

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

DIPLOMOVÁ PRÁCE

2025

Bc. Denisa Vařeková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Stanovení antibakteriální a antifungální aktivity nově syntetizovaných
sulfonamidových derivátů
Diplomová práce

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Denisa Vařeková**
Osobní číslo: **C23327**
Studijní program: **N0914P360001 Bioanalytická laboratorní diagnostika ve zdravotnictví**
Téma práce: **Stanovení antibakteriální a antifungální aktivity nově syntetizovaných sulfonamidových derivátů**
Téma práce anglicky: **Determination of Antibacterial and Antifungal Activity of Selected Sulfonamide Derivatives**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

Teoretická část:

1) Zpracujte literární rešerši věnující se biologické aktivitě sulfonamidových derivátů na bázi 4-(morfolin-4-ylmethyl) anilinu

Experimentální část:

1. U těchto látek připravených Ústavem organické chemie a technologie proveďte stanovení minimální inhibiční koncentrace mikrodiluční metodou dle ČSN EN ISO 20776-2 na vybrané skupiny bakterií a kvasinek.

2. Stanovené minimální inhibiční koncentrace porovnejte s účinky běžně používaných antibiotik.

Rozsah pracovní zprávy: **35 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Marcela Pejchalová, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání diplomové práce: **20. prosince 2024**
Termín odevzdání diplomové práce: **9. května 2025**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

prof. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2025

Prohlašuji:

Práci s názvem Stanovení antibakteriální a antifungální aktivity nově syntetizovaných sulfonamidových derivátů jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 23.4.2025

Bc. Denisa Vařeková

PODĚKOVÁNÍ

Mé poděkování bych chtěla věnovat vedoucí své diplomové práce doc. Ing. Marcela Pejchalové, Ph.D. a také konzultantu doc. Ing. Vladimíru Pejchalovi, Ph.D. za ochotu a vstřícnost, cenné rady a také za trpělivost v průběhu zpracování diplomové práce. Zároveň patří poděkování panu doc. Ing. Vladimíru Pejchalovi, Ph.D. za poskytnuté vzorky nově syntetizovaných sulfonamidů, které byly v mé diplomové práci testovány jako potencionální antimikrobiální látky. Nerada bych opomenula poděkovat rodině, spolužákům a ostatním blízkým osobám, kteří mě podporovali po celou dobu studia na Univerzitě Pardubice.

ANOTACE

Diplomová práce je zaměřena na testování účinnosti nově syntetizovaných sulfonamidů, které by mohli být potencionálními antibiotiky při léčbě bakteriálních a popřípadě kvasinkových infekcí. Teoretická část diplomové práce je zaměřena na obecné informace o antibiotikách od objevení až po současný problém v stále navyšující se rezistenci vůči antibiotikům. V praktické části jsou testovány nově syntetizované sulfonamidové látky, které byly vyvinuty na katedře organické chemie univerzity Pardubice, podle norem ČSN EN ISO 20776-1 ED.2 a ČSN EN ISO 20776-2 ED.2. Pomocí mikrodiluční metody se testovala jejich citlivost na vybrané mikroorganismy – bakterie, kvasinky. Následně bylo zhodnoceno, zda by mohly být potencionálními chemoterapeutiky.

KLÍČOVÁ SLOVA

Antibiotika, sulfonamidy, citlivost na antibiotika, rezistence, mikrodiluční metoda, minimální inhibiční koncentrace

TITLE

Determination of antibacterial and antifungal activity of selected sulfonamide derivatives

ANNOTATION

The thesis is focused on testing the efficacy of newly synthesized sulfonamides, which could be potential antibiotics in the treatment of bacterial and possibly yeast infections. The theoretical part of the thesis focuses on general information about antibiotics from their discovery to the current problem in the ever-increasing antibiotic resistance. In the practical part, newly synthesized sulfonamide substances, which were developed at the Department of Organic Chemistry of the University of Pardubice, are tested according to the standards ČSN EN ISO 20776-1 ED.2 and ČSN EN ISO 20776-2 ED.2. Subsequently, it was evaluated whether they could be potential chemoterapeutics.

KEYWORDS

Antibiotics, sulfonamides, antibiotic susceptibility, resistance, microdilution method, minimum inhibitory concentration

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ	15
SEZNAM CHEMICKÝCH STRUKTUR.....	16
SEZNAM CHEMICKÝCH ROVNIC.....	17
SEZNAM TABULEK	18
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK	20
ÚVOD.....	23
1 ANTIBIOTIKA	24
1.1 Historie	24
1.1.1 Objev penicilinu.....	25
1.2 Současnost	26
1.3 Antibiotická rezistence	28
1.3.1 Vnitřní antibiotická rezistence	29
1.3.1.1 Mechanismy vnitřní antibiotické rezistence	29
1.3.2 Získaná antibiotická rezistence.....	31
1.3.2.1 Mechanismy získané antibiotické rezistence.....	31
1.4 Možné výhledy do budoucna v boji proti rezistenci.....	32
1.4.1 Kryptické kapsy	32
1.4.2 Fágová terapie.....	32
1.4.3 Umělá inteligence	33
1.5 Dělení antibiotik dle účinku.....	33
1.5.1 Baktericidní antibiotika.....	34
1.5.1.1 Antibiotika inhibující syntézu buněčné stěny	34
1.5.1.1.1 β -laktamová antibiotika	34
1.5.1.1.2 Glykopeptidová antibiotika	34
1.5.1.2 Antibiotika inhibující funkci buněčné membrány	34
1.5.1.3 Antibiotika inhibující syntézu proteinů	35
1.5.1.3.1 Inhibitory 30S podjednotky	35

1.5.1.4	Antibiotika inhibující syntézu nukleových kyselin	35
1.5.2	Bakteriostatická antibiotika	36
1.5.2.1	Antibiotika inhibující syntézu proteinů	36
1.5.2.1.1	Inhibitory ribozomální podjednotky 30S	36
1.5.2.1.2	Inhibitory ribozomální podjednotky 50S	37
1.5.2.2	Antibiotika inhibující metabolické dráhy	38
1.6	Stanovující se parametry při testování citlivosti	39
1.6.1	Minimální inhibiční koncentrace	39
1.6.2	Minimální baktericidní koncentrace	39
1.7	Metody stanovení citlivosti na antibiotika	39
1.7.1	Difúzní metody	40
1.7.1.1	Disková difúzní metoda	40
1.7.1.2	E-test	41
1.7.2	Diluční metody	42
1.7.2.1	Makrodiluce	42
1.7.2.1.1	Metoda ředění agaru	43
1.7.2.2	Mikrodiluce	43
1.7.2.2.1	Mikrodiluční bujónová metoda	44
2	SULFONAMIDY	45
2.1	Historie	45
2.2	Vlastnosti	46
2.3	Kontaminace odpadních vod	47
2.4	Metody eliminace sulfonamidových antibiotik	49
2.4.1	Chemická degradace	49
2.4.1.1	Ultrafialové záření, fotokatalýza	50
2.4.1.2	Chlorace	51
2.4.1.3	Ozonizace	52

2.4.1.4	Oxidace ferratem.....	52
2.4.1.5	Fentonova oxidace	53
2.4.1.6	Peroxidázová katalytická oxidace.....	53
2.4.2	Biologická degradace.....	54
2.4.2.1	Degradace bakteriemi	54
2.4.2.2	Degradace řasami.....	55
2.4.2.3	Degradace rostlinami	55
2.4.3	Fyzikální degradace	55
2.5	Syntéza sulfonamidů.....	56
2.5.1	Syntéza sulfonamidů bez přítomnosti přechodných kovů	56
2.5.2	Syntéza sulfonamidů využívající přechodné kovy	57
2.6	Mechanismus účinku	58
2.7	Indikace sulfonamidů.....	59
2.7.1	Léčba Alzheimerovy choroby.....	60
2.7.2	Léčba Parkinsonovy choroby.....	61
2.7.3	Léčba onemocnění Diabetes mellitus	62
2.7.4	Léčba jaterní fibrózy	64
2.7.5	Léčba onkologických onemocnění	64
2.7.5.1	Inhibitory aromatázy.....	65
2.7.5.2	Inhibitory karboanhydrázových proteinů.....	65
2.7.5.3	Inhibitory proteinů třídy B-buněčného lymfomu-2	66
2.7.5.4	Inhibitory topoizomerázy.....	67
2.7.5.5	Inhibitory fosfatidylinositol-3-kinázy.....	67
2.7.6	Snížení rizika nokardiózy u příjemců transplantovaných solidních orgánů	67
2.8	Sulfonamidy využívané v terapii	68
2.8.1	Trimethoprim-sulfamethoxazol	68
2.8.2	Sulfacetamid	69

2.8.3	Sulfanilamid.....	69
2.8.4	Sulfasalazin.....	70
2.8.5	Dapson	71
2.9	Nežádoucí účinky	71
3	VYBRANÉ MIKROORGANISMY ZA ÚČELEM TESTOVÁNÍ CITLIVOSTI NOVĚ SYNTETIZOVANÝCH SULFONAMIDŮ	73
3.1	Grampozitivní koky	73
3.1.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	73
3.1.2	<i>Streptococcus pyogenes</i>	74
3.1.3	<i>Enterococcus faecalis</i>	75
3.1.4	Vankomycin-rezistentní enterokok (VRE).....	76
3.2	Čeleď <i>Enterobacteriaceae</i>	77
3.2.1	<i>Escherichia coli</i>	77
3.2.2	<i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i>	78
3.2.3	<i>Proteus sp.</i>	79
3.2.4	<i>Salmonella Enteritidis</i>	80
3.3	<i>Bacillus subtilis</i>	81
3.4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	82
3.5	Kvasinky	83
3.5.1	<i>Candida albicans</i>	84
3.5.2	<i>Candida glabrata</i>	84
3.5.3	<i>Candida krusei</i>	85
3.5.4	<i>Candida tropicalis</i>	86
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	88
4.1	Cíl práce.....	88
4.2	Použité laboratorní pomůcky a vybavení.....	88
4.2.1	Laboratorní pomůcky.....	88
4.2.2	Laboratorní přístroje	89

4.3	Reagencie a kulturační média	89
4.3.1	Fyziologický roztok	89
4.3.2	Sterilní destilovaná voda.....	89
4.3.3	Kyselina mléčná.....	89
4.3.4	Mueller-Hinton agar	90
4.3.5	Mueller-Hinton bujón	90
4.3.6	MALT extrakt agar	90
4.3.7	MALT extrakt bujón.....	91
4.4	Testované kmeny mikroorganismů.....	91
4.5	Testované antimikrobiální látky	91
4.6	Pracovní postup	94
4.6.1	Příprava kulturačních médií, reagensů a sterilizace laboratorních pomůcek ...	94
4.6.2	Inokulace mikroorganismů a příprava mikrobiálních suspenzí.....	94
4.6.3	Příprava antimikrobiálních látek.....	94
4.6.4	Příprava mikrotitračních destiček	95
4.7	Získané hodnoty MIC komerčních antibiotik.....	96
4.7.1	Baktericidní antimikrobiální látky	96
4.7.1.1	Ampicilin	96
4.7.1.2	Cefoperazon	97
4.7.1.3	Ciprofloxacín	98
4.7.1.4	Ofloxacin	99
4.7.2	Bakteriostatické antimikrobiální látky	100
4.7.2.1	Erythromycin	100
4.7.2.2	Sulfamethaxazol	101
4.7.3	Antimikrobiální látka s fungicidním a částečně fungistatickým účinkem.....	102
4.7.3.1	Amfotericin B	102
4.8	Výsledné MIC nově syntetizovaných sulfonamidových derivátů	103

4.8.1	(S)-4-(4-(3-methyl-2-(fenylsulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochlorid (derivát 1).....	103
4.8.2	(S)-4-(4-(3-methyl-2-((4-methylfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochlorid (derivát 2).....	104
4.8.3	(S)-4-(4-(3-methyl-2-((3-fluor-4-methylfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochlorid (derivát 3).....	105
4.8.4	(S)-4-(4-(3-methyl-2-((3-chlor-4-methylfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochlorid (derivát 4).....	106
4.8.5	(S)-4-(4-(3-methyl-2-((3-chlor-4-fluorfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochlorid (derivát 5).....	107
4.8.6	(S)-4-(4-(3-methyl-2-((3-fluorfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochlorid (derivát 6).....	108
4.8.7	(S)-4-(4-(3-methyl-2-((3-chlorfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochlorid (derivát 7).....	109
4.8.8	(S)-4-(4-(3-methyl-2-((3,5-difluorfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochlorid (derivát 8).....	110
4.8.9	(S)-4-(4-(3-methyl-2-((3,5-dichlorfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochlorid (derivát 9).....	111
4.9	Vyhodnocení účinnosti nově syntetizovaných sulfonamidových derivátů a komerčních antibiotik vůči jednotlivým mikroorganismům	112
4.9.1	Účinnost testovaných antibiotik vůči <i>Staphylococcus aureus</i>	112
4.9.2	Účinnost testovaných antibiotik vůči <i>Streptococcus pyogenes</i>	113
4.9.3	Účinnost testovaných antibiotik vůči <i>Enterococcus faecalis</i>	114
4.9.4	Účinnost testovaných antibiotik vůči VRE.....	115
4.9.5	Účinnost testovaných antibiotik vůči <i>Escherichia coli</i>	116
4.9.6	Účinnost testovaných antibiotik vůči <i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i>	117
4.9.7	Účinnost testovaných antibiotik vůči <i>Proteus sp.</i>	118
4.9.8	Účinnost testovaných antibiotik vůči <i>Salmonella Enteritidis</i>	119

4.9.9	Účinnost testovaných antibiotik vůči <i>Bacillus subtilis</i>	120
4.9.10	Účinnost testovaných antibiotik vůči <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	121
4.9.11	Účinnost testovaných antibiotik vůči <i>Candida albicans</i>	122
4.9.12	Účinnost testovaných antibiotik vůči <i>Candida glabrata</i>	123
4.9.13	Účinnost testovaných antibiotik vůči <i>Candida krusei</i>	124
4.9.14	Účinnost testovaných antibiotik vůči <i>Candida tropicalis</i>	125
5	DISKUSE	126
6	ZÁVĚR	130
7	POUŽITÁ LITERATURA	131

SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1	Časová osa objevování antibiotik (upraveno dle Lewis, 2020).....	25
Obrázek 2	Kontaminová Petriho miska Alexandra Fleminga (upraveno dle Microbiology society, 2014).....	26
Obrázek 3	Globální distribuce událostí vzniku AMR (upraveno dle Puri, Vaishya, Vaish, 2024).....	28
Obrázek 4	Stanovení priority patogenů dle WHO (upraveno dle Walesch, Birkelbach, Jézéquel et al., 2022).....	29
Obrázek 5	Přehled molekulárních mechanismů antibiotické rezistence (upraveno dle Darby, Trampari, Siasat er al., 2023).....	30
Obrázek 6	Způsoby účinku antibiotik (upraveno dle Uddin, Chakraborty, Khusro et al., 2021).....	33
Obrázek 7	Disková difúzní metoda (upraveno dle Liang, Wu, Han et al., 2019).....	41
Obrázek 8	Stanovení MIC metodou E-test <i>Staphylococcus aureus</i> na vankomycin, daptomycin a linezolid na M-H agaru (upraveno dle Jorgensen, Ferraro, 2009).....	42
Obrázek 9	Makrodiluční bujónová metoda (upraveno dle Feßler, Wang, Burbick et al., 2023).....	43
Obrázek 10	Vyhodnocení metody ředění agaru (upraveno dle Correa, Martínez, Patiño Vidal et al., 2020).....	43
Obrázek 11	Přehled historie, struktury a zdrojů sulfonamidů (upraveno dle Ottosen, Bjerg, Kümmel et al., 2024).....	48
Obrázek 12	Geografické rozšíření antibiotik v povrchových vodách světa (upraveno dle Duan, Cui, Jia et al., 2022).....	49
Obrázek 13	Metabolismus kyseliny listové se znázorněnými antifoláty působící na dané enzymy (upraveno dle Fernández-Villa, Aguilar, Rojo, 2019).....	58
Obrázek 14	Působení sulfonamidů na centrální nervový systém (upraveno dle Blicharz-Futera, Kamiński, Grychowska et al., 2025).....	59
Obrázek 15	Role dysfunkce mitochondrií v patogenezi Alzheimerovy choroby (upraveno dle D'Alessandro, Kanaan, Geller et al., 2025).....	60
Obrázek 16	<i>Staphylococcus aureus</i>	73
Obrázek 17	<i>Streptococcus pyogenes</i>	74
Obrázek 18	<i>Enterococcus faecalis</i>	76
Obrázek 19	VRE.....	77

Obrázek 20	<i>Escherichia coli</i>	78
Obrázek 21	<i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i>	79
Obrázek 22	<i>Proteus sp.</i>	80
Obrázek 23	<i>Salmonella Enteritidis</i>	81
Obrázek 24	<i>Bacillus subtilis</i>	82
Obrázek 25	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	83
Obrázek 26	<i>Candida albicans</i>	84
Obrázek 27	<i>Candida glabrata</i>	85
Obrázek 28	<i>Candida krusei</i>	86
Obrázek 29	<i>Candida tropicalis</i>	87
Obrázek 30	Mikrodiluční metoda – vyhodnocení MIC	95

SEZNAM CHEMICKÝCH STRUKTUR

Chemická struktura 1	Obecný vzorec sulfonamidů.....	45
Chemická struktura 2	A – trimethoprim, B – sulfamethoxazol.....	68
Chemická struktura 3	Sulfacetamid	69
Chemická struktura 4	Sulfanilamid	70
Chemická struktura 5	Sulfasalazin	70
Chemická struktura 6	Dapson	71
Chemická struktura 7	Základní struktura testovaných derivátů	93
Chemická struktura 8	Ampicilin	96
Chemická struktura 9	Cefoperazon	97
Chemická struktura 10	Ciprofloxacin	98
Chemická struktura 11	Ofloxacin.....	99
Chemická struktura 12	Erythromycin	100
Chemická struktura 13	Sulfamethoxazol	101
Chemická struktura 14	Amfotericin B	102
Chemická struktura 15	Derivát 1	103
Chemická struktura 16	Derivát 2.....	104
Chemická struktura 17	Derivát 3.....	105
Chemická struktura 18	Derivát 4.....	106
Chemická struktura 19	Derivát 5.....	107
Chemická struktura 20	Derivát 6.....	108

Chemická struktura 21 Derivát 7.....	109
Chemická struktura 22 Derivát 8.....	110
Chemická struktura 23 Derivát 9.....	111
Chemická struktura 24 Základní struktura sulfonamidových derivátů testovaných v diplomové práci Franko 2021	126

SEZNAM CHEMICKÝCH ROVNIC

Rovnice 1 Prontosilová cesta	46
Rovnice 2 Disociace sulfonamidů.....	47
Rovnice 3 Klasický přístup syntézy sulfonamidů	56

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotiky vůči <i>Staphylococcus aureus</i>	112
Graf 2 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotiky vůči <i>Streptococcus pyogenes</i>	113
Graf 3 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotiky vůči <i>Enterococcus faecalis</i>	114
Graf 4 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotika vůči VRE	115
Graf 5 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotiky vůči <i>Escherichia coli</i>	116
Graf 6 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotika vůči <i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i>	117
Graf 7 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotiky vůči <i>Proteus sp.</i>	118
Graf 8 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotiky vůči <i>Salmonella enteritidis</i> (sérotyp <i>enteritidis</i>)	119
Graf 9 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotiky vůči <i>Bacillus subtilis</i>	120

Graf 10 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotika vůči <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	121
Graf 11 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotiky vůči <i>Candida albicans</i>	122
Graf 12 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotika vůči <i>Candida glabrata</i>	123
Graf 13 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotiky vůči <i>Candida krusei</i>	124
Graf 14 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotiky vůči <i>Candida tropicalis</i>	125

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Baktericidní antibiotika (zpracováno dle Yadov, Shah, Dalai et al., 2023)	36
Tabulka 2 Bakteriostatická antibiotika (zpracováno dle Uddin, Chakraborty, Khusro et al., 2021; Fernández-Villa, Aguilar, Rojo, 2019)	38
Tabulka 3 Odlišnosti mezi IDDM a NIDDM (zpracováno dle Iheagwam F.N., Iheagwam O.T, 2025)	63
Tabulka 4 Testované kmeny mikroorganismů	91
Tabulka 5 Testované komerční antimikrobiální látky	92
Tabulka 6 Nově syntetizované sulfonamidové deriváty	93
Tabulka 7 Hodnoty MIC ampicilinu	96
Tabulka 8 Hodnoty MIC cefoperazonu	97
Tabulka 9 Hodnoty MIC ciprofloxacinu	98
Tabulka 10 Hodnoty MIC ofloxacinu	99
Tabulka 11 Hodnoty MIC erythromycinu	100
Tabulka 12 Hodnoty MIC sulfamethoxazolu	101
Tabulka 13 Hodnoty MIC amfotericinu B	102
Tabulka 14 Hodnoty MIC derivátu 1	103
Tabulka 15 Hodnoty MIC derivátu 2	104
Tabulka 16 Hodnoty MIC derivátu 3	105
Tabulka 17 Hodnoty MIC derivátu 4	106
Tabulka 18 Hodnoty MIC derivátu 5	107
Tabulka 19 Hodnoty MIC derivátu 6	108

Tabulka 20	Hodnoty MIC derivátu 7	109
Tabulka 21	Hodnoty MIC derivátu 8	110
Tabulka 22	Hodnoty MIC derivátu 9	111

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

•OH	hydroxylový radikál
AD	Alzheimerova choroba (z angl. Alzheimer's disease)
AMP	ampicilin
AMR	antimikrobiální rezistence
ATP	adenosintrifosfát
BC	rakovina prsu (z angl. breast cancer)
Bcl-2	B-buněčný lymfom-2
CA	karboanhydrázové proteiny (z angl. carbonic anhydrase)
CaO ₂	peroxid vápenatý
CFU	kolonie tvořící jednotky (z angl. colony-forming unit)
CIP	ciprofloxacín
CLL	chronická lymfocytární leukemie
ClO ₂	oxid chloričitý
CNS	centrální nervová soustava
CPR	cefoperazon
CR-Ec	<i>Escherichia coli</i> produkující karbapenemázu (z angl. carbapenem-resistant <i>Escherichia coli</i>)
CRKP	<i>Klebsiella pneumoniae</i> produkující karbapenemázu (z angl. carbapenem-resistant <i>Klebsiella pneumoniae</i>)
CYP19	cytochrom P19
DABCO-DABSO	1,4-diazabicyklo-[2.2.2]oktan-bis(oxid siřičitý)
DABSO	bis(oxid siřičitý)
DEC	diarheagenní <i>Escherichia coli</i>
DHF	dihydrofolát
DM	diabetes mellitus
ECM	extracelulární matrix
EPS	extracelulární polymerní látky (z angl. extracellular polymeric substances)
ERY	erythromycin
ESBL	β-laktamázy s rozšířeným spektrem (z angl. extended spectrum β-lactamases)

EUCAST	Evropský výbor pro testování antimikrobiální činnosti (z angl. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)
FDA	americký úřad pro kontrolu potravin a léčiv (z angl. Food and Drug Administration)
Fe ²⁺	železnatý iont
Fe ³⁺	železitý iont
GAS	streptokoky skupiny A (z angl. group A <i>Streptococcus</i>)
GDM	gestační diabetes mellitus
GIT	gastrointestinální trakt
GPA	glykopeptidová antibiotika (z angl. glycopeptide antibiotics)
H ₂ O ₂	peroxid vodíku
HClO	kyselina chlorná
HGT	horizontální přenos genů (z angl. horizontal gene transfer)
IDDM	inzulin-dependentní diabetes mellitus
L-DOPA	L-3,4-dihydroxyfenylalanin (z angl. L-3,4-dihydroxyphenylalanine)
MBC	minimální baktericidní koncentrace
MDR	multirezistentní bakterie (z angl. multi drug resistant)
MDR-TB	multirezistentní tuberkulóza (z angl. multi drug resistant tuberculosis)
MF	stupeň McFarland
MFC	minimální fungicidní koncentrace
M-H agar	Mueller-Hinton agar
MIC	minimální inhibiční koncentrace
MRSA	methicilin-rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
-NH ₂	aminová skupina
NIDDM	non-inzulin-dependentní diabetes mellitus
O ₃	ozon
OFL	ofloxacin
PABA	kyselina para-aminobenzoová
PD	Parkinsonova choroba (z angl. Parkinson's disease)
PI3K	fosfatidylinositol-3-kináza
pKa	disociační konstanta
RA	revmatoidní artritida
SDZ	sulfadiazin
SLL	malý lymfocytární lymfom (z angl. small lymphocytic lymphoma)

SMX	sulfamethoxazol
SO ₂	oxid siřičitý
SUR	sulfonylurea receptory
THF	tetrahydrofolát
TiO ₂	oxid titaničitý
TMP-SMX	trimethoprim-sulfamethoxazol
UTI	katérové infekce močových cest (z angl. urinary tract infection)
UV záření	ultrafialové záření
VRE	vankomycin-rezistentní enterokok
VRSA	vankomycin-rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i>
WHO	Světová zdravotnická organizace (z angl. World Health Organization)
WO ₃	oxid wolframový
XDR	extrémně rezistentní bakterie (z angl. extensively drug resistant)
XDR-TB	extrémně lékově rezistentní tuberkulóza (z angl. extensively drug resistant tuberculosis)

ÚVOD

V současné době se setkáváme s globálním problémem, který se stále víc a víc vymyká kontrole – rezistence na antibiotika. Proces antibiotické rezistence se urychluje v důsledku nadměrného užívání antibiotik, kdy se jednotlivé mikroorganismy stávají odolnějšími vůči antimikrobiální léčbě. Zároveň ale citlivost mikroorganismů na daná léčiva s antimikrobiálními složkami není vždy jednoznačná ani v případě prvního užívání léčiva. Existuje řada léčiv, na která jsou mikroorganismy zcela rezistentní.

