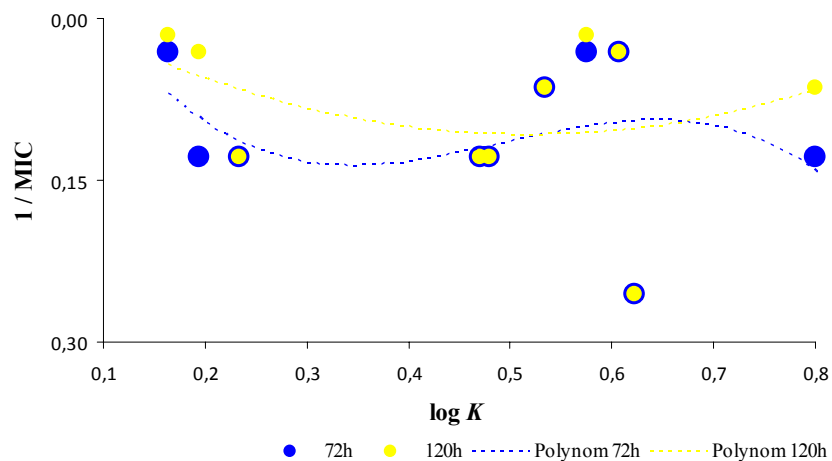
Graf 11. Závislost $1/MIC$ na $\log K$ u *Trichosporon asahii*



Graf 12. Závislost $1/MIC$ na $\log K$ u *Aspergillus fumigatus*



Graf 13. Závislost 1/MIC na log K u *Lichtheimia corymbifera*



Graf 14. Závislost 1/MIC na log K u *Trichophyton mentagrophytes*

7.2. Hodnocení antibakteriální aktivity

Antibakteriální aktivita připravených látek byla stanovena na Katedře biologických a lékařských věd, Univerzity Karlovy v Praze, Farmaceutické fakulty v Hradci Králové, Mgr. M. Vejsovou, Ph.D. a kolektivem.

Antibakteriální aktivita připravených sloučenin byla hodnocena mikrodiluční bujónovou metodou²²⁴. Použité kmeny *Staphylococcus aureus* CCM 4516/08, *Escherichia coli* CCM 4517 a *Pseudomonas aeruginosa* CCM 1961 byly z české sbírky mikroorganismů (CCM, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno). Ostatní kmeny (*Staphylococcus aureus* H 5996/08 – methicilin rezistentní, *Staphylococcus epidermidis* H 6966/08, *Enterococcus sp.* J 14365/08, *Klebsiella pneumoniae* D11750/08 a *Klebsiella pneumoniae* J 14368/08 – ESBL pozitivní) byly klinické izoláty získané z Ústavu klinické mikrobiologie Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové.


Kmeny byly kultivovány na Mueller-Hintonově bujónu (MHA; Difco/Becton Dickinson, Detroit, MI) při 35 °C a uchovávány na stejném mediu při 4 °C. Před testováním byl každý kmen pasážován na MHA a inokula byla připravena suspendováním bakterií ve sterilním 0,85% fyziologickém roztoku. Hustota suspenze byla pomocí densitometru nastavena na 0,5 stupně McFarlandovy škály tj. $1,5 \times 10^8$ CFU ml⁻¹.

Testované sloučeniny byly rozpuštěny v DMSO. Jejich antibakteriální aktivita pak byla stanovena v Mueller-Hintonově bujónu, jehož pH bylo 7,0. Kontroly obsahovaly pouze medium a DMSO. Konečná koncentrace DMSO v testovacím mediu byla max. 1 % (v/v) a neovlivňovala přirozený růst bakterií. Minimální inhibiční koncentrace (MIC), definované jako koncentrace vyvolávající 95% inhibici růstu ve srovnání s kontrolami, byly odečteny po 24 a 48 hodinách statické kultivace při teplotě 35 °C.

Neomycin-sulfát (NEOM), bacitracin-zinečnatý komplex (BAC), penicillin G-draselná sůl (PEN), ciprofloxacin-hydrochlorid (CIPR) a fenoxymethylpenicilin-draselná sůl (PHEN) byly použity jako pozitivní kontroly a byly testovány na uvedených bakteriálních kmenech shodnou metodou jako připravené látky. Výsledky hodnocení antibakteriální aktivity jsou uvedeny v následující tabulkách 16 – 20. Připravené sloučeniny **4a**, **4b**, **4c** a **4h** nebyly dosud na antibakteriální účinnost hodnoceny.

Tabulka 16. Antibakteriální aktivita připravených látek 1a – 1z

Kód látky	X	R	MIC/IC ₉₅ (μmol/l)							
			SA	MRSA	SE	EF	EC	KP	KP-E	PA
			24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h
1a	C	H	31,25	15,62	>500	>500	>500	>500	>500	>500
			125	62,5	>500	>500	>500	>500	>500	>500
1b	C	2-OH	62,5	31,25	250	500	>500	>500	>500	>500
			125	62,5	500	>500	>500	>500	>500	>500
1c	C	3-OH	125	62,5	250	500	>500	>500	>500	>500
			250	125	250	>500	>500	>500	>500	>500
1d	C	4-OH	125	125	500	500	>500	>500	>500	>500
			125	125	>500	>500	>500	>500	>500	>500
1e	C	2,4-OH	250	250	500	250	>500	>500	>500	>500
			500	500	500	500	>500	>500	>500	>500
1f	C	3-OCH ₃ - 4-OH	31,25	31,25	250	>500	>500	>500	>500	>500
			250	125	500	>500	>500	>500	>500	>500
1g	C	2-OCH ₃	62,5	62,5	500	500	>500	>500	>500	>500
			250	500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
1h	C	3-OCH ₃	125	3,9	500	500	>500	>500	>500	>500
			500	15,62	>500	>500	>500	>500	>500	>500
1ch	C	4-OCH ₃	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500
			> 500	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500	> 500
1i	C	2-F	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
			>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
1j	C	3-F	62,5	15,62	250	>250	>250	>250	>250	>250
			250	15,62	>250	>250	>250	>250	>250	>250
1k	C	4-F	31,25	31,25	>250	>250	>250	>250	>250	>250
			62,5	31,25	>250	>250	>250	>250	>250	>250
1l	C	2-Cl	31,25	7,81	31,25	>125	>125	>125	>125	>125
			62,5	7,81	125	>125	>125	>125	>125	>125
1m	C	3-Cl	15,62	31,25	125	>250	>250	>250	>250	>250
			125	31,25	125	>250	>250	>250	>250	>250
1n	C	4-Cl	7,81	7,81	>125	>125	>125	>125	>125	>125
			15,62	15,62	>125	>125	>125	>125	>125	>125
1o	C	2-Br	3,9	3,9	125	250	>250	>250	>250	>250
			15,62	7,81	>250	>250	>250	>250	>250	>250
1p	C	3-Br	15,62	7,81	3,9	>250	>250	>250	>250	>250

			15,62	15,62	15,62	>250	>250	>250	>250	>250
1q	C	4-Br	3,9	3,9	31,25	>125	>125	>125	>125	>125
			15,62	7,81	>125	>125	>125	>125	>125	>125
1r	C	2-NO ₂	31,25	15,62	62,5	250	>250	>250	>250	>250
			62,5	31,25	62,5	>250	>250	>250	>250	>250
1s	C	3-NO ₂	7,81	3,9	500	>500	>500	>500	>500	>500
			31,25	7,8	500	>500	>500	>500	>500	>500
1t	C	4-NO ₂	15,62	3,9	15,62	250	>500	>500	>500	>500
			15,62	15,62	31,25	250	>500	>500	>500	>500
1u	C	4-N(CH ₃) ₂	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
			>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
1v		H	250	250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
			>250	250	>250	>250	>250	>250	>250	>250
1w	2-N	H	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
			>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
1x	3-N	H	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
			>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
1y	4-N	H	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
			>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
1z	2,4-N	H	500	500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
			>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
NEOM			3,9	0,98	3,9	250	0,98	0,98	0,98	7,81
			3,9	0,98	7,81	250	0,98	0,98	0,98	15,62
BAC			15,62	15,62	15,62	31,25	>500	>500	>500	>500
			31,25	31,25	31,25	31,25	>500	>500	>500	>500
PEN			0,24	125	31,25	7,81	125	250	>500	>500
			0,24	125	125	15,62	125	500	>500	>500
CIPR			0,98	500	250	0,98	0,06	0,12	>500	3,9
			0,98	500	250	0,98	0,06	0,12	>500	7,81
PHEN			0,24	250	62,5	7,81	>500	>500	>500	>500
			0,24	500	250	7,81	>500	>500	>500	>500

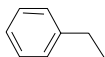
SA – *Staphylococcus aureus*, MRSA – *Staphylococcus aureus* – methicillin rezistentní, SE – *Staphylococcus epidermidis*, EF – *Enterococcus spp.*, EC – *Escherichia coli*, KP – *Klebsiella pneumoniae*, KP-E – *Klebsiella pneumoniae* – ESBL pozitivní, PA – *Pseudomonas aeruginosa*, X – specifikace (hetero)aromatického cyklu

Tabulka 17. Antibakteriální aktivita připravených látek 2a – 2g

Kód látky	X	R	MIC/IC ₉₅ (μmol/l)							
			SA	MRSA	SE	EF	EC	KP	KP-E	PA
			24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h
2a	C	H	250	125	>500	>500	>500	>500	>500	>500
			500	125	>500	>500	>500	>500	>500	>500
2b	2,4-N	H	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
			>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
2c	2,4-N	propyl	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
			>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
2d	2,4-N	isopropyl	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
			>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
2e	2,4-N	butyl	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
			>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
2f	2,4-N	isobutyl	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
			>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
2g	2,4-N	<i>t</i> -butyl	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
			>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
NEOM			3,9	0,98	3,9	250	0,98	0,98	0,98	7,81
			3,9	0,98	7,81	250	0,98	0,98	0,98	15,62
BAC			15,62	15,62	15,62	31,25	>500	>500	>500	>500
			31,25	31,25	31,25	31,25	>500	>500	>500	>500
PEN			0,24	125	31,25	7,81	125	250	>500	>500
			0,24	125	125	15,62	125	500	>500	>500
CIPR			0,98	500	250	0,98	0,06	0,12	>500	3,9
			0,98	500	250	0,98	0,06	0,12	>500	7,81
PHEN			0,24	250	62,5	7,81	>500	>500	>500	>500
			0,24	500	250	7,81	>500	>500	>500	>500

SA – *Staphylococcus aureus*, MRSA – *Staphylococcus aureus* – methicillin rezistentní, SE – *Staphylococcus epidermidis*, EF – *Enterococcus spp.*, EC – *Escherichia coli*, KP – *Klebsiella pneumoniae*, KP-E – *Klebsiella pneumoniae* – ESBL pozitivní, PA – *Pseudomonas aeruginosa*, X – specifikační (hetero)aromatického cyklu

Tabulka 18. Antibakteriální aktivita připravených látek 3a – 3ch

				MIC/IC ₉₅ (μmol/l)								
Kód látky	X	R ¹	R ²	SA	MRSA	SE	EF	EC	KP	KP-E	PA	
				24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	
				48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	48h	
3a	C	H	H	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	
3b	2-N	H	H	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	
3c	3-N	H	H	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	
3d	4-N	H	H	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	
				>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	
3e	2,4-N	H	H	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	
3f	2,4-N	CH ₃	H	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	
3g	2,4-N	CH ₃	butyl	>500	>500	500	>500	>500	>500	>500	>500	
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	
3h	2,4-N	CH ₃	<i>t</i> -butyl	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	
3ch	2,4-N	CH ₃		>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	
NEOM				3,9	0,98	3,9	250	0,98	0,98	0,98	7,81	
				3,9	0,98	7,81	250	0,98	0,98	0,98	15,62	
BAC				15,62	15,62	15,62	31,25	>500	>500	>500	>500	
				31,25	31,25	31,25	31,25	>500	>500	>500	>500	
PEN				0,24	125	31,25	7,81	125	250	>500	>500	
				0,24	125	125	15,62	125	500	>500	>500	
CIPR				0,98	500	250	0,98	0,06	0,12	>500	3,9	
				0,98	500	250	0,98	0,06	0,12	>500	7,81	
PHEN				0,24	250	62,5	7,81	>500	>500	>500	>500	
				0,24	500	250	7,81	>500	>500	>500	>500	

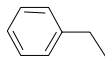
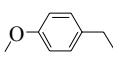
SA – *Staphylococcus aureus*, MRSA – *Staphylococcus aureus* – methicillin rezistentní, SE – *Staphylococcus epidermidis*, EF – *Enterococcus spp.*, EC – *Escherichia coli*, KP – *Klebsiella pneumoniae*, KP-E – *Klebsiella pneumoniae* – ESBL pozitivní, PA – *Pseudomonas aeruginosa*, X – specifikace (hetero)aromatického cyklu

Tabulka 19. Antibakteriální aktivita připravených látek 4d – 4g, 4ch – 4j

Kód látky	X	R ¹	R ²	MIC/IC ₉₅ (μmol/l)								
				SA	MRSA	SE	EF	EC	KP	KP-E	PA	
				24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	
4d	2-N	H	H	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
4e	2,4-N	CH ₃	propyl	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
4f	2,4-N	CH ₃	isopropyl	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
4g	2,4-N	CH ₃	butyl	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
4ch	2,4-N	CH ₃	<i>t</i> -butyl	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
4i	2,4-N	CH ₃	pentyl	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
4j	2,4-N	CH ₃	hexyl	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
NEOM				3,9	0,98	3,9	250	0,98	0,98	0,98	7,81	
				3,9	0,98	7,81	250	0,98	0,98	0,98	15,62	
BAC				15,62	15,62	15,62	31,25	>500	>500	>500	>500	
				31,25	31,25	31,25	31,25	>500	>500	>500	>500	
PEN				0,24	125	31,25	7,81	125	250	>500	>500	
				0,24	125	125	15,62	125	500	>500	>500	
CIPR				0,98	500	250	0,98	0,06	0,12	>500	3,9	
				0,98	500	250	0,98	0,06	0,12	>500	7,81	
PHEN				0,24	250	62,5	7,81	>500	>500	>500	>500	
				0,24	500	250	7,81	>500	>500	>500	>500	

SA – *Staphylococcus aureus*, MRSA – *Staphylococcus aureus* – methicillin rezistentní, SE – *Staphylococcus epidermidis*, EF – *Enterococcus spp.*, EC – *Escherichia coli*, KP – *Klebsiella pneumoniae*, KP-E – *Klebsiella pneumoniae* – ESBL pozitivní, PA – *Pseudomonas aeruginosa*, X – specifikace (hetero)aromatického cyklu

