

Univerzita Karlova
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra anorganické a organické chemie

Studie antimykobakteriálně aktivních látek obsahujících nitro skupinu

Bakalářská práce

Autor: Jana Dvořáková

Vedoucí práce: doc. RNDr. Věra Klimešová, CSc.

Hradec Králové 2017

Prohlášení

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

V Hradci Králové

.....

Jana Dvořáková

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala doc. RNDr. Věře Klimešové, CSc. za vedení bakalářské práce – za její ochotu a poskytnutí cenných rad a postřehů.

Obsah

1 Úvod.....	5
2 Původce tuberkulózy.....	6
3 Terapie tuberkulózy	8
3.1 Historie vývoje způsobu léčby.....	8
3.2 Současné metody léčby.....	9
3.2.1 Přehled a vlastnosti antituberkulotik.....	10
3.2.2 Typy rezistence	16
4 Cíl práce.....	17
5 Studie antimykobakteriálně aktivních látek obsahujících nitro skupinu	18
5.1 Chemická charakteristika nitro skupiny.....	18
5.2 Přehled sloučenin obsahujících ve své molekule nitro skupinu s antimykobakteriální aktivitou.....	18
5.2.1 Benzylsulfanyl deriváty benzazolů	18
5.2.2 Deriváty tetrazolu a oxa/thiadiazolu	19
5.2.3 Nitroimidazoly	20
5.2.4 Benzothiazinony.....	22
5.2.5 Dinitrobenzamidy.....	23
5.2.6 Deriváty semikarbazonu	24
5.2.7 Deriváty pyrimidinu.....	25
5.2.8 Deriváty chinolinu a chinolonů.....	25
5.2.9 Deriváty pyrazolu.....	28
5.2.10 Deriváty triazolu	29
5.2.11 Deriváty pyridinu	29
5.2.12 Deriváty kyseliny salicylové.....	29
5.2.13 Deriváty thiazolu.....	30
5.2.14 Deriváty benzimidazolu	31

5.2.15 Deriváty benzothiazolo[3,2-a]naftyridinu.....	31
6 Závěr	33
7 Literatura	34

1 Úvod

Tuberkulóza (dále TBC) je bakteriální onemocnění, které je jedním z deseti nejčastějších příčin úmrtí na celém světě. V roce 2015 bylo celosvětově nahlášeno 10,4 milionů případů onemocnění TBC, z toho 5,9 milionů bylo mužů, 3,5 milionů nakažených žen a 1,0 milion nakažených dětí. Lidé nakaženi virem HIV tvoří až 1,2 milionů (tj. 11 %) nových případů nákazy. Nejvíce nových případů (60 %) nákazy TBC se vyskytuje v Indii, Indonésii, Číně, Nigérii, Pakistánu a Jižní Africe.¹

Úmrtí na tuberkulózu jsou až z 95 % zaznamenána v zemích s nízkým hrubým domácím produktem, jako například v Asii nebo Africe. K rozvoji nemoci přispívá nízká životní a sociální úroveň. Celkový počet úmrtí v důsledku TBC za rok 2015 je 1,4 milionů. Závažným faktorem při rozvoji tuberkulózy je infekce HIV virem - u HIV pozitivních jedinců je TBC jednou z hlavních příčin smrti (hlavně v oblasti Jižní Afriky). Až 35 % HIV pozitivních umírá na TBC.¹

Dalším závažným problémem je vývoj rezistencí na současná antituberkulotika. V roce 2015 bylo zaznamenáno zhruba 480 000 jedinců s vyvinutou multirezistentní tuberkulózou (MDR-TB), z čehož 9,5 % byla extenzivně rezistentní tuberkulóza (XDR-TB). Počet infekcí MDR-TB a XDR-TB stále narůstá.²

Z uvedených faktů je zřejmé, že vývoj nových nových antituberkulotik je stále velmi aktuálním tématem.

2 Původce tuberkulózy

Tuberkulóza je zánětlivé onemocnění postihující především plíce, může však postihnout i jiný orgán. Původcem tuberkulózy jsou obligátně patogenní mykobakterie – grampozitivní tyčinky patřící do komplexu *Mycobacterium tuberculosis*. Mykobakterie z tohoto komplexu vykazují vysokou podobnost genomu, identické sekvence rRNA, avšak odlišuje je různá preference hostitelů. K zástupcům komplexu řadíme *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium anetti* a *Mycobacterium pinnipedii*. Nejčastější je, vzhledem k našim podmínkám, onemocnění *Mycobacterium tuberculosis*.³

Rozlišujeme plicní (PTB) a mimoplicní (EPTB) tuberkulózu, přičemž u obou forem jsou doporučené obdobné léčebné režimy. V případě plicní tuberkulózy je postižen plicní parenchym, naopak u mimoplicní tuberkulózy zaznamenáváme postižení jiných orgánů – lymfatických uzlin, břicha, kůže, kloubů a kostí či pleury.

Zdrojem nákazy je ve většině případů nemocný člověk, přičemž se nákaza přenáší inhalační cestou - nejčastěji prostřednictvím kašle, méně často kýcháním nebo mluvením. Inkubační doba je 4 týdny – 2 roky po skončení expozice. Další riziko nákazy existuje prostřednictvím přímého kontaktu, a to jak s infikovanými předměty, tak přímo s infekčními sekrety pacientů. Méně častá je tzv. profesionální nákaza u osob, které pracují s infekčním materiálem (chirurg, patolog).^{4,5}

Prevalence infekce *M. tuberculosis* závisí na demografických a socioekonomických aspektech, stejně tak jako na intenzitě a způsobu kontaktu s infikovanou osobou. Větší riziko nákazy existuje především pro osoby nakažené HIV virem, osoby trpící malnutricí, diabetem nebo například silikózou.

Rozlišujeme několik typů infekce. Primární TBC vzniká po prvním kontaktu hostitele s mykobakteriemi. Vzniká převážně u dětí a typickým projevem je vznik nodózního erythrému na kůži. Postprimární TBC probíhá chronicky nebo akutně, postihuje plíce a vzniká u pacientů, kteří jsou již infikováni. Mezi typické příznaky patří únava, nechutenství, hubnutí, noční pocení a pokašlávání. Následně se začne projevovat také produktivní kašel a hemoptýza. Miliární TBC často vzniká u pacientů se sníženou obranyschopností a je charakterizovaná rychlým chátráním s febriliemi. Mykobakte-

rie mají též schopnost být v klidovém stádiu – latentní forma. Pacienti s latentní formou tuberkulózy nevykazují příznaky onemocnění. Rizikem u nich je přechod onemocnění do aktivní formy.⁴

3 Terapie tuberkulózy

3.1 Historie vývoje způsobu léčby

První zmínky o tuberkulóze nacházíme již v období mladší doby kamenné – neolitu. Další zmínky o „phthisis“ (řecký termín pro TBC) pocházejí z Babylonu. Dále o „phthisis“ najdeme záznamy v židovském Starém zákoně.

V roce 1671 byla plicní tuberkulóza definovaná ve svazku učebnice patologie *Praxeos medica idea nova*. Zde byl popsán typický makroskopický obraz tuberkulózy plic. Další popsání anatomického obrazu tuberkulózy provedl patolog Rudolf Ludwig Karl Virchow.

Zlomem v diagnostice TBC se stal objev R. Kocha, jenž v květnu 1882 určil jako původce tuberkulózy *Mycobacterium tuberculosis*.⁶

Zlomovým bodem v terapii TBC byl objev streptomycinu (viz dále). Před jeho objevením byl v terapii široce používán aurothiosulfát sodný. Dále bylo zkoumáno velké množství sulfonů, které vykazovaly aktivitu na pokusných zvířatech, avšak nikdy nebyly široce využívány v léčbě. Základem léčby pacientů v sanatoriu byl tedy klid na lůžku a provádění operativních zákroků - thorakoplastika (operace hrudníku) a arteficiální pneumothorax (injekce vzduchu do pleurální dutiny).⁷

Prvním prokazatelně účinným prostředkem v terapii TBC byl streptomycin. Streptomycin byl objeven v říjnu 1943, a to konkrétně v laboratořích mikrobiologa Selmana Abrahama Waksmana (americký mikrobiolog). Následovala izolace paraaminosalicylové kyseliny v roce 1943 Jorgemem Lehmanem, švédským fyzikem a chemikem. S odstupem času, v roce 1912 byl objeven isoniazid, dvojicí chemiků – Hansem Meyerem a Josefem Mallym. Antimykobakteriální účinky isoniazidu byly však objeveny až v roce 1946, a to hned nezávisle na sobě třemi vědci: Domagkem, Bernsteinem a Grunbergem. V kombinaci se streptomycinem byl isoniazid využíván v terapii tuberkulózy od roku 1952.

Kombinace doposud objevených antituberkulotik, tj. kyselina paraaminosalicylová, streptomycin a isoniazid představovala skutečný zlom v dosavadní léčbě a také zásadní snížení úmrtnosti na TBC.

Kyselina paraaminosalicylová (PAS) vykazovala velkou intoleranci u pacientů, proto se hledaly nové látky vykazující antimykobakteriální aktivitu. Roku 1961 následoval objev ethambutolu (první použití v roce 1967), který vykazoval lepší toleranci u pacientů, a z toho důvodu eliminoval dosavadní používání PAS. Navíc se zavedením ethambutolu také výrazně zkrátila doba léčby.