Cílem mnoha studií a výzkumů, je vývoj nových antimikrobiálních látek, které budou na dané mikroorganismy citlivé a pomohou koordinovat extrémní nárůst rezistence. V případě, že by takové látky nebyly vynalezeny, znamenalo by to pro lidskou populaci zásadní problém, kdy by časem postupně došlo k vymizení veškerých účinků léčivých látek.

Cílem praktické části diplomové bylo zjištění, zda nově vyvinuté sulfonamidové látky, by mohly být potencionálními antibiotiky při bakteriálních či kvasinkových infekcích. Tedy zda jsou mikroorganismy na sulfonamidové deriváty citlivé či rezistentní. Toho bylo dosaženo pomocí mikrodiluční metody, kdy byla v různých koncentracích sulfonamidových látek zjišťována minimální inhibiční koncentrace pro inhibici růstu daného mikroorganismu a také bylo hodnoceno, zda minimální inhibiční koncentrace odpovídá minimální baktericidní koncentraci prokazující úmrtí mikroorganismů.

1 ANTIBIOTIKA

Termín antibiotikum je odvozen z francouzských pojmů „antibiose“ a „antibiotique“, které popisují antagonistické chování mikroorganismů vůči sobě. Tyto pojmy byly definovány francouzským mykologem Jean Paul Vuilleminem na konci 19. století. V polovině 20. století poté Selman Abraham Waksman, americký biochemik a mikrobiolog, definoval antimikrobiální látky jako chemické látky produkované mikroorganismy se schopností inhibice růstu či usmrcení jiných mikroorganismů. (Halawa, Fadel, Al-Rabia, et al., 2024.; Mahdally, Elshiekh, Thissera et al., 2024).

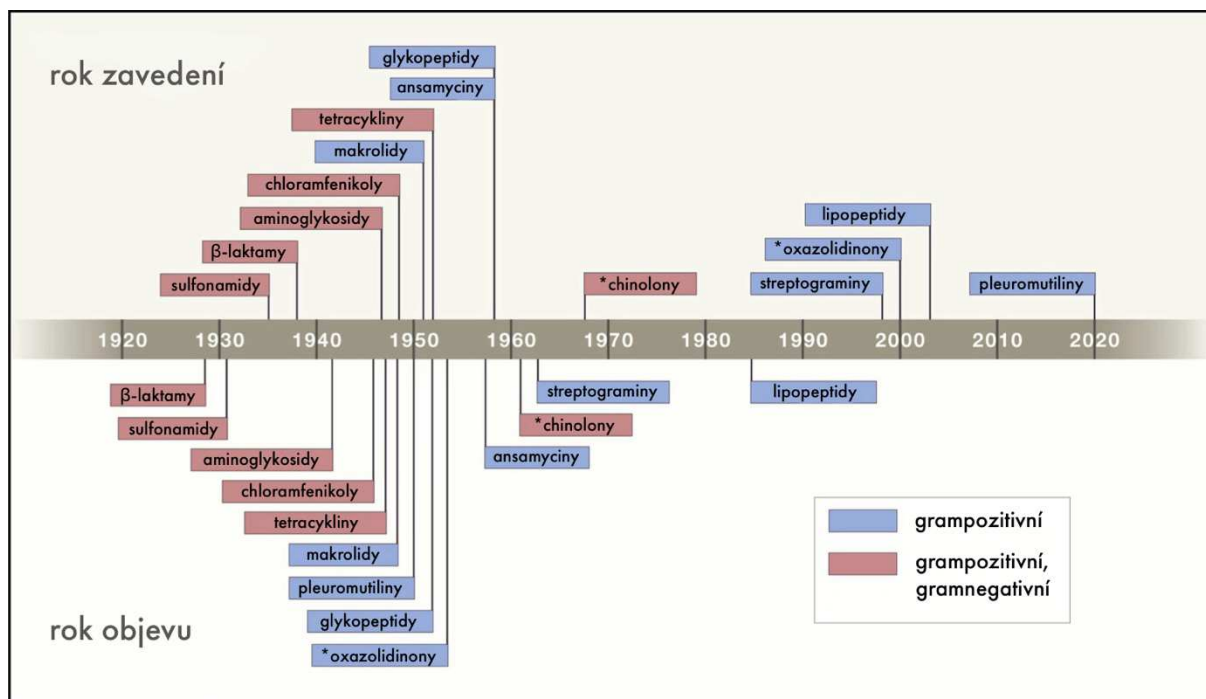
1.1 Historie

Již v minulém tisíciletí našly antibiotika jakožto produkty mikroorganismů své uplatnění, kdy ve starověkém Egyptě, Řecku a také například v Číně lidé využívali k léčbě otevřených ran zábal z plesnivého chleba. V období starověku se jednalo o přírodní antimikrobiální látky produkované mikroorganismy. Tyto látky byly součástí Eberova papyru (Hutchings, Truman, Wilkinson, 2019).

Přelom v moderní medicínu započal v 90. letech 19. století Petr Ehrlich, jehož cílem bylo vyvinutí sloučenin, jež by spočívaly v usmrcení buněk produkujících toxiny. Zásadou Ehrlicheho bylo vyvinutí chemoterapeutika na bázi arsenu – **salvarsan**. Jednalo se o první léčivo zaměřené proti bakteriím, respektive proti původci infekčního onemocnění syfilis, *Treponema pallidum*. Následná snaha o objevení nových chemoterapeutik byla inspirována Ehrlichem. Antibakteriální salvarsan byl v roce 1935 nahrazen bakteriologem Gerhardem Domagkem účinnou látkou proti streptokokovým infekcím – **prontosil**. Na rozdíl od salvarsanu, prontosil byl prvním antibakteriálním léčivem na bázi sulfonamidů. Léčiva se také ale vyznačovala společnou vlastností, kterou byla baktericidita, tedy zabíjení mikroorganismů. Sám Domagk aplikoval prontosil své dceři za účelem záchrany její paže před hrozící amputací. Problémem vyvinutých chemoterapeutik mezi 19.-20. stoletím byl ale syntetický původ (Hutchings, Truman, Wilkinson, 2019; Spagnolo, Trujillo, Dennehy, 2021).

Se sulfonamidovými antibakteriálními látkami se setkáváme dodnes, ale z velké části byly nahrazeny v 1928 prvním skutečným antibiotikem – **penicilem** (Hutchings, Truman, Wilkinson, 2019).

Časová osa znázorňující objevování antibiotik je uvedena obrázku 1:



Obrázek 1 Časová osa objevování antibiotik (upraveno dle Lewis, 2020)

1.1.1 Objev penicilinu

Objev penicilinu je připisován skotskému lékaři a bakteriologovi Alexanderu Flemingovi. Bylo tak učiněno v roce 1928 během jeho pokusů se stafylokoky. Poté, co Flemingův asistent zanechal v laboratoři otevřené okno, došlo ke kontaminaci Petriho misek s bakterií *Staphylococcus aureus* – viz obrázek 2. Přítomnost kontaminace plísní vedla k jedinému, neznámé kolonii izolovat a následně identifikovat. Skotský bakteriolog izolaci prokázal pouze obtížnou kultivaci plísně. Jeho kolegové se zaměřením na mykologii poté identifikovali plíseň, u níž se můžeme setkat s názvy jako *Penicillium notatum* či *Penicillium chrysogenum*. Nejnovějším taxonomickým názvem je *Penicillium rubens* (Ostrý, Kýrová, 2019; Spagnolo, Trujillo, Dennehy, 2021).

V místě plísňové kolonie byla viditelná zóna inhibičního růstu bakterie známé jako zlatý stafylokok. Zjištěním inhibice Fleming usoudil, že se jedná o plíseň produkující penicilin s baktericidním účinkem na *Staphylococcus aureus*. Později však byl prokázán baktericidní účinek i na odlišné bakterie a také byla prokázána nízká toxicita látky pocházející z plísně (Ostrý, Kýrová, 2019).



Obrázek 2 Kontaminovaná Petriho miska Alexandra Fleminga (upraveno dle Microbiology society, 2014)

Penicilin se podařilo izolovat vědcům z oxfordské univerzity až o 12 let později, jelikož Flemingova izolace se vyznačovala nízkou produkcí penicilinu a zároveň penicilin nebyl vhodný k průmyslové výrobě. Penicilin byl v roce 1940 izolován z plesnivého melounu cantaloupe. Za účelem zisku velkého množství penicilinu bylo upraveno složení živného média přidáním kukuřičného extraktu, tj. vedlejšího produktu extrakce kukuřičného škrobu, a také došlo k záměně glukózy za laktózu. Rok 1943 byl zlomovým rokem, kdy se penicilin začal ve Spojených státech amerických průmyslově syntetizovat a následující rok již hrál velkou roli v léčbě zraněných vojáků a civilistů. V českých zemích byl pak penicilin poprvé syntetizován v roce 1944 v tehdejší chemicko-farmaceutické továrně Benjamin Fragner (dnešní Zentiva) v Dolních Měcholupech. V tehdejší době vystupoval penicilin v českých zemích pod názvem BF Mykoin 510 (Ostrý, Kýrová, 2019).

Fleming, Florey a Chain, jenž se podíleli na izolaci penicilinu, byly oceněny Nobelovou cenou za fyziologii a medicínu v roce 1945. Jedinému Heatleymu, taktéž se podílejícímu na izolaci penicilinu, nebyla udělena Nobelova cena. Namísto toho v roce 1990 jako první nelékař obdržel čestnou vědeckou hodnost doktora lékařských věd na oxfordské univerzitě (Ostrý, Kýrová, 2019).

1.2 Současnost

Antimikrobiální látky jsou nedílnou součástí nejen léčby bakteriálních infekcí, ale také se indikují za účelem úspěšnosti léčby při invazivních operacích včetně transplantace orgánů, dále v oboru onkologie, revmatologie a dalších lékařských oborech. Důsledkem užívání

antibiotik je prodloužení průměrné délky života (Huemer, Mairpady Shambat, Brugger et al., 2020).

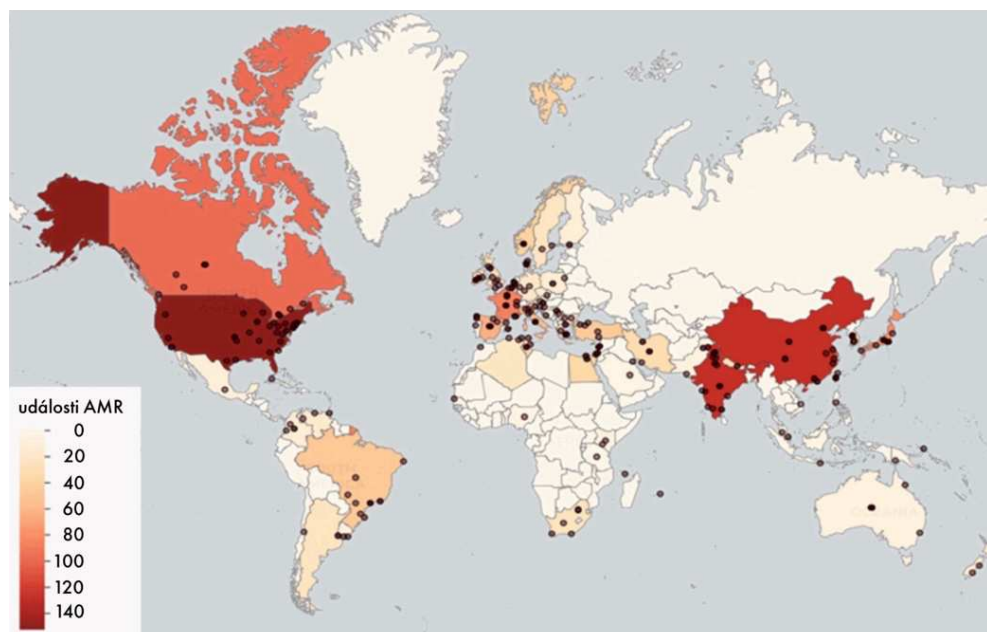
V současné době se setkáváme se stále prohlubující se globální krizí, na kterou upozorňoval již Alexander Fleming, týkající se **rezistence na antibiotika** (AMR) – viz obrázek 3. Světová zdravotnická organizace (WHO) označila AMR za jednu z deseti největších globálních hrozeb veřejného zdraví. Se zneužíváním antibiotik se zvyšuje počet mikroorganismů odolných vůči těmto terapeutickým látkám, což vede ke vzniku multirezistentních kmenů bakterií (MDR) a extrémně rezistentních bakterií (XDR). Za neodpovídavost mikroorganismů na antibiotika může také nedostatek nových antimikrobiálních terapeutických látek (Huemer, Mairpady Shambat, Brugger et al., 2020; Olawade, Fapohunda, Egbon et al., 2024).

Období pandemie COVID-19 přispěla v negativním slova smyslu k vývoji AMR na základě intenzivnějšího užívání antibiotik, jako prevencí před sekundárními bakteriálními infekcemi. V současné době situaci nezlepšuje ani vysoká mortalita či tvorba biofilmu, jež nastává při rezistenci bakterií vůči různým karbapenemázám (Ho, Wong, Aung et al., 2025).

S AMR je spojena více než čtvrtina infekcí ve zdravotnických zařízeních, dříve označované za nosokomiální nákazy. Infekce odolné vůči daným typům antibiotik ročně zabíjí přes 700 000 lidí, některé studie dokonce uvádí i větší hodnotu než 1 000 000 lidí. V roce 2018 bylo přepokládáno, že během následujících 30 let infekce zabíjí 10 000 000 infikovaných lidí za rok. O dva roky později byl vyřčen odhad počtu úmrtí v důsledku AMR již na 20 000 000 lidí. Přičemž největší riziko úmrtí představuje AMR u imunokompromitovaných pacientů. Rezistence tedy bude v blízkém časovém období velkou výzvou ve zdravotnictví (Ding, Wang, X. Zhang, et al., 2023; Lerminiaux, Cameron, 2019; Uddin, Chakraborty, Khusro et al., 2021; Gao, Chen, Yang et al., 2024).

AMR představuje negativní dopady nejen na lidské životy, ale také na ekonomiku. A to jak z výzkumného hlediska, tak i z hlediska nákladů na zdravotní péči. Výzkumy potenciálních nově syntetizovaných terapeutik jsou cenově náročné a ve spojení se zrychlením AMR má farmaceutický průmysl nižší návratnost, která může být pro společnosti fatální. Již velké množství farmaceutických společností zanechaly výzkumy a vývoj antimikrobiálních látek (Uddin, Chakraborty, Khusro et al., 2021).

Vážnější situace AMR je v zemích s nízkými a středními příjmy, jelikož v těchto oblastech dosud nebylo registrováno mnoho léčiv ze skupiny antibiotik a antimykotik. V důsledku nedostupnosti správné léčby je tak nutno přistoupit k suboptimální léčbě (Zasheva, Batcheva, Ivanova et al., 2024).



Obrázek 3 Globální distribuce událostí vzniku AMR (upraveno dle Puri, Vaishya, Vaish, 2024)

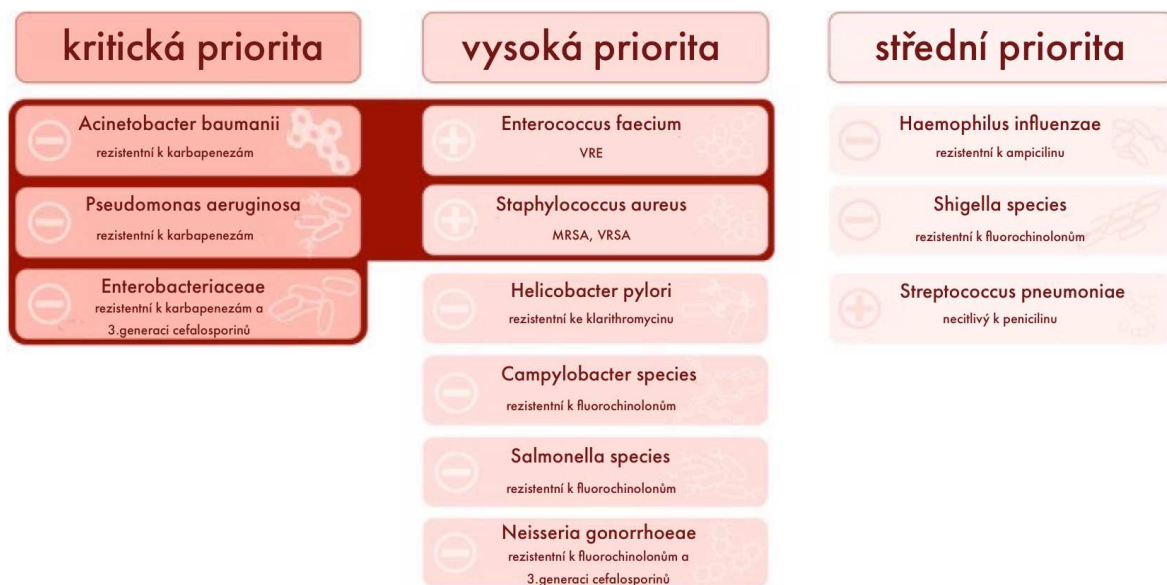
1.3 Antibiotická rezistence

Jak již bylo řečeno, AMR představuje globální problém nejvyššího stupně, který postupem času nabírá na obrátkách. Rok 2050 je odhadován za zlomový, kdy tato apokalypsa AMR bude největší výzvou ve zdravotnictví (Lerminiaux, Cameron, 2019).

Dle WHO je AMR přirozeným jevem, kdy mikroorganismy ztrácejí citlivost na daná antibiotika, jež byla v dřívější době proti nim účinná. Necitlivost má za následek zvýšené riziko šíření závažných infekčních onemocnění až úmrtí (Mancuso, Midiri, Gerace et al., 2021).

Kromě nadměrného užívání antibiotik jsou za nárůst AMR zodpovědné také faktory, jako špatná kontrola nemocničních infekcí, špatná hygiena, bezpečnější potraviny a nesmí být opomenuto hromadění antibiotik v životním prostředí (Mancuso, Midiri, Gerace et al., 2021).

V roce 2017 byl WHO zveřejněn seznam nejkritičtějších bakteriálních patogenů, které jsou skryty v názvu ESKAPE. Jedná se o následující patogeny – *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Enterobacter species* – viz obrázek 4, které jsou rezistentní vůči více antimikrobiálním látkám a mohou vyvolat smrtelné infekce, např. sepse či pneumonie. Tyto patogenní mikroorganismy jsou rozřazeny do kategorií kritické, vysoké a střední priority. (Mancuso, Midiri, Gerace et al., 2021).



Obrázek 4 Stanovení priority patogenů dle WHO (upraveno dle Walesch, Birkelbach, Jézéquel et al., 2022)

VRE – vankomycin-rezistentní Enterokok

MRSA – methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus*

VRSA – vankomycin-rezistentní *Staphylococcus aureus*

Rozlišujeme vnitřní a získanou AMR:

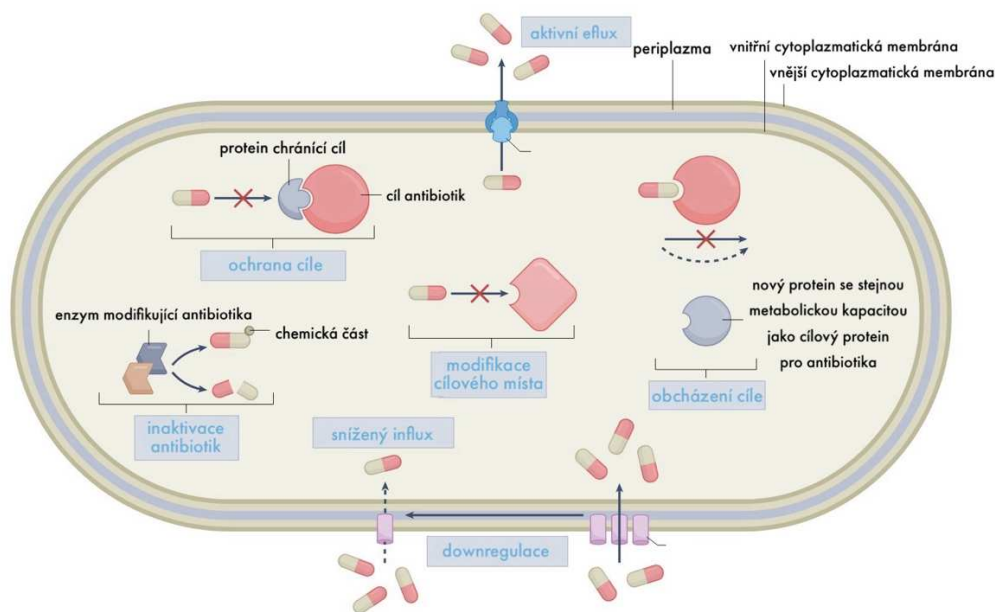
1.3.1 Vnitřní antibiotická rezistence

Pro některé bakterie je charakteristická vnitřní AMR. Jedná se o přirozenou vlastnost mikroorganismů, jež se stanou odolnými vůči danému druhu antimikrobiálních látek. Výsledkem vnitřní AMR je neúčinnost antibiotik, jež je způsobena kupříkladu neschopností průniku antimikrobiální látky přes buněčnou stěnu či membránu na základě nedostatku či naopak přítomnosti určitých struktur (Brdová, Ruml, Viktorová, 2024; Huemer, Mairpady Shambat, Brugger et al., 2020).