Tabulka 20. Antibakteriální aktivita připravených látek 5a – 5l

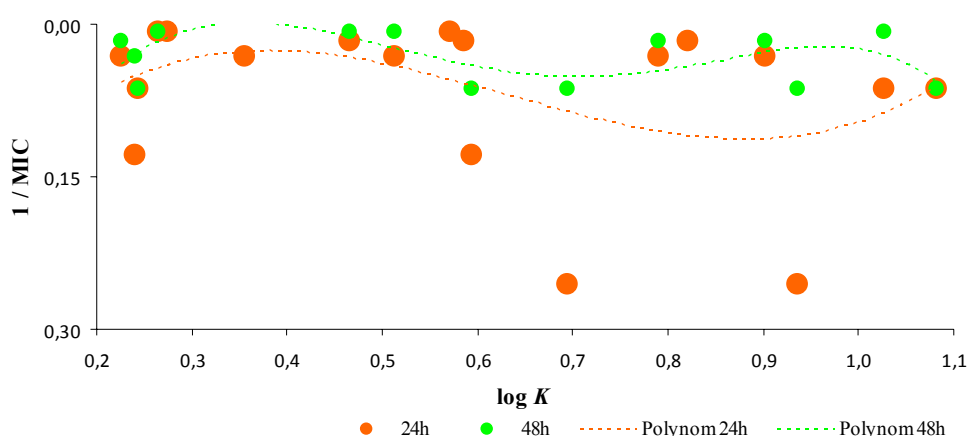
Kód látky	X	R ¹	R ²	MIC/IC ₉₅ (μmol/l)								
				SA	MRSA	SE	EF	EC	KP	KP-E	PA	
				24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	24h 48h	
5a	2-N	H	H	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	
5b	3-N	H	H	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	
5c	2-N	CH ₃	H	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	
				>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	
5d	3-N	CH ₃	H	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	
				>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	
5e	2,4-N	H	H	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	
				>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	
5f	2,4-N	CH ₃	propyl	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	
				>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	
5g	2,4-N	CH ₃	isopropyl	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	
				>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	>250	
5h	2,4-N	CH ₃	butyl	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	
				>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	
5ch	2,4-N	CH ₃	isobutyl	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	
				>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	
5i	2,4-N	CH ₃	pentyl	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	
				>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	
5j	2,4-N	CH ₃	hexyl	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	
				>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	
5k	2,4-N	CH ₃		>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	
				>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	
5l	2,4-N	CH ₃		>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	
				>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	
NEOM				3,9	0,98	3,9	250	0,98	0,98	0,98	7,81	
				3,9	0,98	7,81	250	0,98	0,98	0,98	15,62	
BAC				15,62	15,62	15,62	31,25	>500	>500	>500	>500	
				31,25	31,25	31,25	31,25	>500	>500	>500	>500	
PEN				0,24	125	31,25	7,81	125	250	>500	>500	
				0,24	125	125	15,62	125	500	>500	>500	
CIPR				0,98	500	250	0,98	0,06	0,12	>500	3,9	

	0,98	500	250	0,98	0,06	0,12	>500	7,81
PHEN	0,24	250	62,5	7,81	>500	>500	>500	>500
	0,24	500	250	7,81	>500	>500	>500	>500

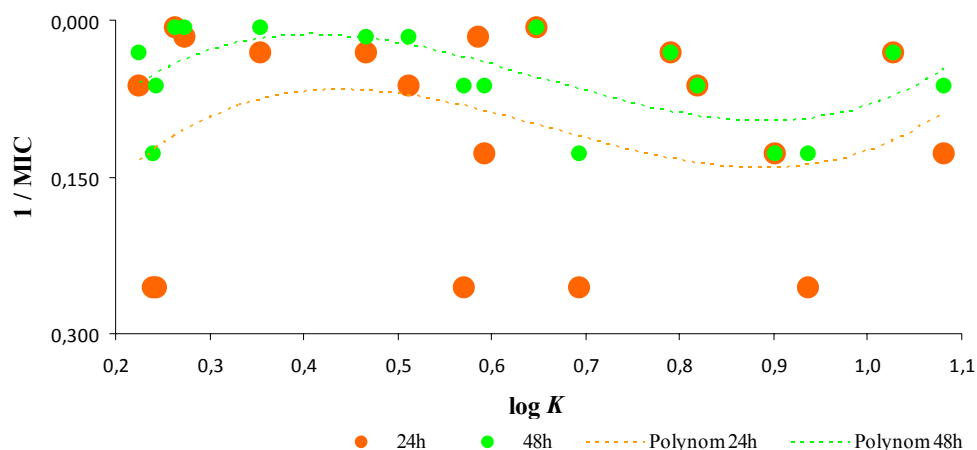
SA – *Staphylococcus aureus*, MRSA – *Staphylococcus aureus* – methicillin rezistentní, SE – *Staphylococcus epidermidis*, EF – *Enterococcus spp.*, EC – *Escherichia coli*, KP – *Klebsiella pneumoniae*, KP-E – *Klebsiella pneumoniae* – ESBL pozitivní, PA – *Pseudomonas aeruginosa*, X – specifikace (hetero)aromatického cyklu

7.2.1. Hodnocení závislosti antibakteriální aktivity a lipofility připravených sloučenin

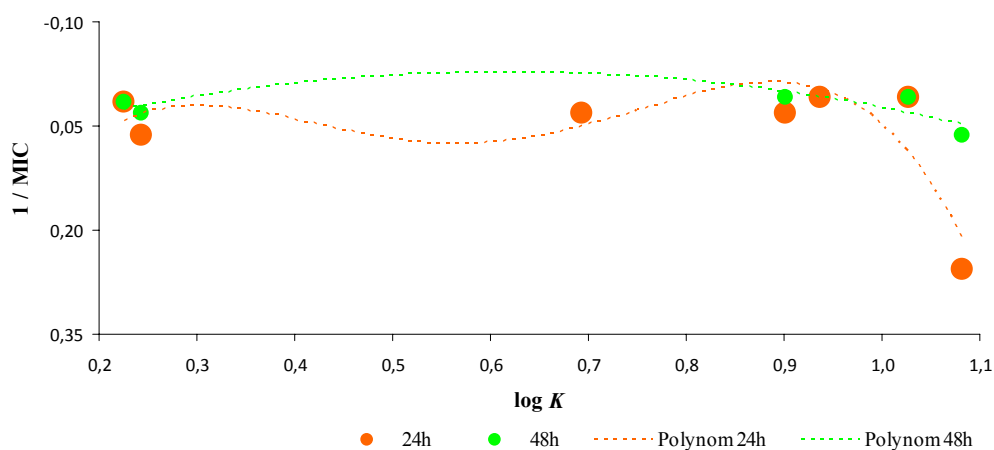
Pro statistické hodnocení závislosti lipofility ($\log K$) a antifungální aktivity vyjádřené jako inverzní hodnota naměřené minimální inhibiční koncentrace ($1/\text{MIC}$ $\mu\text{mol/l}$) byly vybrány pouze sloučeniny vykazující 80% inhibici při $\text{MIC}/\text{IC}_{80} \leq 125$ $\mu\text{mol/l}$ (především látky série **1** a látka **2a**). Zároveň byla pro interpretaci sestavena pomocná polynomičká funkce, jež graficky znázorňuje trend hodnot účinnosti v závislosti na lipofilitě. Analýza nebyla provedena u kmenů, u kterých byly naměřeny hodnoty $\text{MIC}/\text{IC}_{80} > 125$ $\mu\text{mol/l}$. V následujících grafech (graf 15 – 17) jsou znázorněny výsledky odečtené po 24 a 48 hodinách kultivace včetně trendových křivek.



Graf 15. Závislost $1/\text{MIC}$ na $\log K$ u *Staphylococcus aureus*



Graf 16. Závislost $1/MIC$ na $\log K$ u methicillin-rezistentní *Staphylococcus aureus*



Graf 17. Závislost $1/MIC$ na $\log K$ u *Staphylococcus epidermidis*

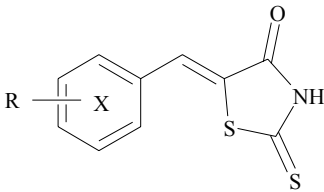
7.3. Hodnocení antimykobakteriální aktivity

Biologické hodnocení antimykobakteriální aktivity bylo u některých připravených látek provedeno v rámci programu TAACF (Southern Research Institute – SRI, Birmingham, Alabama, USA), založeného v roce 1994 ve spolupráci s odborníky z průmyslu i akademického prostředí. Mezi organizace, které participovaly na tomto projektu kromě SRI patřily National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID), Colorado State University (CSU) a RTI International. Od vzniku programu bylo testováno

téměř 90 000 sloučenin, z nichž některé (deriváty fluorochinolonu, nitroimidazopyranu) byly zařazeny do fáze preklinického testování^{225,226}. Mezi prioritní molekuly patřily také deriváty thiazolu, např. imidazo[2,1-*b*]thiazoly²²⁷, 4-karboethoxymethyl-2-[(alpha-haloacyl)amino]thiazoly a substituované 2-[(4-karboethoxymethylthiazol-2-yl)imino]4-thiazolidinony²²⁸, stejně jako pyrazinu, např. deriváty pyrazinkarboxamidu^{229,230,231}.

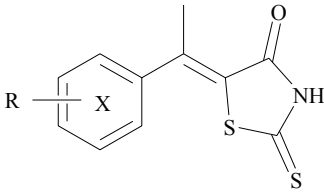
Primární screening některých připravených látek byl podroben *in vitro* testování proti *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv v médiu BACTEC 12B při koncentraci 6,5 µg/ml pomocí mikrodiluční bujónové metody (Microplate Alamar Blue Assay, MABA). Evaluace antimykobakteriální aktivity substancí vykazujících v tomto testu fluorescenci byla dále odečtena radiometricky na mikrotitrační destičce systému BACTEC 460²³². Sloučeniny, u nichž byla v primárním testu zjištěna alespoň 90% inhibiční účinnost, byly znovu hodnoceny při nižších koncentracích vůči *M. tuberculosis* H₃₇Rv a pomocí MABA byly určeny jejich minimální inhibiční koncentrace (MIC) definované jako nejnižší koncentrace snižující fluorescenci o 90 % ve srovnání s kontrolami. Touto metodou byly hodnoceny látky v období od roku 2000 – 2006. Výsledky inhibice růstu *Mycobacterium tuberculosis* některých připravených látek touto metodou jsou uvedeny v tabulkách 21 – 23. V období od r. 2007 do ukončení projektu TAACF (2009) byly sloučeniny testovány v koncentracích od 100 µg/ml do 0,19 µg/ml za použití dvojkového ředění. Hodnota IC₉₀ (definovaná jako koncentrace vyvolávající 90% pokles fluorescence ve srovnání s kontrolami) byla určena z křivky závislosti fluorescence na dávce za použití vhodného programu. Za aktivní byly považovány sloučeniny s IC₉₀ ≤ 10 µg/ml. Výsledky hodnocení inhibice růstu *Mycobacterium tuberculosis* některých připravených látek touto novější metodou jsou uvedeny v tabulkách 24 – 26.

Tabulka 21. Antimykobakteriální aktivita připravených látek 1a – 1f, 1n, 1r – 1t



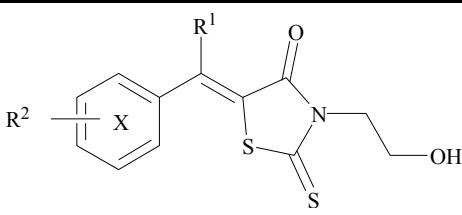
Kód látky	X	R	MIC [μg/ml]	% inhibice
1a	C	H	>6,25	43
1b	C	2-OH	>6,25	42
1c	C	3-OH	>6,25	43
1d	C	4-OH	>6,25	50
1e	C	2,4-OH	>6,25	34
1f	C	3-OCH ₃ -4-OH	>6,25	43
1n	C	4-Cl	>6,25	65
1r	C	2-NO ₂	>6,25	72
1s	C	3-NO ₂	>6,25	43
1t	C	4-NO ₂	>6,25	47

Tabulka 22. Antimykobakteriální aktivita připravených látek 2a – 2g



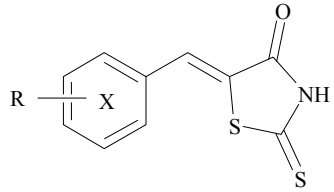
Kód látky	X	R	MIC [μg/ml]	% inhibice
2a	C	H	>6,25	0
2b	2,4-N	H	>6,25	0
2c	2,4-N	propyl	>6,25	0
2d	2,4-N	isopropyl	>6,25	0
2e	2,4-N	butyl	>6,25	0
2f	2,4-N	isobutyl	>6,25	0
2g	2,4-N	<i>t</i> -butyl	>6,25	0


Tabulka 23. Antimykobakteriální aktivita připravených látek 4e – 4ch



Kód látky	X	R ¹	R ²	MIC [μg/ml]	% inhibice
4e	2,4-N	CH ₃	propyl	>6,25	17
4f	2,4-N	CH ₃	isopropyl	>6,25	0
4g	2,4-N	CH ₃	butyl	>6,25	6
4h	2,4-N	CH ₃	isobutyl	>6,25	0
4ch	2,4-N	CH ₃	<i>t</i> -butyl	>6,25	0

Tabulka 24. Antimykobakteriální aktivita připravených látek 1g – 1m, 1p – 1q, 1v, 1w, 1y



Kód látky	X	R	IC ₅₀ [μg/ml]	IC ₉₀ [μg/ml]	Aktivita
1g	C	2-OCH ₃	23,064	26,932	slabě aktivní
1h	C	3-OCH ₃	44,476	49,937	slabě aktivní
1ch	C	4-OCH ₃	45,359	52,077	slabě aktivní
1i	C	2-F	49,358	53,902	slabě aktivní
1j	C	3-F	24,586	33,292	slabě aktivní
1k	C	4-F	24,059	27,249	slabě aktivní
1l	C	2-Cl	49,25	56,355	slabě aktivní
1m	C	3-Cl	30,981	50,432	slabě aktivní
1o	C	2-Br	43,941	49,929	slabě aktivní
1p	C	3-Br	29,006	51,209	slabě aktivní
1q	C	4-Br	47,39	52,728	slabě aktivní
1v		H	23,051	25,282	slabě aktivní
1w	2-N	H	67,374	>100	slabě aktivní
1y	4-N	H	>100	>100	neaktivní

Tabulka 25. Antimykobakteriální aktivita připravených látek 3a – 3e

Kód látky	X	R ¹	R ²	IC ₅₀ [μg/ml]	IC ₉₀ [μg/ml]	Aktivita
3a	C	H	H	36,044	>100	slabě aktivní
3b	2-N	H	H	>100	>100	neaktivní
3c	3-N	H	H	94,6	>100	slabě aktivní
3d	4-N	H	H	62,283	>100	slabě aktivní
3e	2,4-N	H	H	99,935	>100	slabě aktivní

Tabulka 26. Antimykobakteriální aktivita připravených látek 5a – 5l

Kód látky	X	R ¹	R ²	IC ₅₀ [μg/ml]	IC ₉₀ [μg/ml]	Aktivita
5a	2-N	H	H	43,115	87,83	slabě aktivní
5b	3-N	H	H	>100	>100	neaktivní
5c	2-N	CH ₃	H	>100	>100	neaktivní
5d	3-N	CH ₃	H	>100	>100	neaktivní
5e	2,4-N	H	H	50,116	82,7	slabě aktivní
5f	2,4-N	CH ₃	propyl	15,193	21,999	slabě aktivní
5g	2,4-N	CH ₃	isopropyl	15,247	23,61	slabě aktivní
5h	2,4-N	CH ₃	butyl	15,466	21,025	slabě aktivní
5ch	2,4-N	CH ₃	isobutyl	24,029	27,467	slabě aktivní
5i	2,4-N	CH ₃	pentyl	17,147	21,736	slabě aktivní
5j	2,4-N	CH ₃	hexyl	22,349	38,952	slabě aktivní
5k	2,4-N	CH ₃		31,944	42,166	slabě aktivní
5l	2,4-N	CH ₃		26,695	33,316	slabě aktivní

7.4. Hodnocení herbicidní aktivity

7.4.1. Hodnocení vlivu na obsah chlorofylu v řasách *Chlorella vulgaris*

Řasy *Chlorella vulgaris* Beij. byly při laboratorní teplotě staticky kultivovány 7 dní (fotoperioda: 16 hodin na světle / 8 hodin ve tmě; osvětlení: $60 \mu\text{Es}^{-1}\text{m}^{-2}$ PAR; pH = 7,2)²³³. Obsah chlorofylu v suspenzi řas byl určován spektrofotometriky (Kontron Uvikon 800, Kontron, München, Germany) po extrakci do methanolu podle Wellburna *et al.*²³⁴. Na začátku kultivace byl obsah chlorofylu 0,1 mg/l. Testované sloučeniny byly rozpuštěny v DMSO; jeho konečná koncentrace v suspenzi řas byla maximálně 0,5 % (v/v). Kontroly obsahovaly stejné množství DMSO jako suspenze se zkoušenými sloučeninami. Schopnost redukce chlorofylu byla vyjádřena jako koncentrace (IC_{50}), která vyvolá 50% inhibici v koncentračním rozmezí 0,83 – 100 $\mu\text{mol/l}$. Výsledky testování některých připravených látek jsou uvedeny v tabulkách 27 – 30.