Dalším objevem bylo v roce 1954 prokázání antituberkulózní aktivity u pyrazinamidu. V roce 1973 byl objeven rifampicin. Od tohoto objevu je doporučováno podávání kombinace alespoň čtyř látek: izoniazidu, rifampicinu, ethambutolu a pyrazinamidu.⁶

3.2 Současné metody léčby

Terapie tuberkulózy je postavena na podávání antituberkulotik (dále AT). Antituberkulotika jsou podávána v závislosti na různých vlastnostech populací mykobakterií, přičemž minimální doba léčby je ustanovená na 6 měsíců. Celá léčba zahrnuje několik fází. Fáze iniciální – podává se čtyřkombinace antituberkulotik, trvá nejméně 2 měsíce. Následuje fáze pokračovací, kdy se podává dvojkombinace antituberkulotik, trvá 4 měsíce. AT jsou podávána denně, jsou možné i výjimky u HIV negativních pacientů – podávání AT třikrát týdně u nových pacientů v pokračovací fázi, pod přímou kontrolou ošetřujícího personálu.

Standardizované režimy	Iniciální fáze	Pokračovací fáze
Noví TB pacienti	2 měsíce HRZE	4 měsíce HR
Noví TB pacienti (z oblastí s vysokým výskytem rezistence na izoniazid)	2 měsíce HRZE	4 měsíce HRE
Dříve léčení TB pacienti	2 měsíce HRZES/1 měsíc HRZE	5 měsíců HRE

H – izoniazid, R – rifampicin, Z – pyrazinamid, S-streptomycin, E-ethambutol; u TB meningitidy se používá streptomycin místo ethambutolu

Tabulka 1 – Standardizované léčebné režimy (Zdroj – upraveno z Pneumologie, Kolek Vítězslav, Kašák Viktor, Vašáková Martina a kol., 2011, s. 222.)

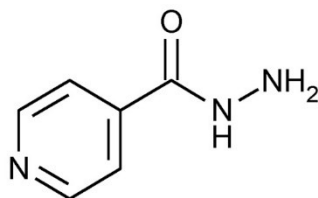
Léčba je standardizovaná a probíhá režimově, to znamená, že pacienti příslušící dané definované skupině nemocných podstupují terapii ve stejném léčebném režimu. Vzhledem k faktu, že tuberkulóza podléhá povinnému hlášení, lze rozlišit dvě kategorie pacientů – nově hlášené a dříve léčené. Léčba se potom odvíjí od

příslušnosti k dané kategorii. Zásadní rozdíl je v tom, že u již dříve léčených pacientů lze předpokládat lékovou rezistenci (viz kapitola 3.2.2.).⁴

3.2.1 Přehled a vlastnosti antituberkulotik

V následující kapitole bude popisováno několik základních antituberkulotik používaných v terapii tuberkulózy. Jedná se o antituberkulotika první řady - izoniazid, rifampicin, ethambutol, pyrazinamid a antituberkulotika tzv. druhé řady – streptomycin, ethionamid, kapreomycin, cykloserin, kyselina aminosalicyllová, kanamycin a amikacin, ciprofloxacin a levofloxacin, rifabutin, rifapentin a klofazimin. Antituberkulotika druhé řady se používají při rezistenci vůči látkám z řady první, při neúspěšné terapii nebo pokud by v případě toxických projevů bylo možno nemocnému poskytnout odbornou pomoc. Problémem u těchto alternativních AT je, že zatím nebyla stanovena míra dlouhodobé toxicity, definitivní dávkování a vznik rezistence.

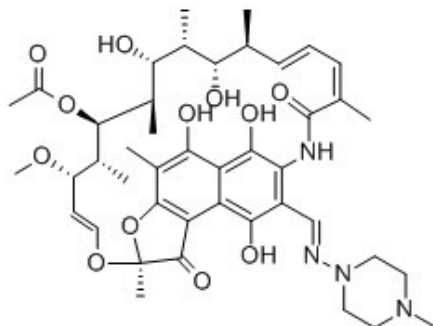
Isoniazid (hydrazid kyseliny isonikotinové) (I) je jednoduchá molekula. Jedná se o látku, která je v terapii tuberkulózy, za předpokladu vnímavých kmenů, nejúčinnější. Isoniazid inhibuje většinu mykobakterií v koncentraci 0,2 µg/ml in vitro, přičemž vykazuje baktericidní vlastnosti na rostoucí bacily a podává se většinou perorálně v kombinaci s dalším antituberkulotikem. Užití izoniazidu jako monoterapeutika je možno v případě prevence aktivní tuberkulózy u osob již infikovaných či u osob, které jsou v kontaktu s nemocnými, u nichž probíhá aktivní onemocnění. Nejčastější nežádoucí účinky jsou hepatotoxicita, alergie nebo periferní neuritida.⁸



I

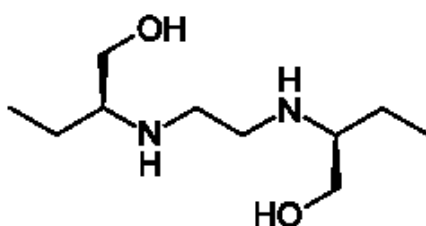
Rifampicin - semisyntetický derivát rifamycinu (II) je baktericidní antibiotikum o velké molekulové hmotnosti, které má in vitro účinky proti mykobakteriím, chlamydiím, grampozitivním i gramnegativním kokům. V každé mikrobiální populaci pozorujeme výskyt rezistentních mutantů vůči rifampicinu s frekvencí asi 1:10⁶. Pro eliminaci vývoje rezistentních mykobakterií se v terapii podává nejčastěji

s izoniazidem a ethambutolem. Rifampicin se také používá k profylaxi u lidí, kteří byli v kontaktu s TBC pacienty a pro které není vhodné užívání izoniazidu. Nejčastější vedlejší účinky rifampicinu jsou alergie, hepatitidy, trombocytopenie s purpurou nebo potíže se zažíváním.⁸



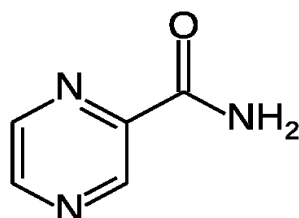
II

Ethambutol (III) patří mezi syntetické látky. In vitro působí inhibičně na kmeny mykobakterií již v koncentraci 1 - 5 $\mu\text{g/ml}$. Ethambutol se užívá v kombinaci s jiným antituberkulotikem, aby se předešlo vzniku rezistence. Mezi nežádoucí účinky ethambutolu patří porucha barvocitu nebo vznik retrobulbární neuritidy.⁸



III

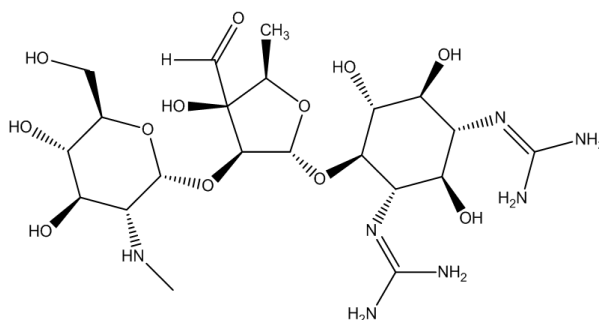
Pyrazinamid (IV) má baktericidní účinky na intracelulárně fagocytované mykobakterie. Účinky vykazuje in vitro při pH 5,5 v koncentraci 20 $\mu\text{g/ml}$. Nežádoucí účinky pyrazinamidu jsou hyperurikemie, hepatotoxicita a ovlivnění tubulární sekrece kyseliny močové.^{4, 8}



IV

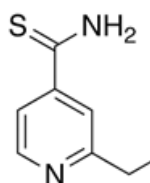
Streptomycin (V) je baktericidní látka působící na mykobakterie, které se nacházejí extracelulárně. Jedná se o látku, která prochází přes hematoencefalickou bariéru,

v CNS je tedy schopna dosáhnout terapeutické koncentrace. In vitro vykazuje inhibici mykobakterií v koncentraci 1-10 $\mu\text{g/ml}$. Podává se opět v kombinaci s jiným AT, jako prevence vzniku rezistence. Vedlejší účinky streptomycinu jsou nefrotoxicita, ototoxicita, poruchy barvocitu a vidění, ztráta sluchu, alergické (kožní) reakce.⁸



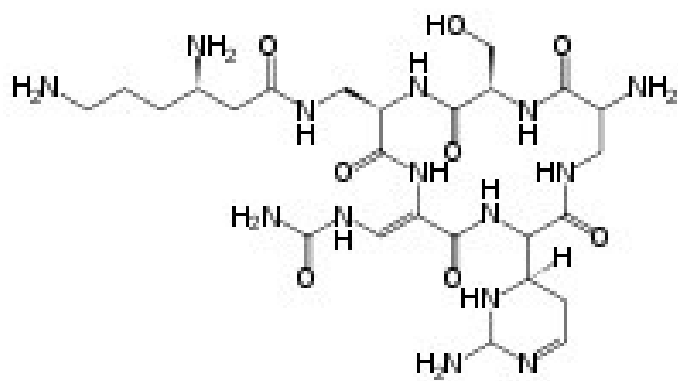
V

Ethionamid (VI) je antituberkulotikum druhé řady. In vitro dochází k inhibici mykobakterií v koncentraci 2,5 $\mu\text{g/ml}$. Je obvykle špatně snášen – intenzivně dráždí žaludek, vyvolává neurologické příznaky a je hepatotoxický. Při monoterapii se rychle vyvíjí rezistence. Existuje také možnost vývoje zkřížené rezistence mezi ethionamidem a izoniazidem.⁸