Vnitřní antibiotická rezistence je typická obecně pro gramnegativní bakterie, jelikož velké molekuly antimikrobiálních látek neprojdou přes cytoplazmatickou membránu (Huemer, Mairpady Shambat, Brugger et al., 2020).

1.3.1.1 Mechanismy vnitřní antibiotické rezistence

Účinnost téměř všech známých antibiotik je ovlivněna adaptivními mechanismy jako je tvorba biofilmu a také mechanismy rezistence, kam spadá snížená propustnost cytoplazmatické membrány, enzymové modifikace, degradace antibiotik či použití efluxních pump – viz obrázek 5. K rozvoji AMR dochází ve většině případů 0-6 měsíců po expozici antimikrobiálními látkám (Ho, Wong, Aung et al., 2025).



Obrázek 5 Přehled molekulárních mechanismů antibiotické rezistence (upraveno dle Darby, Trampari, Siasat et al., 2023)

Modifikace složení vnější membrány

Modifikace lipopolysacharidové membrány u gramnegativních mikroorganismů může ovlivnit propustnost či aktivitu antibiotika (Ho, Wong, Aung et al., 2025).

Enzymové modifikace

Specifické enzymy modifikují antimikrobiální látky pomocí acetylací, adenylací, fosforylací, glykosilací, hydroxylací či oxidací. Následkem je poté zabránění vazby antibiotik na cílové místa (Ho, Wong, Aung et al., 2025).

Efluxní pumpy

Součástí cytoplazmatické membrány jsou tzv. efluxní pumpy neboli transportní proteiny, jedny z hlavních složek AMR, jejichž úkolem je energeticky závislý transport živin a také vypuzení toxických látek ven z buňky. Rozlišují se efluxní pumpy specifické pro jednu antimikrobiální látku a multilékové efluxní pumpy (MEP), které cílí na více odlišných antibiotik. Efluxovanými antibiotiky jsou například fluorochinolony, cefalosporiny či β -laktamy (Ho, Wong, Aung et al., 2025; Gao, Chen, Yang et al., 2024).

Modifikace cílového místa

Neopomenutelným mechanismem rezistence je také modifikace cílového místa, kdy dochází ke znemožnění vazby antibiotika na cílové místo či původní cíl je nahrazen/antibiotikum ho obejde (Ho, Wong, Aung et al., 2024).

1.3.2 Získaná antibiotická rezistence

Získaná AMR představuje hrozbu v kontextu celosvětového AMR. Změna citlivosti mikroorganismus-antibiotikum na rezistenci je zapříčiněna genetickými změnami bakterií zejména získáním rezistentních genů prostřednictvím horizontálního přenosu genů (HGT) či spontánními mutacemi v chromozomálních genech – tzv. vertikální přenos genů (VGT) (Brdová, Ruml, Viktorová, 2024; Eisenreich, Rudel, Heesemann et al., 2022).

Staphylococcus aureus je druhem, u kterého se snadno vyvíjí získaná antibiotická rezistence pomocí zmíněných genetických změn. Modifikace zapříčiňují infekce vyskytující se v epidemických vlnách (Huemer, Mairpady Shambat, Brugger et al., 2020).

1.3.2.1 Mechanismy získané antibiotické rezistence

Horizontální přenos genů představuje hnací sílu při vývoji AMR. Za pomoci tří mechanismů – konjugace transdukce a transformace – dochází k přenosu integronů, transpozomů, plazmidů či chromozomálních genetických karet (Brdová, Ruml, Viktorová, 2024).

Konjugace

Konjugace spočívá ve spojení dvou buněk za pomoci fimbrií. Následně se vytvoří konjugační můstek, dojde k replikaci plazmidu a jeho přenosu z donorové buňky do recipienta. V nemocničním prostředí je častým mechanismem šíření AMR právě konjugace (Shi, Sun, An et al., 2024; Brdová, Ruml, Viktorová, 2024).

Transdukce

Transdukce zahrnuje přenos genetické informace z infikované buňky do buňky akceptoru. Přenos je zprostředkován bakteriofágem, do něhož se začleňuje genetická informace z infikované buňky donora (Zarei-Baygi, Smith, 2021).

Transformace

Transformace probíhá za podmínky fyziologického stavu kompetence bakterie. Recipient přijímá extrachromozomální DNA z okolního prostředí a následně se genetická informace integruje do genomu recipienta (Zarei-Baygi, Smith, 2021).

1.4 Možné výhledy do budoucna v boji proti rezistenci

Existují studie zaměřené na nové způsoby v boji proti AMR, žádné ale nejsou dostatečně komplexně analyzovány a není dostatek diskusí ohledně úspěšnosti (Gao, Chen, Yang et al., 2024):

1.4.1 Kryptické kapsy

Jedna ze zmíněných studií je zaměřena na kryptické kapsy umístěné na proteinu, které jsou schopny zasahovat do alosterické modifikace (tvar, funkce), a to i přes vzdálenější umístění od primární domény. Alosterická modifikace poskytuje potenciální cíl pro návrh nových léčiv. Syntéza strukturálně nových sloučenin zasahujících do kryptických kapes a jejich následné testování by mohly potencionálně být jedním z řešení v boji proti AMR (Gao, Chen, Yang et al., 2024).

1.4.2 Fágová terapie

Mezi jednu z nejslibnějších alternativ podávání tradičních antibiotik se řadí léčebný přístup, jež je byl znám již před objevením antibiotik. Jedná se o fágovou terapii, která se v důsledku globální krize postupně stává předmětem zájmu v boji proti rezistenci. Bakteriofágy jsou virové částice, které cílí na bakterie a způsobují jejich infekci. Výhodou fágů je jejich vysoká specifita, kdy se zaměřují na jeden druh či specifický kmen bakterií. V praxi přístup zahrnuje aplikaci fágů a jejich následný lytický cyklus. Po připojení fágu k cílové bakterii vir předá genetický materiál do bakteriální buňky. Dojde k přeprogramování bakterie v důsledku unesení bakteriálního aparátu, kdy fágový materiál přeprogramuje bakterii, za účelem tvorby nových virových částic. Posledním krokem mechanismu působení bakteriofágu je replikace virových částic. Lytický cyklus je zakončen lýzou bakterie, jež je spojena s uvolňováním nových virových částic cílených na další bakteriální buňky. Mimo vysokou specifitu je fágová terapie výhodná také z důvodu nižší náchylnosti k rozvoji AMR či z důvodu schopnosti pronikat skrze biofilmy. Pro fágovou terapii je oproti konvenčním antibiotikům typické nižší riziko narušení lidského mikrobiomu (Olawade, Fapohunda, Egbon et al., 2024).

1.4.3 Umělá inteligence

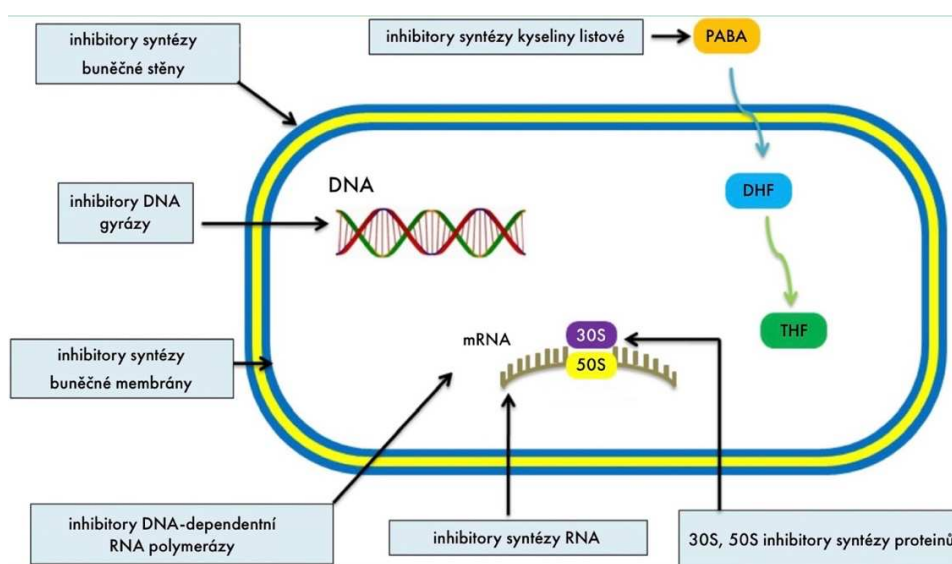
Nejen vzhledem k dlouhotrvajícímu vývoji antibiotik, náročnosti na ceně a také náchylnosti na selhání, je umělá inteligence jedním z řešení. Mezi lety 2014-2019 bylo prokázáno pouhých 14 nově syntetizovaných a následně schválených léčivých antimikrobiálních látek. Úkolem umělé inteligence spolu se strojovým učením by byl urychlený vývoj terapeutik s novými mechanismy účinku (Melo, Maasch, de la Fuente-Nunez, 2021).

Pozitivní vliv algoritmů umělé inteligence spočívá nejen v urychlení vývoje látek, ale také v nižší cenové náročnosti. Zmíněné faktory poté umožňují dřívější zahájení preklinických a klinických testovacích fází potencionálních antimikrobiálních látek (David, Brata, Mogosan et al., 2021).

Existují také ale omezení strojového učení, jelikož objev antibiotik je náročný proces zahrnující bakteriální a lidskou fyziologii, farmakodynamiku a také farmakokinetiku. Za účelem správného fungování strojové učení vyžaduje obrovské množství kvalitních dat pocházejících z výzkumných laboratoří a také nesmí být opomenuta výpočetní plynulost pro realizaci správných algoritmů (Lluka, Stokes, 2023).

1.5 Dělení antibiotik dle účinku

Antimikrobiální látky dělíme dle jejich účinku působení na mikroorganismy – viz obrázek 6. A to na baktericidní a bakteriostatická.



Obrázek 6 Způsoby účinku antibiotik (upraveno dle Uddin, Chakraborty, Khusro et al., 2021)

mRNA – messenger RNA

PABA – kyselina para-aminobenzoová

DHF – dihydrofolát

THF – tetrahydrofolát

1.5.1 Baktericidní antibiotika

Baktericidní antibiotika se vyznačují svým působením, při kterém dochází k usmrcení mikroorganismů, proti kterým jsou daná antibiotika namířena. Do této skupiny spadá většina antimikrobiálních látek působících na mikroorganismy. Dle mechanismu účinku mohou být rozděleny následně – viz souhrnná tabulka 1 na konci podkapitoly 1.5.1:

1.5.1.1 Antibiotika inhibující syntézu buněčné stěny

Inhibicí syntézy hlavní složky buněčné stěny, peptidoglykanu, se buňka stává citlivou vůči osmotickému tlaku a samovolnému rozkladu (autolýza) (Uddin, Chakraborty, Khusro et al., 2021).

1.5.1.1.1 β -laktamová antibiotika

Mezi antimikrobiální látky s baktericidním účinkem řadíme například **cefalosporiny**, **penicilin**, **karbapenemy** či **monobaktamy**. Všechny tyto chemické látky spadají do tzv. β -laktamových antibiotik, látek jejichž základem je β -laktamový kruh. Některé gramnegativní mikroorganismy (*Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*) se mohou vyznačovat produkcí enzymů β -laktamáz, které jsou zodpovědné za rezistenci zmíněných bakterií na tuto skupinu antibiotik (Uddin, Chakraborty, Khusro et al., 2021).

1.5.1.1.2 Glykopeptidová antibiotika

Další skupinou antimikrobiálních látek působících na buněčnou stěnu mikroorganismů jsou glykopeptidová antibiotika (GPA). Dle názvu lze usoudit, že se jedná o peptidová antibiotika původem z jednobuněčných mikroorganismů, aktinomycet. Do této skupiny je řazeno například antibiotikum **vankomycin**, které je zaměřeno na infekce způsobené multirezistentními grampozitivními bakteriemi. V současné době se výzkumy zaměřují na vývoj GPA druhé generace, kdy se jedná o chemicky modifikované GPA látky první generace (vankomycin). Vývoj probíhá za účelem zvýšení stability GPA a snížení toxicity či rezistence. Příkladem antimikrobiální látky GPA druhé generace odvozené od vankomycinu je **telavancin** (Hansen, Stegmann, Cryle, 2022).

1.5.1.2 Antibiotika inhibující funkci buněčné membrány

Antimikrobiální látky **polymyxiny** či **kolistin** spadají do této malé skupiny baktericidních antibiotik. Strukturně se jedná o lipopeptidy produkované grampozitivní bakterií *Paenibacillus polymyxa*. Vzájemně se odlišují substituenty v poloze 6, přičemž polymyxin B má zde fenylalanin. V případě kolistinu se setkáváme s leucinem v poloze 6. Inhibice funkce

buněčné membrány je uskutečněna lyzí bakteriální membrány, kdy je její stabilita narušena vytěsněním Ca^{2+} a Mg^{2+} po navázání antibiotika na lipopolysacharid vnější membrány. Dochází ke změně propustnosti membrány a postupně uniká buněčný obsah. Důsledkem je smrt bakterií. Zároveň některé studie naznačují i jiné mechanismy, například pomocí tvorby hydroxylových radikálů ($\bullet\text{OH}$). Využívanými polymyxiny jsou polymyxin B a E. Oba druhy látek inhibujících funkci buněčné membrány vykazují účinnost proti aerobním gramnegativním bakteriím (včetně většiny bakterií čeledi *Enterobacteriaceae*), *Pseudomonas aeruginosa* či proti rodu *Acinetobacter* (Uddin, Chakraborty, Khusro et al., 2021; Rodríguez-Santiago, Cornejo-Juaréz, Silva-Sánchez et al., 2021).

1.5.1.3 Antibiotika inhibující syntézu proteinů

Klíčovými organelami pro syntézu proteinů jsou ribozomy, kde probíhá translace genetické informace.

Prokaryotický ribozom označovaný 70S se skládá z 30S a 50S podjednotek (Uddin, Chakraborty, Khusro et al., 2021).

Některá antibiotika zacílená na 30 S či na 50S podjednotku se řadí mezi bakteriostatická, a budou rozebrána ve stejnojmenné podkapitole – bakteriostatická antibiotika.

1.5.1.3.1 Inhibitory 30S podjednotky

Mezi inhibitory ribozomální podjednotky 30S jsou řazeny aminoglykosidy a tetracykliny, přičemž tetracykliny spadají do skupiny bakteriostatických antimikrobiálních látek. **Aminoglykosidy** první generace byly širokospektrými látkami, tuto vlastnost ale v současné době vlivem vývoje rezistence postupně ztrácejí. Z tohoto důvodu byla zavedena druhá generace, jejíž cílem byla menší náchylnost na rezistenci. V roce 2022 tvořila aminoglykosidová antibiotika pouhé 3 % celosvětového trhu s antibiotiky. Pokles je z důvodu zavedení antimikrobiálních širokospektrálních látek s méně závažnými vedlejšími účinky. Výrazným omezením aminoglykosidů je vysoké riziko nežádoucích účinků, jako například nefrotoxicita. Jejich mechanismem účinku je podpora chybné translace kodonů vedoucí k produkci chybných proteinů. Mezi veřejně známé aminoglykosidy se řadí gentamicin. (Deja, 2024).

1.5.1.4 Antibiotika inhibující syntézu nukleových kyselin

Rifamycin či fluorochinolony jsou druhy antibiotik inhibující syntézu nukleových kyselin. Zatímco cílovým enzymem u **rifamycin (rifampin)** je DNA-dependentní RNA

polymeráza zahajující transkripci, cílem **fluorochinolonů** je vazba na DNA gyrázu a topoizomerázu IV, čímž se zabrání v replikaci DNA (deoxyribonukleová kyselina). Konečným důsledkem jsou zlomy ve dvouřetězcové DNA (Baquero, Levin, 2021).

Pozoruhodností rifampinu je jeho škála použití. Nejen že je účinný u *Staphylococcus aureus* či *Escherichia coli*, ale také u obtížně kultivovatelného druhu *Mycobacterium tuberculosis*. Fluorochinolony se v současné době využívají k léčbě různých druhů infekcí, od infekcí dýchacích cest až po infekce kloubů apod (Tang, Zhao, 2022).

	Účinek	Skupina antibiotik	Druh antibiotika	Mechanismus působení
Baktericidní antibiotika	Buněčná stěna	β-laktamová antibiotika	Cefalosporiny (cefoperazon)	Blokování polymerace, zesílení peptidoglykanu buněčné stěny – vazba <u>na enzymy</u>
			Peniciliny (oxacilin, penicilin)	
	Cytoplazmatická membrána	Glykopeptidy	Vankomycin, telavancin	Blokování polymerace, zesílení peptidoglykanu buněčné stěny – vazba <u>na substrát</u>
		Polymyxiny	Polymyxin B	Zvýšení propustnosti membrány
	Proteiny	Aminoglykosidy	Kolistin	Vytěsnění Ca ²⁺ , Mg ²⁺ → narušení trojrozměrné struktury membrány
			Gentamicin	Inhibice 30S → inhibice translokace rRNA
	Nukleové kyseliny	Fluorochinolony	Rifampicin	Inhibice DNA-gyrázy → zábrana syntézy RNA
2. generace (ciprofloxacin) 3. generace (ofloxacin)			Inhibice gyrázy a topoizomerázy IV	

Tabulka 1 Baktericidní antibiotika (zpracováno dle Yadov, Shah, Dalai et al., 2023)

1.5.2 Bakteriostatická antibiotika

Bakteriostatickými antibiotiky se rozumí antimikrobiální látky se schopností inhibovat růst mikroorganismů způsobujících infekce, na rozdíl od baktericidních látek, které usmrcují mikroorganismy.

Snížení bakteriálních infekcí je způsobeno například zásahem do biochemických procesů, inhibicí tvorby biofilmu, zamezením bakteriální invaze do imunitních buněk či blokadí infiltrace bakteriálních toxinů (Li D., Su, Li J., 2023).

Souhrnná tabulka 2 zahrnující bakteriostická antibiotika je uvedena v závěru podkapitoly 1.5.2.

1.5.2.1 Antibiotika inhibující syntézu proteinů

1.5.2.1.1 Inhibitory ribozomální podjednotky 30S

Tetracykliny představují účinná bakteriostatická širokospektrální antibiotika, která zabraňují připojení aminoacyl-tRNA na akceptorové místo lokalizované na ribozomu (Rong, Huang, Lin et al., 2024).

Jedná se o nejrozšířenější veterinární antibiotika, které se mimo jiné aplikují jako stimulatory růstu hospodářských zvířat a také za účelem zlepšení využití krmiva. Hnojiva či zavlažování odpadními vodami ztělesňují zdroje tetracyklinů v zemědělské půdě (Wang Z., Li Y., Wang J. et al., 2024).

1.5.2.1.2 Inhibitory ribozomální podjednotky 50S

Příklady bakteriostatických antibiotik inhibující syntézu proteinů, jejichž cílem je inhibice ribozomální podjednotky 50S, jsou makrolidy, amfenikoly či oxazolidinony.

Základním stavebním kamenem **makrolidů** je laktonový kruh obohacený postranními řetězci, jenž je klíčový pro interakci mezi antibiotiky a ribozomální RNA (rRNA). Mechanismus působení makrolidové skupiny antimikrobiálních látek spočívá v inhibici procesu translace, kdy vlivem vazby antibiotika v blízkosti centra enzymu peptidyltransferázy v ribozomální podjednotce 50S je znemožněn výstup vznikajícího polypeptidu výstupním tunelem v ribozomu. Přičemž vysoká koncentrace makrolidů může vyústit v baktericidní aktivitu. Svým širokým spektrem aktivity jsou vhodné k různým typům infekcí (Krawczyk, Leśniczak-Staszak, Gowin et al., 2024; Nor Amdan, Shahrulzamri, Hashim et al., 2024).

Amfenikoly respektive nejznámější druh **chloramfenikol** je účinný proti infekcím většiny anaerobních bakterií. Chloramfenikol je celosvětově využíván pro léčbu oftalmologických infekcí. V současné době je ale na ústupu z důvodu jeho toxického působení. Nejčastějšími a nejzávažnějšími toxickými komplikacemi je útlum kostní dřeně a hemolytická anémie. V menší míře se mohou objevit neurologické či srdeční potíže (Bale, Elebesunu, Manikavasagar et al., 2023; Reissier, Penven, Guérin et al., 2023).

Florfenikol, derivát chloramfenikolu, je prozatím efektivní náhradou díky dobré penetraci do tkání, rychlé absorpci, minimálních vedlejších účinků, dobré ceně a také díky své účinnosti na infekce způsobené jak grampozitivními, tak gramnegativními bakteriemi. Derivát se stal nejpoužívanějším antibiotikem ve veterinární péči a oblasti akvakultury. Produkce a spotřeba v posledních desetiletích výrazně vzrostla, a to je důvod k výraznějším obavám týkajících se účinků a možných rizik (Guo, Chen, Tong et al., 2024).

Oxazolidinony stejně jako makrolidy a amfenikoly inhibují proces translace, a to blokadou připojení transferové RNA (t-RNA) k ribozomu. Své využití mají při léčbě infekcí způsobených grampozitivními bakteriemi rezistentními na jiná antibiotika, např. *MRSA*, *VRE*. Zároveň oxazolidinony představují účinná terapeutika při infekci acidorezistentními tyčinkami *Mycobacterium tuberculosis*, jež je v současné době celosvětově na vzestupu. Nejznámějším oxazolidinonem používaným při léčbě tuberkulózy je linezolid, který je využíván při léčbě

multirezistentní tuberkulózy (MDR-TB) včetně extrémně lékově rezistentní tuberkulózy (XDR-TB). (Edwards, Field, 2022).

Linezolid v kombinaci s jinými látkami zmírnil globální hrozbu rezistentní tuberkulózy, avšak je otázkou času, jak dlouho tyto léky budou úspěšné vůči MDR-TB a XDR-TB (Pedersen, Rudolf, Johansen et al., 2024).

1.5.2.2 Antibiotika inhibující metabolické dráhy

Úkolem antibiotik inhibujících metabolické dráhy je kontrola bakteriálních infekcí spočívající v schopnosti antibiotik fungovat jako antimetabolity či vystupovat jako kompetitivní inhibitory metabolických enzymů. Metabolismus kyseliny listové je spojován s vitamínem B12 a je důležitý pro syntézu proteinů a nukleových kyselin, to znamená že taktéž i pro syntézu DNA. Nejznámějšími léčivy inhibující metabolismus kyseliny listové jsou **sulfonamidy** a **trimethoprim**. Trimethoprim se vyznačuje bakteriostatickým účinkem na bakterie. Inhibuje enzym dihydrofolátreduktázu, za jehož katalýzy dochází k přeměně dihydrofolátu (DHF) na tetrahydrofolát (THF). U kojenných dětí nebyly prokázány nežádoucí účinky. Mezi sulfonamidy řadíme například sulfamethoxazol. Vzhledem k tomu, že tyto látky inhibují odlišné kroky metabolické dráhy vitamínu B9, podává se kombinace těchto látek. V tomto případě se kombinace trimethoprim-sulfamethoxazol (TMP-SMX) považuje za baktericidní antimikrobiální látku (Uddin, Chakraborty, Khusro et al., 2021).

Kombinace TMP-SMX (označovaný také jako co-trimoxazol) je první volbou při léčbě infekcí močových cest u dospělých. Zároveň je také první volbou v případě oportunních infekcí u imunosuprimovaných pacientů, zvláště při osídlení organismu *Pneumocystis jirovecii*, běžného patogenu u oslabených pacientů, způsobující pneumonie (Teran Plasencia, Ashraf, 2024; Lee, Lam, Bacchi et al., 2024).