7.4.2. Hodnocení vlivu na fotosyntetickou aktivitu chloroplastů

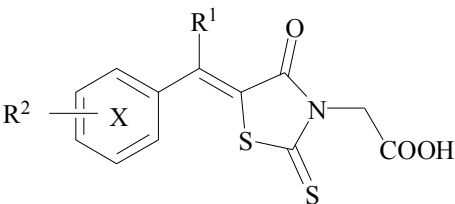
Chloroplasty byly získány z listů špenátu (*Spinacea oleracea*) metodou dle Wolkera²³⁵. Rychlost vývoje kyslíku (Oxygen Evolution Rate) v chloroplastech (obsah chlorofylu = 30 mg/l) byla sledována a hodnocena spektrofotometriky (Specord UV VIS, Zeiss Jena, Germany) pomocí fotoredukce 2,6-dichlorfenol-indofenolu (DCPIP) jako akceptoru elektronů. Metodika hodnocení OER byla vypracována Kráľovou, K. *et al.*²³⁶. Testované sloučeniny byly rozpuštěny v DMSO, konečná koncentrace DMSO byla maximálně 5 % (v/v) a neovlivňovala vývoj kyslíku. Měření probíhalo ve fosfátovém pufru (0,02 mol/l, pH 7,2) s obsahem sacharózy (0,4 mol/l), MgCl_2 (0,005 mol/l) a NaCl (0,015 mol/l). Vzorky připravených sloučenin byly ozářeny ($\sim 100 \text{ W/m}^2$) z 10 cm vzdálenosti halogenovou žárovkou (250 W) za použití 4 cm vodního filtru, aby se zabránilo zahřátí vzorků, teplota vzorku suspenze byla udržována při 22 °C. Inhibiční aktivity jsou vyjádřeny pomocí IC_{50} , tj. koncentrací, která vyvolá 50% inhibici vývoje kyslíku ve srovnání s kontrolami. Jako pozitivní kontrola byla použita 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea (DCMU). Výsledky hodnocení OER některých připravených látek jsou sumarizovány v tabulkách 27 – 30.

Tabulka 27. Herbicidní aktivita připravených látek 1a – 1z

Kód látky	X	R	<i>Chlorella vulgaris</i>		Chloroplasty špenátu
			IC ₅₀ [μmol/l]	Redukce chlorofylu [%]	(OER) IC ₅₀ [μmol/l]
1a	C	H	13,7	88,2	374,7
1b	C	2-OH	59,4	59,0	368,6
1c	C	3-OH	-	9,6	444,0
1d	C	4-OH	-	29,8	*
1e	C	2,4-OH	108,2	48,5	*
1f	C	3-OCH ₃ -4-OH	-	19,4	*
1g	C	2-OCH ₃	-	-	-
1h	C	3-OCH ₃	*	-	220,6
1ch	C	4-OCH ₃	*	-	173,8
1i	C	2-F	*	-	99,5
1j	C	3-F	*	-	23,8
1k	C	4-F	*	-	63,5
1l	C	2-Cl	*	-	53,3
1m	C	3-Cl	*	-	17,0
1n	C	4-Cl	1,3	84,8	6,0
1o	C	2-Br	*	-	18,1
1p	C	3-Br	*	-	5,2
1q	C	4-Br	*	-	3,0
1r	C	2-NO ₂	*	-	427,6
1s	C	3-NO ₂	4,4	85,7	16,9
1t	C	4-NO ₂	21,9	87,1	20,1
1u	C	4-N(CH ₃) ₂	-	12,6	*
1v		H	-	-	-
1w	2-N	H	*	-	310,7
1x	3-N	H	-	-	-
1y	4-N	H	-	1,8	216,5
1z	2,4-N	H	-	-	-
DCMU			7,3	-	1,9

* látka interagovala s DCPIP (2,6-dichlorfenol-indofenol), nebo precipitovala z roztoku, - látka byla neúčinná, OER –oxygen evolution rate, DCMU – 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea

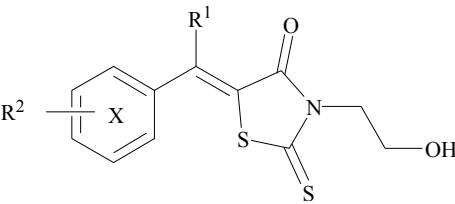
Tabulka 28. Herbicidní aktivita připravených látek 3e, 3g, 3h



Kód látky	X	R ¹	R ²	<i>Chlorella vulgaris</i>		Chloroplasty špenátu
				IC ₅₀ [μmol/l]	Redukce chlorofylu [%]	(OER) IC ₅₀ [μmol/l]
3e	2,4-N	H	H	-	-	-
3g	2,4-N	CH ₃	butyl	670,0	-	*
3h	2,4-N	CH ₃	<i>t</i> -butyl	685,0	-	*

* látka interagovala s DCPIP (2,6-dichlorfenol-indofenol), nebo precipitovala z roztoku, - látka byla neúčinná, OER –oxygen evolution rate, DCMU – 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea

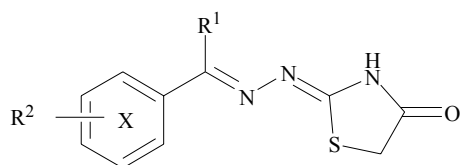
Tabulka 29. Herbicidní aktivita připravených látek 4e, 4f, 4h - 4j

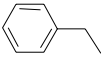


Kód látky	X	R ¹	R ²	<i>Chlorella vulgaris</i>		Chloroplasty špenátu
				IC ₅₀ [μmol/l]	Redukce chlorofylu [%]	(OER) IC ₅₀ [μmol/l]
4e	2,4-N	CH ₃	propyl	306,0	-	*
4f	2,4-N	CH ₃	isopropyl	566,0	-	*
4h	2,4-N	CH ₃	isobutyl	410,0	-	*
4ch	2,4-N	CH ₃	<i>t</i> -butyl	177,0	-	*
4i	2,4-N	CH ₃	pentyl	-	-	-
4j	2,4-N	CH ₃	hexyl	-	-	-
DCMU				7,3	-	1,9

* látka interagovala s DCPIP (2,6-dichlorfenol-indofenol), nebo precipitovala z roztoku, - látka byla neúčinná, OER –oxygen evolution rate, DCMU – 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea

Tabulka 30. Herbicidní aktivita připravených látek 5f – 5h, 5i – 5k



Kód látky	X	R ¹	R ²	<i>Chlorella vulgaris</i>		Chloroplasty špenátu
				IC ₅₀ [μmol/l]	Redukce chlorofylu [%]	(OER) IC ₅₀ [μmol/l]
5f	2,4-N	CH ₃	propyl	-	-	-
5g	2,4-N	CH ₃	isopropyl	-	-	-
5h	2,4-N	CH ₃	butyl	-	-	-
5i	2,4-N	CH ₃	pentyl	-	-	-
5j	2,4-N	CH ₃	hexyl	-	-	-
5k	2,4-N	CH ₃		-	-	-
DCMU				7,3	-	1,9

* látka interagovala s DCPIP (2,6-dichlorfenol-indofenol), nebo precipitovala z roztoku, - látka byla neúčinná, OER –oxygen evolution rate, DCMU – 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea

8. DISKUSE

První připravené deriváty thiazolu tvořila série arylmethylidenrhodaninů (**1a** – **1z**). Poměrně rozsáhlá knihovna těchto látek byla připravena Knoevenagelovou kondenzací aldehydů a rhodaninu podle stejného postupu popsaného výše. Kromě látky **1z** byly k reakcím použity komerčně dostupné aldehydy. Pyrazinkarbaldehyd, jakožto meziprodukt v přípravě látky **1z**, byl získán sledem několika reakcí z výchozí pyrazinkarboxylové kyseliny (viz kapitola 6.2.1). Všechny tyto připravené sloučeniny byly podrobeny hodnocení na antifungální aktivitu. Získané látky byly dobře rozpustné v DMSO na rozdíl od série (**2**) nedocházelo k precipitaci během kultivace (taktéž v případě antibakteriálního hodnocení). Z hlediska SAR lze konstatovat, že mezi nejúčinnější patřily halogenované deriváty (**1i** – **1q**). Z hodnot inhibičních koncentrací však nelze vyvodit další závislosti mezi molekulovou hmotností halogenovaného derivátu nebo polohovými izomery. Za nejúčinnější z nich by se dal označit derivát chlorovaný v poloze *para* aromátu (**1n**). Porovnatelnou účinnost s halogenderiváty měly sloučeniny **1a**, a furanový derivát **1v** a nitroderivát **1r**, a to především proti *Trichophyton mentagrophytes*. Účinnost nitroderivátů klesala v pořadí 2-NO₂ > 3-NO₂ > 4-NO₂. Zavedením heteroatomu do šestičlenného aromatického kruhu účinnost klesala (**1w** – **1z**). Shodné hodnoty MIC/IC₈₀ byly zaznamenány u dimethylaminoderivátu (**1u**) a **1g,1h**. Substituce aromátu methoxylem nebo hydroxylem vedla k výraznému snížení až vymizení antifungálního účinku. Mezi nejcitlivější kmeny patřily *Trichophyton mentagrophytes*, *Lichtheimia corymbifera* a nejméně *Candida albicans*. U prvních dvou uvedených byla schopnost inhibovat růst u nejúčinnějších derivátů srovnatelná s azolovým antimykotikem flukonazolem. Non-*albicans* druhy *Candida* a *Trichosporon asahii* by se daly označit spíše za rezistentní k těmto derivátům. Zjištěné závislosti byly konzistentní s paralelně probíhající studií Sortino *et al*¹⁰⁶, která popisuje antifungální vlastnosti připravených sloučenin strukturně podobných nebo zčásti totožných. Výsledky hodnocení antifungální aktivity těchto sloučenin budou publikovány ve Folia Pharmaceutica Universitatis Carolinae²³⁷.

Série těchto látek byla dále testována na antibakteriální aktivitu. S výjimkou bakterií rodu *Staphylococcus*, nebyly připravené sloučeniny *de facto* proti ostatním testovaným kmenům účinné. Mezi nejúčinnější patřily deriváty nesoucí halogen nebo nitroskupinu na aromatickém jádře. Minimální inhibiční koncentrace se u těchto kmenů pohybovaly většinou v rozmezí 3,9 – 31,25 μmol/l. Výsledky ve srovnání s pozitivními kontrolami

ukázaly účinek připravených látek v širším spektru jednotlivých druhů. Střední účinnost proti *S. aureus*, resp. MRSA (MIC/IC₈₀ 15,62 – 62,5 μmol/l) byla také prokázána u nesubstituovaného derivátu **1a** a také u hydroxy a nebo methoxyderivátů (**1b**, **1f** – **1h**). Heterocyklická analoga vykazovala nízkou až žádnou aktivitou proti všem testovaným kmenům. Vliv derivátů benzylidenrhodaninu na inhibici biosyntézy bakteriální stěny prostřednictvím interakce s enzymem MurC sledoval Sim *et al.*¹¹³, který podobně jako v této práci pozoroval, že deriváty benzylidenrhodaninu ovlivňovaly spíše spektrum grampozitivních testovaných bakterií (SA, MRSA), zatímco vliv na růst gramnegativních patogenů se jevil zanedbatelný.

Antimykobakteriální aktivita proti *Mycobacterium tuberculosis* byla hodnocena externě v TAACF. Při koncentracích (MIC/IC₈₀ >6,25 μmol/l) se míra inhibice růstu látek **1a** – **1f**, **1s**, a **1t** pohybovala kolem 40 % (34 – 50 %). U látek **1n** a **1r** dosáhla více jak 60 % (65 – 72 %). Od r. 2007 byla metoda testování změněna, novou metodou byly hodnoceny látky **1g** – **1q**, **1v**, **1w** a **1y**, u kterých byla zjištěna slabá aktivita kromě látky **1y**, která neměla schopnost ovlivnit růst *M. tuberculosis*.

Schopnost těchto arylmethylidenrhodaninů ovlivňovat během kultivace obsah chlorofylu v suspenzi řas *Chlorella vulgaris*, resp. hodnoty IC₅₀, byly vyhodnoceny pouze u 6 z testovaných sloučenin. Ostatní buď nebyly účinné, interagovaly s DCMU nebo precipitovaly z roztoku. Mezi nejúčinnější deriváty patřily deriváty nesoucí nitroskupinu na aromatickém kruhu **1s**, **1t**, dále pak látky **1n** a **1a** (IC₅₀ 1,3 – 21,9 μmol/l; medián 4,4 μmol/l) s mírou redukce chlorofylu kolem 90 % (IC₅₀ DCMU 7,3 μmol/l). Rychlost vývoje kyslíku (OER) byla ovlivněna nejvýznamněji v případě halogenovaných a nitroderivátů (**1i** – **1q**, **1s**, **1t**; IC₅₀ 3,0 – 99,5 μmol/l; medián 18,1 μmol/l), z nichž nejnižší hodnoty IC₅₀ byly naměřeny u bromderivátů (**1p**, **1q**; IC₅₀ 5,2 a 3,0 μmol/l). Pozitivní kontrola DCMU vyvolala 50 % inhibici OER při koncentraci 1,9 μmol/l. Výsledky těchto studií jsou shrnuty v lit.²³⁸

Dalším z cílů této práce bylo biologické hodnocení série 5-(1-fenylethyliden)-2-thioxothiazolidin-4-onu (**2a**) a 5-(1-pyrazin-2-ylethyliden)-2-thioxothiazolidin-4-onů (**2b** – **2g**). Tato série látek byla připravena Knoevenagelovou kondenzací acetofenonu, resp. (5-substituovaného) acetylpyrazinu, a rhodaninu v bazickém prostředí tvořeném konc. amoniakem a chloridem amonným. Ethanol se ukázal jako vhodné rozpouštědlo i pro krystalizaci (podrobný postup v kap. 6.2.5.). Výťažnost kondenzace se pohybovala v rozmezí 41 – 78 %. Použité acetylpyraziny byly připraveny z výchozího

pyrazinkarbonitrilu, který byl podroben homolytické alkyloaci pomocí série mastných alifatických kyselin a následně převeden Grignardovou reakcí na acetylpyrazin (podrobně v kap. 6.2.2. a 6.2.3.). Substituční reakce na pyrazinovém jádře a postupy přípravy acetylpyrazinu, resp. substituovaných acetylpyrazinů, byly na Katedře farmaceutické chemie a kontroly léčiv vypracovány a publikovány dříve^{159-166,174}. Antifungální aktivita těchto látek nebyla vysoká ($MIC/IC_{80} > 125 \mu\text{mol/l}$) a u všech sloučenin kromě **2a** a **2b** se střední účinností ($MIC/IC_{80} 31,25 - 125 \mu\text{mol/l}$), prakticky stejná. Antibakteriální účinnost byla zanedbatelná, u látek **2b**, **2d** a **2e** byla naměřena shodná míra inhibice ($MIC > 125 \mu\text{mol/l}$) v celém spektru testovaných bakteriálních kmenů. Růst *Mycobacterium tuberculosis* nebyl těmito sloučeninami inhibován. Vliv na růst chloroplastů a fotosyntetické procesy nebyl kvůli špatné rozpustnosti hodnocen. Kromě látky **2a** provázely biologická hodnocení heteroaromatických kondenzačních produktů potíže s rozpustností. Látky proto často precipitovaly z kultivačního médiu, čímž mohla být ovlivněna celková antimikrobní účinnost.