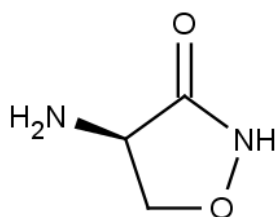
VI

Kapreomycin (VII) je velmi významný v léčbě rezistentní tuberkulózy. Jedná se o peptidové antibiotikum působící v koncentraci 10 $\mu\text{g/ml}$ (in vitro) inhibičně i na tuberkulózní kmeny s mnohočetnou rezistencí. Tuberkulózní kmeny rezistentní na léčbu amikacinem či streptomycinem vykazují většinou citlivost vůči kapreomycinu. Při užívání kapreomycinu se objevují hluchota, tinnitus a vestibulární poruchy. Kapreomycin je také nefrotoxický.⁸



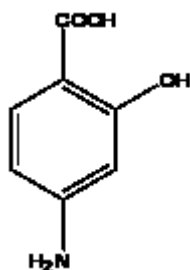
VII

Cykloserin (VIII) je antituberkulotikum inhibující kmeny *M. tuberculosis* v koncentracích 15-20 $\mu\text{g/ml}$. Cykloserin má značné toxické účinky, mezi které patří neuropatie, dysfunkce centrálního nervového systému, deprese či psychotické reakce. Z důvodu snížení toxicity tohoto AT se současně s ním podává pyridoxin.⁸



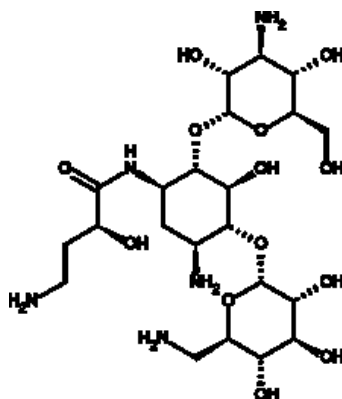
VIII

Aminosalicilová kyselina (PAS) (IX) in vitro inhibuje mykobakterie v koncentraci 1-5 $\mu\text{g/ml}$. V minulosti patřila k antituberkulotikům první řady, v současnosti se používá výjimečně díky běžně se vyskytující primární rezistenci. Užívání PAS vždy provází gastrointestinální potíže – nauzea, průjem, anorexie, pálení žáhy. Po delší době terapií PAS se objevují vyrážky, bolesti kloubů, hepatosplenomegálie, či hepatitida.⁸



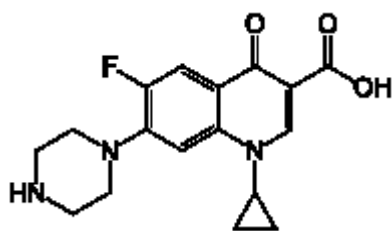
IX

Amikacin (X) inhibuje in vitro kmeny mykobakterií v koncentracích 1 $\mu\text{g/ml}$ i nižších. Amikacin je významný díky tomu, že působí na atypické mykobakterie či na mykobakterie s mnohonásobnou rezistencí. Při rezistenci na amikacin se dá předpokládat i rezistence na kanamycin.⁸

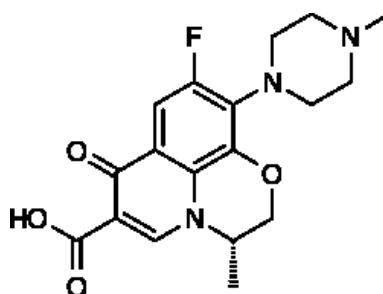


X

Ciprofloxacin (XI) a levofloxacin (XII), patří do skupiny fluorochinolonů a jsou účinné zejména proti grampozitivním i gramnegativním bakteriím, vykazují však i inhibiční vlastnosti na kmeny *M. tuberculosis* v koncentracích pod 2 $\mu\text{g/ml}$. Rovněž působí na atypické kmeny mykobakterií.⁸

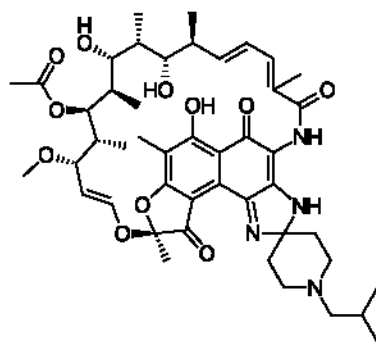


XI



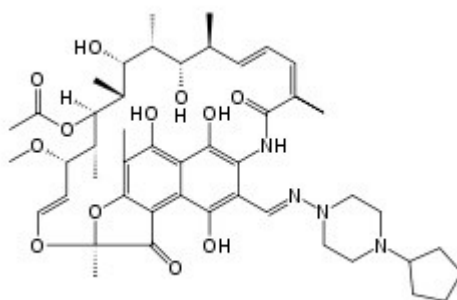
XII

Rifabutin (XIII), podobný rifampicinu, je antibiotikum vysoce účinné proti *M. tuberculosis*. Jeho působení je obdobné jako u rifampicinu a vyskytuje se tedy úplná zkřížená rezistence s rifampicinem. Využití rifabutinu je nejčastěji jako preventivní terapie tuberkulózy nebo prevence, případně terapie disemitované atypické mykobakteriální infekce u pacientů s AIDS.⁸



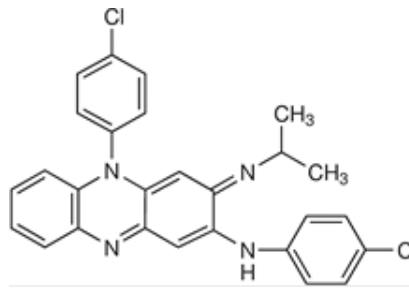
XIII

Rifapentin (XIV) je léčivo analogické k rifampicinu, má podobné toxické účinky a je indikován k léčbě tuberkulózy, která je vyvolaná kmeny mykobakterií citlivých na rifampicin. Zatím nebylo definováno, zda má rifapentin stejnou účinnost jako rifampicin. Lékem volby v terapii v tomto případě tedy zůstává rifampicin.⁸



XIV

Klofazimin (XV) je léčivo, vykazující in vitro účinnost vůči mykobakteriím – *M. leprae* i *M. tuberculosis*. Někdy bývá lékem poslední volby při terapii mnohonásobně rezistentní tuberkulózy. Do současné doby však není přesně stanovená jeho účinnost.⁸



XV

3.2.2 Typy rezistence

Problémem u všech antituberkulotik výše charakterizovaných je vývoj rezistence na tato AT při monoterapii, proto je vždy podávána kombinace antituberkulotik.

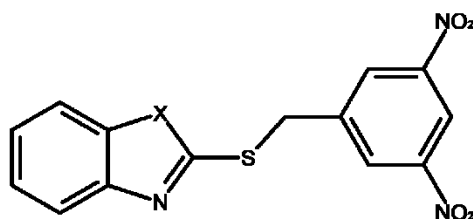
Rezistence mykobakterií lze rozdělit do několika definovaných kategorií. První kategorií jsou multirezistentní mykobakterie (MDR-TB), kdy jsou mykobakterie rezistentní na isoniazid a rifampicin (nejúčinnější AT).

Termín rozšířená rezistence (XDR-TB) popisuje rezistenci vůči isoniazidu, rifampicinu, fluorochinolonům (ciprofloxacin, levofloxacin) a jednomu ze skupiny injekčně podávaných antituberkulotik (kanamycin, amikacin, kapreomycin). Posledním typem rezistence je úplná rezistence (TDR- TB), která představuje rezistenci na všechna dostupná antituberkulotika.²

4 Cíl práce

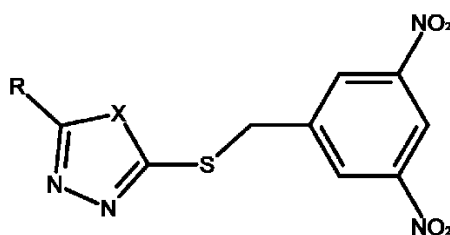
Cílem této bakalářské práce je vypracování rešerše antimykobakteriálně účinných látek, které obsahují nitro skupinu.

Na katedře anorganické a organické chemie Farmaceutické fakulty v Hradci Králové řadu let probíhá výzkum antituberkulotik. V rámci velkých knihoven nasynthetizovaných látek byla zjištěna signifikantní aktivita u nitro sloučenin. Látky vykazovaly v testech in vitro aktivitu vůči citlivým i rezistentním kmenům *M. tuberculosis*. Z původních dinitrobenzylsulfanyl derivátů benzazolů (benzimidazolu, benzothiazolu a benzoxazolu)⁹⁻¹³ (XVI) s MIC vůči *M. tuberculosis* 2 - 8 μM , byly odvozeny dinitrobenzyl deriváty tetrazolu a oxa/thiazolu (XVII) s vystupňovanou antituberkulózní aktivitou s hodnotami MIC 0,03 – 1 μM .¹⁴⁻¹⁷



XVI

X = NH, O, S



XVII

R = alkyl, aryl

X = O, S

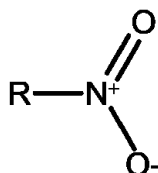
5 Studie antimykobakteriálně aktivních látek obsahujících nitro skupinu

5.1 Chemická charakteristika nitro skupiny

Dusíkaté látky jsou obecně velmi významnou skupinou jedů.

Nitro skupina (XVIII) není běžným substituentem v léčivech, a to z důvodu své potenciální genotoxicity. Přesto lze najít některá léčiva, která nitro skupinu obsahují. Příkladem je chloramfenikol, nifedipin a vazodilatačně aktivní ester kyseliny dusičné – nitroglycerin.

V současnosti se nitro skupina velmi často objevuje ve výzkumu látek s antimykobakteriální aktivitou.