	Účinek	Skupina antibiotik	Druh antibiotika	Mechanismus působení
Bakteriostatická antibiotika	Proteiny	Tetracykliny	Doxycyklin	Inhibice 30S → blokáce vazby aminoacyl-tRNA na komplex mRNA-ribosom
		Makrolidy	Erythromycin	Inhibice 50S → zábrana výstupu vznikajícího peptidu výstupním tunelem v ribosomu
		Amfenikoly	Chloramfenikol, florfenikol	Inhibice 50S → zábrana tvorby peptidové vazby a translokace aminokyselin
		Oxazolidinony	Linezolid	Inhibice 50S → zábrana rozvoje funkčního iniciačního komplexu – zábrana replikace bakterií
	Metabolické dráhy	Sulfonamidy	Sulfomethoxazol	Inhibice dihydropteroát syntázy → zábrana přeměny dihydropteroát pyrofosátu na dihydropteroát
			Trimethoprim	Inhibice dihydrofolátreduktázy → zábrana přeměny DHF na THF

Tabulka 2 Bakteriostatická antibiotika (zpracováno dle Uddin, Chakraborty, Khusro et al., 2021; Fernández-Villa, Aguilar, Rojo, 2019)

1.6 Stanovující se parametry při testování citlivosti

Klíčovým parametrem analyzujícím se při testování citlivosti, respektive účinnosti antimikrobiálních látek je minimální inhibiční koncentrace (MIC). Následně může být doplněn zjištěním minimální baktericidní koncentrace (MBC). Oba tyto druhy koncentrací se udávají v jednotkách mg/l.

1.6.1 Minimální inhibiční koncentrace

Bezpochyby nejdůležitějším parametrem při stanovení citlivosti ať už nově syntetizovaných potenciálních antimikrobiálních látek či běžně používaných antibiotik je MIC. MIC je definovaná jako minimální koncentrace, která způsobí v médiu inhibici růstu daného mikroorganismu v přítomnosti testovaného antibiotika.

1.6.2 Minimální baktericidní koncentrace

Oproti MIC, MBC značí nejnižší koncentraci antibiotika, jež způsobí úmrtí mikroorganismu (v tomto případě bakterie) v médiu obsahující tuto antimikrobiální látku. Úmrtí 100 % bakterií se projeví po subkultivaci bakterií v médiu obsahující danou antimikrobiální látku na agaru, kdy nejsou zřetelné žádné známky růstu mikroorganismu (Lawani, Bayode, Sadibo et al., 2024).

V případě testování citlivosti antibiotik na kvasinky se jedná o minimální fungicidní koncentraci (MFC).

1.7 Metody stanovení citlivosti na antibiotika

Základem pro účinnou terapii je volba správného léčiva. Pomocí testování sensitivity mikroorganismů na dané antimikrobiální látky se prokazuje schopnost růstu mikroorganismů v prostředí antibiotik.

V případě **kvalitativních** metod se prokazuje vznik inhibiční zóny, jejíž průměr se poté měří v řádech milimetrů. Naopak **kvantitativní** metody se zaměřují na stanovení MIC.

Metody stanovení citlivosti na antimikrobiální látky jsou standardizovány organizacemi jako jsou Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), International Organization for Standardization (ISO) či organizací EUCAST (European committee on antimicrobial susceptibility testing) (Schumacher, Vraanken, Malhotra et al., 2017).

V posledních letech se pokrok ve využívání umělé inteligence nevyhnul ani oblasti mikrobiologie. Umělá inteligence je schopna zhodnotit mikroskopické snímky či morfologii kolonií bakterií. Dále představuje vhodnou pomoc laboratořím bez moderních automatizovaných přístrojů pro testování citlivosti na antibiotika. Pomoc spočívá v interpretaci

výsledků testování. Kupříkladu existuje mobilní aplikace „Antibiogo“, jež je možno využít pro interpretaci výsledků diskové metody stanovení citlivosti na antimikrobiální látky. Vyhodnocení je umožněno na základě rozpoznávání obrazu (Gerada, Harper, Howard et al., 2024).

1.7.1 Difúzní metody

Difúzní metody jsou označovány za metody kvalitativní, jež prokazují růst mikroorganismů v prostředí daného antibiotika. Principem vyhodnocení difúzních metod je měření inhibičních zón v prostředí mikroorganismu s testovaným antibiotikem. Společnost EUCAST vydává v pravidelných intervalech aktualizované hraniční rozmezí citlivosti, respektive rezistence na antibiotika. Nejvhodnější půdou k testování citlivosti antibiotik je Mueller-Hinton agar (M-H agar).

1.7.1.1 Disková difúzní metoda

Disková difúzní metoda představuje konvenční fenotypovou metodu vyznačující se jednoduchostí a nákladovou efektivitou. Metoda poskytuje spolehlivé výsledky, a i přes přítomnost automatizovaných strojů (např. VITEK-2) je velice často využívanou metodou v mikrobiologických laboratořích. Přesnost a reprodukovatelnost výsledků závisí na kvalitě používaných kultivačních médií a disků obsahujících antimikrobiální látky (Rivera, Viñado, Benito et al., 2023).

Prvním krokem je nanesení vytvořené bakteriální suspenze buněk o 0,5 MF (stupeň McFarland) na M-H agar. Následně jsou aplikovány disky s antibiotiky na agar v dostatečném rozestupu. Rozestup je zcela zásadní pro zamezení vzájemné interference mezi látkami. Agarové plotny jsou inkubovány při teplotě 35 ± 1 °C, 18 ± 2 h (platí pro kultivačně nenáročné bakterie). V případě kultivačně náročných bakterií jsou kultivační podmínky upraveny. Následně jsou po inkubaci hodnoceny průměry inhibičních zón v jednotkách milimetrů pomocí pravítka/měřítka a srovnány s hranicemi citlivosti (rezistence) udávanými společností EUCAST (EUCAST, 2025).

Jelikož se jedná o kvalitativní metodu, z hodnocení inhibičních zón získáme pouze informaci o citlivosti či rezistenci mikroorganismu na testované antimikrobiální látky, nikoliv hodnoty MIC – viz obrázek 7 (Li K., Zhong, Li P. et al., 2023).

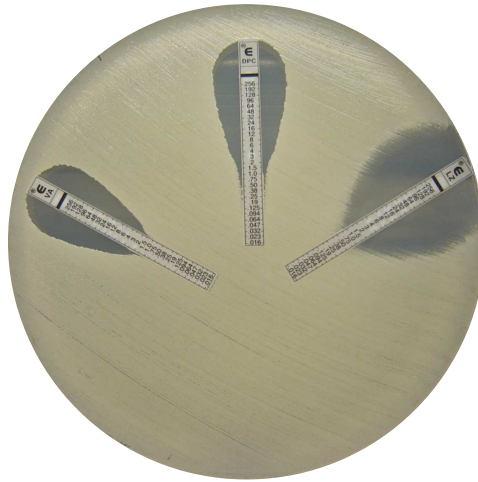


Obrázek 7 Disková difúzní metoda (upraveno dle Liang, Wu, Han et al., 2019)

Disky s písmeny označují antimikrobiální látky: E – penicilin, F – cefazolin, G – tetracyklin, H – karbenicilin. Vyhodnocením získáme informace o citlivost testované bakterie na tetracyklin a karbenicilin, a naopak necitlivost na penicilin a cefazolin.

1.7.1.2 E-test

E-test se provádí podobně jako disková difúzní metoda a je její rozšířenou verzí. Rozdílem je aplikace plastového proužku s koncentračním gradientem antibiotického činidla. Na tomto základě lze test zařadit také mezi testy kvantitativní. Během inkubace dochází k difúzi léčiva z proužku do agarového média a k následné interakci antibiotikum-mikroorganismus. Po 24hodinové inkubaci se poté interpretuje, zda je mikroorganismus k danému antibiotiku citlivý, rezistentní či intermediární (není jasně citlivý ani jasně rezistentní). Kvantitativní vyhodnocení nám udává přímou hodnotu MIC, kdy MIC odpovídá nejnižší koncentraci na plastovém proužku v místě protnutí s vytvořenou inhibiční zónou – viz obrázek 8. MIC je udávána v jednotkách $\mu\text{g/ml}$ (odpovídá mg/l). Výhodou oproti diskové difúzní metodě je stabilita koncentračního gradientu po dobu až 20 hodin, vhodnost použití pro většinu bakterií (aerobní, anaerobní, kultivačně náročné bakterie) a získání přesné hodnoty MIC. Naopak nevýhodou je vyšší nákladnost na provedení testu (Schumacher, Vranken, Malhotra et al., 2018).



Obrázek 8 Stanovení MIC metodou E-test *Staphylococcus aureus* na vankomycin, daptomycin a linezolid na M-H agaru (upraveno dle Jorgensen, Ferraro, 2009)

Provedením E-testu byla zjištěna MIC vankomycinu na *Staphylococcus aureus* cca 1,5 mg/l, daptomycinu cca 0,25 mg/l a v případě linezolidu 0,75 mg/l.

1.7.2 Diluční metody

Cílem dilučních metod je zjištění MIC, tedy minimální koncentrace antimikrobiální látky, která dokáže zastavit růst bakterií.

Ve srovnání s difúzními metodami se metody diluční vyznačují vysokou přesností a specifičností, a to díky měření přesných hodnot MIC. Naopak nevýhodou dilučních metod je cena a časová náročnost, jelikož je třeba připravit antibiotika a také je součástí více laboratorních kroků (Vařeková, 2025).

U testování účinků citlivosti antibiotik nesmí chybět pozitivní a negativní kontrola k posouzení správného provedení testu.

Diluční metody lze rozlišit na makro a mikrodiluci:

1.7.2.1 Makrodiluce

Pro makrodiluční testování je charakteristická práce ve zkumavkách, kdy se pracuje s objemy 1-10 ml. Mezi nevýhody makrodiluce spadají nejen potřebné vysoké objemy média, ale také více využitého prostoru v inkubátoru a větší pracnost. Objemy, se kterými se pracuje představují rizikové faktory ke tvorbě chyb, jelikož není možné použít vícekanálovou pipetu (Hulankova, 2024).

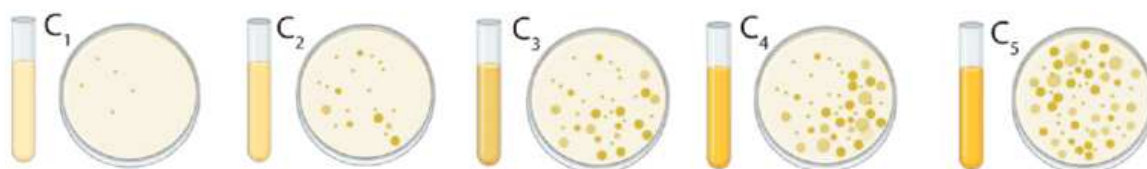
Do makrodilučních metod spadá metoda ředění agarů či makrodiluční bujónová metoda (viz. obrázek 9), jež funguje principiálně velmi podobně jako mikrodiluční bujónová metoda.



Obrázek 9 Makrodiluční bujónová metoda (upraveno dle Feßler, Wang, Burbick et al., 2023)

1.7.2.1.1 Metoda ředění agaru

Již dle názvu metody lze usoudit, že používaným médiem je zde agarová plotna. K získání hodnot MIC je zapotřebí, aby agarové plotny obsahovaly koncentrační gradient daného testovaného antibiotika. Následujícím nezbytným krokem je inokulace testovaného mikroorganismu na povrch plotny. MIC je vyhodnocena na základě inhibice růstu mikroorganismu na Petriho misce – viz obrázek 10. Výhodou metody ředění agaru je možnost testování citlivosti antibiotik na více mikroorganismů. Oproti tomu bujónové metody umožňují testovat více antimikrobiálních látek vůči jednomu mikroorganismu (Hossain, 2024).



Obrázek 10 Vyhodnocení metody ředění agaru (upraveno dle Correa, Martínez, Patiño Vidal et al., 2020)

Metoda ředění agaru, přičemž $c_1 > c_2 > c_3 > c_4 > c_5$.

1.7.2.2 Mikrodiluce

Na rozdíl od makrodiluce, mikrodiluce pracuje s výrazně menšími objemy a to $\leq 500 \mu\text{l}$. Zároveň také se odlišuje pracovním prostředím, jelikož nejčastěji používané objemy $100 \mu\text{l}$ se dávkuje do 96 jamkové mikrotitrační destičky. Všeobecně je mikrodiluční testování výhodnější z hlediska ekonomie i reprodukovatelnosti. Nicméně existují studie, které nastiňují možné ovlivnění výsledku testu přechodem par mezi jamkami (Hulankova, 2024).

1.7.2.2.1 Mikrodiluční bujónová metoda

Mikrodiluční bujónová metoda je založena na testování hojného počtu antibiotik, kdy v každé jamce probíhá reakce různých koncentrací antibiotik s vybranými testovanými mikroorganismy. Vizuálním vyhodnocením, popřípadě fotometricky se získají hodnoty MIC. Naopak hodnoty MBC jsou charakterizovány po subkultivaci bakterií z mikrotitrační destičky na M-H agaru. V případě práce s kvasinkami se jedná o minimální fungicidní koncentraci (MFC), jejíž definice odpovídá MBC s jediným rozdílem v ohledu na testované mikroorganismy. Běžnou půdou pro testování MFC je Sabouraud agar (Sanchez Armengol, Harmanci, Laffleur, 2021).

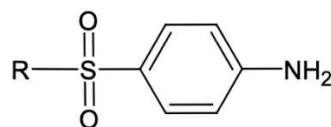
Stejně jako je mikrodiluční stanovení výhodnější než makrodiluční, i u bujónové metody platí, že se jedná o výhodnější metodu oproti té agarové.

Tato metoda je předmětem experimentální části diplomové práce, jejíž cílem je stanovení citlivosti nově syntetizovaných sulfonamidových derivátů na vybrané mikroorganismy.

2 SULFONAMIDY

Sulfonamidy, skupina antimikrobiálních látek, představují organické sloučeniny, jež mohou být odvozeny například od kyseliny para-aminobenzoové (Nunes, Manaia, Kolvenbach et al., 2020).

Základním stavebním pilířem chemické struktury u sulfonamidových antimikrobiálních látek je sulfonamidová či sulfonylová skupina vázající se na alifatickou, aromatickou či heterocyklickou strukturu – viz chemická struktura 1. Sulfonamidové deriváty nelze v oblasti lékařské chemie opomíjet, jelikož představují významnou skupinu léčivých přípravků dominantně využívaných v zemědělství a farmacii (Kumar Verma, Verma, Xue et al., 2020; Rana, Kumar, Dhiman et al., 2023).



Chemická struktura 1 Obecný vzorec sulfonamidů

Výrazné vlastnosti tzv. arylsulfonamidové skupiny, kdy dochází k vazbě sulfonamidové funkční skupiny na aromatické jádro, byly centrem pozornosti při návrhu léčivých látek. A to zejména těch, jež byly zaměřené na strukturně rozmanité cíle lokalizované na povrchu buňky – buněčná membrána či na intracelulární cíle včetně těch lokalizovaných v buněčném jádře (Blicharz-Futera, Kamiński, Grychowska et al., 2025).

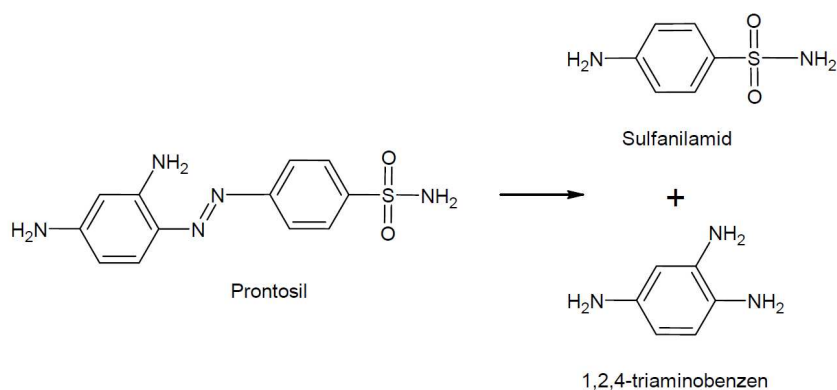
2.1 Historie

První sulfonamidová látka byla syntetizována v roce 1908 Paulem Gelmonem, jenž v tomto období prováděl výzkum týkajících se azobarviv. Následoval objev barviv obsahujících sulfonylovou skupinu panem Hoerliem ve spolupráci s jeho kolegy. Barviva se vyznačovala afinitou k proteinům vlněných a hedvábných vláken. Objev pana Hoerliha et al. se stal základním pilířem pro pana Eisenberga, který se zasloužil o objev azobarviva chrysolidin v roce 1913. Jelikož do roku 1930 nebyly známy léčebné vlastnosti sulfonamidů, bývá v mnoha recenzovaných článcích první zmínka o sulfonamidech datována až do roku 1935, kdy byl objeven prontosil. Některé články uvádějí, že prontosil byl první léčebnou látkou na bázi sulfonamidů proti streptokokové infekci. Nicméně v podrobněji rozebíraných zdrojích je zmínka o zkoumání antibakteriálních vlastností prontosilu, kdy bylo zjištěno,

že antibakteriální vlastnosti nejsou charakteristické pro prontosil, ale pro sulfanilamid, hlavní metabolit prontosilu (Pervaiz, Riaz, Saeed, 2020).

Gerhardu Domagkovi byla v roce 1939 udělena Nobelova cena za fyziologii a lékařství za jeho počin objevení prontosilu. Vlivem nacistického režimu v tehdejší době byl ale Domagk německými úřady donucen ocenění odmítnout. V roce 1947 obdržel ale ocenění ve formě medaile a diplom (Wainwright, Kristiansen, 2011; The Nobel Prize, b.r.).

Zásluhu na zjištění, že prontosil vystupuje jako proléčivo, jenž v těle podléhá endogenní redukci za vzniku sulfanilamidu, má Ernest Fourneau. Odborně nazývaná prontosilová cesta byla identifikována v roce 1936 a je znázorněna níže – viz rovnice 1 (Jayashree, Nikhil, Paul, 2022):



Rovnice 1 Prontosilová cesta

Průkaz antibakteriální povahy na základě realizace sulfanamidového skeletu odstartoval řadu syntéz nových derivátů. Jedním z klinicky účinných byl sulfapyridin podáván v roce 1943 Winstonu Churchillovi, kterému byla diagnostikována pneumonie (Wainwright, Kristiansen, 2011).

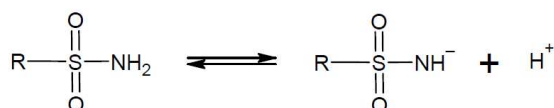
Během 40. let 20. století byl také zjištěn možný účinek některých sulfonamidů v boji proti některým systémovým onemocněním, jako je diabetes mellitus či proti střevním infekcím, např. Crohnova choroba a ulcerózní kolitida (Wainwright, Kristiansen, 2011).

2.2 Vlastnosti

Sulfonamidové sloučeniny vykazují amfoterní chování, a co se týče polarity, řadí se mezi polární molekuly. S amfoteritou souvisí také disociační konstanta (pK_a) udávající míru ionizace látek v daném prostředí, kdy pro protonaci aminodusíku (-NH₂) je hodnota pK_a 2-3.

Naproti tomu zásaditější amidodusík (-SO₂NH-) je deprotonován v rozmezí pH 4,5-11 (Rana, Kumar, Dhiman et al., 2023; Nunes, Manaia, Kolvenbach et al., 2020).

Disociační reakce sulfonamidů je znázorněna níže – viz rovnice 2:



Rovnice 2 Disociace sulfonamidů

Na základě jejich rozpustnosti ve vodě a nízké tendenci sorbce do půdního prostředí či aktivního uhlí se ve srovnání s jinými lipofilními xenobiotiky očekává nevýrazná biomagnifikace (hromadění v tělech organismů) v potravní síti. I přes tento předpoklad byla prokázána akumulace sloučenin se sulfonamidovou či sulfonylovou funkční skupinou jak v rostlinných, tak i v živočišných produktech, jako jsou rostliny (např. hlávkový salát), mořské plody, ryby nebo také chovná zvířata (Nunes, Manaia, Kolvenbach et al., 2020).

Sulfonamidy, druh antimikrobiálních látek, se se svým komplexním bakteriálním spektrem vyznačují účinností nejen při léčbě infekcí způsobených gramnegativními či grampozitivními bakteriemi. Mimo svoji antibakteriální aktivitu s převažujícími bakteriostatickými účinky, mohou sulfonamidy vystupovat také jako látky antifungální (Rana, Kumar, Dhiman et al., 2023; Apaydin, Török, 2019; Nunes, Manaia, Kolvenbach et al., 2020).

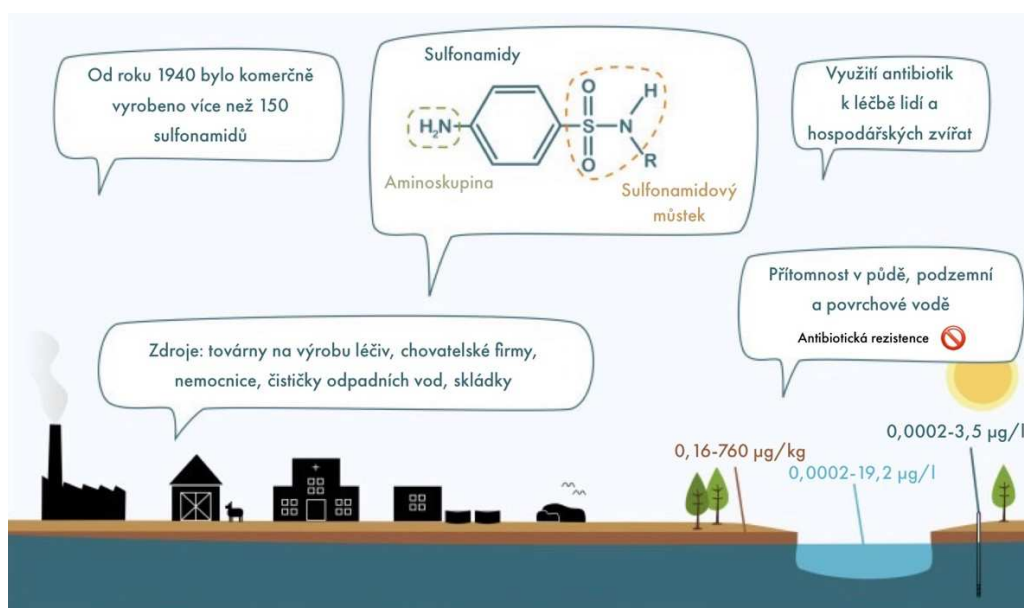
Výhodnými vlastnostmi sulfonamidů v boji proti rezistenci jsou snadná příprava, dostupnost a také jejich stabilita. Vzhledem k jejich nízké ceně jsou mnohdy využity v oblasti chovatelství zvířat nejen jako léčiva různých chorob, ale také jako přísady do krmiv (Rana, Kumar, Dhiman, 2023; Gao, Chen, Cui et al., 2024).

2.3 Kontaminace odpadních vod

Látky sulfonamidového původu jsou v životním prostředí považovány za všudypřítomné, kdy jejich přítomnost byla prokázána ve vodních útvech, půdě, suspendovaných materiálech, sedimentech nebo také v biologických látkách. Hlavním faktorem přispívajícím k všudypřítomnosti je fakt, že lidé a zvířata nedokážou antibiotika plně odbourat, a tak dochází k jejich vyloučení pomocí moči či stolice. V případě chovatelství se sulfonamidy hromadí v trusu skotu a následně v hnojivech, a to v důsledku vylučování nestrávených sulfonamidových antibiotik. Kontaminace v různých kompartmentech životního

prostředí má za následek zvýšení koncentrace sulfonamidů v podzemních vodách. Na tomto základě se řadí mezi jedny z hlavních látek způsobující znečištění vodního prostředí. Perzistence je kromě migrace látek dále zapříčiněna také jejich koordinací s kovovými ionty za vzniku stabilních komplexů a transformací. (Duan, Cui, Jia et al., 2022; Rana, Kumar, Dhiman, 2023; Ottosen, Bjerg, Kümmel et al., 2024).