Další část této práce byla věnována přípravě *N*-substituovaných derivátů thiazolidinu, resp., rhodaninu. Nejdříve byly připraveny deriváty rhodaninoctové kyseliny Knoevenagelovou kondenzací (**3a – 3ch**) příslušného aldehydu nebo ketonu s rhodaninoctovou kyselinou v kyselém prostředí ledové kyseliny octové za přítomnosti ekvimolárního množství octanu sodného a acetanhydridu. Výtěžnost této reakce se pohybovala převážně v rozmezí 60 – 80 % (podrobný postup v kap. 6.2.6.). Všechny připravené látky se vyznačovaly dobrou rozpustností v DMSO, resp. v kultivačních médiích, čímž byla usnadněna evaluace biologických hodnocení (antifungální a antibakteriální aktivita).

Překvapivě však schopnost inhibovat růst patogenních hub v případě arylalkylidenrhodaninoctových kyselin vymizela. Hodnocení antifungální aktivity derivátů rhodaninoctové kyseliny bylo publikováno v lit.²³⁹ Podobně jako v případě antifungální aktivity, byly připravené sloučeniny proti testovaným bakteriálním kmenům neúčinné. Aktivita derivátů benzylidenrhodaninoctových kyselin proti grampozitivním kmenům *Staphylococcus spp.* byla např. popsána Chenem *et al.*¹²² Sérii arylidenrhodaninalkylkarboxylových kyselin a jejich vliv na transpeptidasy (PBP) také popsali Zervosen *et al.*¹¹⁷ Ačkoliv v této práci nebyla prokázána specifická inhibice PBP, účinnost připravených látek u methicilin-rezistentního *Staphylococcus aureus* a vankomycin-rezistentního *Enterococcus faecium* převyšovala kontrolní cefotaxim a

ampicilin. Naproti tomu Tomašič *et al.*¹²¹ pozorovali, že antibakteriální účinnost proti *Staphylococcus aureus* ve skupině benzylidenrhodaninů *N*-substitucí karboxymethylovou skupinou výrazně klesala.

Připravena byla dále série derivátů *N*-hydroxyethylrhodaninu Knoevenagelovou kondenzací (**4a** – **4j**) a příslušného aldehydu nebo ketonu s *N*-hydroxyethylrhodaninem v bazickém prostředí tvořeném konc. amoniakem a chloridem amonným (podrobný postup v kap. 6.2.5.). Výtěžnost této reakce se pohybovala v rozmezí 50 – 60 % (medián 30 %). *N*-hydroxyethylrhodanin byl připraven z ethanolaminu, sirouhlíku s následnou cyklizací pomocí chloracetátu sodného v bezvodém ethanolu (podrobný postup v kap. 6.2.4.). Příprava aldehydů nebo ketonů jako meziproduktů byla analogická výše popsaným sériím látek **1** a **2**. Ani v této skupině látek nebyly pozorovány problémy spojené s rozpustností a biologickým evaluacím.

Výsledky antifungálního a antibakteriálního hodnocení této série byly podobné. Připravené *N*-hydroxyethylderiváty měli nízkou až převážně žádnou aktivitu proti testovaným kmenům. Syntéza *N*-substituovaných derivátů rhodaninu byla spíše zaměřena na přípravu heteroaromatických analog a přes jistou diskutabilitu účinnosti *N*-substituovaných derivátů rhodaninu, bylo v této práci bylo prokázáno, že se negativně podílí na antifungální a antibakteriální aktivitě. Schopnost inhibice růstu *Mycobacterium tuberculosis* všech připravených derivátů odvozených *N*-substituovaného rhodaninu byla rovněž zanedbatelná. Vliv *N*-substituovaných derivátů arylalkylidenrhodaninu na obsah chlorofylu v suspenzi řas *Chlorella vulgaris* nebo rychlost vývoje kyslíku (OER) nebyl pozorován. Žádná z látek nebyla účinná, nebo precipitovala z roztoku. U 6 z těchto sloučenin byla odečtena hodnota IC₅₀ v rozmezí od 177 do 685 μmol/l s mediánem 488 μmol/l (IC₅₀ DCMU 7,3 μmol/l).

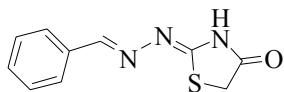
Součástí hodnocení SAR bylo porovnání vlivu kondenzačních produktů odvozených od aldehydů s kondenzačními produkty odvozenými od ketonů na antifungální a antibakteriální aktivitu.

Pokud se zaměříme na vliv spojovacího alkylidenového můstku na antifungální aktivitu v rámci strukturních analog, tak je zde nepatrný posun směrem k vyšší aktivitě ve prospěch arylethylidenových derivátů pouze u derivátů bez *N*-substituce rhodaninového kruhu. V případě antibakteriální aktivity je situace podobná je z části. Výjimku tvoří nižší aktivita derivátů arylethylidenrhodaninu proti *S. aureus* a methicilin-rezistentnímu *S. aureus*.

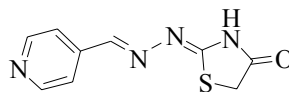
Rozdíl u derivátů s *N*-substitucí nebyl patrný, neboť látky byly neúčinné. Na základě toho nelze jednoznačně určit, zda velikost alkylidenové spojky mezi (hetero)aromatickou a thiazolidinovou částí molekuly připravených látek ovlivňuje antimikrobní účinnost, nicméně naměřené hodnoty naznačují mírně vyšší účinnost derivátů aryethylidenrhodaninu.

V další části této práce byla připravena série derivátů thiazolidinu s alkylidenhydrazonovým můstkem mezi hetroaromatickou a heterocyklickou částí molekuly. Takto byly získány deriváty 5-(1-hetarylalkyliden) hydrazonothiazolidin-4-onu (**5a** – **5l**). Série těchto látek byla získána cyklizací příslušných thiosemikarnazonů s kyselinou chloroctovou v ethanolu (podrobně v kap. 6.2.8.). Výtěžnost této reakce se pohybovala v rozmezí 36 – 91 % (medián 51 %). Thiosemikarbazony byly připraveny kondenzací thiosemikarbazidu a aldehydů nebo ketonů v methanolu (podrobně v kap. 6.2.7.). Popis přípravy ketonů a pyrazinkarbaldehydu je popsán výše.

Všechny připravené sloučeniny této série byly testovány na antifungální aktivitu a antibakteriální aktivitu. Zatímco proti patogenním bakteriálním kmenům látky téměř nevykazovaly žádnou účinnost (nejnižší hodnota MIC/IC₈₀ >125 μmol/l), v případě antifungální aktivity se hodnoty minimálních inhibičních koncentrací (kromě látek **5b** a **5d**) pohybovaly převážně mezi 3,9 a 62,5 μmol/l v celém spektru testovaných kmenů. Látky s nejnižší antifungální aktivitou (**5b** a **5d**) neměly na rozdíl od aktivních analogů α -*N*-heteroaromatický kruh v hydrazonovém postranním řetězci. Kromě sloučenin uvedených v tabulkách 5, 15, 20, 26, 30 byly připraveny také sloučeniny **XLVI** a **XLVII**, u nichž byla pozorována nízká antifungální aktivita (MIC/IC₈₀ >250 a >500 μmol/l). Látky se však nepodařilo získat v dostatečné čistotě, proto jsou tyto výsledky spíše orientační.



XLVI



XLVII

Důvod poklesu antifungální účinnosti může být způsoben ztrátou schopnosti vázat železo, které je nezbytné pro růst patogenních hub. Bylo prokázáno, že některé invazivní patogeny včetně většiny hub získávají železo pomocí mechanismů, které např. konvertují nerozpustné železitých komplexů do rozpustnějších forem Fe²⁺ a přenášejí to do mikroorganismů. Produkce těchto tzv. sideroforů je zároveň spojena s up-regulací povrchových receptorů, které rozpustné železnaté formy z intracelulárního nebo

extracelulárního prostředí využívají^{240,241}. Lidský organismus se na obranu proti mikrobům naopak snaží koncentraci volného železa v krevním séru udržet vylučováním proteinů s vysokou afinitou k železu (transferrin, ferritin)²⁴². Lze se tedy důvodně domnívat, že sloučeniny s vyšší schopností vazby Fe^{2+} budou fungistaticky aktivnější.

Spingarn *et al.* predikoval na základě kalkulace molekulárních orbitalů a spektrofotometrických měření možnosti vazby Fe^{2+} na thiosemikarbazony odvozené od pyrazinu. Na následujícím zjednodušeném schématu (schéma 19) je zobrazeno vazebné uspořádání železa v molekuly thiosemikarbazonu s ohledem na tautomerní uspořádání²⁴³.

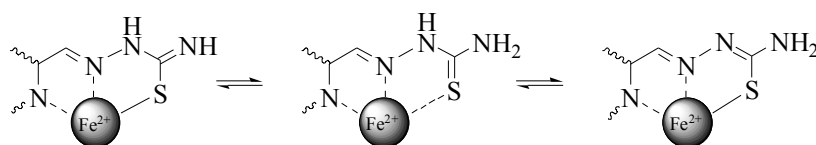


Schéma 19. Vazba železa na thiosemikarbazony (převzato z lit.²⁴³)

V případě hydrazonothiazolových derivátů **5a** – **5l** by tedy mohla metaloorganická vazba vypadat následovně (schéma 20).

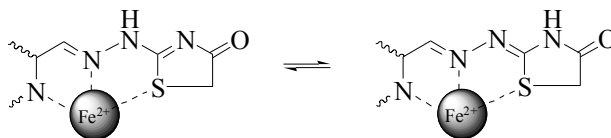


Schéma 20. Vazba železa na cyklické formy thiosemikarbazonů

Schopnost chelátovat železo byla prokázána i u námi připravených thiosemikarbazonů²⁴⁴. Kromě antifungální a antineoplastické aktivity vykazovaly thiosemikarbazony také antimykobakteriální účinky. Z této studie však nebylo možné určit, jakou roli hraje jejich schopnost chelátovat železo v mechanismu jejich protituberkulózního působení²⁴⁵. Z pohledu SAR lze dále konstatovat, že vliv heteroaromatického kruhu (pyridin, pyrazin), podobně jako substituce pyrazinového jádra v poloze 5 na antifungální aktivitu nebyl ve v kontextu výše uvedeného tak výrazný. Nejúčinnější deriváty (**5f**, **5g**, **5h**, **5i**) obsahovaly lineární alkylový substituent v poloze 5 pyrazinového jádra. Srovnatelně účinné s nimi byly sloučeniny **5a** a **5c** obsahující v postranním řetězci nesubstituovaný pyridin-2-yl. Dále byla hodnocena možnost ovlivnění účinnosti alkyldenové části molekuly. Rozdíl mezi hodnotami minimálních inhibičních koncentrací 2-(pyridin-2-ylmethylidenhydrazono)thiazolidin-4-onu (**5a**) a 2-[1-(pyridin-2-yl)ethylidenhydrazono]thiazolidin-4-onu (**5c**) nebyl v testovaném spektru patogenních hub pro určení další závislosti SAR signifikantní (viz tabulka 31). Žádná z látek nedosáhla účinnosti

kontrolního amfotericinu B, ve srovnání s azolovými antimykotiky lze konstatovat srovnatelnou nebo vyšší účinnost oproti flukonazolu.

Tabulka 31. Porovnání antifungální aktivity látek 5a a 5c

	MIC/IC ₈₀ (μmol/l)			
	5a		5c	
	24(72)h	48(120)h	24(72)h	48(120)h
Průměr	10,74	21,48	9,62	14,77
Medián	7,81	11,72	7,81	11,72
σ	8,46	18,22	9,23	10,49

σ - směrodatná odchylka

Všechny připravené látky této série byly hodnoceny na antimykobakteriální aktivitu proti *Mycobacterium tuberculosis*. Účinnost však byla pomocí testu MABA vyhodnocena jako slabá nebo žádná u všech sloučenin. Dále byl u šesti látek hodnocen vliv na obsah chlorofylu v suspenzi řas *Chlorella vulgaris* nebo rychlost vývoje kyslíku (OER). Ovšem v tomto biologickém hodnocení nebyla žádná z látek aktivní.

Dále byla věnována pozornost hodnocení závislosti mezi antibakteriální nebo antifungální aktivitou a lipofilitou připravených látek stanovenou experimentálně pomocí HPLC (viz kap. 6.5.). Vztah byl demonstrován graficky, kde parametr účinnosti tvořila inverzní hodnota MIC/IC₈₀ v závislosti na logaritmické hodnotě kapacitního faktoru (log *K*). Do analýzy nebyly vzaty látky s nízkou inhibiční aktivitou (MIC/IC₈₀ >125 μmol/l). Součástí analýzy výsledků antimikrobní aktivity bylo vynesení polynomické trendové křivky hodnot účinnosti.

Skupinu látek se střední antibakteriální účinností (MIC/IC₈₀ ≤125 μmol/l) tvořily pouze deriváty rhodaninu převážně odvozené od aldehydů a jeden derivát odvozený od acetofenonu (**2a**). Analýza těchto látek byla provedena u rodu *Staphylococcus*, v ostatních případech látky nebyly účinné. Průběh polynomické funkce byl ve všech případech podobný, rozložení hodnot bylo homogenní na všech úrovních účinnosti. Pouze v případě *Staphylococcus aureus* byla naměřena nejvyšší aktivita testovaných sloučenin při hodnotách log *K* mezi 0,7 – 1,0. V tomto případě se jednalo o látky **1o** a **1q** nesoucí v molekule atom bromu, jež byl zodpovědný za vyšší účinnost (viz výše). Rozdíl mezi hodnotami po 24 a 48 hodinách kultivace nebyl výrazný. Ve světle uvedeného tak nebylo možné v této skupině látek určit závislost mezi lipofilitou a antibakteriálním účinkem.

Větší pozornost si však zaslouží interpretace výsledků získaných na patogenních fungálních kmenech. Ve skupině derivátů rhodaninu, resp. *N*-substituovaného rhodaninu, byla patrná tendence polynomických křivek dosáhnout maxima při hodnotách $\log K$ v rozmezí hodnot 0,5 – 0,7. Kromě *Candida albicans*, kde je spíše homogenní distribuce hodnot, byla tato tendence nejvýraznější u *Aspergillus fumigatus* konzistentně po 24 i 48h kultivace, *Lichtheimia corymbifera*, *Trichosporon asahii* a *Trichophyton mentagrophytes* po 24h kultivaci. Sloučeniny s nejvyšší účinností v tomto intervalu tvořily výraznou většinou halogenované deriváty benzyldenrhodaninu. Vyšší účinnost halogenderivátů aryalkyldenrhodaninů byla jinými autory i v této práci prokázána. Pozorované výsledky spíše naznačují, že může být ve skupině aryalkyldenrhodaninů kromě zmíněné halogenové substituce aromatické části pro antifungální aktivitu vhodná i míra lipofility pohybující se v intervalu $\log K$ 0,5 – 0,7.