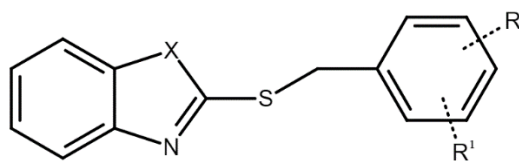


XVIII

5.2 Přehled sloučenin obsahujících ve své molekule nitro skupinu s antimykobakteriální aktivitou

5.2.1 Benzylsulfanyl deriváty benzazolů

V průběhu několika let byly zkoumány 2-benzylsulfanyl deriváty benzazolů (benzoxazolu, benzothiazolu, benzimidazolu) (XIX) a hodnoceny pro svoji in vitro aktivitu vůči *M. tuberculosis* (My 331/88), MDR rezistentním kmenům *M. tuberculosis* a dalším netuberkulózním mykobakteriím – *M. avium* a *M. kansasii*. Látky vykazovaly stejnou aktivitu vůči citlivému kmeni *M. tuberculosis*, tak i rezistentním kmenům. Největší aktivitu ze všech nasyntetizovaných látek vykazovaly deriváty, obsahující dvě nitro skupiny – konkrétně 3,5-dinitrobenzylsulfanyl deriváty. Antimykobakteriální aktivita této skupiny látek se tak jeví svázána s přítomností nitro skupiny v molekule. Hodnota MIC dosažená u derivátu benzoxazolu a benzothiazolu byla 1 - 2 $\mu\text{mol/l}$, což je hodnota velmi nadějná v porovnání se standardním antituberkulotikem izoniazidem (MIC = 0,5 - 1 $\mu\text{mol/l}$). Hodnota MIC u derivátů benzimidazolu byla 4 $\mu\text{mol/l}$.⁹⁻¹³



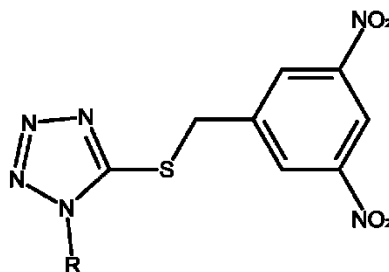
XIX

X = NH, O, S

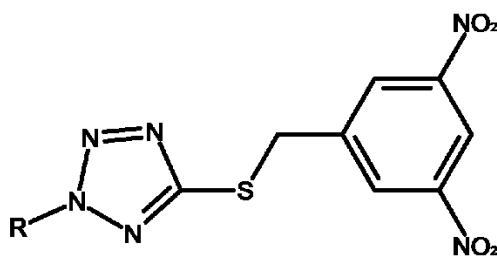
R, R¹ = Cl, F, Br, CH₃, OCH₃, NO₂, CF₃, CN, CSNH₂

5.2.2 Deriváty tetrazolu a oxa/thiadiazolu

Na základě slibných výsledků u derivátů benzazolů byla nasyntetizovaná série 1-substituovaných-5-(3,5-dinitrobenzylsulfanyl)tetrazolů (XX) a 2-substituovaných-5-(3,5-dinitrobenzylsulfanyl)tetrazolů (XXI). Zkoumána byla jejich in vitro aktivita vůči *M. tuberculosis* a multirezistentním kmenům *M. tuberculosis*. Vůči kmenům *M. tuberculosis* (My 331/88) byla dosažena hodnota MIC 1 μM a vůči MDR kmenům byly hodnoty v rozmezí 0,25 – 1 μM.^{14, 16, 17}



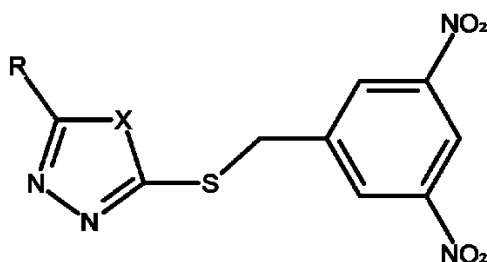
XX



XXI

R = alkyl, aryl

Podstatně lepší aktivitu vykazovaly 3,5-dinitrobenzylsulfanyl-1,3,4-oxadiazoly a 3,5-dinitrobenzylsulfanyl-1,3,4-thiadiazoly (XXII). Nejvýznamnější hodnoty MIC u derivátů oxadiazolů byly v rozmezí 0,03 – 0,06 μM . Tyto hodnoty jsou velice slibné v porovnání s izoniazidem (MIC = 0,5 μM). U thiadiazolů se hodnota MIC pohybovala v rozmezí 0,03 – 0,125 μM . Z těchto derivátů byly vybrané sloučeniny testovány vůči šesti kmenům MDR rezistentním *M. tuberculosis*, přičemž byla dosažena MIC = 0,03 – 0,5 μM .^{15, 18}



XXII

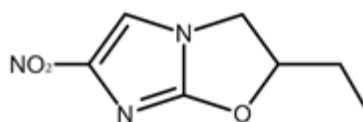
X = O, S

R = alkyl, aryl

5.2.3 Nitroimidazoly

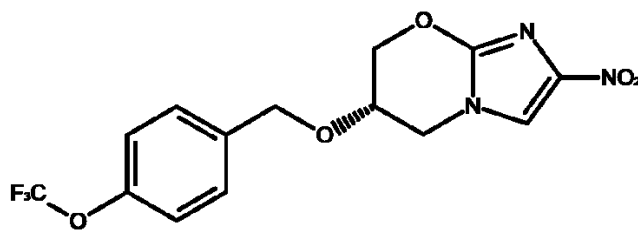
Látky patřící do skupiny nitroimidazolů jsou využívány primárně pro léčbu infekcí, které způsobují protozoa a anaerobní bakterie. Prokázána byla jejich antituberkulózní aktivita – nitroimidazoly tedy představují velmi nadějnou skupinu nových antituberkulotik.¹⁹

Nejvýznamnějším zástupcem ze skupiny nitroimidazolů je metroimidazol – látka využívaná pro léčbu anaerobních infekcí. Byla zjištěna účinnost metroimidazolů vůči *M. tuberculosis* za anaerobních podmínek, v aerobním prostředí však neúčinkuje, proto není využíván v terapii. Sloučenina odvozená od metroimidazolu - 2-ethyl-6-nitro-2,3-dihydroimidazo[2,1-b]oxazol (CGI-17341) (XXIII) má velmi dobré účinky vůči *M. tuberculosis*, s hodnotou MIC in vitro 0,1 – 0,3 $\mu\text{g/ml}$. Tato látka však vykazuje mutagenní účinky, z tohoto důvodu nemůže být použita jako nové potenciální léčivo.^{20, 21}



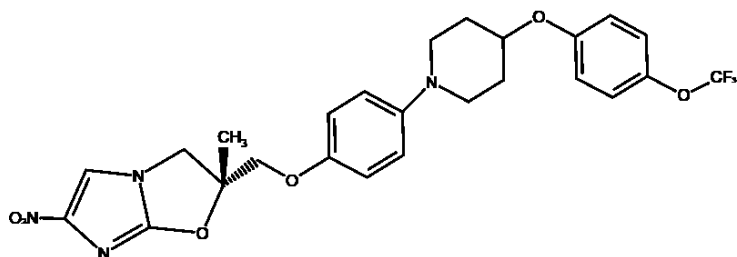
XXIII

Klíčovou sloučeninou patřící do skupiny nitroimidazolů je PA-824 (XXIV). PA-824 (Pretomanid) působí *in vitro* proti všem testovaným klinickým izolátům obsahující rezistentní kmeny mykobakterií s hodnotami MIC < 1 µg/ml. Pretonamid má komplexní mechanismus účinku a nevykazuje mutagenicitu, právě proto se nyní nachází ve III.fázi klinického zkoušení.^{19, 22, 23}



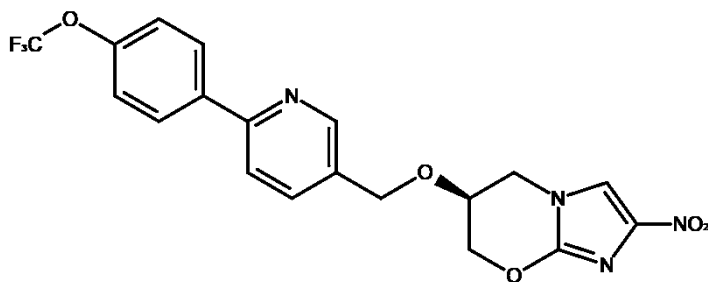
XXIV

Novou látkou v boji proti MDR-TB a XDR-TB je OPC-67683 – Delamanid (XXV). Po chemické stránce se jedná o derivát nitro-dihydro-imidazooxazolu. Na trh byl uveden v roce 2014. Delamanid byl vyvinut Japonskou farmaceutickou společností Otsuka a za posledních 40 let je jedním z pouhých dvou nových dostupných antituberkulotik (společně s bedaquilinem). V preklinických studiích dosahoval *in vitro* velmi nízkých hodnot MIC – 0,006 - 0,024 µg/ml. *In vitro* také nebyla prokázána žádná významná interakce s dalšími antituberkulotiky ani antiretrovirotiky. V průběhu klinických studií byla prokázána dobrá snášenlivost tohoto léku a bezpečnost jeho užívání. Delamanid nezpůsobuje mutagenitu a v kombinaci s rifampicinem výrazně zlepšuje eradikaci TBC (méně než 2 měsíce). U pacientů s XDR-TB nebo s intolerancí vůči antituberkulotikům druhé řady bude připadat v úvahu léčba kombinací bedaquilinu a delamanidu. V současnosti je tedy třeba více studií na dokázání účinnosti a bezpečnosti kombinace těchto dvou nových antituberkulotik.²⁴⁻²⁸