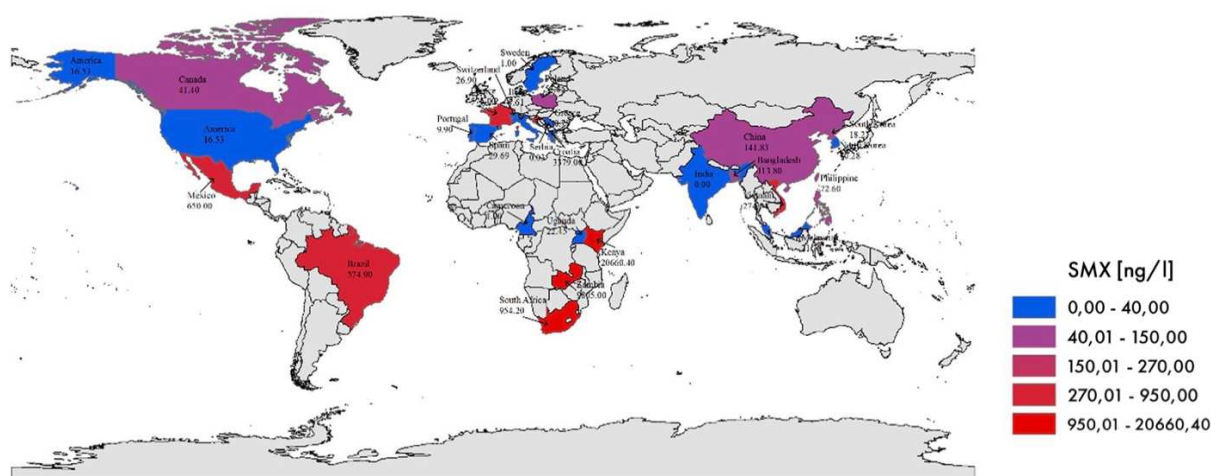
Kontaminované prostředí je pomyslným prostředníkem mezi přílišným používáním antibiotik (roční spotřeba antibiotik na bázi sulfonamidů překonala hranici 20 000 tun) a jím způsobenými vážnými zdravotními problémy. Nebezpečnou hrozbou v důsledku kontaminace životního prostředí antimikrobiálními rezidui je vznik a následné šíření rezistentních kmenů bakterií v lidském organismu. Nicméně znečištění prostředí není způsobeno pouze nadměrným užíváním antibiotik či užíváním v chovatelství zvířat. Vysoké riziko kontaminace je také zapříčiněno komunálním odpadem, mléčnými výrobky, farmaceutickými či nemocničními zařízeními, a to zejména při vypouštění odpadu – viz obrázek 11 (Mishra P., Tripathi, Mishra V., 2025; Rana, Kumar, Dhiman, 2023; Zango, Khoo, Garba et al., 2024).



Obrázek 11 Přehled historie, struktury a zdrojů sulfonamidů (upraveno dle Ottosen, Bjerg, Kümmel et al., 2024)

Běžný výskyt ve vodném prostředí je mimo sulfonamidy typický pro makrolidy či chinolony, pro které je také charakteristická vysoká spotřeba a silná perzistence v životním prostředí. Děje se tak díky jejich nízké molekulární hmotnosti přispívající k odolnosti (Duan, Cui, Jia et al., 2022; Mishra P., Tripathi, Mishra V. et al., 2025).

Všudypřítomnost antibiotik byla prokázána ve sladkovodním, ale také v mořském prostředí. Geografické rozšíření antibiotik je znázorněno na obrázku 12. Zajímavostí je až 100 % detekce 3 typů sulfonamidů ve Středozemním moři – sulfadiazin (SDZ), sulfamethoxazol (SMX) a sulfamethizol. Vědci u množství reprezentativních vzorků sulfonamidů prováděli studii týkající se bioakumulace. Výstupem biakumulačního výzkumu byl vysoký potenciál bioakumulace SDZ v bentických organismech (organismy žijící u dna moří) daný vyšším faktorem akumulace sedimentu bioty (BSAF). Z tohoto důvodu antibiotika představují potenciální riziko pro ekosystémy a pro člověka prostřednictvím potravního řetězce (Duan, Cui, Jia et al., 2022).



Obrázek 12 Geografické rozšíření antibiotik v povrchových vodách světa (upraveno dle Duan, Cui, Jia et al., 2022)

2.4 Metody eliminace sulfonamidových antibiotik

Cílem eliminace sulfonamidových antibiotik je minimalizace dopadu kontaminace životního prostředí. Zkoumanými metodami za účelem odstranění sulfonamidů byly fyzikální, chemické ale i biologické metody mezi které se řadí např. adsorpce, membránová separace či pokročilá oxidace (Huang, Wen, Wang, 2024).

2.4.1 Chemická degradace

V současné době patří mezi populární mechanismy ty z oblasti chemického rozkladu. Hlavními, podrobněji studovanými a používanými mechanismy jsou pokročilé oxidační metody, a to z důvodu jejich výkonnostních výhod, jako je vyšší reakční rychlost a také vysoká účinnost (Huang, Wen, Wang, 2024).

Následující druhy chemických technologií mohou omezovat účinnost rozkladu sulfonamidů, a to z důvodu tvorby meziproductů, popř. vedlejších produktů, které jsou oproti výchozím sloučeninám stabilnější a toxičtější (Huang, Wen, Wang, 2024).

Pozoruhodná účinnost pokročilých oxidačních metod degradace antibiotik je připisována *in situ* tvorbě velmi reaktivních forem kyslíku (ROS), zejména •OH, vyznačujícím se vysokým reakčním potenciálem a oxidační schopností; výhodou zde je také jeho nestabilita (Li, Peng, Zeng et al., 2025).

2.4.1.1 Ultrafialové záření, fotokatalýza

Ultrafialové záření (UV)

UV reprezentuje reakční mechanismus degradace antibiotik využívající fotolýzu. V případě degradace sulfonamidů ve vodném prostředí dochází k fotolýze vody při vlnové délce 309 nm s energií asi 4 eV, ta způsobí disociaci H₂O na reaktivní formy kyslíku – •OH a H₂O₂ (peroxid vodíku) (Hu, Li, Liu et al., 2022; Sibali, Mokhothu, Mohomane et al., 2024).

Převládá rozklad přímou fotolýzou, kdy dochází k převodu sulfonamidů excitací na tripletové stavy pomocí fotonů či děr vzniklých při zmíněné excitaci. Přímá fotolýza bývá podporována procesem fotosenzibilizace. Mezi ovlivňující faktory patří pH, jelikož protonační stav je fotoreaktivnější. V případě nepřímé fotolýzy hrají roli •OH a také fotosenzibilizátory, jako jsou například rozpuštěné organické látky ve formě excitovaných tripletů. Převaha přímé fotolýzy nastává z důvodu stopového množství rozpuštěných organických látek a •OH, které přispívají k degradaci sulfonamidů v menší míře. Co se ale týče podílu degradovaných sulfonamidů, zde je množství v případě nepřímé fotolýzy srovnatelné s přímou fotolýzou (Hu, Li, Liu et al., 2022).

UV záření využívá mnoho typů pokročilých oxidačních procesů. V posledních letech byly použity pro degradaci různých kontaminantů radikály chloru, tedy metoda kombinující UV záření a chloraci, kdy UV záření slouží k aktivaci chloru (Khajouei, Finklea, Lin, 2022).

Samotný proces fotolýzy ale nedosahuje úplné mineralizace sulfonamidů (Hu, Li, Liu et al., 2022).

Fotokatalýza polovodiči

Slibným přínosem při degradaci kontaminantů organického původu v životním prostředí je metoda fotokatalýzy. Fotokatalytický mechanismus využívá nejen světelnou intenzitu, ale také použití katalyzátoru polovodičového materiálu. Do budoucna je očekávána klíčová role fotokatalýzy v řízení kvality vody a ovzduší (Sibali, Mokhothu, Mohomane et al., 2024).

Nejvyužívanější fotokatalyzátor je tvořen oxidem titaničitým (TiO_2) a to z mnoha důvodů. Ať už díky nekorozivnosti či z hlediska nízké ceny, snadné dostupnosti a vysoké stabilitě. Oproti oxidu zinečnatému (ZnO), polovodiči s lepší fotokatalytickou aktivitou, TiO_2 poskytuje degradované produkty s nízkou toxicitou (Sibali, Mokhothu, Mohomane et al., 2024).

Dalším vhodným polovodičem je oxid wolframový (WO_3), který má menší energetickou hodnotu elektronu (2,4-2,8 eV) a je schopen absorbovat široký rozsah viditelného spektra záření. WO_3 je zájmovým materiálem díky větší velikosti částic, většímu povrchu a účinnosti využití viditelného světla, což představuje slibný potenciál pro tvorbu stabilního fotokatalyzátoru (Kanafin, Abduvalov, Kaikanov et al., 2025).

Mezi dalšími možnými materiály fotokatalyzátoru může být kupříkladu oxid měďný (Cu_2O), který má lepší možnost zisku energie slunečního záření, jelikož má nižší hodnoty elektronové energie (Kanafin, Abduvalov, Kaikanov et al., 2025).

2.4.1.2 Chlorace

Chlorační systém představuje dezinfekční technologii využívající v případě sulfonamidů oxid chloričitý (ClO_2) či volný chlor (HOCl/ClO^-). Chlorační aktivita v tomto případě pramení z elektrofilního ataku zmíněných reaktivních forem chloru, přičemž reaktivními místy jsou aminové, benzenové a sulfoamidové můstky. Také se můžeme setkat s kombinovaným chlorem např. chloramin (NH_2Cl) či chlorid aminového radikálu (NHCl), takové sloučeniny se sulfonamidy téměř neregují (Hu, Li, Liu et al., 2022).

ClO_2 je označován za vysoce selektivní oxidant, jež ve srovnání s kyselinou chlornou (HClO) vykazuje vyšší dezinfekční účinnost, a naopak je méně závislý na změny pH. Při chloraci ClO_2 se vytváří menší množství vedlejších produktů. Vyšší účinnost zde potvrzuje fakt, že ClO_2 je schopen zoxidovat více než 95 % sulfonamidů ve vodním prostředí. Chlorace za pomoci ClO_2 má ale i svá úskalí, jako je vysoká cena, snadná rozložitelnost a nebezpečí exploze (Hu, Li, Liu et al., 2022; Shao, Shen, Liu et al., 2023).

Při degradaci sulfonamidové látky pomocí HClO je v závislosti na typu vodního prostředí rozdílná reakční rychlost eliminace, kdy v mořské vodě je degradace sulfonamidů rychlejší oproti sladké vodě, a to díky bromovým iontům (Hu, Li, Liu et al., 2022).

Chloračním mechanismem se zvyšuje toxicita chlorderivátů, produktů degradace sulfonamidů (Hu, Li, Liu et al., 2022).

Degradační mechanismus kombinující UV/chloraci je z hlediska efektivity (výtěžku) volných radikálů a účinnější dezinfekce chlorem výhodnější oproti UV/ H_2O_2 , typu pokročilých oxidačních procesů zahrnujících UV záření s následnou oxidací peroxidem. K většímu

zaměření na UV/chloraci došlo mimo jiné také na základě studie z roku 2011, která prokázala v případě využití UV/chlorace možnost snížení nákladů na zpracování, spotřebu energie a také na tvorbu vedlejších produktů (Lu, Ling, Sun et al., 2022).

2.4.1.3 Ozonizace

Ozonizační mechanismus představuje další účinnou metodou určenou k eliminaci sulfonamidů. Děje se tak přímým působením ozonu O_3 či působením funkční hydroxylové skupiny $-OH$, produktem rozkladu ozonu. Studiemi byla oproti oxidaci $\bullet OH$ prokázána vyšší selektivita v případě přímé oxidace ozonu, jelikož přímá oxidace je v první části zaměřena na aminovou skupinu $-NH_2$, kdy reakcí vzniká nitroskupina $-NO_2$ navázaná na benzenovém jádře. Následným krokem ozonizace je štěpení vazby $-S-N-$ (Li, Zhao, Feng et al., 2021).

Během ozonizace může také nastat situace, kdy atakující molekula ozonu, respektive $\bullet OH$, může napadnout benzenové jádro sulfonamidů procesem hydroxylace. Hydroxylová skupina se při takovém napadení váže na uhlík v poloze 5 (Li, Zhao, Feng et al., 2021).

Efektivita ozonizace může být ovlivněna krátkým poločasem rozpadu a také vysokými provozními náklady (Befenzi, Ezzariai, Mechichi et al., 2025).

Účinnost ozonizace lze výrazně zvýšit zapojením katalyzátorů do procesu. Vhodným příkladem katalyzátoru jsou oxidy kovů usnadňující selektivní oxidační procesy či aktivní uhlí, jehož funkcí je zesílení tvorby radikálů (Wada, Olawade, 2025).

2.4.1.4 Oxidace ferratem

Stabilním a ekologickým desinfekčním prostředkem při degradaci sulfonamidů je ferrat, sloučenina obsahující prvek železa v oxidačním stavu $+6 - Fe(VI)$. Jedná se o zeleně zbarvené silné oxidační činidlo, jež nevykazuje reaktivitu vůči bromidovým iontům a zároveň neprodukuje vedlejší produkty. Ferrat vykazuje silný redoxní potenciál (2,2 V), ve srovnání s ostatními oxidačními činidly jako je O_3 (1,24-2,08 V), manganistan draselný K_2MnO_4 (0,59-1,51 V) a ClO_2 (0,95 V). Mimo dezinfekční funkci ferrat vystupuje také jako flokulant, tedy pomáhá agregovat částice v kapalinách (Hu, Li, Liu et al., 2022; He, Zhou, Chen et al., 2022).

Ve srovnání oxidace $Fe(III)$ je ferrat účinnější volbou, podílí se na tom síla oxidačního činidla, ale také vyšší adsorpční kapacita, která je umožněna větším povrchem částic $Fe(VI)$ při jeho redukci na $Fe(III)$ (He, Zhou, Chen et al., 2022).

Ferrat v závislosti na struktuře SMX působí jako nukleofil či elektrofil. V případě neutrofilu ferrat cílí na isoxazolovou skupinu SMX, oblast s nedostatkem elektronů, a následně

incicuje jeho degradaci. Elektrofilní útok ferratu zahrnuje delokalizaci elektronů v molekule sulfonamidu, což vede také k jeho degradaci (Hu, Li, Liu et al., 2022).

2.4.1.5 Fentonova oxidace

Systém Fentonových reakcí představuje účinné oxidační procesy čištění odpadních vod, díky schopnosti dosáhnout úplné mineralizace antibiotik na jejich minerální složky. Existuje 5 variant Fentonových oxidací – konvenční Fenton, foto-Fenton, Fenton-like, elektro-Fenton a sono-Fenton. V současné době se postrádají studie týkající se porovnání jednotlivých variant, konkrétně nejsou známy informace o podrobných mechanismech jednotlivých variací, o udržitelnosti, nákladové efektivitě a také o výhodách a nevýhodách samotných metod. Všeobecně však Fentonovy oxidační reakce jsou ekonomicky výhodné a jednoduché na provedení. Jedná se tak o vysoce účinné alternativy k tradičním metodám sanitace odpadních vod (Ahmed, Maya, Akhtar et al., 2025).

Fentonových reakcí se účastní tzv. Fentonova činidla, které zahrnují železnatý iont (Fe^{2+}) a peroxid vodíku H_2O_2 . V první části oxidačního mechanismu spolu reagují Fentonovy činidla za vzniku železitých iontů (Fe^{3+}) a $\bullet\text{OH}$. Následně se Fe^{3+} může ve vodném prostředí redukovat na Fe^{2+} (Befenzi, Ezzariai, Mechichi et al., 2025).

Výkon a účinnost Fentonovy reakce závisí na koncentraci H_2O_2 , Fe^{2+} a na pH média, kdy se doporučuje rozmezí pH od 2 do 3 (Befenzi, Ezzariai, Mechichi et al., 2025).

Fentonovy reakce lze také rozlišit z hlediska použité formy železa na homogenní a heterogenní (Befenzi, Ezzariai, Mechichi et al., 2025).

„Homogenní Fentonův proces je založen na použití železnatých solí včetně síranu železnatého v kyselém prostředí“ (Befenzi, Ezzariai, Mechichi et al., 2025, „překlad autora“).

Závažným problémem pro eliminaci kontaminantů během homogenní Fentonovy reakce je tvorba velkého množství kalu obsahujícího železo. Z důvodu zamezení tvorby kalu se zavádějí heterogenní Fentonovy katalyzátory, jako jsou železné minerály, nulomocné železo či materiály obsahující železo (Befenzi, Ezzariai, Mechichi et al., 2025).

2.4.1.6 Peroxidázová katalytická oxidace

Pro oxidaci organických kontaminantů v životním prostředí pomocí peroxidázové aktivity je na základě svých vlastností vhodným oxidačním činidlem peroxid vápenatý (CaO_2). Jedná se o aktivní a zároveň bezpečnou formu peroxidu, která má ve srovnání s kapalným H_2O_2 delší reakční dobu, a proto působí efektivněji v procesu degradace polutantů (Amina, Ullah, Abbas et al., 2025).

CaO₂ se ve vodném prostředí přeměňuje na hydroxid vápenatý (Ca(OH)₂) a jako vedlejší produkt vzniká H₂O₂ (Amina, Ullah, Abbas et al., 2025).

Vzniklý H₂O₂ je výhodný z ekologického hlediska, neboť se rozkládá na kyslík a vodu, a představuje tak vhodný prostředek pro sanaci znečištěného životního prostředí. Pro CaO₂ je charakteristická jeho funkčnost v širokém rozmezí pH 6-7; s rostoucím pH se produkuje H₂O₂ rychleji. Zásadité hodnoty pH taktéž podporují degradaci polutantů v životním prostředí. Alkalické podmínky umožňují následnou deprotonaci vzniklého H₂O₂, jež vede ke tvorbě reaktivnějších hydroperoxidových aniontů (HO₂⁻), aniontů podílejících se na tvorbě radikálů za účelem účinné sanace prostředí (Amina, Ullah, Abbas et al., 2025).

Při pomalém rozkladu CaO₂ ve vodním prostředí se produkuje kyslík využívaný při aerobní bioremediaci znečištěného životního prostředí (Amina, Ullah, Abbas et al., 2025).

2.4.2 Biologická degradace

Biologické technologie určené k eliminaci sulfonamidů ze životního prostředí zahrnují následující procesy – bioakumulace, biosorpce a biodegradace. Biologický rozklad je z výše zmíněných degradačních metod nejúčinnější. Zatímco bioakumulační a biosorpční procesy slouží především k transportu sulfonamidů mezi jednotlivými fázemi (Hu, Li, Liu et al., 2022).

2.4.2.1 Degradace bakteriemi

V přírodním prostředí jsou bakterie hlavními mikroorganismy podílející se na odstraňování sulfonamidů. Rozlišují se dva hlavní typy mechanismů – aerobní a anaerobní biodegradace. Aerobní bakterie využívají sulfonamidové antimikrobiální látky jako jediný zdroj dusíku a uhlíku. Acetát, jako externí zdroj uhlíku podporuje degradaci, zatímco pro dusičnan amonný, jako zdroj dusíku, je charakteristický inhibiční účinek způsobený kompeticí externího zdroje dusíku (NH₄NO₃) s dusíkem na sulfonamidu. Typickými aerobními bakteriemi jsou např. *Pseudomonas spp.* či *Acinetobacter*. Co se týče anaerobní biodegradace, zde je oproti aerobním mikroorganismům velmi odlišný mechanismus. Využívají ho mikroorganismy při přenosu elektronů ze sulfonamidů na sulfát, tedy v chemických reakcích autotrofní nitrifikace a denitrifikace s redukcí sulfátu, a to v prostředí bez přítomnosti kyslíku. Typickými anaerobními mikroorganismy jsou *Mycobacterium*, *Clostridium* či *Enterobacter* (Hu, Li, Liu et al., 2022).

2.4.2.2 Degradace řasami

Biodegradace jsou schopny také nižší rostliny, respektive řasy. Degradace spočívá ve třech po sobě jdoucích krocích – adsorpce, absorpce a následná degradace. V případě, že tyto kroky probíhají analogickou rychlostí, lze dosáhnout kontinuální eliminace. Klíčovou roli při adsorpci sehrávají tzv. EPS látky, extracelulární polymerní látky, jež jsou uvolňovány mikrořasami (Zhuang, Qian, Wang X. et al., 2024).

Při biodegradaci řasami je výtěžek závislý na vlastnostech a materiálu EPS, kdy např. silná vrstva EPS může omezovat transport antibiotik, a tím i snižovat jejich absorpci. Závěrečný proces, samotná degradace, se v různých případech liší svojí rychlostí. Nedostatečná degradace má za následek akumulaci sulfonamidů v buňkách mikrořas způsobující zvýšený stres buňky (zvýšená produkce ROS a antioxidačních enzymů) doprovázený sníženým obsahem chlorofylu. Proces eliminace je negativně ovlivňován cytolýzou mikrořasových buněk (Zhuang, Qian, Wang X. et al., 2024).

2.4.2.3 Degradace rostlinami

Účinná eliminace sulfonamidů v životním prostředí je také umožněna flórou, a to na základě extrahovaných enzymů z rostlin. Vhodným příkladem enzymu je křenová peroxidáza, jež v prostředí H_2O_2 vykazuje vysoký účinek v odstranění kontaminantů typu sulfonamidu. A to pomocí narušení vazeb S-N a S-C, k němuž může dojít při oxidaci sulfonamidů. Existuje také způsob eliminující rezistentní sulfonamidy, kdy se do enzymatické reakce přikládá účinný mediátor (Hu, Li, Liu et al., 2022).

2.4.3 Fyzikální degradace

Mezi metody fyzikální degradace sulfonamidů se řadí např. adsorpce, membránová filtrace či UV záření. Jejich schopností je přenos pouze znečištěných látek mezi různými médii. Účinnost fyzikálních mechanismů zvyšuje přidavek flokulantů, látek zajišťujících shlukování a následně snazší odstranění antibiotik. Pomocné částice mimo jiné představují zvýšený rizikový faktor sekundárního znečištění (Huang, Wen, Wang, 2024).

Fyzikální degradace sulfonamidů představuje oproti biologické a chemické degradaci metodu poslední volby. Spadají sem metody jako je např. adsorpce, membránová separace či UV záření. Degradace fyzikálními mechanismy nemůže antibiotika zcela degradovat na neškodné produkty. K nízké frekvenci využití přispívá také fakt, že UV záření odstraňuje rezidua antimikrobiálních látek v půdním prostředí velmi nízkou rychlostí (Ji, Zhu, Yang et al., 2023).

Zároveň ale existuje možnost využití fyzikálních metod při odstranění SMX, a to použitím kombinace fyzikálně-chemických technologií (Hu, Li, Liu et al., 2022).

2.5 Syntéza sulfonamidů

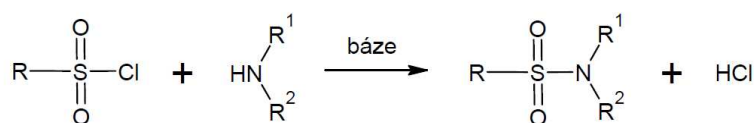
Na základě různorodých rolí sulfonamidových léčebných látek bylo vyvinuto mnoho metod týkajících se syntézy sulfonamidů. Obecně lze rozlišit metody (ne)využívající k syntéze přechodné kovy (Mondal, Malakar, 2020).