Ve skupině derivátů 5-(1-hetarylalkylden)hydrazonothiazolidinu byl pozorován podobný trend jako v případě derivátů rhodaninu. Hodnoty $\log K$ u nejučinnějších derivátů (**5f** a **5h**) byly pozorovány v podobném intervalu jako v předchozím případě (tabulka 32).

Tabulka 32. Porovnání antifungální aktivity a $\log K$ látek 5f a 5h

	MIC/IC ₈₀ (μmol/l)			
	5f		5h	
	24(72)h	48(120)h	24(72)h	48(120)h
Průměr	9,27	7,73	4,63	5,61
Medián	7,81	7,81	3,90	3,90
σ	3,88	3,48	1,94	4,08
$\log K$	0,47		0,62	

σ - směrodatná odchylka

Při syntéze derivátů arylmethylidenrhodaninu mohou vznikat dva izomery. Většina literárních zdrojů uvádí vznik pouze *Z*-izomeru. Specifikace izomerie je možná pomocí NMR. Pro signál vodíku methinové skupiny u *Z*-izomeru je v ¹H NMR spektru charakteristický posun k vyššímu poli oproti *E*-izomerům^{205,246, 247}. U připravených látek se signál vodíku methinové skupiny pohyboval v rozmezí od 7,63 – 8,02 ppm. Kalkulované hodnoty signálu vodíku methinové skupiny pomocí programu CS ChemOffice 7.0 (CambridgeSoft, Cambridge, MA, U.S.A.) uvádějí pro *Z*-izomer 7,42 – 7,98 ppm a pro *E*-izomer 6,78 – 7,36 ppm. Hodnoty *Z*-izomerů dříve publikované v literárních zdrojích jsou totožné, nebo velmi podobné hodnotám, zjištěným experimentálně v rámci této práce. Lze se tedy důvodně domnívat, že všechny námi

připravené deriváty rhodaninu jsou *Z*-izomery. K exaktnímu stanovení konfigurace na dvojné vazbě arylmethylidenrhodaninů by však bylo nutné provést rentgenografickou analýzu. V následující tabulce (tabulka 33) jsou zobrazeny hodnoty signálu vodíku methinové skupiny derivátů arylmethylidenrhodaninu.

Tabulka 33. ^1H NMR signály vodíku methinové skupiny

Kód látky	<i>Z</i> - izomer (ppm) *	<i>E</i> - izomer (ppm) *	Experimentální hodnota (ppm)	Publikovaná hodnota (ppm)
1a	7,42	6,80	7,63	7,62 ²⁰⁵ ; 7,63 ¹⁵³ ; 7,65 ¹⁰⁶
1b	7,62	7,07	7,84	7,83 ¹⁵³ ; 7,86 ²⁴⁸
1c	7,42	6,80	7,53	7,54 ²⁴⁸
1d	7,42	6,80	7,55	7,56 ^{205, 248}
1e	7,69	7,07	7,73	7,79 ¹²¹
1f	7,42	6,80	7,56	7,94 ²⁰⁵
1g	7,69	7,07	7,78	7,79 ²⁴⁸
1h	7,42	6,80	7,60	7,59 ²⁴⁸
1ch	7,42	6,80	7,59	7,45 ²⁴⁸ ; 7,52 ¹⁰⁶ ; 7,59 ¹⁵³
1i	7,69	7,07	7,59	7,48 ²⁴⁸ ; 7,59 ¹⁰⁶
j	7,42	6,80	7,63	7,83 ²⁴⁸
1k	7,42	6,80	7,64	7,65 ¹⁰⁶
1l	7,69	7,07	7,74	NA
1m	7,42	6,80	7,68	NA
1n	7,42	6,80	7,62	7,55 ¹⁰⁶ ; 7,61 ^{106, 249}
1o	7,69	7,07	7,70	NA
1p	7,42	6,80	7,61	NA
1q	7,42	6,80	7,60	7,61 ¹⁰⁶
1r	7,98	7,36	7,88	NA
1s	7,53	6,91	7,94	NA
1t	7,56	6,94	7,88	NA
1u	7,42	6,80	7,49	7,47 ¹⁵³
1v	7,42	6,80	7,47	8,09 ²⁰⁵
1w	7,63	7,01	7,68	7,65 ¹⁰⁶
1x	7,42	6,80	7,66	7,60 ¹⁰⁶
1y	7,40	6,78	7,55	7,58 ¹⁰⁶
1z	7,42	6,80	7,73	NA
3a	7,41	6,80	7,89	7,81 ²⁵⁰ ; 7,88 ²²¹
3c	7,41	6,80	7,94	7,95 ²²¹
3d	7,39	6,78	7,94	7,87 ²²¹
3e	7,41	6,80	7,94	NA
4a	7,98	7,36	8,02	NA
4b	7,53	6,91	7,94	NA
4c	7,56	6,94	7,88	NA

4d	7,63	7,01	7,81	NA
----	------	------	------	----

NA - není dostupné, * kalkulované hodnoty pomocí CS ChemOffice 7.0

Složitější situace byla v identifikaci izomerů v případě derivátů 5-(1-arylalkyliden)hydrazonothiazolidin-4-onu k přítomnosti dvou dvojných vazeb, na kterých teoreticky mohou vznikat až 4 geometrické izomery. Dostupná literární databáze uvádí pouze konfigurace *E,E*, avšak publikované výsledky nejsou podpořeny žádnými experimentálními důkazy²¹⁵. Z původních prací provedených na Katedře farmaceutické chemie a kontroly léčiv zabývajících se přípravou thiosemikarbazonů je doloženo, že se jednalo vždy o *E*-izomery²⁵¹. Skutečnost, že thiosemikarbazon odvozený od pyridinkarboxaldehydu existuje převážně jako *E*-izomer, potvrdil i Temperini *et al.*²⁵² Při úvaze o geometrickém uspořádání bylo předpokládáno, že následnou cyklizací thiosemikarbazonu nedochází ke změně konfigurace na dvojně vazbě mezi aromatickou a thiosemikarbazonovou částí molekuly. Vznikat tak tedy mohou pouze dva izomery (schéma 21).

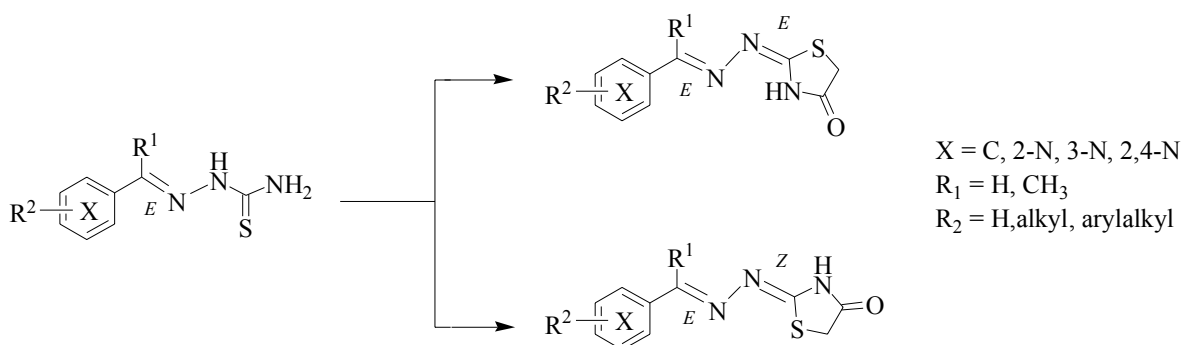


Schéma 21. Možnosti vzniku izomerů cyklizovaných derivátů thiosemikarbazonu

Stanovení konfigurace na další dvojně vazbě mezi dusíkem hydrazonové skupiny a thiazolidinovým kruhem byla provedena modelací termodynamických charakteristik v programu CS Chem3D Ultra 7.0 (CambridgeSoft, Cambridge, MA, U.S.A.). Z navržených struktur uvedených ve schématu 21 byly termodynamicky stabilnější *E,E*-izomery. Na základě toho by měl přednostně vznikat právě tento geometrický izomer. K exaktnímu stanovení konfigurace derivátů 5-(1-arylalkyliden)hydrazonothiazolidin-4-onu by však bylo nutné provést rentgenografickou analýzu.

9. ZÁVĚR

Celkem bylo připraveno 67 sloučenin z nichž 31 byly nové originální struktury. 57 látek tvořily deriváty rhodaninu, resp. *N*-substituovaného rhodaninu, dalších 13 připravených sloučenin tvořily deriváty 5-(1-hetarylalkyliden) hydrazonothiazolidin-4-onu. Všechny látky byly charakterizovány vzhledem, teplotou tání, spektrálními charakteristikami (IČ, UV, NMR) a elementární analýzou. Dále byla u látek stanovena lipofilita pomocí metodou HPLC vyjádřena jako logaritmus kapacitního faktoru ($\log K$). Všechny látky byly podrobeny hodnocení na antifungální aktivitu a kromě čtyř látek (**4a**, **4b**, **4c** a **4h**) také hodnocení na antibaktriální aktivitu. 41 sloučenin bylo hodnoceno na antimykobakteriální aktivitu proti *Mycobacterium tuberculosis*.

Antibakteriálně účinné byly pouze deriváty nesubstituovaného rhodaninu a to pouze proti rodu *Staphylococcus*. Deriváty 5-(1-hetarylalkyliden)hydrazonothiazolidin-4-onu nebyly antibakteriálně aktivní. Fungitoxické vlastnosti se střední účinností byly pozorovány ve skupině derivátů rhodaninu vyjma derivátů rhodaninoctové kyseliny. Deriváty 5-(1-hetarylalkyliden) hydrazonothiazolidin-4-onu vykazovaly střední až vysokou antifungální aktivitu v celém spektru testovaných kmenů kromě analog nesoucích v molekule 3-pyridyl a 4-pyridyl. Antimykobakteriální vlastnosti byly hodnoceny jako slabé, nebo neúčinné. Nejúčinnější látkou byl 5-(2-nitrobenzyliden)-2-thioxothiazolidin-4-on s mírou inhibice růstu *M. tuberculosis* 72 %. Významnější schopnost redukce chlorofylu (≈ 90 %) v suspenzi řasy *Chlorella vulgaris* měly pouze 3 deriváty nesubstituovaného rhodaninu. Významnější vliv na další fotosyntetické procesy (OER) měly pouze 3 deriváty nesubstituovaného rhodaninu s $1,5\times - 3\times$ vyššími hodnotami IC_{50} . Vztah mezi lipofilitou a antimikrobní účinností nebyl dostatečně průkazný, dle zjištěných souvislostí se lipofilita vyjádřena jako $\log K$ nejúčinnějších struktur pohybovala řádově mezi 0,5 – 0,7.

10. REFERENCE

-
- ¹ Doležel, J. Kondenzační produkty acetylpyrazinů s rhodaninem jako potenciální léčiva. Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta, Hradec Králové, 2004.
- ² Hawksworth, D. L. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance, and conservation. *Mycol. Res.* **1991**, *95*, 641–655.
- ³ Hibbett, D. S. *et al.* A higher level phylogenetic classification of the fungi. *Mycol. Res.* **2007**, *111*, 509–547.
- ⁴ Wang, H. *et al.* A fungal phylogeny based on 82 complete genomes using the composition vector method. *BMC Evol. Biol.* **2009**, *9* (195), 1–13.
- ⁵ Liu, Y. *et al.* Phylogenomic analyses predict sistergroup relationship of nucleariids and fungi and paraphyly of zygomycetes with significant support. *BMC Evol. Biol.* **2009**, *9* (272), 1–31.
- ⁶ Profil taxonu. *BioLib-Fungi (houby)* [online]. © BioLib 1999–2013 [cit. 2013-01-02]. Dostupné z: <http://www.biolib.cz/cz/taxon/id14893/>
- ⁷ Kirk, P. M. *et al.* *Dictionary of the Fungi* *Dictionary of the Fungi*, 10th Ed. CAB International: Wallingford UK 2008.
- ⁸ Lobovská A. *Infekční nemoci*. Nakladatelství Karolinum: Praha, 2001.
- ⁹ Kalendová, L. Mikrobiální infekce manifestující se v dutině ústní. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Brno, 2010.
- ¹⁰ Haber, J. *et al.* Léčba invazivní kandidózy: doporučení odborných společností. *Vnitř. Lék.* **2008**, *54*, 1174–1184.
- ¹¹ Pfaller, M. A. *et al.* Invasive fungal pathogens: Current epidemiological trends. *Clin. Infect. Dis.* **2006**, *43*, 3–14.
- ¹² Rippon, J. W. *Medical Mycology*, 3rd Ed. W. B. Saunders Co.: Philadelphia USA, **1988**.
- ¹³ Pontes, Z. B. *et al.* Clinical and mycological study of scalp white piedra in the state of Paraíba, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **2002**, *97*, 747–750.
- ¹⁴ Teplan, V. *et al.* *Infekce ledvin a močových cest v dospělém a dětském věku*. Grada: Praha, 2004.
- ¹⁵ Wolf, D. G. *et al.* Multidrug-resistant *Trichosporon asahii* infection of nongranulocytopenic patients in three intensive care units. *J. Clin. Microbiol.* **2001**, *39*, 4420–4425.

- ¹⁶ Warkentien, T. E. Trichosporon Infections. *Medscape. Drugs, Disease & Procedures*. [online]. © WebMD LLC 1994–2013 [cit. 2013-01-02]. Dostupné z: <http://emedicine.medscape.com/article/230705-overview>
- ¹⁷ Murray, P. R. *et al. Medical Microbiology*, 5th Ed. Elsevier: Oxford, **2005**.
- ¹⁸ Morgan, J. *et al.* Incidence of invasive aspergillosis following hematopoietic stem cell and solid organ transplantation: Interim results of a prospective multicenter surveillance program. *Med. Mycol.* **2005**, *43*, 49–58.
- ¹⁹ Staňková, M. *et al.*: *Repetitorium infekčních nemocí*. Triton: Praha, **2008**.
- ²⁰ Haber, J. Invazivní aspergilóza: nové možnosti léčby. *Sanquis.* **2004**, *36*, 40.
- ²¹ Ráčil, Z. *et al.* Léčba invazivní aspergilózy: doporučení odborných společností. *Vnitř. Léč.* **2008**, *54*, 1187–1194.
- ²² Antoniadou, A. Outbreaks of zygomycosis in hospitals. *Clin. Microbiol. Infect.* **2009**; *15*, 55–59.
- ²³ Piancastelli, C. *et al.* Isolation and characterization of a strain of *Lichtheimia corymbifera* (ex *Absidia corymbifera*) from a case of bovine abortion. *Reprod. Biol. Endocrinol.* [online]. **2009**, *7*, 138. [cit. 2013-01-02]. Dostupné z: DOI: 10.1186/1477-7827-7-138.
- ²⁴ Mitchell, M. E. *et al.* *Absidia corymbifera* endocarditis: Survival after treatment of disseminated mucormycosis with radical resection of tricuspid valve and right ventricular free wall. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **2010**, *139*, 71–72.
- ²⁵ Woo, P. C. Y. *et al.* A significant number of reported *Absidia corymbifera* (*Lichtheimia corymbifera*) infections are caused by *Lichtheimia ramosa* (syn. *Lichtheimia hongkongensis*): An emerging cause of mucormycosis. *Emerging Microbes Infect.* **2012**, *1*, 1–8.
- ²⁶ Schwartze, V. U. *et al.* *Lichtheimia* species exhibit differences in virulence potential. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e40908. [cit. 2013-01-02]. Dostupné z: DOI 10.1371/journal.pone.0040908
- ²⁷ Vorlíček, J. Systémové mykózy a jejich léčba. *Klin. onkol.* **1995**, *8*, 147–147.
- ²⁸ Weitzman, I.; Summerbell, R. C. The dermatophytes. *Clin. Microbiol. Rev.* **1995**, *8*, 240–259.
- ²⁹ Detandt, M.; Nolard, N. Fungal contamination of the floors of swimming paradises. *Mycoses* **1995**, *38*, 509–513.