XXV

Další sloučeninou ze skupiny nitroimidazolů je sloučenina s názvem TBA-354 (XXVI). Tato látka má velmi dobrou účinnost proti chronické myší tuberkulóze a také velmi dobrou biologickou dostupnost, která byla prokázána v předběžných studiích u hlodavců. TBA-354 představuje potenciální AT nové generace. Účinnost této látky in vitro byla srovnatelná s účinností Delamanidu a PA-824. Látka TBA-354 byla v první fázi klinického zkoušení, avšak vinou vedlejších účinků bylo klinické zkoušení přerušeno.^{29, 30}



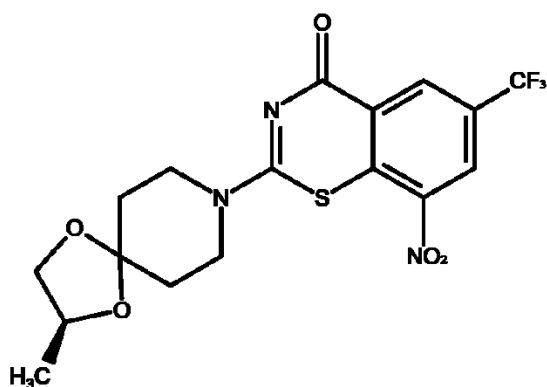
XXVI

5.2.4 Benzothiazinony

Benzothiazinony představují skupinu látek s velmi nadějnou antimykobakteriální aktivitou. Skupina těchto látek vykazuje účinnost vůči MDR i XDR kmenům *M. tuberculosis*. Mechanismus účinku těchto látek spočívá v inhibici enzymu dekaprenyl-fosforyl- β -D-ribose 2'-epimerasy. Tento enzym je důležitý pro epimerizaci dekaprenyl-fosforyl ribosy na dekaprenylfosforyl arabinosu, která je významným prekurzorem

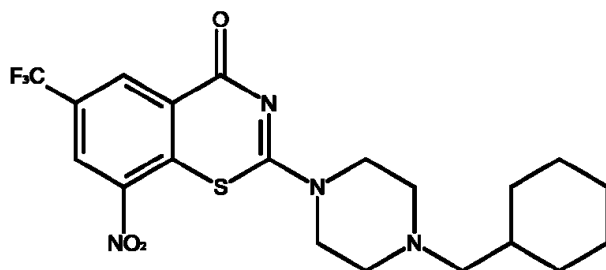
pro syntézu arabinanu. Arabinan se řadí mezi polysacharidy nezbytné pro správnou stavbu buněčné stěny mykobakterií.^{31, 32}

Látka s nejlepší aktivitou ze skupiny benzothiazinonů je BTZ043. BTZ043 (XXVII) vykazuje velmi výraznou aktivitu vůči senzitivním i multirezistentním kmenům mykobakterií. BTZ043 patří mezi sloučeniny s nejnižší hodnotou MIC, které byly dosud popsány. Hodnoty MIC se pohybují v řádech ng/ml – konkrétně 1 ng/ml. Na myších modelech (s chronickou i akutní TBC) byla účinnost této látky srovnatelná s rifampicinem či izoniazidem.^{33, 34}



XXVII

Dalšími obměnami byla připravena látka PBTZ169 (XXVIII) se zlepšenými farmakologickými vlastnostmi. Tento analog má 3x větší aktivitu a 10x nižší toxicitu oproti BTZ043. V současnosti je tato látka v klinické fázi vývoje.³³

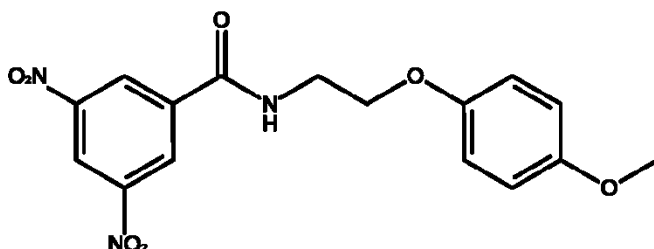


XXVIII

5.2.5 Dinitrobenzamidy

Ze skupiny benzothiazinonů byly odvozeny dinitrobenzamidy. Sloučenina se dvěma nitro skupinami, nesoucí název DNB-1 (XXIX), vykazuje hodnotu MIC = 0,072

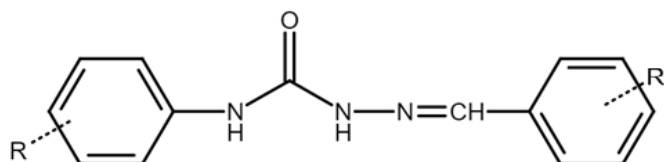
$\mu\text{g/ml}$. In vitro má slibnou aktivitu vůči senzitivním kmenům mykobakterií i vůči kmenům s rozšířenou rezistencí (XDR-TB). Tato látka se vyznačuje stejným mechanismem účinku jako benzothiazinony.^{35, 36}



XXIX

5.2.6 Deriváty semikarbazonu

Signifikantní antituberkulózní aktivita byla zaznamenána u derivátů semikarbazonu (XXX). V Indii Sriram a kol. nasyntetizoval a následně zkoumal několik těchto derivátů. Zkoumána byla aktivita proti kmeni $H_{37}Rv$ (ATCC 27294) a porovnávána se standardními AT – izoniazid, ethionamid, PAS, ethambutol, ciprofloxacin, kanamycin a rifampicin. Všechny sloučeniny vykazovaly inhibici 90 – 100%, přičemž nejvýznamnější inhibiční účinky vykazovala sloučenina s R^1 3- NO_2 . Minimální inhibiční koncentrace pro tento derivát byla $1,56 \mu\text{g/ml}$.³⁷

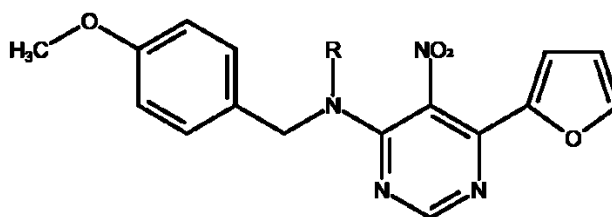


XXX

$R = 4\text{-NHCOCH}_3$

5.2.7 Deriváty pyrimidinu

Na univerzitě v Oslu byly zkoumány a syntetizovány pyrimidinové analogy antimykobakteriálně aktivních 6-aryl-9-benzylpurinu. Zjistilo se, že nitro skupina v pozici 5 zvyšuje aktivitu 6-benzylamino pyrimidinů (XXXI). Sloučenina 6-(2-furyl)-N-(4-methoxybenzyl)-5-nitropyrimidin-4-amin vykazuje hodnotu IC_{90} (množství látky, při které došlo k 90% inhibici růstu) vůči *M. tuberculosis* H₃₇Rv 21 μ g/ml.



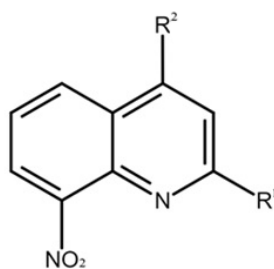
XXXI

R = H, CH₃

Další zkoumanou molekulou byl 6-(2-furyl)-N-(4-methoxybenzyl)-N-methyl-5-nitropyrimidin-4-amin (XXXI), vykazující hodnotu IC_{90} proti stejnému kmeni 13 μ g/ml.³⁸

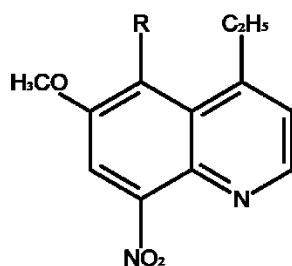
5.2.8 Deriváty chinolinu a chinolonů

Aktivita chinolinových derivátů byla zkoumána vůči citlivým i rezistentním kmenům *M. tuberculosis* H₃₇Rv. Konkrétně 8-nitrochinolinový analog obsahující uhlovodíkový zbytek $R^1 = R^2 = C_6H_{11}$ (XXXII) měl velmi dobrou aktivitu - hodnota MIC byla 1,0 μ g/ml. Při nahrazení nitro skupiny ve struktuře této molekuly skupinou NH₂ došlo ke kompletní ztrátě aktivity. Tato sloučenina byla také zkoumána na působení vůči mykobakteriím rezistentním na izoniazid, rifampicin a ethambutol s výslednou hodnotou MIC 6,25 μ g/ml.³⁹



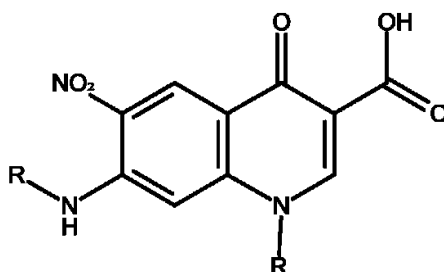
XXXII

Výbornou antimykobakteriální aktivitu měl také derivát chinolinu (XXXIII) s nitro skupinou v pozici 8 a s uhlovodíkovým zbytkem R – OC₇H₁₅. Tato sloučenina s hodnotou MIC 1 µg/ml měla 99% inhibici růstu mykobakterií.³⁹



XXXIII

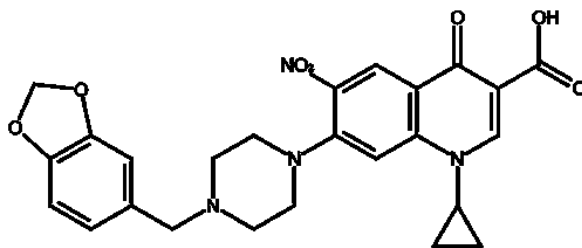
Jako potenciální antituberkulotika jsou rovněž studovány nové deriváty chinolonů, resp. fluorochinolonů. Testovány byly chinolonové deriváty obsahující nitro, amino skupinu či fluor v pozici C-6. Sloučeniny, které obsahovaly NO₂ skupinu byly více aktivní než ty, které měly v pozici 6 amino skupinu nebo fluor. Tato skutečnost naznačuje fakt, že přítomnost skupiny, která odčerpává elektrony (nitro skupina), je nezbytná pro aktivitu. Nejvíce účinný byl chinolonový derivát (XXXIV) s hodnotou MIC srovnatelnou s MIC ciprofloxacinu.⁴⁰