Z hlediska stále se prohlubujícího znečištění životního prostředí se v současné době podporuje syntéza za tzv. zelených podmínek, kdy za ekologickým účelem dochází k návrhům procesů a produktů snižujících/zabraňujících tvorbu a případné použití nebezpečných látek. Udržitelná chemie zároveň šetří energii, jež mimo snižování ekologické stopy zvyšuje také ekonomickou životaschopnost chemických procesů. Cílem zelené chemie je náhrada neobnovitelných zdrojů udržitelnými alternativami (Mondal, Malakar, 2020; Song, Kazemi, 2024).

Další možnou alternativou je tzv. teleskopická syntéza, sekvenční syntéza probíhající v jedné nádobě, kdy činidla jsou použita bez jejich předchozího zpracování a také jsou do reaktoru přidávána jednotlivě (Mondal, Malakar, 2020).

2.5.1 Syntéza sulfonamidů bez přítomnosti přechodných kovů

Přechodnými kovy nekatalyzovaná reakce, tzv. klasický přístup syntézy, byla v minulosti výrazně využívanou metodou k syntéze sulfonamidů – viz rovnice 3. Metoda zahrnovala chemickou reakci typu nukleofilní reakce, která cílila na aminosloučeniny a sulfonylchloridy za přítomnosti báze (Mondal, Malakar, 2020).



Rovnice 3 Klasický přístup syntézy sulfonamidů

Sulfonylchloridy jsou snadno dostupnými sloučeninami, avšak jejich rozsáhlým omezením je častá nemožnost dlouhodobého skladování z důvodu jejich citlivosti na vlhkost. Charakterizujícím prvkem klasického přístupu syntézy sulfonamidů je jednoduchost z hlediska provedení a také dobrá reaktivita během provedení metody (Mondal, Malakar, 2020; Davies, Tilby, Skolc et al., 2020).

Během nukleofilní reakce dochází k produkci kyseliny chlorovodíkové (HCl), v důsledku jejího následovného vychytávání představuje jednu z hlavních nevýhod syntézy bez přítomnosti přechodných kovů. Dalšími nevýhodami metody je kupříkladu vysoká teplota při použití méně reaktivního substrátu či náročnost na purifikaci, a to v případě, pokud dochází ke kompetici vedlejších reakcí vůči těm hlavním (Mondal, Malakar, 2020).

Při syntéze účinných sulfonamidů se využívají Grignardovy činidla v kombinaci se stabilním činidlem 1,4-diazabicyklo-[2.2.2]oktanem (DABCO)-bis(oxidem siřičitým) (DABSO), kdy činidlo DABCO-DABSO vystupuje jako zdroj oxidu siřičitého (SO₂). Vznikajícími meziprodukty jsou sulfináty, jež se působením sulfonylchloridů či sulfonylaminů převedou na odpovídající sulfonamidy (Mondal, Malakar, 2020).

Následné studie se zaměřují na hledání účinnějších metod syntézy sulfonamidů z hlediska generování SO₂. Cílem je lepší praktičnost metody a zároveň nákladová efektivita, jelikož DABSO představuje velmi finančně náročný zdroj SO₂. V jedné ze studií byl SO₂ získán z reaktoru, kde reakčními činidly byly roztoky 1,6 M siřičitanu sodného (Na₂SO₃) a 9,0 M kyseliny sírové (Chung Leung, Ramalingam, Loh et al., 2020).

2.5.2 Syntéza sulfonamidů využívající přechodné kovy

Na základě několika faktorů sulfonylchloridů (škála omezení použití, náročné reakční podmínky, přítomnost nebezpečných a znečišťujících chloračních činidel či oxidantů) byly za účelem odstranění komplikací při konvenční syntéze vyvinuty metody využívající katalyzátory přechodných kovů jako např. Cu, Fe, Ni, Pd, Rh či Ru. Katalýza přechodnými kovy umožňuje přímé zavedení -SO₂- skupiny do vhodných substrátů obsahujících funkční skupiny, jako jsou arylhalogenidy (Mondal, Malakar, 2020).

V důsledku nízké ceny, komerční dostupnosti či toxického nepůsobení převažují při syntéze sulfonamidů katalyzátory složené ze solí mědi. K nadvládě použití přechodného kovu mědi přispívá také zprostředkování aktivační reakce C-H bez potřeby ligandu či kokatalyzátoru spolupracujícím se solemi mědi (Mondal, Malakar, 2020).

Výhodou katalýzy kovovým prvkem palladium je vysoká chemická stabilita při oxidační reakci. Mimo syntézu sulfonamidových antibiotik je katalyzátor využit kupříkladu pro syntézu sildenafilu, organické látky obsahující sulfonamidovou skupinu, jež je hlavní složkou léku Viagra určeného pro erektilní dysfunkci (Mondal, Malakar, 2020).

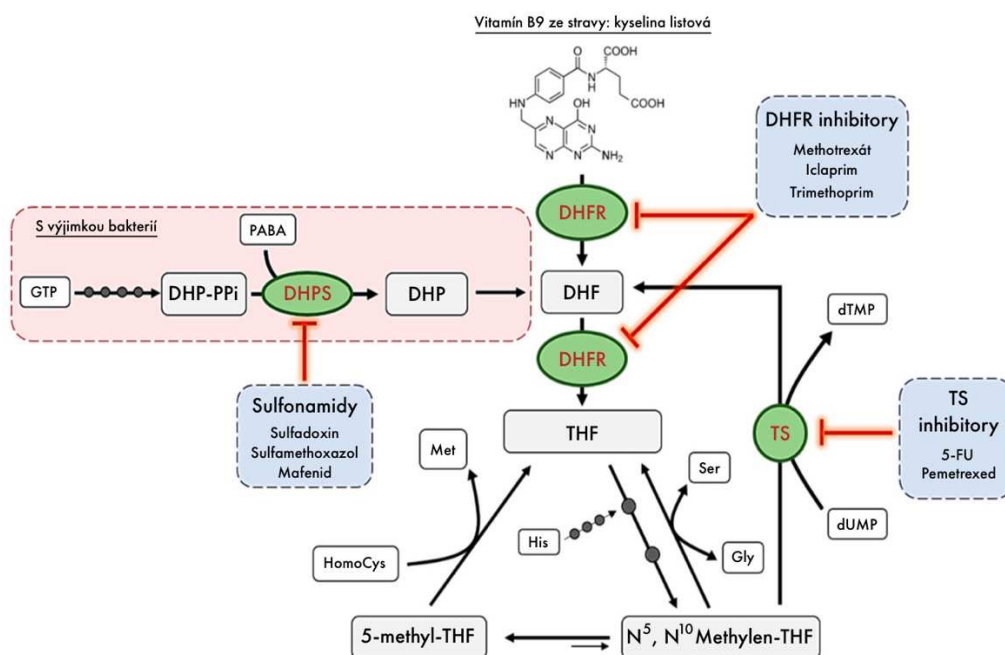
Aktivace C-H za pomoci katalyzátoru na bázi rhodium je umožněna díky vysoké toleranci funkčních skupin a také vynikající katalytické aktivity (Mondal, Malakar, 2020).

Možností syntézy sulfonamidů za přítomnosti kovů s ohledem na životní prostředí je vývoj recyklovatelných katalyzátorů např. magneticky obnovitelných katalyzátorů. Cílem využití obnovitelných zdrojů je eliminace plýtvání materiálů, ve které dochází v důsledku tvorby systému s uzavřenou smyčkou k neustálým recyklacím použitých materiálů (Song, Kazemi, 2024).

2.6 Mechanismus účinku

Sulfonamidové látky představují obsáhlou třídu antimikrobiálních látek vyznačujících se širokospektrálními účinky při prevenci a léčbě infekčních onemocnění. Jak již bylo zmíněno, jedná se o bakteriostatická antibiotika, která se řadí do skupiny antibiotik inhibujících metabolické dráhy. Jak již bylo popsáno v kapitole 1.5.2.2 Antibiotika inhibující metabolické dráhy, v praxi se využívá synergického účinku dvou látek TMP-SMX. Možnými důsledky je poté snižená syntéza DHF s tím je spojena také syntéza THF a následná syntéza nukleových kyselin (Gao, Chen, Cui et al., 2024; Fernández-Villa, Aguilar, Rojo, 2019).

Samotný mechanismus účinku tzv. antifolátů závisí na místě působení, respektive na enzymu v postihujícím místě. Sulfonamidová antibiotika kompetují s PABA o enzym dihydropteroát syntetázu, trimethoprim poté inhibuje v následujícím kroku enzym dihydrofálátreduktázu – viz obrázek 13 (Fernández-Villa, Aguilar, Rojo, 2019):



Obrázek 13 Metabolismus kyseliny listové se znázorněnými antifoláty působící na dané enzymy (upraveno dle Fernández-Villa, Aguilar, Rojo, 2019)

DHF – dihydrofolát
 DHFR – dihydrofolátreduktáza
 DHP – dihydropteroát
 DHP-PPi – dyhydropteroát pyrofosfát
 DHPS – dihydropteroát syntetáza
 dTMP – deoxythymidinmonofosfát
 dUMP – deoxyuridinmonofosfát
 Gly – glycin

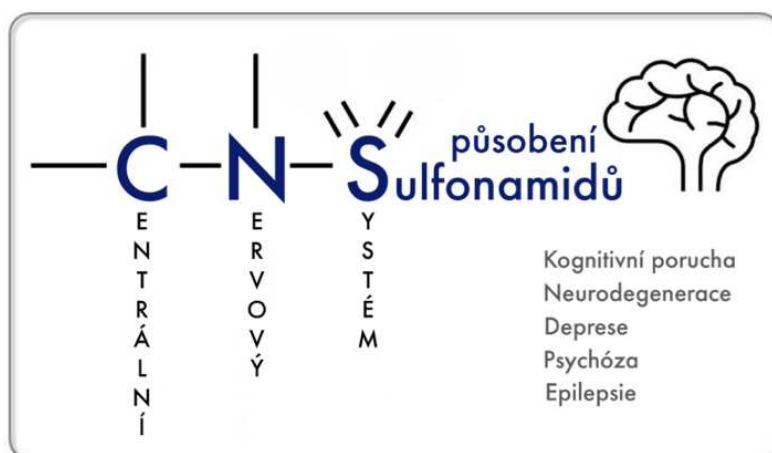
GTP – guanosintrifosfát
 His – histidin
 HomoCys – homocystein
 Met – methionin
 PABA – kyselina para-aminobenzoová
 Ser – serin
 THF – tetrahydrofolát
 TS – thymidylátsyntáza

2.7 Indikace sulfonamidů

Sulfonamidy představují první klinicky využívaná syntetická antibakteriální terapeutika. Mezi širokou škálu biologických aktivit spadají mimo antibakteriální účinky také účinky antivirové, protiplísňové, protizánětlivé, ale i ty protinádorové. Zatímco antibakteriální látky se považují za tzv. „klasické“ sulfonamidy, činidla s antivirovým či protinádorovým účinkem se označují za „neklasické“ sulfonamidy, a to na základě odlišných buněčných cílů (Bormio Nunes, Hideki Nakahata, Corbi et al., 2023).

Typickou indikací k léčbě sulfonamidy je infekce močových cest, kdy se využívají sulfonamidová antibiotika v kombinaci s trimethoprimem (Bormio Nunes, Hideki Nakahata, Corbi et al., 2023).

Sulfonamidy hrají podstatnou roli při léčbě komplexních onemocnění, např. diabetes mellitus, rakoviny či nemocí centrální nervové soustavy (CNS) – viz obrázek 14 (Apaydin, Török, 2019):



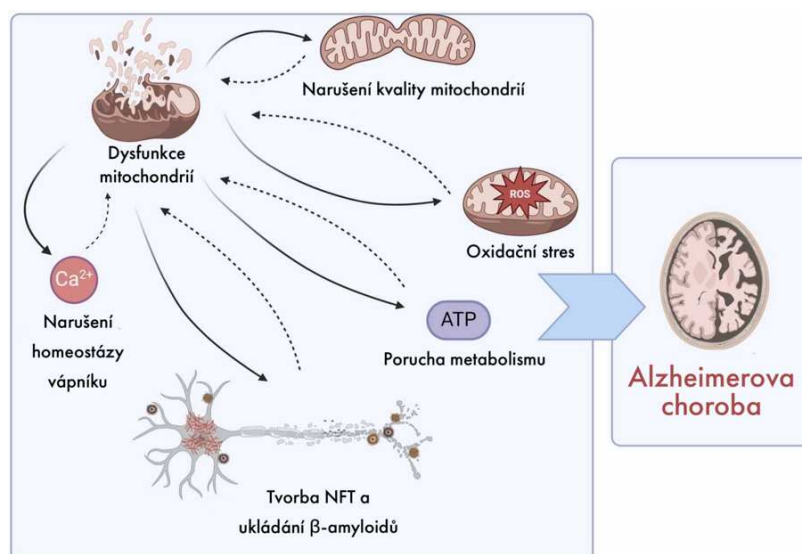
Obrázek 14 Působení sulfonamidů na centrální nervový systém (upraveno dle Blicharz-Futera, Kamiński, Grychowska et al., 2025)

2.7.1 Léčba Alzheimerovy choroby

Alzheimerova choroba (AD) patří do skupiny chronických neurodegenerativních poruch. Charakteristickými symptomy jsou odlišné neuropatologické rysy, do kterých lze v časném stádiu zařadit změny nálad a apatie, které vyúsťují až do poruch komunikace, prostorové orientace a poruch paměti. AD je také spjata s poruchami motorických funkcí (D'alessandro, Kanaan, Geller et al., 2025).

Za zmíněné poruchy v CNS je zodpovědný nedostatek acetylcholinu. Acetylcholin je rozkládán procesem za přítomnosti cholinesteráz – acetylcholinesteráza, butyrylcholinesteráza. Hydrolyza je škodlivá pro cholinergní neurotransmisi, která se stává oslabenou. Na základě tohoto faktu se první terapeutická volba zaměřila na vývoj inhibitorů enzymů rodiny cholinesteráz, např. takrin či galantamin. U inhibitorů byla prokázána omezená účinnost a nepříznivé vedlejší účinky, v důsledku toho je snaha o vývoj nových inhibitorů cholinesteráz s výrazně lepší účinností a bezpečnostním profilem (Blicharz-Futera, Kamiński, Grychowska et al., 2025).

V případě AD se také setkáváme s tvorbou amyloidních plaků v důsledku hromadění skupiny proteinů β -amyloid, u kterých se předpokládá, že se jedná o spouštěče kaskády patologických procesů, jako je zánět, synaptická dysfunkce apod. Dalším charakteristickým znakem AD je depozit mikrotubulárního asociovaného proteinu (tau protein), jenž podléhá hyperfosforylaci a tvoří tak protein nefunkčním. Hyperfosforylovaný tau protein se hromadí v neuronech ve formě agregátů tzv. neurofibrilární spleti (NFT). Mimo jiné dochází také k progresivní ztrátě progrese synapsí, jak znázorňuje obrázek 15 (D'alessandro, Kanaan, Geller et al., 2025).



Obrázek 15 Role dysfunkce mitochondrií v patogenezi Alzheimerovy choroby (upraveno dle D'Alessandro, Kanaan, Geller et al., 2025)

„Podle Alzheimerovy asociace je AD nejčastější příčinou demence, která představuje přibližně 60-80 % případů“ (D’alessandro, Kanaan, Geller et al., 2025, „překlad autora“).

Do roku 2050 je odhadován celkový počet postižených jedinců AD na světě přibližně na 139 milionů, přičemž více než dvě třetiny postižených budou tvořit ženy (D’alessandro, Kanaan, Geller et al., 2025).

Navzdory nejasného mechanismu neurodegenerativního onemocnění byla prokázána inhibice různých drah AD řadou sulfonamidových sloučenin. Zacílení sulfonamidů na g-sekretázu, proteázu štěpící β -amyloidový prekurzorový protein (β -APP), zapříčiňuje akumulaci β -amyloidů a tím následně tvorbu amyloidních plaků (Apaydin, Török, 2019).

2.7.2 Léčba Parkinsonovy choroby

Parkinsonova choroba (PD) je po AD druhé nejčastější chronické progresivní neurodegenerativní onemocnění. K roku 2020 bylo celosvětově diagnostikováno přibližně 8 500 000 případů Parkinsonovy choroby, což ve srovnání s rokem 2000 zaznamenal nárůst o 81 %. Zároveň vzrostl také počet úmrtí na hodnotu 329 000, což činí nárůst o 100 % vůči začátku. Výhledově je do roku 2050 předpokládán nárůst případů PD o dvojnásobek. V České republice dosahuje počet pacientů s PD okolo 50 000, přičemž se odhaduje, že tato hodnota je podhodnocena. Z údajů zveřejněných ústavem zdravotnických informací a statistiky (ÚZIS) za období 2015-2016 byl prokázán 2-3x vyšší počet jedinců s PD oproti předpokladu odborníků. Nejčastěji onemocnění postihuje muže okolo 65 let a více. (Singh, Khare M, Khare A. et al., 2025; Ministerstvo zdravotnictví České republiky, 2018).

Příčina onemocnění je způsobena poškozením či smrtí nervových buněk lokalizovaných v bazálních gangliích, oblasti mozku regulující pohyb těla. Neurony produkují dopamin, jehož je v důsledku poškození neuronů nedostatek (Singh, Khare M., Khare A. et al., 2025).

Stejně jako u AD, který je charakterizován β -amyloidem a tau proteinem, Parkinson je spojován s tvorbou proteinu, tentokrát ale s α -synukleinem, jež vytváří v cytoplazmě buněk struktury Lewyho tělísek (Singh, Khare M., Khare A. et al., 2025).

Charakteristickým symptomem je nekontrolovatelný pohyb včetně třesu, ztuhlosti, ztráty koordinace a rovnováhy. Doprovodnými příznaky mohou být také poruchy chování a spánku, únava a problémy s pamětí. Příznaky onemocnění, jejich intenzita a progresse onemocnění se s každým pacientem odlišují. Pohybové poruchy vyžadují vyšší pozornost, jelikož poruchy pohybu jsou častým symptomem u různých onemocnění, tudíž by mohlo dojít k záměně diagnózy (Singh, Khare M., Khare A. et al., 2025).

Cílem léčby je obnova hladiny dopaminu indikací jeho prekurzoru, formy L-dihydroxyfenylalaninu (L-DOPA). Léčba je doprovázena podáváním inhibitoru L-DOPA dekarboxylázy, jelikož tento enzym zamezuje průchod L-DOPA do mozkové tkáně. Očekává se, že zvýšení intrakraniální aktivity zapříčiní zmírnění symptomů. V Japonsku je léčba od roku 2019 obohacena o zonisamid, antiklonvulzivum, jehož mechanismus není do dnešního dne objasněn. U zonisamidu byl prokázán účinek nejen při léčbě symptomů PD, ale také u křečových záchvatů. Testování zonisamidu na zvířecích modelech naznačuje zvýšení hladiny tyrosinhydroxylázy, jež je klíčový při syntéze dopaminu, a naopak snížení neurozánětu. V důsledku toho zmírňuje toxicitu sloučeniny 1-methyl-4-fenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridinu (MPTP) (Tabrez, Jabir, Shakil et al., 2012).

2.7.3 Léčba onemocnění Diabetes mellitus

Diabetes mellitus (DM), progresivní metabolické onemocnění, je v současné době diagnostikován u více než 460 000 000 lidí na světě. Mezinárodní diabetologická federace vydala předpovídající fakt týkající se nárůstu počtu potvrzených diabetiků na 592 000 000 a nediodagnostikovaných diabetiků na 175 000 000 jedinců do roku 2035. Negativní dopad DM na veřejné zdraví se mimo narůstající počty potvrzených případů DM spojuje také s odhadovaným počtem úmrtí pacientů v případě komplikací na 5 000 000 ročně. Výhledem do roku 2040 je více než 600 000 000 diagnostikovaných jedinců (Iheagwam F.N., Iheagwam O.T, 2025).

Pro DM je charakteristická hyperglykémie, jež může být způsobena destrukcí β -Langerhansových ostrůvků T-buňkami, postupným vývojem inzulinové rezistence či samotnou degradací β -buněk (Iheagwam F.N, Iheagwam O.T, 2025).

Rizikovými faktory s možností ovlivnění je kupříkladu fyzická aktivita, sedavý způsob života, obezita, nezdravá strava či nadměrné požívání alkoholických nápojů. Naopak mezi rizikové faktory, jež nelze ovlivnit se řadí vyšší věk, hypertenze, rodinná anamnéza apod (Iheagwam F.N, Iheagwam O.T, 2025).

DM se kategorizuje do základních třech skupin na DM 1.typu – inzulin-dependentní (IDDM), 2.typu – noninzulin-dependentní (NIDDM) a gestační DM (GDM), přičemž sulfonamidy jsou indikovány pouze v případě diagnózy DM 2.typu (Iheagwam F.N, Iheagwam O.T, 2025).

Rozdíly mezi IDDM a NIDDM jsou znázorněny v tabulce 3:

	IDDM	NIDDM
Výskyt	10 %	90 %
Vývoj DM	Dětství	Dospělost
Deficit inzulínu	Absolutní	Relativní
Příčina deficitu	Zánik β -buněk	Porucha sekrece inzulínu, inzulínová rezistence
Symptomy	Rychlý nástup – hubnutí, žiznivka, autoprotilátky, ketoacidóza	Mírné, postupné – přibírání na váze
Léčba	Inzulín	Metformin, sulfonylurey, inhibitory SGLT-2 apod.

Tabulka 3 Odlišnosti mezi IDDM a NIDDM (zpracováno dle Iheagwam F.N., Iheagwam O.T, 2025)

NIDDM vzniká v případě relativního deficitu inzulínu a také se pojí s inzulínovou rezistencí, jež je zapříčiněna poruchou glukózového transportéru (SGLT-2). Je pro něj typický vývoj u dospělých jedinců a co se týče frekvence výskytu, NIDDM představuje 90 % diagnostikovaného DM. Charakteristickými symptomy je mimo hyperglykémii také zvýšená β -oxidace způsobená sníženým transportem glukózy do adipocytů, myocytů a hepatocytů. Vysoké hladiny glukózy a jaterního glukagonu jsou typické již ve stavu nalačno a ani po požití potravy se tyto hladiny nesníží (Iheagwam F.N, Iheagwam O.T, 2025).

Příkladem terapeutik NIDMM z hlediska sulfonamidů jsou tzv. sulfonylurey, modulátory sulfonylmočovinných receptorů (SUR) lokalizovaných pankreatických β -buňkách. Modulátory SUR se napojí cílový receptor SUR β -buněk a působí na draslíkové kanály závislé na adenosintrifosfátu (ATP), jež vypnou. Neaktivita draslíkových kanálů má za následek depolarizaci membrány a následný vstup vápníku do β -buněk. Cílem mechanismu působení je stimulace sekrece inzulínu podmíněná vstupujícím vápníkem (Guo, Zhang, Sun et al., 2024).

Terapeutické modulátory SUR se člení na léky první a druhé generace, které se navzájem odlišují silou a dobou trvání účinku. Tolbutamid a chlorpropamid jsou látky řadící se do první generace modulátorů, naopak glibenklamid a glimepirid jsou komerčními terapeutiky druhé generace (Guo Zhang, Sun et al., 2024).

Navzdory svým účinkům při snižování hladiny glukózy v krvi mohou sulfonurey vést k různorodým nežádoucím účinkům, např. hypoglykémie, problémy gastrointestinálního traktu (GIT) či přírůstek váhy. V případě dlouhodobého užívání léčiv je pravděpodobnost selhání β -buněk a s tím spojená také snížená sekrece inzulinu (Guo, Zhang, Sun et al., 2024).