- ³⁰ Kolektiv autorů. *Trendy v medicíně: Dermatovenerologie, dětská dermatologie a korektivní dermatologie 2006/07*, Benáková, N., Ed. Triton: Praha, **2006**.
- ³¹ Hercogová, J. Mykózy: Dělení, charakteristika a léčba. *Dermatologie*, **2002**, *13* (Suppl. 1), 5–10.
- ³² Schloss, P.; Handelsman, J. Status of the microbial census. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2004**, *68*, 686–691.
- ³³ Garrity, G. M. *et al.* *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd Ed., Vol. 2. The Proteobacteria. Garrity, G. M., Ed. Springer: New York. **2005**.
- ³⁴ Štork, J. *et al.* *Dermatovenerologie*. Galén: Praha, **2008**.
- ³⁵ Beneš, J. *et al.* *Infekční lékařství*. Galén: Praha, **2009**.
- ³⁶ Kluytmans, J. *et al.* Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: Epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin. Microbiol. Rev.* **1997**, *10*, 505–520.
- ³⁷ Bergerová, T. *et al.* Doporučený postup pro kontrolu výskytu kmenů *Staphylococcus aureus* rezistentních k oxacilinu (MRSA) a s jinou nebezpečnou antibiotickou rezistencí ve zdravotnických zařízeních. *Prakt. Lék.* **2006**, *86*, 500–506.
- ³⁸ Chua, K. *et al.* Antimicrobial resistance: Not community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA)! A clinician's guide to community MRSA – its evolving antimicrobial resistance and implications for therapy. *Clin. Infect. Dis.* **2011**, *52*, 99–114.
- ³⁹ Elliott, D. J. *et al.* Empiric antimicrobial therapy for pediatric skin and soft-tissue infections in the era of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Pediatrics* **2009**, *123*, 959–966.
- ⁴⁰ Williams, D. J. *et al.* Comparative effectiveness of antibiotic treatment strategies for pediatric skin and soft-tissue infections. *Pediatrics* **2010**, *128*, 479–487.
- ⁴¹ Kemper, A. R. *et al.* Management of skin abscesses by primary care pediatricians. *Clin. Pediatr. (Phila)*. **2011**, *50* (6), 525 - 528.
- ⁴² Patel, G. K. *et al.* Staphylococcal scalded skin syndrome: diagnosis and management. *Am. J. Clin. Dermatol.* **2003**, *4* (3), 165 - 175.
- ⁴³ Pääkkönen, M. *et al.* Management of osteoarticular infections caused by *Staphylococcus aureus* is similar to that of other etiologies: Analysis of 199 staphylococcal bone and joint infections. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **2012**; *31*, 436–438.
- ⁴⁴ Karchmer, A. W. *Staphylococcus aureus* bacteremia and native valve endocarditis: the role of antimicrobial therapy. *Infect. Dis. Clin. Pract.* **2012**, *20*, 100–108.

- ⁴⁵ Parisi, J. Coagulase-negative staphylococci and the epidemiological typing of *Staphylococcus epidermidis*. *Microbiol. Rev.* **1985**, *49*, 126–139.
- ⁴⁶ Winston, D. J. *et al.* Coagulase-negative staphylococcal bacteremia in patients receiving immunosuppressive therapy. *Arch. Intern. Med.* **1983**, *143*, 32–36.
- ⁴⁷ Mack, D. Molecular mechanism of *S. epidermidis* biofilm formation. *J. Hosp. Infect.* **1999**, *43*, 113–125.
- ⁴⁸ Nilsson, L. *et al.* A Fibrinogen-binding protein of *Staphylococcus epidermidis*. *Infect. Immun.* **1998**, *66*, 2666–2673.
- ⁴⁹ Rupp, M. E., Archer, G. L. Coagulase-negative staphylococci: Pathogens associated with medical progress. *Clin. Infect. Dis.* **1994**, *19*, 231–245.
- ⁵⁰ Whitener, C. *et al.* Endocarditis due to CNS: Microbiologic, epidemiologic and clinical considerations. *Infect. Dis. Clin. North. Am.* **1993**, *7*, 81.
- ⁵¹ Cercenado, E. *et al.* Emergence of teicoplanin-resistant coagulase-negative staphylococci. *J. Clin. Microbiol.* **1996**, *34*, 1765–1768.
- ⁵² Otto, M. *Staphylococcus epidermidis*: The “accidental” pathogen. *Nat. Rev. Microbiol.* **2009**, *7*, 555–567.
- ⁵³ Gill, S. R. *et al.* Insights on evolution of virulence and resistance from the complete genome analysis of an early methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain and a biofilm-producing methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* Strain. *J. Bacteriol.* **2005**, *187*, 2426–2438.
- ⁵⁴ Watanabe, S. *et al.* Treatment with linezolid in a neonate with meningitis caused by methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*. *Eur. J. Pediatr.* **2013**, Feb 26, Epub ahead of print. [cit. 2013-03-15]. Dostupné z: DOI 10.1007/s00431-013-1978-7
- ⁵⁵ Maureen, T. *et al.* *Staphylococcus epidermidis* device-related infections: pathogenesis and clinical management. *J. Pharm. Pharmacol.* **2008**, *60*, 1551–1571.
- ⁵⁶ Pediatric Enterococcal Infection. *Medscape. Drugs, Disease & Procedures.* [online]. © WebMD LLC 1994–201 [cit. 2013-01-02]. Dostupné z: <http://emedicine.medscape.com/article/971259-overview>
- ⁵⁷ Kayser, F. H. Safety aspects of enterococci from the medical point of view. *Int. J. Food Microbiol.* **2003**, *88*, 255–262.
- ⁵⁸ Johnston, L. M.; Jaykus, L. A. Antimicrobial resistance of enterococcus species isolated from produce. *Appl. Environ. Microbiol.* **2004**, *70*, 3133–3137.

- ⁵⁹ Fisher, K.; Phillips, C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology* **2009**, *155*, 1749–1757.
- ⁶⁰ Koch, S. *et al.* Enterococcal infections: Host response, therapeutic and prophylactic possibilities. *Vaccine* **2004**, *22*, 822–830.
- ⁶¹ Alexandrowicz, J. Drug resistance of *Enterococcus* species isolated from the urogenital system. *Med. Dosw. Mikrobiol.* **1999**, *51*, 233–238.
- ⁶² Beneš, J. *et al.* Enterokoková endokarditida. *Klin. Mikrobiol. Infekc. Lek.* **1997**, *3*, 289–293.
- ⁶³ Moellering, R. C. Emergence of *Enterococcus* as a significant pathogen. *Clin. Infect. Dis.* **1992**, *14*, 1137–1138.
- ⁶⁴ Mave, V. *et al.* Vancomycin-resistant enterococcal bacteraemia: Is daptomycin as effective as linezolid? *J. Antimicrob. Chemother.* **2009**, *64*, 175–180.
- ⁶⁵ Simon, C. *et al.* *Antibiotika v současné lékařské praxi*. Grada: Praha, **1998**.
- ⁶⁶ Dairi, T. Menaquinone biosyntheses in microorganisms. *Methods. Enzymol.* **2012**, *515*, 107–122.
- ⁶⁷ Williams, D. C. *et al.* Cytoplasmic inclusion bodies in *Escherichia coli* producing biosynthetic human insulin proteins. *Science*. **1982**, *215*, 687–689.
- ⁶⁸ Fusek, M. *et al.* *Bioléčiva*. VŠCHT: Praha, **2008**.
- ⁶⁹ Horáček, J. *et al.* *Základy lékařské mikrobiologie*. Nakladatelství Karolinum: Praha, **2000**.
- ⁷⁰ Lautenbach, E. *et al.* Association between Fluoroquinolone Resistance and Mortality in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* Infections: The Role of Inadequate Empirical Antimicrobial Therapy. *Clin. Infect. Dis.* **2003**, *39*, 31 - 37.
- ⁷¹ *Klebsiella* Infections. *Medscape. Drugs, Disease & Procedures*. [online]. © WebMD LLC 1994–2013 [cit. 2013-01-02]. Dostupné z: <http://emedicine.medscape.com/article/219907-overview>
- ⁷² Kolar, M. *et al.* Prevalence of extended-spectrum β -lactamase-positive *Klebsiella pneumoniae* isolates in the Czech Republic. *Int. J. Antimicrob. Agents.* **2006**, *28*, 49–53.
- ⁷³ Summary of the latest data on antibiotic resistance in the European Union. European Centre for Disease Prevention and Control, Stockholm, **2012**. Dostupné z: <http://www.ecdc.europa.eu/en/eaad/documents/eaad-2011-summary-antimicrobial-resistance-data.pdf>

- ⁷⁴ Sidjabat, H. *et al.* Carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* due to the New Delhi Metallo- β -lactamase. *Clin. Infect. Dis.* **2011**, *52*, 481–484.
- ⁷⁵ Kašák, V. Diagnostika a léčba komunitní penumonie v ambulantní praxi. *Vnitř. Lék.* **2004**, *1*, 31–33.
- ⁷⁶ Kolář, M. Antibiotická léčba bakteriálních infekcí u pacientů v intenzivní péči. *Postgrad. Med. (Česká republika)* **2010**, *9*, 1052–1055.
- ⁷⁷ Urbanek, K. *et al.* Influence of third-generation cephalosporin utilization on the occurrence of ESBL-positive *Klebsiella pneumoniae* strains. *J. Clin. Pharm. Ther.* **2007**, *32*, 403–408.
- ⁷⁸ Gill, C. J. *et al.* *In vivo* activity and pharmacokinetic evaluation of a novel long-acting carbapenem antibiotic, MK-826 (L-749,345). *Antimicrob. Agents. Chemother.* **1998**, *42*, 1996–2001.
- ⁷⁹ Jacoby, G. *et al.* Comparative *in vitro* activities of carbapenem L-749,345 and other antimicrobials against multiresistant gram-negative clinical pathogens. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **1997**, *41*, 1830–1831.
- ⁸⁰ Pangon, B. *et al.* *In vivo* selection of a cephamycin-resistant, porin-deficient mutant of *Klebsiella pneumoniae* producing a TEM-3 β -lactamase. *J. Infect. Dis.* **1989**, *159*, 1005–1006.
- ⁸¹ Chen, H. Y.; Livermore, D. M. Activity of cefepime and other β -lactam antibiotics against permeability mutants of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *J. Antimicrob. Chemother.* **1993**, *32*, 63–74.
- ⁸² Bednář, M. *et al.* *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Marvil: Praha, **1996**.
- ⁸³ Koulenti, D.; Rello, J. Gram-negative bacterial pneumonia: aetiology and management. *Curr. Opin. Pulm. Med.* **2006**, *12*, 198–204.
- ⁸⁴ Kayser, F. *et al.* *Color Atlas of Medical Microbiology*. Thieme: New York, **2005**.
- ⁸⁵ Veessenmeyer, J. L. *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* virulence and therapy: evolving translational strategies. *Crit. Care. Med.* **2009**, *37*, 1777–1786.
- ⁸⁶ *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Medscape. Drugs, Disease & Procedures*. [online]. © WebMD LLC 1994 – 2013 [cit. 2013-01-02]. Dostupné z: <http://emedicine.medscape.com/article/226748-overview>
- ⁸⁷ Hauser, A. R.; Sriram, P. Severe *Pseudomonas aeruginosa* infections. Tackling the conundrum of drug resistance. *Postgrad. med.* **2005**, *117*, 41–48.

- ⁸⁸ Černohorská, L.; Sláviková, P. *Pseudomonas aeruginosa*, její rezistence k vybraným antibiotikům a tvorba biofilmu u kmenů izolovaných od pacientů s infekcí močových cest. *Epidemiol. Mikrobiol. Imunol.* **2009**, *58*, 154–157.
- ⁸⁹ Pokorný, A. *et al.* *Tuberkulóza*. Brno, Masarykova univerzita. **1996**, 54.
- ⁹⁰ Votava, M. *et al.* *Lékařská mikrobiologie speciální*. Neptun, Brno, **2003**, 495 s.
- ⁹¹ Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2012. *European Centre for Disease Prevention and Control*. [online]. © ECDC 2005 – 2013 [cit. 2013-01-02]. Dostupné z: http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/Forms/ECDC_DispForm.aspx?ID=841
- ⁹² Global tuberculosis report 2012. *World Health Organisation*. [online]. © WHO 2013 [cit. 2013-01-02]. Dostupné z: http://www.who.int/tb/publications/global_report/gtbr12_main.pdf
- ⁹³ Global tuberculosis report 2012. Global, regional and country-specific data for key indicators. Annex 4. *World Health Organisation*. [online]. © WHO 2013 [cit. 2013-01-02]. Dostupné z: http://www.who.int/tb/publications/global_report/gtbr12_annex4.pdf
- ⁹⁴ Kašák, V. *Naléhavé stavy v pneumologii*. Maxdorf: Praha, 2008.
- ⁹⁵ Horáčková, L. *et al.* *Panoráma biologické a sociokulturní antropologie 15*. Masarykova Univerzita, Nadace Universitas Masarykiana, Brno, 2004.
- ⁹⁶ Klener, P. *et al.* *Vnitřní lékařství*. 3. přeprac. a dopl. vyd. Galén: Praha, 2006.
- ⁹⁷ Smith, I. *Mycobacterium tuberculosis* pathogenesis and molecular determinants of virulence. *Clin. Microbiol. Rev.* **2003**, *16*, 463–495.
- ⁹⁸ George, K. M. *et al.* Partial purification and characterization of biological effects of a lipid toxin produced by *Mycobacterium ulcerans*. *Infect. Immun.* **1998**, *66*, 587–593.
- ⁹⁹ Sereinig, S. *et al.* Influenza virus NS vectors expressing the *Mycobacterium tuberculosis* ESAT-6 protein induce CD4⁺ Th1 immune response and protect animals against tuberculosis challenge. *Clin. Vaccine. Immunol.* **2006**, *13*, 898–904.
- ¹⁰⁰ Zatloukal, P. *et al.* *Vnitřní lékařství díl IIIa: Pneumologie*. Nakladatelství Karolinum: Praha, **2001**.
- ¹⁰¹ Bártů, V. Tuberkulóza: současný stav. *Postgrad. med. (Česká republika)*, **2011**, *6*, 650.
- ¹⁰² Mallick, S. K.; Martin, A. R. Synthesis and antimicrobial evaluation of some 5-(5-nitrofurylidene)rhodanines, 5-(5-nitrofurylidene)thiazolidin-2,4-diones, and their vinylogs. *J. Med. Chem.* **1971**, *14*, 528–532.