XXXIV

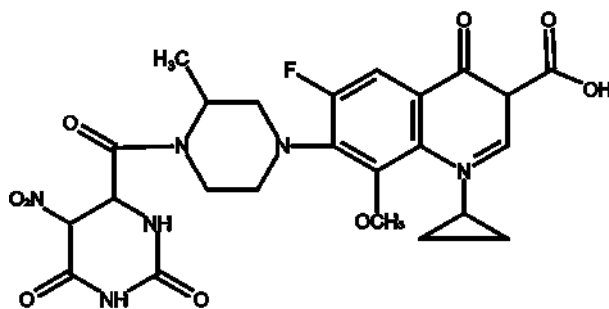
R = *tert*-butyl

Dále byly studovány pro svou antituberkulotickou aktivitu deriváty 6-nitrochinolon-3-karboxylové kyseliny. Nejvíce aktivní derivát (XXXV) vykazoval hodnotu MIC = 0,08 μM vůči *M. tuberculosis* a MIC = 0,16 μM vůči MDR-TB. Hodnota MIC vůči MDR-TB je tak několikanásobně nižší než u gatifloxacinu (8,34 μM) a izoniazidu (45,57 μM).⁴¹



XXXV

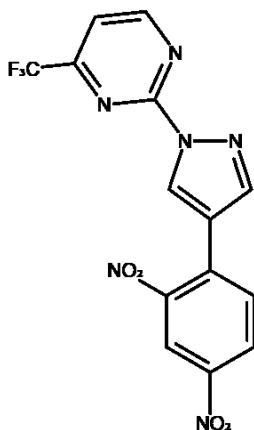
Sloučeniny na bázi 6-fluorochinolonů syntetizoval a zkoumal rovněž Sriram a kol. Všechny sloučeniny s nitro skupinou byly účinné vůči *M. tuberculosis*. Nejvýznamnější ze všech sledovaných látek (XXXVI) vykazovala hodnotu MIC méně než 0,17 μM , čímž překonala MIC izoniazidu (0,66 μM).⁴²



XXXVI

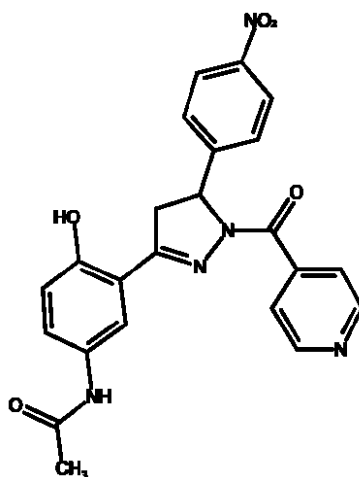
5.2.9 Deriváty pyrazolu

Sloučenina s názvem Genz-8575 (XXXVII), patřící do skupiny derivátů pyrazolu, je látkou působící proti *M. tuberculosis*. MIC byla stanovena v hodnotě 2,5 μM vůči kmeni H₃₇Rv (v porovnání s MIC izoniazidu 1,5 μM).⁴³



XXXVII

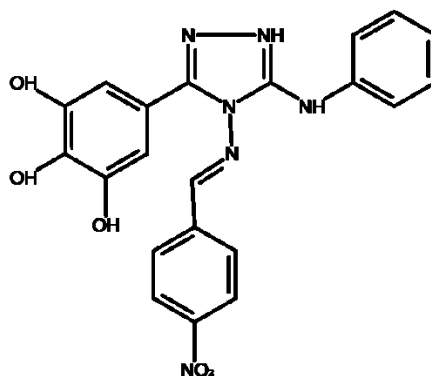
Ahmad a kol. nasyntetizoval 4-nitrofenyl deriváty pyrazolu, u kterých byla zjištěna aktivita vůči *M. tuberculosis* H₃₇Rv. Nejúčinnější látka - N-(4-hydroxy-3-(1-isonikotinoyl-5-(4-nitrofenyl)-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-yl)fenyl)acetamid (XXXVIII) dosahovala hodnoty MIC 3,12 $\mu\text{g/ml}$. Účinnost tohoto derivátu dosáhla lepší hodnoty v porovnání se streptomycinem (MIC= 6,25 $\mu\text{g/ml}$).⁴⁴



XXXVIII

5.2.10 Deriváty triazolu

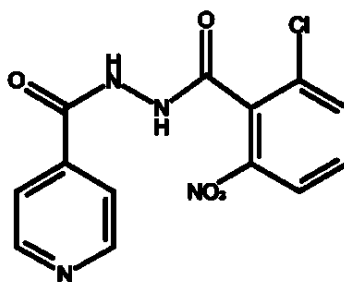
Derivát triazolu, obsahující ve své molekule nitro skupinu, byl společně s dalšími deriváty zkoumán pro svoji antimykobakteriální aktivitu. Mezi zkoumanými sloučeninami měl největší aktivitu proti *M. tuberculosis* H₃₇Rv derivát, obsahující 4-nitro-fenyl skupinu (XXXIX).⁴⁵



XXXIX

5.2.11 Deriváty pyridinu

Do skupiny pyridinů patří velmi významné AT první řady – izoniazid (viz kapitola 3.2.1). Proto byly zkoumány a syntetizovány deriváty tohoto AT. Derivát izoniazidu, obsahující nitro skupinu (XL), vykazoval dvojnásobně vyšší antimykobakteriální aktivitu než ciprofloxacin a ethambutol. Toto zvýšení aktivity je přisuzováno nitro skupině.⁴⁵

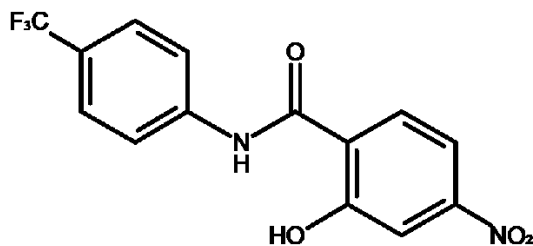


XL

5.2.12 Deriváty kyseliny salicylové

V roce 2015 bylo syntetizováno několik salicylanilidů, obsahujících v molekule nitro skupinu. Salicylanilidy byly již několikrát zkoumány pro svoji antimikrobiální a antifungální aktivitu in vitro. Byla prokázána i jejich aktivita vůči rezistentním *M. tuberculosis* kmenům. Nejlepší aktivitu vykazovaly deriváty s nitro skupinou v pozici 4.

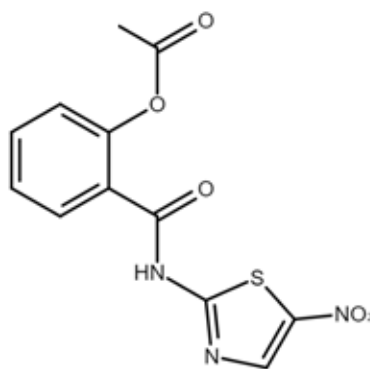
Konkrétní derivát (2-hydroxy-4-nitro-N-[4-(trifluoromethyl)fenyl]benzamid (XLI) měl hodnotu MIC 2 $\mu\text{mol/l}$, což je velmi dobrá hodnota v porovnání s izoniazidem (MIC=0,5 $\mu\text{mol/l}$).⁴⁶



XLI

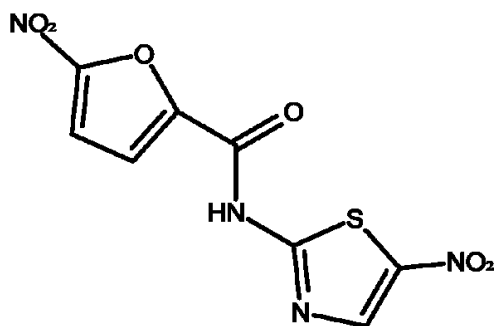
5.2.13 Deriváty thiazolu

Nitazoxanid - NTZ (XLII), patřící do skupiny derivátů thiazolu, je látka široce používaná pro léčbu infekcí. Bylo zjištěno, že NTZ působí in vitro vůči kmeni *M. tuberculosis* H₃₇Rv. Byla sledována účinnost NTZ na 50 klinických izolátech s různou mírou rezistence. Hodnoty MIC se pohybovaly v rozmezí 12 - 28 $\mu\text{g/ml}$. Mezi rezistentními a citlivými kmeny *M. tuberculosis* nebyly výrazné rozdíly v hodnotách MIC.⁴⁷



XLII

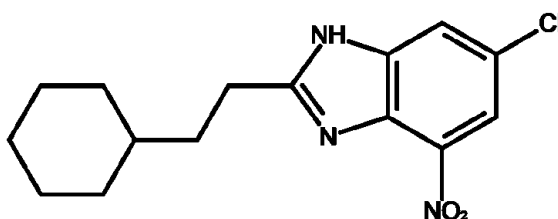
Na základě účinnosti NTZ vůči *M. tuberculosis* in vitro byla zkoumána aktivita strukturálních analogů 5-nitrothiazolylových derivátů. Byla zkoumána účinnost 28 analogů. Jako srovnávací látky byly použity rifampicin a izoniazid. Sloučenina s nejvyšší aktivitou byl 5-nitro-N-(5-nitrothiazol-2-yl)furan-2-karboxamid (XLIII), s hodnotou MIC 5,48 μM . Tato látka nevykazovala toxicitu až do koncentrace 100 μM .⁴⁸