2.7.4 Léčba jaterní fibrózy

Jaterní fibróza představuje následek prakticky všech chronických jaterních onemocnění a zároveň s cirhózou jater se jedná o primární příčiny úmrtí z hlediska onemocnění jater. Jaterní onemocnění je celosvětově jednou z nejčastějších příčin úmrtí, ročně na tuto diagnózu umírá 3 miliony lidí a frekvence úmrtí činí 1:25. Při jaterní fibróze se ve vnitřním prostředí a zároveň v okolí tkáně jater hromadí fibrilární extracelulární matrix (ECM), jejíž následkem je poškození vedoucí k jizvení, cirhóze a až ke konečnému selhání jater (Irshad, Alqahtani, Ikejima et al., 2025).

Po poškození jater dochází k apoptóze, kdy hepatocyty fungují jako spouštěče zánětlivé odpovědi. Produkty apoptózy jsou apoptotická tělíska, jejichž možné pohlcení a následnou aktivaci mají na svědomí jaterní hvězdicovité buňky. V důsledku trvalého poškození jater se narušuje fyziologické mikroprostředí jater a vytváří se ROS, negativně ovlivňující reaktivní formy kyslíku, jež napomáhají aktivaci hvězdicovitých buněk jater. Ty poté produkují vazoaktivní peptidy či cytokiny, které působí na fibrózu v negativním slova smyslu. Dopadem je již zmíněné hromadění ECM, které vyúsťuje k tvorbě vláknité jizvy a následné progresi fibrózy (Irshad, Alqahtani, Ikejima et al., 2025).

Aktivace hvězdicovitých buněk a následné jizvení je energeticky náročný proces, který vede ke zvýšené spotřebě energie. Jaterní fibróza je spojována s poruchami energetického metabolismu, na jejichž základě by bylo možné vyvinout potenciální inovativní léčiva, konkrétně antifibrotická terapeutika (Irshad, Alqahtani, Ikejima et al., 2025).

Potenciálními léčivy pro zvrácení jaterní fibrózy jsou antivirové látky určené na hepatitidu B a C. Nicméně navzdory tomuto faktu představuje fibróza stále ekonomickou a zdravotní zátěž. Co se týče léčebných možností, ty jsou omezené; primární léčbou je transplantace jater (Irshad, Alqahtani, Ikejima et al., 2025).

2.7.5 Léčba onkologických onemocnění

Onkologická onemocnění jsou považována za jednu z nejzávažnějších nemocí ohrožující lidstvo na životě. Dle publikovaných faktů WHO byl za rok 2018 prokázán nárůst nových případů o 18 000 000 a počet úmrtí za zmíněný rok činil 9 600 000 (Wan, Fang, Chen et al., 2021).

Definice rakoviny zmiňuje, že se jedná o třídu komplexních onemocnění, při nichž se buňky nekontrolovatelně dělí vysokou rychlostí, tzn. že se jedná o narušení normálního buněčného dělení. K její léčbě je schváleno americkým úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) více než sto léčivých protinádorových přípravků, bez kterých se terapie neobejde. Cílem protinádorových činidel je miniaturizace nežádoucích účinků spolu s překonáním lékové rezistence, k nimž dochází na základě splnění požadavků pro taková léčiva – vysoká účinnost a specifita (Wan, Fang, Chen et al., 2021).

Na základě zamíření činidel na dané proteiny rozlišujeme:

2.7.5.1 Inhibitory aromatázy

Aromatáza, známá také jako cytochrom P19 (CYP19), patří to rodiny cytochromu C450 (CYP450). Její hlavní úlohou je biosyntéza estrogenů z výchozích androgenů. Inhibitory aromatázy jsou indikovány v případech diagnostikovaných rakovin prsu (BC), celosvětové nemoci, při které jsou ženy vystaveny vyššímu nebezpečí úmrtí. BC se rozděluje na luminální a estrogenní, přičemž estrogenní varianta je čtenější, nastává v 70 % případů. Dle názvu lze odvodit, že hlavní roli zde hraje estrogen, který v tomto případě stimuluje růst rakovinných buněk. Nadpoloviční část estrogenní BC je poté identifikována jako odpověď na hormon progesteron, označováno jako PR-pozitivní. Zatímco 20 % je označováno za HER2+, což poukazuje na vysokou expresi HER2 onkogenu. V malé míře se může jednat o BC triple negativní, kdy není přítomna exprese estrogenu, progesteronu a také HER2 onkogenu. Zvolení vhodné léčby je závislé na daném typu BC. Míra přežití BC v případě metastáz do jiných částí těla (játra, plíce, kosti) činí kritických 12 %. (Wan, Fang, Chen et al., 2021; Bhatia, Thareja, 2024).

V současné době existuje k léčbě BC nespočet inhibitorů aromatázy, jejichž cílem je snížení hladin estrogenů. Navzdory značné účinnosti inhibitorů se často setkáváme se získanou lékovou rezistencí a nežádoucími účinky, respektive inhibitory jsou charakteristické nižší selektivitou a vyšší toxicitou (Wan, Fang, Chen et al., 2021).

Mezi vyvinutými inhibitory BC jsou např. sulfonamidové deriváty na bázi 1,2,3-triazolu či imidazolymethylpiperidinu. Zároveň byly syntetizovány také hybridy indol-sulfonamidových derivátů (Wan, Fang, Chen et al., 2021).

2.7.5.2 Inhibitory karboanhydrázových proteinů

Pro mikroprostředí solidních nádorů je typickou vlastností nízká hladina kyslíku – hypoxie. Reakce rakovinných buněk na nedostatečné zásobení tkání kyslíkem spočívá změnou metabolismu (přizpůsobení se), respektive snížením pH buněk a změnou

genové exprese, což zapříčiní prostředí nevhodné pro zdravé buňky (Wan, Fang, Chen et al., 2021).

Jedněmi z klíčových enzymů pro regulaci pH jsou karboanhydrázové proteiny (CA), jejichž mechanismem působení je katalýza reverzibilní přeměny oxidu uhličitého CO₂ a vody na hydrogenuhličitán a protony (Wan, Fang, Chen et al., 2021).

Potencionálním cílem inhibitorů CA jsou izoformy CA IX a CA XII, jež jsou nezbytnými faktory pro stimulaci růstu nádorů, jejich proliferaci, invazivitu, metastazování a získu rezistence vůči běžným postupům chemo/radioterapie (Wan, Fang, Chen et al., 2021).

Příkladem inhibitorů CA jsou hybridy pyrazolin-sulfonamid či sulfonamidy nesoucí isatin-thiazolidinové skupiny (Wan, Fang, Chen et al., 2021).

2.7.5.3 Inhibitory proteinů třídy B-buněčného lymfomu-2

Funkcí proteinů třídy B-buněčného lymfomu-2 (Bcl-2) je regulace apoptózy zprostředkované mitochondriemi. Regulace procesu apoptózy závisí na struktuře a funkci Bcl-2. Proapoptotickými proteiny jsou Bax a Bak, multidoménové Bcl-2 proteiny a také se sem řadí proteiny Bid a Bim obsahující pouze jednu doménu – BH3. Naproti tomu Bcl-2, Bcl-xL či Mcl-1 jsou příklady Bcl-2 proteinů, jejichž účinkem je působení proti apoptóze. Antiapoptotické Bcl-2 proteiny se podílí na vývoji a následné progresi mnoha druhů nádorů (rakovina děložního čípku, prsu, plic či leukémie), čímž vytváří ideální cíle pro léčby nádorů. Známymi inhibitory Bcl-2 proteinů obsahujícími sulfonamidovou skupinu jsou ABT-199, ABT-263, UMI-77 a WL-276 (Wan, Fang, Chen et al., 2021).

Z hlediska klinických výsledků je na tom nejdále jediné schválené BH3-mimetikum FDA, a to ABT-199 známé pod komerčním názvem Venetoclax. Monoterapie inhibitorem ABT-199 je indikována u pacientů s chronickou lymfocytární leukémií (CLL) či v případě diagnózy malý lymfocytární lymfom (SLL). V případě akutní myeloidní leukémie je podáván taktéž, načež v kombinaci s jiným léčivem např. azacitidinem (Alharbi, Almanifi, Ashrafuzzaman, 2024).

ABT-263, komerčně Navitoclax, je modifikací ABT-737 s prokázanými nežádoucími účinky, jehož cílem je maximální účinnost a minimalizace nežádoucích účinků pozorované u ABT-737 (Alharbi, Almanifi, Ashrafuzzaman, 2024).

Navzdory tomu, že Mcl-1 je antiapoptotický protein, inhibitory skupiny ABT (ABT-263, ABT-737) Mcl-1 neinhibují z důvodu odlišné struktury a rozdílného mechanismu účinku působení od Bcl-2 a Bcl-xL (Alharbi, Almanifi, Ashrafuzzaman, 2024).

2.7.5.4 Inhibitory topoizomerázy

Topoizomerázové enzymy hrají klíčovou roli při řízení topologických problémů DNA, jež nastávají během buněčné proliferace, diferenciaci a procesů zajišťujících buněčné přežití. Známymi topoizomerázami jsou topoizomeráza I a topoizomeráza II, které se navzájem odlišují svými strukturami, katalytickými funkcemi a mechanismy účinku. Zatímco topoizomeráza I se vyznačuje schopností štěpit pouze jedno vlákno DNA, Topoizomeráza II dokáže současně štěpit DNA vlákna dvě (Wan, Fang, Chen et al., 2021).

Shelke et al. připravili metodou molekulární hybridizace množství sulfonamidových derivátů, jejichž součástí bylo aminoflavonové jádro v poloze 6/7. Na základě vyhodnocení *in vitro* protirakovinných aktivit za použití rakovinových buněčných linií jater (HepG-2), adenokarcinomu plic (A-549), adenokarcinomu tlustého střeva (Caco-2) byla prokázána vyšší účinnost v případě inhibitorů s flavonovým jádrem v poloze 7 (Wan, Fang, Chen et al., 2021).

2.7.5.5 Inhibitory fosfatidylinositol-3-kinázy

Fosfatidylinositol-3kináza (PI3K) je enzymem fosforylujícím fosfatidylinositol v poloze 3, kde je navázána hydroxylová skupina. Produktem fosforylace je fosfatidylinositol-3-fosfát. Různé typy lidských rakovin jsou spojovány s aktivací signální dráhy PI3K/AKT/mTOR podílející se na proliferaci buněk, jejich pohybu a přežití. PI3K jsou klasifikovány do tří tříd, přičemž první třídu lze dále dělit na podtřídy označované řeckými písmeny α - δ . Vznik a progresse nádorů je spojována zejména s PI3K α , jež je kódován genem PIK3CA. Nadměrná exprese genu se může vyskytovat u mnoha maligních nádorů, tudíž byly za účelem léčby vyvinuty inhibitory PI3K α , včetně sulfonamidových derivátů (Liang, Wu, Yang et al., 2021; Wan, Fang, Chen et al., 2021).

V období 2015-2020 byly pro léčbu nádoru schváleny tři inhibitory PI3K s charakterem malých molekul. Jedná se o Copanlisib s aktivitou oproti α a δ izoformám, jež byl schválen v kombinované léčbě pro pacienty s folikulárním lymfomem či B-buněčným non-Hodgkinovým lymfomem. Druhým terapeutikem je Duvelisib, jehož podání je možné v případě SLL. Posledním schváleným léčivem je Alpelisib, inhibitor PI3K α při terapii rakoviny prsu (Liang, Wu, Yang et al., 2021).

2.7.6 Snížení rizika nokardiózy u příjemců transplantovaných solidních orgánů

Příjemci transplantovaného solidního orgánu jsou na základě imunosupresivní terapie sloužící k prevenci rejekce aloštěpu vystaveny vysokému riziku oportunních infekcí. Pokud zdravotní stav příjemce dovolí, je příjemcům doporučováno podání profylaxe využívané

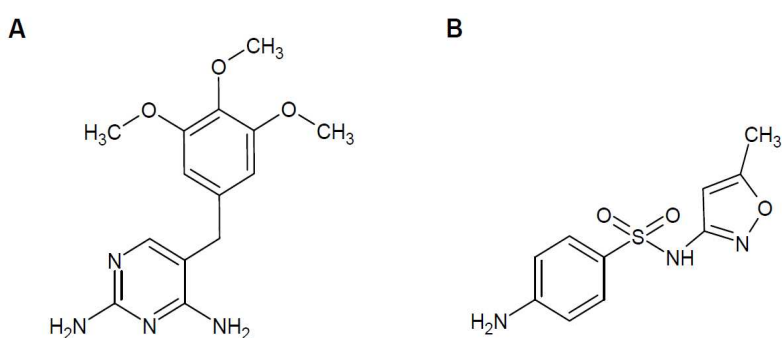
kombinace antibiotik TMP-SMX, jako prevence před pneumonií způsobené patogenem *Pneumocystis jirovecii*. Mimo jiné TMP-SMX působí i proti jiným patogenům, např. všudypřítomným bakterií *Nocardia*, jež tvoří až 3,5 % původců infekce u transplantovaných jedinců. Infekce u příjemců transplantovaných solidních orgánů *rodem Nocardia* je spojena také se zvýšenou mortalitou. V případě diseminace infekce do CNS se mortalita úměrně zvyšuje, kdy může přesahovat až 30 % celkových případů *Nocardia* po transplantaci (Passerini, Nayfeh, Yetmar et al., 2024).

2.8 Sulfonamidy využívané v terapii

Příkladnými zástupci registrovaných sulfonamidových derivátů v České republice jsou sulfacetamid, sulfanilamid, sulfasalazin a SMX. Mezi další známé antimikrobiální struktury obsahující sulfonamidovou skupinu se řadí dapson, jež není v České republice registrovaný (SÚKL, 2024).

2.8.1 Trimethoprim-sulfamethoxazol

SMX s bakteriostatickým účinkem na citlivé bakterie se obvykle indikuje v kombinaci s trimethoprimem – viz chemická struktura 2. Samotný trimethoprim se vyznačuje bakteriostatickým účinkem na mikroorganismy, nicméně v podobě TMP-SMX se jeví jako baktericidní. Synergické působení látek zajišťuje blokaci dvou po sobě jdoucích kroků při biosyntéze nukleových kyselin a proteinů. V současnosti se kombinace co-trimoxazol využívá v souvislosti s oddálením rozvoje AMR (Trimethoprim, 2025; Sulfamethoxazol 2025).



Chemická struktura 2 A – trimethoprim, B – sulfamethoxazol

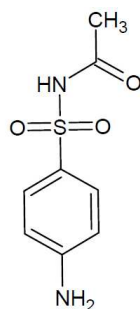
TMP-SMX je mimo léčbu infekce močových cest indikován v případě rozmanitých bakteriálních infekcí, a to při enteritidě způsobené patogenem *Shigella*, při léčbě průjemových

onemocnění způsobených enterotoxigenní *Escherichia coli* anebo v případě diagnostikované pneumonie *Pneumocystis jirovecii*. U dětských pacientů je TMP-SMX indikován u akutního zánětu středního ucha. Kanada, druhá největší země na světě, využívá co-trimoxazol mimo jiné jako doplňkovou léčbu infekcí cholery nebo také bacilární úplavice. Existují indikace s využitím kombinované léčby TMP-SMX s gentamicinem či rifampicinem při léčbě druhé linie brucelózy či v případě infekce nokardiózy (Trimethoprim, 2025; Sulfamethoxazol 2025).

Obě látky, jež jsou součástí co-trimoxazolu, jsou eliminovány především močí, 10-20 % trimethoprimu je poté metabolizováno v játrech (Trimethoprim, 2025; Sulfamethoxazol 2025).

2.8.2 Sulfacetamid

Sulfacetamid – viz chemická struktura 3 – se využívá při léčbě bakteriální vaginitidy a využití mají také u očních infekčních onemocnění, jako např. akutní konjunktivitida, blefaritida (zánět očních víček) (Sulfacetamid, 2025).

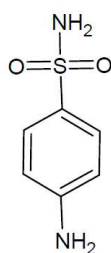


Chemická struktura 3 Sulfacetamid

2.8.3 Sulfanilamid

Vědecké studie prokázaly produkci sulfanilamidu u bakteriálního rodu *Streptomyces*, např. *Streptomyces lincolnensis* či u rostliny *Arabidopsis thaliana*. Antiinfekční látka působí krátkodobě a má nižší antibakteriální aktivitu než SMX. Indikace sulfanilamidu je typická pro diagnózu vulvovaginitidu, bakteriální infekci způsobenou kvasinkou *Candida albicans*. Antibiotikum je vstřebáváno přes vaginální sliznici. V současné době nejsou známy údaje o množství intravaginální dávky, jež se dostane do systémové cirkulace (Sulfanilamide, 2025).

Struktura sulfanilamidu je znázorněna na obrázku chemické struktury 4:



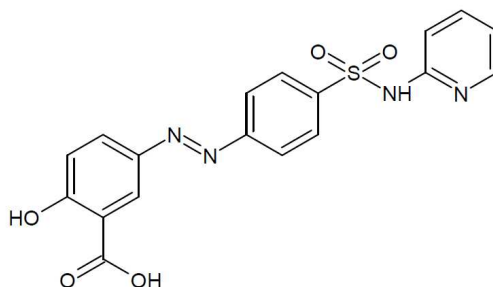
Chemická struktura 4 Sulfanilamid

2.8.4 Sulfasalazin

Mezi další protizánětlivé terapeutikum ze skupiny sulfonamidů se řadí sulfasalazin, jehož strukturou se podobá nesteroidním protizánětlivým lékům (NSAID), např. salicylátům – viz chemická struktura 5. Po podání sulfasalazinu dochází k jeho metabolizaci za účasti střevních bakterií na farmakologicky aktivní mesalazin (kyselina 5-aminosalicylová) a sulfapyridin. Metabolity jsou primárně vylučované močí ve formě volných metabolitů či jako glukuronidové konjugáty. Zároveň velká část mesalazinu přetrvává v lumen tlustého střeva a následně je vylučována stolicí (Sulfasalazine, 2025).

Co se týče vhodnosti indikace, sulfasalazin je indikován v případě autoimunitních zánětlivých onemocnění, jako je ulcerózní kolitida a revmatoidní artritida (RA). Ve srovnání léčby RA sulfasalazinem a methotrexátem (první volba při léčbě RA) je účinnost sulfasalazinu a methotrexátu identická, míra snášenlivosti již nikoli. Nižší snášenlivost je spojována s léčbou RA sulfasalazinem (Sulfasalazine, 2025).

V případě sulfasalazinu existují také studie týkající se prospěšnosti u pacientů s Crohnovou chorobou. FDA ale nedoporučuje indikaci při této diagnóze, jelikož nejsou doloženy žádné podložené důkazy o hojení sliznic (Sulfasalazine, 2025).

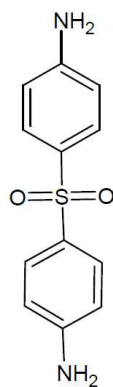


Chemická struktura 5 Sulfasalazin

2.8.5 Dapson

Dapson – viz chemická struktura 6 – se vyznačuje nejen antibakteriálními a antibiotickými vlastnostmi, ale také jsou pro něj charakteristické imunosupresivní vlastnosti. Jeho hlavním cílem působení je acidorezistentní bakterie *Mycobacterium leprae* způsobující onemocnění zvané lepra. Dále se protiinfekční činidlo indikuje při léčbě malárie či nově u HIV pozitivních pacientů v pokročilejších stádiích včetně AIDS, jimž byla diagnostikována jedna z komplikací – pneumocystická pneumonie (Dapson, 2025).

Dapson je vstřebáván z GIT a v důsledku jeho distribuce do celkové tělesné vody je přítomen ve všech tkáních. Antibiotikum je v těle detekovatelné i tři týdny po ukončení léčby, a to z důvodu jeho tendence zadržovat se v různých orgánech (játra, ledviny) a tkáních (svalová, kožní) (Dapson, 2025).



Chemická struktura 6 Dapson

2.9 Nežádoucí účinky

Přítomnost sulfonamidových látek v životním prostředí představuje potenciální riziko ve formě toxicity nejen pro osídlené životní prostředí, ale také pro lidské zdraví (Zango, Khoo, Garba et al., 2024).

Co se týče nežádoucích účinků při léčbě antimikrobiálními látkami na bázi sulfonamidů, setkáváme se s rozmanitými vedlejšími účinky v závislosti na podaném léčivu. V případě indikace sulfonamidů (sulfisoxazol, SMX) či nitrofurantoinu byla prokázána poměrně nízká míra závažných reakcí, přičemž dle Koch-Weser et al. je podání nitrofurantoinu spojováno s vyšším rizikem nežádoucích účinků oproti zmíněným sulfonamidům (Fernández-Villa, Aguilar, Rojo, 2019).

Léčba kombinací TMP-SMX je ve většině případů velmi dobře snášena, tudíž pro co-trimoxazol je charakteristická vzácnost nežádoucích účinků. Typickými reakcemi

jsou kožní erupce a exantémy. U pacientů s renální insuficiencí se mohou objevit hyperglykemické a hyperkalemické stavy, a to v důsledku interakcí mezi různými typy léčiv. Navzdory vzácné přítomnosti nežádoucích reakcí byly v minulosti hlášené život ohrožující hematologické poruchy vycházející z poruch cyklu kyseliny listové. Podání TMP-SMX je umožněno i v těhotenství, nicméně existují studie týkající se závažných vedlejších účinků, mezi které spadají vrozené malformace (kardiovaskulární malformace, malformace močových cest, defekty neurální trubice) (Fernández-Villa, Aguilar, Rojo, 2019).

Dapson s jeho baktericidními účinky způsobuje nežádoucí účinky velmi často. Mezi ty nejběžnější se řadí hematologické reakce (nejběžněji hemolýzy, methemoglobinémie a sulfhemoglobinémie). Dále byly hlášeny také kardiovaskulární, pankreatické, psychiatrické či kardiovaskulární příhody. Dlouhodobé podávání dapsonu způsobuje horečku, exfoliativní dermatitidu, lymfadenopatii, hepatitidu, leukopenii a také mononukleózu. Soubor zmíněných symptomů se označuje za tzv. Dapsonův syndrom. V případě těhotenství nebyly zpozorovány žádné vážné abnormality (Fernández-Villa, Aguilar, Rojo, 2019).

Většina nežádoucích reakcí u sulfasalazinu je mírná, jedná se o bolesti hlavy či nauzea. Ovšem byly hlášeny také případy s alergickými reakcemi, hepato- a nefrotoxicitou či pankreatitidou. Indikace sulfasalazinu způsobila také neplodnost. Nicméně sulfasalazin je brán za bezpečné antibiotikum u gravidních žen (Fernández-Villa, Aguilar, Rojo, 2019).

3 VYBRANÉ MIKROORGANISMY ZA ÚČELEM TESTOVÁNÍ CITLIVOSTI NOVĚ SYNTETIZOVANÝCH SULFONAMIDŮ

3.1 Grampozitivní koky

3.1.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus – viz obrázek 16 – je grampozitivní oportunní bakterie, jež způsobuje různorodé infekce u oslabených lidí. Jeho přítomnost na sliznicích či kůži u zdravých jedinců obvykle neznačí žádné infekční onemocnění (Brdová, Ruml, Viktorová, 2024).

Co se týče biochemických vlastností, jedná se o fakultativně anaerobní koky nevyžadující ke svému růstu kyslík. Dále je pro tyto v mikroskopu pozorovatelné modro-fialové shluky koků ve tvaru hroznů charakteristická pozitivní kataláza, a naopak negativní oxidáza. Stafylokoky jsou nepohyblivými a zároveň nesporulujícími mikroorganismy (Brdová, Ruml, Viktorová, 2024).



Obrázek 16 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus představuje nejinvazivnější druh rodu *Staphylococcus*. Je původcem jak akutních, tak chronických infekcí, např. endokarditid, hlubokých tkáňových abscesů, pneumonií či vředů. Tyto infekce mohou progredovat až v život ohrožující orgánové selhání (Brdová, Ruml, Viktorová).