- ¹⁰³ Gupta, S. P.; Rani, S. Synthesis and fungitoxicity of some 5-substituted-3-polyphenyl rhodanines. *J. Indian. Chem. Soc.* **1978**, *60*, 483–485.
- ¹⁰⁴ Lakshmi, S. V. Antimicrobial Effects of *O*-nitrobenzylidene rhodanine. *Egypt. J. Microbiol.* **1989**, *24*, 247–250.
- ¹⁰⁵ Vajpai, R. *et al.* A comparative study of synthesis, characterisation and applications of 5-(salicylidene)rhodanine and 5-(2-naphthylidene)rhodanine. *Asian J. Chem.* **1999**, *11*, 411–419.
- ¹⁰⁶ Sortino, M. *et al.* Synthesis and antifungal activity of (Z)-5-arylidenerhodanines. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 484–494.
- ¹⁰⁷ Orchard, M. G. *et al.* Rhodanine-3-acetic acid derivatives as inhibitors of fungal protein mannosyl transferase 1 (PMT1). *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *15*, 3975–3978.
- ¹⁰⁸ Lomme, M., Strahl, S. Protein *O*-mannosylation: Conserved from bacteria to humans. *Glycobiology*, **2009**, *19*, 816–828.
- ¹⁰⁹ Karegoudar, P. *et al.* Synthesis of some novel 2,4-disubstituted thiazoles as possible antimicrobial agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 261–267.
- ¹¹⁰ Amnerkar, N. D.; Bhusari, K. P. Synthesis of some thiazolyl aminobenzothiazole derivatives as potential antibacterial, antifungal and anthelmintic agents. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2011**, *26*, 22–28.
- ¹¹¹ Chimenti, F. *et al.* Synthesis and biological evaluation of novel 2,4-disubstituted-1,3-thiazoles as anti-*Candida* spp. Agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 378–382.
- ¹¹² Vajpai, R. *et al.* Synthesis, characterisation and applications of some new 5-substituted-4-thiazolidinon-2-thioxo azo derivatives. *Asian J. Chem.* **2000**, *1*, 1199–1208.
- ¹¹³ Sim, M. M. *et al.* Benzylidene rhodanines as novel inhibitors of UDP-N-acetylmuramate/L-alanine ligase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 697–699.
- ¹¹⁴ Emanuele, J. J. *et al.* Kinetic and crystallographic studies of *Escherichia coli* UDP-N-acetylmuramate:L-alanine ligase. *Protein Sci.* **1996**, *5*, 2566 - 2574.
- ¹¹⁵ Grant, E. B. *et al.* The synthesis and SAR of rhodanines as novel class C β -lactamase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 2179–2182.
- ¹¹⁶ McOsker, C. C.; Fitzpatrick, P. M. Nitrofurantoin: Mechanism of action and implications for resistance development in common uropathogens. *J. Antimicrob. Chemother.* **1994**, *33*, 23–30.

- ¹¹⁷ Zervosen, A. *et al.* Interactions between penicillin-binding proteins (PBPs) and two novel classes of PBP inhibitors: Arylalkylidene rhodanines and Arylalkylidene iminothiazolidin-4-ones. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **2004**, *48*, 961–966.
- ¹¹⁸ Johnson, S. L. *et al.* Rhodanine Derivatives as Selective Protease Inhibitors Against Bacterial Toxins. *Chem. Biol. Drug. Des.* **2008**, *71*, 131 - 139.
- ¹¹⁹ Pan, B. *et al.* Design, synthesis, and antibiofilm activity of 2-arylimino-3-aryl-thiazolidine-4-ones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 2461–2464.
- ¹²⁰ Pan, B. *et al.* Thiazolidione derivatives as novel antibiofilm agents: Design, synthesis, biological evaluation, and structure-activity relationships. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 819 - 824.
- ¹²¹ Tomašič, T. *et al.* Synthesis and antibacterial activity of 5-ylidenethiazolidin-4-ones and 5-benzylidene-4,6-pyrimidinediones. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 1667–1672.
- ¹²² Chen, Z. H. *et al.* Synthesis of new chalcone derivatives containing a rhodanine-3-acetic acid moiety with potential anti-bacterial activity. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 5739–5743.
- ¹²³ Holla, B. S. *et al.* Synthesis of some new 2,4-disubstituted thiazoles as possible antibacterial and anti-inflammatory agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, *38*, 313–318.
- ¹²⁴ Ma, Y. *et al.* Drug targeting *Mycobacterium tuberculosis* cell wall synthesis: Genetics of dTDP-rhamnose synthetic enzymes and development of a microtiter plate-based screen for inhibitors of conversion of dTDP-glucose to dTDP-rhamnose. *Antimicrob. agents chemother.* **2001**, *45*, 1407–1416.
- ¹²⁵ Babaoglu, M. Novel inhibitors of an emerging target in *Mycobacterium tuberculosis*: Substituted thiazolidinones as inhibitors of dTDP-rhamnose synthesis. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 3227–3230.
- ¹²⁶ Bonde, Ch. G. *et al.* Synthesis and preliminary evaluation of some pyrazine containing thiazolines and thiazolidinones as antimicrobial agents. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 2151–2161.
- ¹²⁷ Eggers, H. J. *et al.* Rhodanine: A selective inhibitor of the multiplication of echovirus 12. *Science* **1970**, *167*, 294–297.
- ¹²⁸ Eggers, H. J. Selective inhibition of uncoating of echovirus 12 by Rhodanine. *Virology* **1977**, *78*, 241–252.
- ¹²⁹ Shih, S. R. *et al.* Selective human enterovirus and rhinovirus inhibitors: An overview of capsid-binding and protease-inhibiting molecules. *Med. Res. Rev.* **2004**, *24*, 449–474.

- ¹³⁰ Sing, W. T. *et al.* Arylalkylidene rhodanine with bulky and hydrophobic functional group as selective HCV NS3 protease inhibitor. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 91–94.
- ¹³¹ Rawal, R. K. *et al.* Non-nucleoside inhibitors of the hepatitis C virus NS5B RNA dependant RNA polymerase: 2-Aryl-3-heteroaryl-1,3-thiazolidin-4-one derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 6110–6114.
- ¹³² Barreca, M. L. *et al.* Anti-HIV agents: Design and discovery of new potent RT inhibitors. *Farmaco* **2003**, *58*, 259–263.
- ¹³³ Rao, A. *et al.* Synthesis of new 2,3-diaryl-1,3-thiazolidin-4-ones as anti-HIV agents. *Farmaco* **2004**, *59*, 33–39.
- ¹³⁴ Balzarini, J. *et al.* Synthesis and anti-HIV studies of 2- and 3-adamantyl-substituted thiazolidin-4-ones. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 303–311.
- ¹³⁵ Ramirez, M. A.; Borja, N. L. Epalrestat: An aldose reductase inhibitor for the treatment of diabetic neuropathy. *Pharmacotherapy* **2008**, *28*, 646–655.
- ¹³⁶ P. Fresneau, P. *et al.* Synthesis, activity, and molecular modeling of new 2,4-Dioxo-5-(naphthylmethylene)-3-thiazolidineacetic acids and 2-thioxo analogues as potent aldose reductase inhibitors. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 4706–4715.
- ¹³⁷ Joop, M. A. Effects of aldose reductase inhibition with tolrestat on diabetic retinopathy in a six months double blind trial. *Doc. Ophthalmol.* **1994**, *87*, 355–365.
- ¹³⁸ Bruno, G. *et al.* Synthesis and aldose reductase inhibitory activity of 5-arylidene-2,4-thiazolidinediones. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 1077–1084.
- ¹³⁹ Jaeschke, H. Troglitazone hepatotoxicity: Are we getting closer to understanding idiosyncratic liver injury?. *Toxicol. Sci.* **2007**, *97*, 1–3.
- ¹⁴⁰ European Medicines Agency recommends suspension of Avandia, Avandamet and Avaglim. [online] *European Medicinal Agency Press Release*, 23 September 2010, EMA/585784/2010. Dostupné z.:
http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Press_release/2010/09/WC500096996.pdf
- ¹⁴¹ Zhang, B. B.; Muller, D. E. New approaches in the treatment of type 2 diabetes. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2000**, *4*, 461–467.
- ¹⁴² Kurogi, H. Three-dimensional quantitative structure-activity relationships (3D-QSAR) of antidiabetic thiazolidinediones. *Drug. Des. Discov.* **1999**, *16*, 109–118.

- ¹⁴³ Charlier, C.; Mishaux, C. Dual inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) and 5-lipoxygenase (5-LOX) as a new strategy to provide safer non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, *38*, 645–659.
- ¹⁴⁴ Silva, A. A. R. *et al.* Antiedematogenic activity of two thiazolidine derivatives: *N*-tryptophyl-5-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzylidene) rhodanine (GS26) and *N*-tryptophyl-5-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzylidene)-2,4-thiazolidinedione (GS28). *Chem. Pharm. Bull.* **2003**, *51*, 1351–1355.
- ¹⁴⁵ Irvine, M. W. *et al.* Rhodanine derivatives as novel inhibitors of PDE4. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 2032–2037.
- ¹⁴⁶ Fuerst, E. P., Norman, M. A. Interaction of herbicides with photosynthetic electron transport. *Weed Sci.* **1991**, *39*, 458 - 464.
- ¹⁴⁷ Draber, W. *et al.* Herbicides in photosynthesis research. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1991**, *30*, 1621–1633.
- ¹⁴⁸ Mazzanti, L. Study on antithyroid substances. VI: Action of methylthiouracil, rhodanine, and intramine on development of young lupine plants. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* **1948**, *24*, 767–769.
- ¹⁴⁹ Takematsu, T. *et al.* Herbicide containing 2-mercapto-4-keto-5-substituted thiazoline derivatives. *JP 47013812*, 6 November 1972.
- ¹⁵⁰ La Croix, E. A. S. Herbicidal compositions of 3-arylrhodanines. *GB 1390550*, 16 April 1975.
- ¹⁵¹ Manning, D. T. *et al.* Effects of chemical treatments upon photosynthetic parameters in soybean seedlings. *Plant Physiol.* **1984**, *76*, 1055–1059.
- ¹⁵² Certi Mazza, M. T. *et al.* Preparation and activity of complexes of transition metals and thiolic heterocyclic ligands. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* **1996**, *72*, 79–86.
- ¹⁵³ Fan, C. *et al.* Exploration of inhibitors for diaminopimelate aminotransferase. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 2141–2151.
- ¹⁵⁴ Muro, C. *et al.* Effect of rhodanine and 2(5*H*)-thiophenone in green algae and liverwort cells. *J. Pest. Sci.* **1997**, *22*, 1–5.
- ¹⁵⁵ Inamori, Y. *et al.* Insecticidal and antifungal activities of aminorhodanine derivatives. *Biosci. Biotech. Biochem.* **1998**, *62*, 1025–1027.
- ¹⁵⁶ Muro, C. *et al.* Inhibitory activities of rhodanine derivatives on plant growth. *Biosci. Biotech. Biochem.* **1996**, *60*, 1368–1371.

- ¹⁵⁷ Inamori, Y. *et al.* Phytogrowth inhibitory activity of sulfur-containing compounds. 1: Inhibitory activities of thiazolidine derivatives on plant growth. *Chem. Pharm. Bull.* **1992**, *40*, 2854–2856.
- ¹⁵⁸ Sato, N.; Matsui, N. Studies on pyrazines. 24: A simple and versatile synthetic method for 3-alkoxy- and 3-aminopyrazinecarbonitriles. *J. Heterocycl. Chem.* **1992**, *29*, 1689–1692.
- ¹⁵⁹ Kučerová-Chlupáčová, M. *et al.* New hydrophobicity constants of substituents in pyrazine rings derived from RP-HPLC study. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2008**, *73*, 1–18.
- ¹⁶⁰ Dlabal, K. *et al.* Synthesis and ¹H and ¹³C NMR spectra of sulfur derivatives of pyrazine derived from amidation product of 2-chloropyrazine and 6-chloro-2-pyrazinecarbonitrile: Tuberculostatic Activity. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1990**, *55*, 2493–2501.
- ¹⁶¹ Dolezal, M. *et al.* Synthesis and antituberculosic activity of some substituted 3-arylamino-5-cyano-2-pyrazinecarboxamides. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1995**, *60*, 1236–1241.
- ¹⁶² Opletalova, V. *et al.* Homolytic acetylation of 2,5-dimethylpyrazine. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1995**, *60*, 1551–1554.
- ¹⁶³ Opletalova, V. *et al.* 5-Alkyl-2-pyrazinecarboxamide, 5-alkyl-2-pyrazinecarbonitriles and 5-alkyl-2-acetylpyrazines as synthetic intermediates for antiinflammatory agents. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1996**, *61*, 1093–1101.
- ¹⁶⁴ Dolezal, M. *et al.* Synthesis and antituberculosic properties of some substituted pyrazinecarbothioamides. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1996**, *61*, 1102–1108.
- ¹⁶⁵ Hartl, J. *et al.* synthesis and antituberculosic activity of 5-alkyl-6-chloro-2-pyrazinecarboxamides and corresponding carbothioamides. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1996**, *61*, 1109–1114.
- ¹⁶⁶ Opletalova, V. *et al.* Homolytic acetylation of 2-pyrazinecarbonitrile. *Folia Pharm. Univ. Carol.* **1999**, *XXIV*, 29–32.
- ¹⁶⁷ Posledníková, M. Chalkony a jejich analogy jako potenciální léčiva IV. Rigorózní práce, Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta, Hradec Králové, 2003.
- ¹⁶⁸ Houminer, Y. *et al.* Substituent-directing effects in the homolytic acylation of pyrazine derivatives. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 640–643.

- ¹⁶⁹ Shimizu *et al.* Processes for preparing nitriles. EP 301540, 01 February 1989.
- ¹⁷⁰ Kushner, S. *et al.* Experimental chemotherapy of tuberculosis. II: The synthesis of pyrazinamides and related compounds. *J. Am. Chem. Soc.*, **1952**, *74*, 3617–3621.
- ¹⁷¹ Karmas, G. *et al.* 2-Bromopyrazines, 2-cyanopyrazines and their derivatives. *J. Am. Chem. Soc.*, 1956, *78*, 2141–2144.
- ¹⁷² Solomons, T. W. G.; Fryhle, C. B. *Organic Chemistry*, 8th Ed. Wiley: Hoboken (NJ) 2004.
- ¹⁷³ Carey, F. A. *On-Line Learning Center for Organic Chemistry* [online]. © McGraw-Hill Education 2013 [cit. 2013-01-02]. Dostupné z: <http://www.mhhe.com/physsci/chemistry/carey5e/Ch20/ch20-3-5-3.html>
- ¹⁷⁴ Opletalova, V.; Domonhedeo, C. Metody přípravy acetypyrazinu. *Chem. Listy* **1999**, *93*, 15–18.
- ¹⁷⁵ Carrona, T.; Gardini, G. P.; Minisci, F. Nucleophilic character of acyl radicals: A new selective type of aromatic acylation. *J. Chem. Soc. D* **1969**, 201.
- ¹⁷⁶ Gardini, G. P.; Minisci, F. Nucleophilic character of acyl radicals: Homolytic acylation of quinoxaline. *J. Chem. Soc. C* **1970**, 929.
- ¹⁷⁷ Caronna, T. *et al.* Nucleophilic character of acyl radicals: Substituent effects on the homolytic acylation of protonated heteroaromatic bases. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1972**, 1477–1481.
- ¹⁷⁸ Caronna, T. *et al.* Homolytic acylation of protonated pyridine and pyrazine derivatives. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **1972**, 2035–2038.
- ¹⁷⁹ Fontana, F. *et al.* Homolytic acylation of protonated pyridines and pyrazines with alpha-keto acids: The problem of monoacylation. *J. Org. Chem.*, **1991**, *56*, 2866–2869.
- ¹⁸⁰ Opletalová V. *et al.*: Oxidace hydroxymethylpyrazinu s využitím ultrazvuku. *Zborník XXIII. konferencie Syntéza a analýza liečiv, Bratislava, 4. – 10. októbra 1994*, 25.
- ¹⁸¹ Jampilek, J. *et al.* Preparation and hydrophobic properties of 5-arylalkylidene rhodanines. In: *Proceedings of the 11th International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry (ECSOC-11) November 1-30, 2007* [CD-ROM ed.] Seijas, J. A., Tato, M. P. V. Eds. MDPI: Basel, 2007.
- ¹⁸² Nowak, T. *et al.* Preparation of 4-(pyrazol-3-ylamino)pyrimidine derivatives for use in the treatment of cancer. WO 2005/040159, 06 May 2005.
- ¹⁸³ Ligiero, C. B. P. *et al.* 2,3,5,6-Tetra(pyrazin-2-yl)pyrazine: a novel bis-bidentate, bis-tridentate chelator. *Tetrahedron Letters*, **2009**, *50*, 4030–4032.