XLIII

5.2.14 Deriváty benzimidazolu

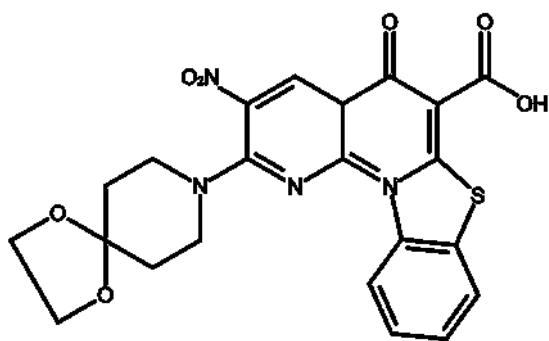
Deriváty benzimidazolu s cyklohexylpropanovým řetězcem v poloze 1 připravil Gobis a kol. a studoval jejich antituberkulotickou aktivitu vůči klinicky izolovaným kmenům *M. tuberculosis*. Nejúčinnější látky obsahovaly nitro skupinu. Látka s nejlepší aktivitou (XLIV) dosahovala hodnoty MIC = 12,5 µg/ml.⁴⁹



XLIV

5.2.15 Deriváty benzothiazolo[3,2-a]naftyridinu

Sriram a kol. nasyntetizoval několik benzothiazolo naftyridinových derivátů karboxylové kyseliny a zkoumal jejich aktivitu. Nejvíce aktivní látkou byla sloučenina obsahující nitro skupinu (XLV). Tato sloučenina měla in vitro hodnotu MIC 0,19 µM vůči MTB a 0,04 µM vůči MDR-TB, což je aktivita lepší v porovnání s gatifloxacinem (MIC = 8,34 µM) a izoniazidem (MIC = 45,57 µM). In vivo, na zvířecím modelu, tato látka snižovala nárůst mykobakterií v plicích a slezině.⁵⁰



XLV

6 Závěr

Tuberkulóza je v současné době stále příčinou mnoha úmrtí - a to nejen v rozvojových zemích. Proto je TBC jedním z hlavních předmětů zájmu Světové zdravotnické organizace (WHO). Tato nemoc se řadí mezi 10 nejčastějších příčin úmrtí vůbec a může propuknout u jakékoliv věkové skupiny (nejvíce se však vyskytuje mezi dospělými v produktivním věku). Mezi HIV-pozitivními osobami je pak právě tuberkulóza nejčastější příčinou smrti (až v 35%). Výskyt této nemoci je celosvětový.

Největším problémem je stále se rozšiřující rezistence na AT 1. i 2. řady. Příčiny vývoje rezistencí jsou různé – neodpovídající léčebný režim, přerušovaná nebo nedostatečná léčba, intolerance léčiv, nekontrolovaný průběh léčby a hlavně šíření rezistentních forem TBC. Tyto rezistentní formy mykobakterií se potom šíří ve větší míře díky různému migrování obyvatel.⁵¹

Velmi aktuální je tedy vývoj nových antituberkulotik, působících právě na tyto rezistentní formy. Další požadavky pro nová AT jsou hlavně - zkrácení celkové doby léčby, zredukování počtu užívaných antituberkulotik, snížení nežádoucích účinků a lékových interakcí, bezpečnost látek (nižší toxicita) a baktericidní účinnost.

Mým úkolem bylo provést rešerši antimykobakteriálně aktivních látek, obsahujících nitro skupinu. Syntetizováním různých látek a zkoumáním jejich antituberkulózní aktivity se zabývá po celém světě poměrně velké množství odborníků. Jejich zájmem je především sledování vlivu různých funkčních skupin na snížení nebo zvýšení aktivity v připravených sériích sloučenin, tj. řešení vztahů struktura a účinek (SAR). Během své práce jsem našla poměrně značné množství látek s přítomnou aktivitou vůči *M. tuberculosis*, které ve své struktuře obsahovaly nitro skupinu. Je tedy zřejmé, že právě látky obsahující ve své struktuře nitro skupinu jsou v současnosti velmi sledovanou skupinou látek. V mé práci jsem uváděla takové sloučeniny, u kterých byla zjištěna slibná antituberkulózní aktivita, vyjádřená hodnotou minimální inhibiční koncentrace (MIC). Tato hodnota pak byla mnohdy lepší či srovnatelná s hodnotami MIC u standardních AT.

7 Literatura

1. Global Tuberculosis Report 2016 [online]. Dostupné z: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/250441/1/9789241565394-eng.pdf?ua=1>
2. Tuberculosis. *World Health Organisation* [online]. Dostupné z: <http://www.who.int/tb/en/>.
3. Macela A., *Infekční choroby a intracelulární parazitismus bakterií*. Praha: Grada, 2006. Malá monografie (Grada). ISBN 80-247-0664-4, s. 155.
4. Kolek V., Kašák V., Vašáková M. *Pneumologie*. Praha: Maxdorf, c2011. Jessenius. ISBN 978-80-7345-255-1, s. 211.
5. Navrátil L. a kol. *Vnitřní lékařství: pro nelékařské zdravotnické obory*. Praha: Grada, 2008. ISBN 978-80-247-2319-8, s. 97.
6. Netval M., Chocholáč D. *Atlas ortopedické tuberkulózy*. Praha: Karolinum, 2014. ISBN 978-80-246-2401-3, s. 13-14.
7. Mitchison D.A.: The Diagnosis and Therapy of Tuberculosis During the Past 100 Years. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2005, 171(7), 699-706.
8. Katzung B., *Základní a klinická farmakologie*. Vyd. v ČR 2., V H & H 2. Jinočany: H & H Vyšehradská, 2006. ISBN 80-7319-056-7, s. 759.
9. Kočí J., Klimešová V., Waisser K., Kaustová J., Dahse H.M., Mölmann U.: Heterocyclic Benzazole Derivates with Antimycobacterial In Vitro Activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2002, 12(22), 3275-3278.
10. Klimešová V., Kočí J., Pour M., Stachel J., Waisser K., Kaustová J.: Synthesis and preliminary evaluation of benzimidazole derivates as antimicrobial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2002, 37(5), 409-418.
11. Klimešová V., Kočí J., Waisser K., Kaustová J.: New benzimidazole derivates as antimycobacterial agents. *Farmaco*, 2002, 57(4), 259-265.
12. Klimešová V., Kočí J., Waisser K., Kaustová J., Möllman U.: Preparation and in vitro evaluation of benzylsulfanyl benzoxazole derivates as potential antituberculosis agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2009, 44, 2286-2293.

13. Klimešová V., Kočí J., Palát K., Stolaříková J., Dahse H-M., Mölmann U.: Structure – Activity Relationships of 2-Benzylsulfanylbenzothiazoles: Synthesis and Selective Antimycobacterial Properties. *Medicinal Chemistry*, 2012, 8, 282-291.
14. Němeček J., Sychra P., Macháček M., Pasdiorová M., Karbanovich G., Konečná K., Kavková V., Stolaříková J., Hrabálek A., Vávrová K., Soukup O., Roh J., Klimešová V.: Structure -Activity Relationships Studies on 3,5-Dinitrophenyl Tetrazoles as Antitubercular Agents. *European Journal Of Medicinal Chemistry*, 2017, 130, 419-432.
15. Karbanovich G., Zemanová J., Smutný T., Székely R., Šarkan M., Centárová I., Vocat A., Pávková I., Čonka P., Němeček J., Stolaříková J., Vejsová M., Vávrová K., Klimešová V., Hrabálek A., Pávek P., Cole S.T., Mikušová K., Roh J.: Development of 3,5-Dinitrobenzylsulfanyl-1,3,4-Oxadiazoles and Thiadiazoles as Selective Antitubercular Agents Active Against Replicating and Nonreplicating *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2016, 59, 2362-2380.
16. Karbanovich G., Roh J., Soukup O., Pávková I., Pasdiorová M., Tambor V., Stolaříková J., Vejsová M., Vávrová K., Klimešová V., Hrabálek A.: Tetrazole regioisomers in the development of nitro group- containing antitubercular agents. *Medicinal Chemistry Communications*, 2015, 6, 174-181.
17. Karbanovich G., Roh J., Smutný T., Němeček J., Vicherek P., Stolaříková J., Vejsová M., Dufková I., Vávrová K., Pávek P., Klimešová V., Hrabálek A.: 1-Substituted-[(3,5-dinitrobenzyl)sulfanyl]-1H-tetrazoles and their isosteric analogs: A new class of selective antitubercular agents active against drug-susceptible and multidrug resistant mycobacteria. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2014, 82, 324-340.
18. Karbanovich G., Němeček J., Valášková L., Carazo A., Konečná K., Stolaříková J., Hrabálek A., Pavliš O., Vávrová K., Roh J., Klimešová V.: S-Substituted 3,5-dinitrophenyl 1,3,4-oxadiazole-2-thiols and tetrazole-5-thiols as highly efficient antitubercular agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2017, 126, 369-383.
19. Stover C.K., Warrenner P., Van Devanter D.R., Sherman D.R., Arain T.M., Langhorne M.H., Anderson S.W., Towell J.A., Yuan Y., McMurray D.N., Kreiswirth B.N., Barry C.E., Baker W.: A small molecule nitroimidazopyran drug candidate for treatment of tuberculosis. *Nature*, 2000, 405(6789), 962-966.
20. Ashtekar D.R., Costa-Perira R., Nagrajan K., Vishvanathan N., Bhatt A.D., Rittel W.: In vitro and in vivo activities of the nitroimidazole CGI 17341 against *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1993, 37, 183-186.

21. Mukherjee T, Boshoff H. Nitroimidazoles for the treatment of TB: past, present and future. *Future Medicinal Chemistry*. 2011;3(11):1427-1454.
22. Lenaerts A.J., Gruppo V., Marietta K.S., Johnson A.Ch., Driscoll D.K., Tompkins N.M., Rose J.D., Reynolds R.C., Orme I.M.: Preclinical Testing of the Nitroimidazopyran PA-824 for Activity against *Mycobacterium tuberculosis* in a Series of In Vitro and In Vivo Models. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2005, 49(6), 2294-2301.
23. Singh R., Manjunatha U., Boshoff H.I.M., Hwan Ha Y., Niyomrattanakit P., Ledwidge R., Dowd C.S., Lee I.Y., Kim P., Zhang L., Kang S., Keller T.H., Jiricek J., Barry C.E.: PA-824 Kills Nonreplicating Mycobacterium tuberculosis by Intracellular NO Release. *Science*, 2008, 322(5906), 1392-1395.
24. Matsumoto M., Hashizume H., Tomishige T., Kawasaki M., Tsibouchi H., Sasaki H., Shimokawa Y., Komatsu M.: OPC-67683, a nitro-dihydro-imidazooxazole derivative with promising action against tuberculosis in vitro and in mice. *PLoS Medicine*, 2006, 3(11), 466.
25. Sotgiu G., Pontali E., Centis R., Ambrosio D., Migliori G.B.: Delamanid (OPC-67683) for treatment of multi-drug-resistant tuberculosis. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 2015, 13(3), 305-315.
26. Xavier A.S., Lakshmanan M.: Delamanid: A new armor in combating drug-resistant tuberculosis. *Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics*. 2014, 5, 222-224.
27. Gupta R., Wells C.D., Hittel N., Hafkin J., Geiter L.J.: Delamanid in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 2016, 20(12), 33-37.
28. Migliori G.B., Pontali E., Sotgiu G., Centis R., Lia D'Ambrosio, Tiberi S., Tadolini M., Esposito S.: Combined Use of Delamanid and Bedaquiline to Treat Multidrug-Resistant and Extensively Drug-Resistant Tuberculosis: A Systematic Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, 18(2), 341.
29. Upton A.M., Cho S., Yang T.J., Kim Y., Wang Y., Lu Y., Wang B., Xu J., Mdluli K., Ma Z., Franzblau S.G.: In Vitro and In Vivo Activities of the Nitroimidazole TBA-354 against *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2014, 59(1), 136-144.
30. Phase 1 Clinical Trial of TB Drug Candidate TBA-354 Discontinued. *TB ALLIANCE* [online]. Dostupné z: www.tballiance.org
31. Mikusova K., Makarov V., Neres J.: DrpE1-from the Discovery to the Promising Tuberculosis Drug Target. *Current Pharmaceutical Design*, 2014, 20(27), 4379-4403.

32. Trefzer C., Rengifo-Gonzales M., Hinner M.J., Schneider P., Makarov V., Cole S.T., Johnsson K.: Benzothiazinones: Prodrug that Covalently Modify the Decaprenylphosphoryl-beta-D-ribose 2'-epimerase DprE1 of *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of the American Chemical Society*, 2010, 132, 13663-13665.
33. Makarov V., Lechartier B., Zhang M., Neres J., Sar A. M., Raadsen S. A., Hartkoorn R.C., Ryabova O.B., Vocat A., Decostre L.A., Widmer N., Buclin T., Bitter W., Andries K., Pojer F., Dyson P.J., Cole S.T.: Towards a new combination therapy for tuberculosis with next generation benzothiazinones. *EMBO Molecular Medicine*, 2014, 6(3), 372-383.
34. Makarov V., Malina G., Mikusova K., Möllmann U., Ryabova O., Saint-Joanis B., Dhar N., Pasca M.R., Buroni S., Lucarelli A.P., Milano A., De Rossi E., Belanva M., Bobovska A., Dianiskova P., Kordulakova J., Sala C., Fullam E., Schneider P., McKinney J.D., Brodin P., Christophe T., Waddell S., Butcher P., Albrethsen J., Rosenkrands I., Brosch R., Nandi V., Bharath S., Gaonkar S., Shandil R.K., Balasubramanian V., Balganesch T., Tyagi S., Grosset J., Riccardi G., Cole S.T.: Benzothiazinones Kill *Mycobacterium tuberculosis* by Blocking Arabinan Synthesis. *Science*, 2009, 324(5928), 801-804.
35. Neres J., Pojer F., Molteni E., Chuarelli L.R., Dhar N., Boy-Rottger S., Buroni S., Fullam E., Degiacomi G., Lucarelli A.P., Read R.J., Zanoni G., Edmondson D.E., De Rossi E., Pasca M.R., McKinney J.D., Dyson P.J., Riccardi G., Mattevi A., Cole S.T., Binda C.: Structural basis for benzothiazinone-mediated killing of *Mycobacterium tuberculosis*. *Science Translational Medicine*, 2012, 4(150).
36. Christophe T., Jackson M., Jeon H.K., Fenistein M., Contreras-Domiguez M., Kim J., Genovesio A., Carralot J.P., Ewann F., Kim E.H., Lee S.Y., Kang S., Seo M.J., Park E.J., Škovierová H., Pham H., Riccardi G., Nam J.Y., Marsollier L., Kempf M., Joly-Guillou M.L., Oh T., Shin W.K., No Z., Nehrbass U., Brosch R., Cole S.T., Brodin P.: High content screening identifies decaprenyl-phosphoribose 2'-epimerase as a target for intracellular antimycobacterial inhibitors. *PLoS Pathogen*, 2009, 5(10), e1000645.
37. Sriram D., Yogeewari P., Thirumurugan R.: Antituberculous activity of some aryl semicarbazone derivatives. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2004, 14(15), 3923-3924.
38. Read L.M., Braendvang M., Miranda P.O., Gundersen L.L.: Synthesis and biological evaluation of pyrimidine analogs of antimycobacterial purines. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2010, 18(11), 3885-3897.

39. Vangapandu S., Jain M., Jain R., Kaurb S., Singh P.P.: Ring-substituted quinolines as potential antituberculosis agents. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2004, 12, 2501–2508.
40. Artico M., Mai A., Sbardella G., Massa S., Musiu C., Lostia S., Demontis F., Colla P.L.: Nitroquinolones with broad-spectrum antimycobacterial activity *in vitro*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 1999, 9, 1651–1656.
41. Senthilkumar P., Dinakaran M., Yogeenswari P., Sriram D., China A., Nagaraja V.: Synthesis and antimycobacterial activities of novel 6-nitroquinolone-3-carboxylic acids. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2009, 44(1), 345-358.
42. Sriram D., Yogeenswari P., Senthikumar P., Naidu G., Bhat P.: 5-Nitro-2,6-dioxoheptahydro-4-pyrimidinecarboxamides: synthesis, *in vitro* antimycobacterial activity, cytotoxicity, and isocitrate lyase inhibition studies. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 2010, 25(6), 765-772.
43. Kuo M.R., Morbidoni H.R., Alland D., Sneddon S.F., Gourlie B.B., Staveski M.M., Leonard M., Gregory J.S., Janjigian A.D., Yee Ch., Musser J.M., Kreiswirth B., Iwamoto H., Perozzo R., Jacobs W.R., Sacchetti J.C., Fidock D.A.: Targeting Tuberculosis and Malaria through Inhibition of Enoyl Reductase, *The Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278, 20851-20859.
44. Ahmad A., Husain A., Khan S.A., Mujeeb M., Bhandari A.: Synthesis, antimicrobial and antitubercular activities of some novel pyrazoline derivatives. *Journal of Saudi Chemical Society*, 2016, 20(5), 577-584.
45. Yan M., Ma S.: Recent Advances in the Research of Heterocyclic Compounds as Antitubercular Agents. *ChemMedChem*, 2012, 7(12), 2063-2075.
46. Paraslepoulos G., Krátký M., Mandíková J., Trejtnar F., Stolaříková J., Pávek P., Besra G., Vinšová J.: Novel derivatives of nitro-substituted salicylic acids: Synthesis, antimicrobial activity and cytotoxicity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2015, 23(15), 7292-7301.
47. Shigyo K., Ocheretina O., Merveille Y.M., Johnson W.D., Pape J.W., Nathan C.F., Fitzgerald D.W.: Efficacy of Nitazoxanide against Clinical Isolates of Mycobacterium tuberculosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2013, 57(6), 2834-2837.
48. Jeankumar V.U., Chandran M., Samala G., Alvala M., Koushik P.V., Yogeenswari P., Salina E.G., Sriram D.: Development of 5-nitrothiazole derivatives: Identification of leads against both replicative and latent Mycobacterium tuberculosis. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 2012, 22(24), 7414–7417.

49. Gobis K., Foks H., Bojanowski K., Augustynowicz-Kopec E., Napriórkowska A.: Synthesis of novel 3-cyclohexylpropanoic acid-derived nitrogen heterocyclic compounds and their evaluation for tuberculostatic activity. *Bioorganic and Medicinal chemistry*, 2012, 20(1), 137-144.
50. Dinakaran M., Senthilkumar P., Yogeewari P., Sriram D.: Antitubercular activities of novel benzothiazolo naphthyridone carboxylic acid derivatives endowed with high activity toward multi-drug resistant tuberculosis. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2009, 63(1), 11-18.
51. Bártů V.: Tuberkulóza a její rezistentní formy. *Interní medicína*, 2007, 9(9), 372-373.