- ¹⁸⁴ Gopalakrishnan, M. *et al.* Novel isoxazoles and methods of use thereof. US 2009/0306096, 10 December 2009
- ¹⁸⁵ Stephen, H. A new synthesis of aldehydes. *J. Chem. Soc., Trans.* **1925**, 1874–1877.
- ¹⁸⁶ Backeberg, O. G. A novel reduction of nitriles to aldehydes. *J. Chem. Soc.* **1962**, 3961–3963.
- ¹⁸⁷ Munoz, J. M. *et al.* Application of flow chemistry to the reduction of nitriles to aldehydes. *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52, 6058–6060.
- ¹⁸⁸ Uno, T. *et al.* Preparation of pyridinealdehydes by catalytic hydrogenation of cyanopyridines. JP 10259180, 29 september 1998.
- ¹⁸⁹ Tyagi, R. *Organic reactions (mechanism with problems)*. Discovery Publishing House: New Delhi 2005.
- ¹⁹⁰ Redemann, C. E. *et al.* *Rhodanine*. In: *Org. Syntheses*, Vol. 27. Shiner, R. L. *et al.* Eds. John Wiley & Sons: New York, 1947.
- ¹⁹¹ Ginak, A. I.; V'yunov, L. A.; Sochillin E. G. Rhodanines salts. *Khim. Geterotsykl. Soedin.* **1971**, 7, 858.
- ¹⁹² Borisova, M. A.; Ginak, A. I.; Sochilin, E. G. Rhodanines in the Mannich reaction. *Zh. Org. Khim.* **1970**, 6, 1738–1744.
- ¹⁹³ Plešek, J.; Zováčová, A. *Preparativní reakce v organické chemii díl V.*, ČSAV: Praha, 1960.
- ¹⁹⁴ Červinka, O. *et al.* *Chemie organických sloučenin 2. díl*. SNTL: Praha, 1987.
- ¹⁹⁵ Knoevenagel, E. Condensation von Malonsäure mit Aromatischen Aldehyden durch Ammoniak und Amine. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1898**, 31, 2596–2619.
- ¹⁹⁶ Kuchař M. *et al.* Vliv některých aromaticko-alifatických kyselin na inhibici denaturace sérového albuminu a stabilizaci membrány erytrocytů: Kvantitativní vztahy mezi strukturou a biologickou aktivitou. *Českoslov. Farm.* **1976**, 35, 105–112.
- ¹⁹⁷ Gränacher *et al.* Über die Verwendung des Rhodanins zu organischen Synthesen I: Furyl-alanin. *Helv. Chim. Acta* **1922**, 5, 610–624.
- ¹⁹⁸ McMurry, J. *et al.* *Organická chemie*. Nakladatelství Vutium: Brno, 2007.
- ¹⁹⁹ Večeřa, M., Panchartek, J. *Laboratorní příručka organické chemie*, SNTL/ALFA: Praha, 1987.
- ²⁰⁰ Hrabálek, A. *et al.*: *Laboratorní cvičení z organické chemie pro farmaceuty*, Nakladatelství Karolinum: Praha, 1999.

- ²⁰¹ Lesyk, R. B., Zimenkovskz, B. S. 4-Thiazolidones: centenarian history, current status and perspectives for modern organic and medicinal chemistry. *Curr. Org. Chem.* **2004**, *8*, 1547–1577.
- ²⁰² Meher, S. S. *et al.* Studies on thiazolidinones. Part XI: Synthesis and fungitoxicities of thiazolidinines, thiohydantoins and their derivatives derived from thiosemicarbazones. *J. Indian Chem. Soc.* **1981**, *58*, 274–276.
- ²⁰³ Hoyein, Z. A. Synthesis of some new heterocyclic systems derived from 2-acetylbenzimidazole. *J. Chem. Tech. Biotech.* **1993**, *57*, 335–341.
- ²⁰⁴ Sagura, J. J.; Unruh, C. C. Light-sensitive rhodanine esters of maleic anhydride copolymers. US 2824087, 18 February 1958.
- ²⁰⁵ Khodair, A. I. A Convenient synthesis of 2-arylidene-5*H*-thiazolo[2,3-*b*]quinazoline-3,5[2*H*]-diones and their benzoquinazoline derivatives. *J. Heterocyclic Chem.* **2002**, *39*, 1153–1160.
- ²⁰⁶ Campaigne, E., Cline, R. E. Preparation and absorption spectra of some β -aryl- α -mercaptoacrylic acids and related disulfides. *J. Org. Chem.* **1956**, *21*, 32 - 38.
- ²⁰⁷ Ravazzoni, C.; Valerio, R. Plant growth substances: Substituted aryl thionictiolic acids and their oxidation and reduction derivatives. *Ann. Chim. (Rome)* **1962**, *52*, 305–312; *Chem. Abstr.* **1962**, *57*, 49288.
- ²⁰⁸ Gaudry, R.; McIvor, R. A. Synthese des acides amines a partir de la rhodanine. *Can. J. Chem.* **1951**, *29*, 427–438.
- ²⁰⁹ Kandeel, K. A. *E,Z*-5-Arylmethylene-4-oxo-2-thioxo-1,3-thiazolidine and 3,3'-dithiobis-2*H*-1-benzopyran-2-one derivatives and their reactions with some amines. *Bull. Pol. Acad. Sci. Chem.* **2001**, *49*, 213–223.
- ²¹⁰ Kandeel, K. A. The behaviour of *E,Z*-5-arylmethylidene-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one and 3-[(2-oxo-2*H*-1-benzopyran-3-yl)dithio]-2*H*-1-benzo-pyran-2-one derivatives towards some amines. *Chem. Pap.* **2004**, *58*, 334–340.
- ²¹¹ Zipser, A. Über Kondensationsprodukte der Rhodaninsäure und verwandter Körper mit Aldehyden. *Monatsh. Chem.* **1902**, *23*, 958-972.
- ²¹² Gasha M. *et al.* Antimicrobial activity of 5-oxothiazolidine-2-thione and rhodanine derivatives. *Yakugaku Zasshi* **1972**, *92*, 490–497.
- ²¹³ Taniyama, H. *et al.* Chemotherapeutics for *Mycobacterium tuberculosis*. XI: Syntheses and antibacterial activity of 4-thiazolidinone derivatives containing α,β -unsaturated ketone group. 1. *Yakugaku Zasshi* **1956**, *76*, 154–157; *Chem. Abstr.* 1956, 50, 73926.

- ²¹⁴ Andreasch, R. Über Aldehydderivate der Rhodanine und ihre Spaltungsprodukte. *Monatsh. Chem.* **1918**, *39*, 419 - 440.
- ²¹⁵ Reaxys [databáze online]. © Elsevier MDL 2013 [cit. 2013-01-20]. Dostupné z URL: <http://www.elsevier.com/online-tools/reaxys>
- ²¹⁶ Fisher, H. E.; Hibbert, H. Studies on lignin and related compounds. LXXXIII: Synthesis of 3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-propanone. *J. Am. Chem. Soc.* **1947**, *69*, 1208–1210.
- ²¹⁷ *SciFinder Scholar 2013* [database online]. © American Chemical Society 2013 [cited 2013-01-20]. Available from: <http://www.cas.org/products/sfacad/index.html>.
- ²¹⁸ Giles, R. G. *et al.* Regiospecific reduction of 5-benzylidene-2,4-thiazolidinediones and 4-oxo-2-thiazolidinethiones using lithium borohydride in pyridine and tetrahydrofuran. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 4531–4537.
- ²¹⁹ Andreasch, R. Substituted rhodanic acids and their aldehyde condensation products. VII. *Monatsh. Chem.* **1908**, *29*, 399–419; *Chem. Abstr.* **1908**, *2*, 14948.
- ²²⁰ Allan, F. J. *et al.* The condensation of rhodanine and derivatives with pyridine and quinoline aldehydes. *Recl. Trav. Chim. Pays Bas* **1961**, *80*, 403–408.
- ²²¹ Tanaouchi, T. *et al.* Rhodanine derivatives, process for their preparation, and aldose reductase inhibitor containing the rhodanine derivatives as active ingredient. *EP 0047109*, 10 March 1982.
- ²²² National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeast: Proposed Standard M 27-P*, National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa, 1992.
- ²²³ Sheehan D. J. *et al.* Antifungal susceptibility testing of yeasts: a brief overview. *Clin. Infect. Dis.* **1993**, *17 (Suppl. 2)*, S494–S500.
- ²²⁴ Jones, R. N.; Barry. A. L. Optimal dilution susceptibility testing conditions, recommendations for MIC interpretation, and quality control guidelines for the ampicillin-sulbactam combination. *J. Clin. Microbiol.* **1987**, *25*, 1920–1925.
- ²²⁵ Hu, Y. *et al.* Sterilizing activities of fluoroquinolones against rifampin-tolerant populations of *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2003**, *47*, 653–657.
- ²²⁶ Lenaerts, A. J. *et al.* Preclinical testing of the nitroimidazopyran PA-824 for activity against *Mycobacterium tuberculosis* in a series of in vitro and in vivo models. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, *49*, 2294–2301.

- ²²⁷ Andreani, A. *et al.* Synthesis and antitubercular activity of imidazo[2,1-*b*]thiazoles. *Eur. J. Med. Chem.* **2001**, *36*, 743–746.
- ²²⁸ Ates, O. *et al.* Synthesis and antimicrobial activity of 4-carbethoxymethyl-2-[(alpha-haloacyl)amino] thiazoles and 5-nonsubstituted/substituted 2-[(4-carbethoxymethylthiazol-2-yl)imino]-4-thiazolidinones. *Arzneimittelforschung* **2000**, *50*, 569–575.
- ²²⁹ Dolezal, M. *et al.* Substituted amides of pyrazine-2-carboxylic acids, their synthesis and biological activity. *Molecules* **2002**, *7*, 363–373.
- ²³⁰ Dolezal, M. *et al.* Substituted 5-arylpyrazine-2-carboxylic acid derivatives: synthesis and biological activity. *Farmaco* **2003**, *58*, 1105–1111.
- ²³¹ Dolezal, M. *et al.* Substituted pyrazinecarboxamides: Synthesis and biological evaluation. *Molecules* **2006**, *11*, 242–256.
- ²³² Collins, L. A., Franzblau, S. G. Microplate Alamar Blue Assay versus BACTEC 460 System for High-Throughput Screening of Compounds against *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1997**, *41*, 1004–1009.
- ²³³ Kralova, K. *et al.* Inhibition of photosynthesis in *Chlorella vulgaris* by Cu(II) complexes with biologically active ligands. *J. Trace Microprobe Techn.* **1998**, *16*, 491–500.
- ²³⁴ Wellburn, A. R. The spectral determination of chlorophyll-A and chlorophyll-B, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J. Plant. Physiol.* **1994**, *144*, 307 - 313.
- ²³⁵ Walker, D. A. In *Methods in Enzymology* Part C; Colowick, S.P.; Kaplan, N.O. Ed.; Academic Press: New York, 1980; Vol. 69, 94 - 104.
- ²³⁶ Kralova, K. *et al.* Photosynthesis inhibition produced by 2-alkylthio-6-R-benzothiazoles. *Chem. Pap.* **1992**, *46*, 348 – 350.
- ²³⁷ Opletalová, V. *et al.* Antifungal effects of (5*Z*)-5-arylmethylidenerhodanines with a special view to the members of Mucorales. *Folia. Pharm. Univ. Carol.* **2012**, *XLII*, in press
- ²³⁸ Opletalová, V. *et al.* Synthesis and Characterization of (Z)-5-arylmethylidenerhodanines with photosynthesis-inhibiting properties. *Molecules* **2011**, *16*, 5207-5227. Dostupné z: DOI 10.3390/molecules16065207
- ²³⁹ Doležel, J. *et al.* Rhodanineacetic acid derivatives as potential drugs: Preparation, hydrophobic properties and antifungal activity of (5-arylalkylidene-4-oxo-2-thioxo-1,3-

- thiazolidin-3-yl)acetic acids. *Molecules* **2009**, *14*, 4197 – 4212. Dostupné z: DOI 10.3390/molecules14104197
- ²⁴⁰ Wasylnka, J. A. *et al.* Intracellular and extracellular growth of *Aspergillus fumigatus*. *Medical Mycology*. **2005**, *43*, 27 - 30.
- ²⁴¹ Taramelli, D. *et al.* Effects of Iron on Extracellular and Intracellular Growth of *Penicillium marneffei*. *Infect. Immun.* **2000**, *68* (3), 1724 - 1726.
- ²⁴² Weinberg, D. E., Weinberg, G. A. The role of iron in infection. *Curr. Opin. Infect.* **1995**, *8*, 164- 169.
- ²⁴³ Spingarn, N. E. *et al.* Mechanism of Binding of Iron to Potential Therapeutic Chelating Agents. *Int. J. Quant. Chem.*, **1980**, *18*, 493 - 500.
- ²⁴⁴ Opletalová, V. *et al.* Identification and characterization of thiosemicarbazones with antifungal and antitumor effects: Cellular iron chelation mediating cytotoxic activity. *Chem. Res. Toxicol.* **2008**, *21*, 1878–1889.
- ²⁴⁵ Opletalová, V.; Doležel, J. Thiosemicarbazones and their antimycobacterial effects. *Česk. Slov. Farm.* **2013**, *62*, in press
- ²⁴⁶ Ohishi, Y. *et al.* Preparations of 5-alkylmethylidene-3-carboxymethylrhodanine derivatives and their aldose reductase inhibitory activity. *Chem. Pharm. Bull.* **1990**, *38*, 1911 - 1919.
- ²⁴⁷ Whittessit, C. A. *et al.* Synthesis and structure-activity relationships of benzophenones as inhibitors of cathepsin D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 2157 - 2162.
- ²⁴⁸ Russel, A. J. *et al.* Selective small molecule inhibitors of the potential breast cancer marker, human arylamine N-acetyltransferase 1, and its murine homologue, mouse arylamine N-acetyltransferase 2. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 905 - 918.
- ²⁴⁹ Ryabukhin, S. V. *et al.* Combinatorial Knoevenagel reactions. *J. Comb. Chem.* **2007**, *9*, 1073 - 1078.
- ²⁵⁰ Zhou, J. F. *et al.* Facile synthesis of 5-benzylidene rhodanine derivatives under microwave irradiation. *Synthetic Commun.* **2006**, *36*, 3297 - 3303.
- ²⁵¹ Opletalová, V. *et al.* Thiosemicarbazones of acetylpyrazines as potential drugs. Book of Abstracts of the 11th Blue Danube Symposium on Heterocyclic Chemistry, Brno, August 28-September 1, 2005, PO-70.
- ²⁵² Temperini, M. L. A. *et al.* Spectroscopic study of the isomerization of *Z*- to *E*-pyridine-formyl thiosemicarbazone. *Spectrochimica Acta Part A* **1995**, *51*, 1517 - 1524.