Již ve 40. letech 20 století se byly pozorovány penicilin-rezistentní kmeny, mezi které patří známý MRSA či VRSA. Mechanismus působení je založen na produkci β -laktamázy, kdy v důsledku jejího působení dochází ke štěpení β -laktamového kruhu. V případě MRSA se jedná o rezistenci vůči methicilinu, substituovaného β -laktamového kruhu.

Rozlišují se infekce pocházející z nemocničního prostředí (HA-MRSA), z jakéhokoli zdravotnického zařízení (HCA-MRSA) či komunitně asociované stafylokokové infekce (CA-MRSA). Terapeutickou výzvou je léčba infekcí způsobených MRSA, jejichž míra výskytu se v současnosti globálně zvyšuje. Rezistence se neustále prohlubuje i přes schválení anti-MRSA cefalosporinů Evropskou unií v roce 2010. *Staphylococcus aureus* je WHO řazen mezi patogeny s vysokou prioritou (Brdová, Ruml, Viktorová, 2024).

Výskyt kmenů VRSA je oproti MRSA vzácný. Celosvětově bylo prokázáno pouze několik případů (většinou v USA), přičemž v Evropě byl VRSA poprvé detekován v roce 2013, a to v Portugalsku (Brdová, Ruml, Viktorová, 2024).

3.1.2 *Streptococcus pyogenes*

Streptococcus pyogenes – viz obrázek 17 – se společně se *Staphylococcus aureus* řadí mezi grampozitivní koky. Vzájemně se ale odlišují biochemickými testy na katalázu a oxidázu, kdy pro *Streptococcus pyogenes* jsou charakteristické negativní testy na katalázu i oxidázu. Liší se taktéž uspořádáním, kdy pod mikroskopem můžeme pozorovat uspořádání *Streptococcus pyogenes* ve formě diplokoků či řetízků.



Obrázek 17 *Streptococcus pyogenes*

Rod *Streptococcus* je klasifikován do skupin dle polysacharidové substance, jedná se o tzv. klasifikaci dle Lancefieldové, přičemž druh *Streptococcus pyogenes* patří do skupiny A (GAS) (Rafei, Al Iaali, Osman et al., 2022).

Navzdory bezpříznakového bakteriálního nosičství může *Streptococcus pyogenes* způsobit při kolonizaci hrdla či kůže různorodá onemocnění – od méně invazivních až po těžké život ohrožující invazivní infekce a také imunitně zprostředkované stavy (akutní revmatická horečka, revmatické srdeční onemocnění). Méně invazivními infekcemi jsou pyodermie či

faryngitida. Těžkými život ohrožujícími infekcemi jsou poté syndrom toxického šoku, nekrotizující fasciitida nebo bakteriémie. Globální výskyt vážných infekcí GAS doprovází vážné následky. Každoročně těžkým infekcím GAS podlehnou přibližně 500 000 lidí a nejméně 18,1 milionu infikovaných trpí dlouhodobými následky (Rafei, Al Iaali, Osman et al., 2022; Hung, Phuong, Grobler et al., 2024).

Již před pandemií COVID-19 byl zachycen nárůst invazivních infekcí patogenem *Streptococcus pyogenes*. Koncem roku 2022 byla zaznamenána ohniska v Austrálii, Nizozemsku či ve Spojeném království. Jelikož se bakterie přenáší respiračními kapénkami, bylo během populační studie týkající se přenosu infekce prokázáno až 2000krát vyšší riziko přenosu mezi blízkými kontakty. Zároveň se mluví o prevenci před streptokokovými infekcemi u blízkých osob pomocí chemoprophylaxe. Zde se ale jedná o diskutabilní téma, jelikož chemoprophylaxe přispívá k AMR (Hung, Phuong, Grobler et al., 2024).

První volbou antibiotické léčby jsou β -laktamy, zejména penicilin, který se vyznačuje přetrvávající účinností vůči GAS. U pacientů s alergií na penicilin jsou vhodnými alternativami makrolidy či linkomycin, jež se mohou ve vážných stavech kombinovat s penicilinem. V případě alternativních antibiotik se ale setkáváme s AMR způsobenou nejčastěji mechanismy metylace ribozomálního cíle antibiotik a efluxními pumpami. Situace makrolidové rezistence GAS je kritická v oblasti Číny (90 %), naopak v Evropě se momentálně potýkáme s prevalencí pouhých 2 % (Rafei, Al Iaali, Osman et al., 2022).

3.1.3 *Enterococcus faecalis*

Všudypřítomné grampozitivní nesporeující enterokoky byly v 80. letech na základě jejich podobností se streptokoky v oblasti morfologie, fyziologie a biochemie součástí streptokokové skupiny D. Skupina přirozených kolonizátorů GIT byla roce 2009 vyřazena Ludwigem et al. do samostatné čeledi *Enterococcus* (Zaidi, Zaheer, Zovoilis et al., 2024; Eichel, Last, Brühwasser et al., 2023).

Biochemickými vlastnostmi *Enterococcus* je negativní katalázový a oxidázový test. Vhodným prostředím pro růst je prostředí obohacené až o 6,5 % NaCl, jedná se o tzv. halotolerantní mikroorganismy. Většina druhů není schopna pohybu, výjimku tvoří např. *Enterococcus gallinarum*. Laboratorními postupy, respektive testem na fermentaci eskulinu, lze odlišit čeleď *Enterococcus* od rodu *Streptococcus*, jelikož enterokoky hydrolyzují zmíněnou chemickou sloučeninu – eskulin (Zaidi, Zaheer, Zovoilis et al., 2024).

Mezi nejznámější druhy se řadí *Enterococcus faecum* a *Enterococcus faecalis* (znázorněný na obrázku 18), oportunní patogeny tvořící 90-95 % infekcí získaných

v nemocničním prostředí, přičemž pro vybraný mikroorganismus k testování nových sulfonamidů jsou typické závažnější infekce oproti *Enterococcus faecum*. Enterokoky jsou častými původci infekcí močových cest, ohrožujícími infekcemi jsou poté bakteriémie spojené s endokarditidou (Wada, Afolabi, Al-Mhanna et al., 2024).



Obrázek 18 *Enterococcus faecalis*

Enterokoky jakožto součást skupiny ESKAPE jsou odolnými bakteriemi vůči dezinfekčním a dekontaminačním procesům. Podíl na AMR má nejen jejich přirozená odolnost vůči aminoglykosidům, cefalosporinům, klindamycinu či penicilinu, ale také plasticita enterokokových genomů. Mechanismy AMR jsou různorodé – od modifikace antibiotika či cílového místa pomocí enzymů, až po expresi efluxních pump (Zaidi, Zaheer, Zovoilis, 2024).

Co se týče rezistence enterokoků na daný druh antibiotika, nejznámějším je druh VRE, dále je pak popsán např. enterokok rezistentní na linezolid (LRE) (Wada, Afolabi, Al-Mhanna et al., 2024).

3.1.4 Vankomycin-rezistentní enterokok (VRE)

Horizontální přenos genů dal vzniku VRE (znázorněný na obrázku 19), již jsou dle WHO a dalších organizací globální výzvou. V posledních desetiletích se výrazně změnila epidemiologie VRE, kdy se objevují stále nové kmeny, zejména *Enterococcus faecum*. Zároveň byl v Německu prokázán posun genotypů VRE z vanA na vanB, jenž jsou si navzájem podobné svojí strukturou. VanA rezistence je u enterokoků nejčastější a je pro ni charakteristická odolnost vůči dvěma antimikrobiálními látkám – vankomycinu a teikoplaninu. Naproti tomu pro vanB je charakteristická pouze rezistence vůči vankomycinu (Eichel, Last, Brühwasser et al., 2023; Zaidi, Zaheer, Zovoilis et al., 2024).

Vzhledem k omezenému léčebnému boji proti VRE je bakteriémie vyvolaná tímto druhem spojována s vysokou nakažlivostí a úmrtností ve srovnání s bakteriemi způsobenou enterokoky citlivými na vankomycin (Eichel, Last, Brühwasser et al., 2023).



Obrázek 19 VRE

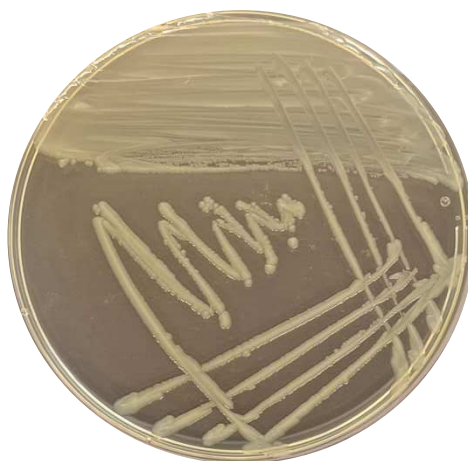
3.2 Čeled' *Enterobacteriaceae*

Čeled' *Enterobacteriaceae* charakterizuje gramnegativní tyčinky, pro které je typický růst v prostředí bez nutné přítomnosti kyslíku, jedná se o tzv. fakultativně anaerobní mikroorganismy.

3.2.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli – viz obrázek 20 – je součástí běžné střevní mikroflóry, tudíž u zdravých jedinců vyvolává onemocnění pouze v ojedinělých případech. V případě patogenních kmenů může bakterie způsobit střevní či extraintestinální onemocnění – nejčastěji infekce močových cest (Gomes, Elias, Scaletsky et al., 2016).

Mezi patogenní kmeny vyvolávající průjemová onemocnění patří kmeny, jež jsou souhrnně označovány za diarheagenní *Escherichia coli* (DEC). DEC je následně klasifikována dle odlišného místa kolonizace hostitele, různorodých symptomů, důsledků a také dle mechanismů virulence na enteropatogenní *Escherichia coli* (EPEC), enterohemoragické, pro něž je charakteristická produkce Shiga-like toxinu (EHEC/STEC), enteroagregativní (EAEC) a enteroinvazivní (EIEC). Průjemová onemocnění jsou vysoce riziková pro kojence a malé děti, u kterých může progredovat až do úmrtí (Gomes, Elias, Scaletsky et al., 2016).



Obrázek 20 *Escherichia coli*

Escherichia coli je jednou z hlavních bakterií přispívajících ke globální krizi AMR. V současné době prohlubují AMR kmeny *Escherichia coli* produkující rozšířené spektrum β -laktamáz (ESBL) a karbapenemáz (CR-Ec), jejichž počet neustále narůstá v důsledku nadměrného či nesprávného užívání. Podíl na nárůstu AMR tvoří také globální propojení prostřednictvím cestování, obchodu a také distribuce potravin (Aljohni, Harun-Ur-Rashid, Selim, 2025).

ESBL a CR-Ec vznikají na základě výjimečné adaptability bakterie, kdy pomocí HGT dochází k zisku rezistentních genů. Zatímco kmeny ESBL jsou celosvětově rozšířeny a jsou rezistentní vůči antimikrobiálním látkám skupiny cefalosporinů třetí generace, s narůstající prevalencí CR-Ec se setkáváme v nemocničním prostředí a zařízeních s dlouhodobou péčí v oblastech vyspělých i rozvojových zemí, přičemž je pro ně charakteristická odolnost vůči karbapenemu (Aljohni, Harun-Ur-Rashid, Selim, 2025).

3.2.2 *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae, další zástupce čeledi *Enterobacteriaceae*, tvoří až 95 % infekcí rodu *Klebsiella*. Jedná se o oportunní patogen, jenž běžně osidluje trávicí a dýchací trakt jedinců. Onemocnění poté vyvolává zejména u pacientů s oslabeným imunitním systémem, přičemž nejčastěji se jedná o infekce ve zdravotnických zařízeních (Shah, Alwashmi, Abalkhail et al., 2025).

Pozorováním obarvené bakterie dle Grama v mikroskopu lze vizualizovat nepohyblivé zapouzdřené tyčinky růžové barvy. Polysacharidové pouzdro slouží jako ochrana před fagocytózou a vysycháním. Na agarové plotně lze vyhodnotit přítomnost pouzdra na základě mukoidních kolonií – viz obrázek 21 (Shah, Alwashmi, Abalkhail et al., 2025).



Obrázek 21 *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae*

Pro usnadnění identifikace *Klebsiella pneumoniae* se v laboratoři využívají biochemické testy pro průkaz fermentace laktózy a dále testy týkající se produkce kyseliny a plynu (Shah, Alwashmi, Abalkhail et al., 2025).

Klebsiella pneumoniae celosvětově představuje hlavní příčinu komunitních infekcí a infekcí z nemocničního prostředí (vysoká prevalence je zejména na jednotkách intenzivní péče). Opouzdřený patogen je původcem pneumonie, jaterních abscesů, infekcí močových cest a krevního řečiště (Shah, Alwashmi, Abalkhail et al., 2025).

Antimikrobiální rezistence je spojována s tvorbou MDR, a to včetně kmenů jež jsou rezistentní vůči karbapenemu (CRKP). CRKP jsou spojovány s vysokou mortalitou, kdy u infekcí krevního řečiště dosahuje neuvěřitelných 50 %. *Klebsiella pneumoniae* je v současnosti odolná vůči mnoha třídám antimikrobiálních látek, např. β -laktamům a chinolonům, přičemž AMR je dosaženo mechanismem HGT (Shah, Alwashmi, Abalkhail et al., 2025).

3.2.3 *Proteus sp.*

Rod *Proteus*, ureáza pozitivní pohyblivé bakterie, je považován za komenzální organismy, které kolonizují v GIT lidí i zvířat. V přírodě osidluje půdy a odpadní vody (Vaez, Kalarestaghi, Sahebkar et al., 2022).

Nejznámějšími druhy jsou *Proteus mirabilis* a *Proteus vulgaris*, přičemž *Proteus mirabilis* je nejběžnějším bakteriálním druhem s plazivým růstem na agarové plotně identifikovaným v klinických vzorcích – viz obrázek 22. Patogen se často podílí na katérových infekcích močových cest (UTI), a to zejména na cystitidě a pyelonefritidě. Ve vylučovacím systému se dále může podílet na tvorbě ledvinových kamenů. *Proteus* je také spojován s infekcemi a ranami očí a GIT. K AMR *Proteus sp.* výrazně přispívá rozsáhlým využíváním

aminoglykosidových, chinolonových a β -laktamových antibiotik, jež jsou v případě UTI indikovány (Vaez, Kalarestaghi, Sahebkar et al., 2022).



Obrázek 22 *Proteus sp.*

Nejčastějším mechanismem AMR je modifikace antibiotik β -laktamázi, dále pak pomocí efluxních pump či membránové permeability. Jak již bylo zmíněno u předešlých bakterií čeledi *Enterobacteriaceae*, modifikace léčiv širokým spektrem β -laktamáz zapříčiňuje tvorbu tzv. ESBL kmenů, v případě působení karbapenemáz vznikají kmeny rezistentní vůči karbapenemu (Vaez, Kalarestaghi, Sahebkar et al., 2022).

3.2.4 *Salmonella Enteritidis*

Posledním zvoleným zástupcem čeledi *Enterobacteriaceae* je *Salmonella* – viz obrázek 23 – způsobující globálně rozšířené alimentární onemocnění – salmonelózu. Ročně je diagnostikováno 550 000 000 postižených jedinců. Průměrné onemocnění má pro veřejné zdraví po celém světě významné následky, kdy mnoho případů je život ohrožujících až smrtelných. Častým úkazem je nákaza MDR sérotypy po konzumaci kontaminovaných produktů živočišného původu (Alenazy, 2022; Moraes, Almeida, Andrade et al., 2024).



Obrázek 23 *Salmonella Enteritidis*

Rod *Salmonella* je rezistentní vůči fluorochinolonu. Dokonce v nedávné době byla nalezena tzv. tetra, respektive penta rezistence u *Salmonella*, tzn. rezistence vůči 4 (5) různým antibiotikům současně (Alenazy, 2022).

Pro MDR sérotypy salmonely je charakteristická odolnost vůči antibiotikům první linie – ampicilin (AMP), chloramfenikol, TMP-SMX. V Evropské unii byl hlášen MDR sérotyp v drůbežím mase, v Jižní Africe z hospodářského prostředí (krmiva, zvířata, prostředí) či např. v Brazílii byla bakterie izolována z různých fází produkce prasat – od chovu až po porážku (Moraes, Almeida, Andrade et al., 2024).

Mechanismy vzniku AMR u *Salmonella Enteritidis* zahrnují činnost efluxních pump, inaktivaci antibiotika pomocí enzymů, modifikace cílového místa či změnu týkající se porinových kanálů (Alenazy, 2022).

V budoucnu by mohlo dojít ke vzniku tzv. postantibiotické éry – nemožnosti léčby antibiotiky, a to z důvodu postupného vyústění rezistence vůči všem druhům antibiotik (PDR) z MDR a následující XDR (Alenazy, 2022).

3.3 *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis – viz obrázek 24 – se jakožto grampozitivní tyčinka tvořící endospory klasifikuje do skupiny grampozitivních anaerobních sporulujících tyčinek. Endospory napomáhají bakterii přežít v nepříznivých podmínkách. Z hlediska biochemických testů se rod *Bacillus* vyznačuje rozkladem H_2O_2 za pomoci enzymu peroxidázy. *Bacillus* je globálně rozšířeným mikroorganismem, jenž je přítomen nejen v půdním, vodním a vzdušném prostředí, ale také ve fermentovaných potravinách či může osidlovat lidský trávicí trakt (Akinsemolu, Onyeaka, Odion et al., 2024; Zhao, Liu, Li et al., 2025).



Obrázek 24 *Bacillus subtilis*

Některé kmeny rodu *Bacillus* (včetně *Bacillus subtilis*) se vyznačují probiotickými vlastnostmi, respektive jsou schopny produkovat různé trávicí enzymy, živiny apod. Spolu s odolností a stabilitou vytváří probiotické vlastnosti ideální prostředí pro přežití probiotika v GIT lidí i zvířat (Akinsemolu, Onyeaka, Odion et al., 2024; Zhao, Liu, Li et al., 2025).

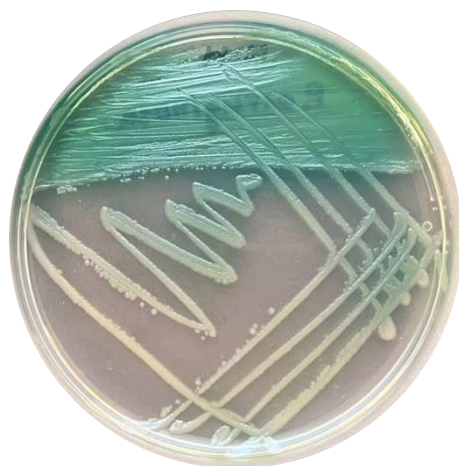
Bacillus se na základě jejich využití v zemědělském odvětví v roli biopesticidů řadí mezi nejvíce zkoumané činidlo biologické kontroly. Produkci sekundárních peptidových sloučenin s antimikrobiálními účinky mohou potlačovat rostlinné patogeny (Akinsemolu, Onyeaka, Odion et al., 2024).

3.4 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa – viz obrázek 25 – je bakterie zastupující skupinu nefermentujících gramnegativních tyčinek. Všudypřítomný oportunní patogen se zaměřuje na oslabené jedince, např. s diagnózou cystické fibrózy, rakoviny, chronické obstrukční plicní nemoci (CHOPN) či popálenin. Výskyt *Pseudomonas aeruginosa* byla prokázána také u osob se závažnějšími infekcemi vyžadujícími ventilaci – COVID-19 (Oliver, Rojo-Molinero, Arca-Suarez et al., 2024; Gupta, Chauhan, Singh et al., 2025).

Stejně jako *Klebsiella pneumoniae*, i *Pseudomonas aeruginosa* je jedna z nejčastějších příčin infekcí v nemocničním prostředí a také chronických infekcí, pro jež je charakteristická početná morbidita a mortalita. Více než 300 000 úmrtí ročně je způsobeno infekcemi *Pseudomonas aeruginosa*. Z tohoto faktu lze usoudit, že *Pseudomonas aeruginosa* se řadí mezi mikroorganismy spojované s AMR, kdy dle priorit WHO je bakterie spolu s čeledí *Enterobacteriaceae* a *Acinetobacter baumannii* na nejvyšší příčce seznamu (Oliver, Rojo-Molinero, Arca-Suarez et al., 2024; Gupta, Chauhan, Singh et al., 2025).

AMR u *Pseudomonas aeruginosa* vzniká v důsledku chromozomálních mutací či HGT bakterie, kdy opět se opět vyvíjí rezistentní kmeny produkující ESBL či karbapenemázy – XDR, MDR a kmeny PDR. Následkem mechanismů AMR získává nefermetující bakterie rezistenci vůči aminoglykosidům, β -laktamům či chinolonům (Gupta, Chauhan, Singh et al., 2025).



Obrázek 25 *Pseudomonas aeruginosa*

3.5 Kvasinky

Na Zemi je odhadováno 1,5-5,1 milionů druhů kvasinek, přičemž pouhých 400 z nich vyvolává u lidí onemocnění. Navzdory nižšímu počtu infikujících druhů, jsou patogenní houby na celém světě zodpovědné za cca jednu miliardu infekčních onemocnění a počet úmrtí přesahuje hodnotu 1,6 milionu. Nejčastěji se jedná o druhy *Candida* (Kaur, Nobile, 2023).

K léčbě kvasinkových infekcí jsou indikována tzv. antimykotika, jež jsou klasifikována do tří tříd – azoly, echinokandiny a polyeny – přičemž všeobecně nejvyužívanějšími antimykotiky jsou azoly, resp. flukonazol. Nejnovějšími antimykotiky jsou poté echinokandiny – kaspofungin. Zástupcem polyenů je komerční antimykotikum amfotericin B (Kaur, Nobile, 2023).

Možnost indikace sulfamethoxazolu apod. je díky synergickému účinku s azolovými antimykotiky možná při potlačení rezistence u mnoha izolátů *Candida albicans*. V současnosti však není jasné, zda by se tato aktivita podpůrné léčby mohla rozšířit na další kvasinkové druhy *Candida* (Eldesouky, Li, Abutaleb et al., 2018).

Na rezistenci a toleranci *Candida* k antifungálním prostředkům se výrazně podílí tvorba biofilmů. Mechanismy rezistence jsou mimo jiné také efluxní pumpy, přítomnost extracelulární matrix či perzistentních buněk (Kaur, Nobile, 2023).

Existují studie týkající se souvislosti *Candida* a orální karcinogeneze, kdy kvasinky mohou produkovat nejen přímé karcinogeny (např. nitrosamin), ale mohou také přispívat ke vzniku karcinomu metabolizací ethanolu a glukózy za vzniku rakovinotvorného acetaldehydu, kdy zároveň dochází k produkci chronických zánětlivých cytokinů (Tasso, Ferrisse, de Oliveira et al., 2023).

3.5.1 *Candida albicans*

Candida albicans – viz obrázek 26 – je nejznámějším a zároveň nejrozšířenějším druhem komenzálních hub osidlující lidskou mikroflóru. Přirozeně se vyskytuje i u zdravých jedinců, kde asymptomaticky kolonizuje na kůži, v GIT nebo také např. v genitourinárním traktu. Infekční onemocnění poté vzniká na popud oslabení imunitního systému, stresových situací apod. Závažnost vyvolaných infekcí může být od povrchových slizničních infekcí až po hematogenně diseminovanou kandidózu (Kaur, Nobile, 2023).



Obrázek 26 *Candida albicans*

V případě tolerance flukonazolu při léčbě kandidózy dochází ke zrychlení vzniku rezistence a zároveň ke zvýšení úmrtnosti novorozenců, jelikož tolerance souvisí s perzistující kandidémií. Mechanismus tolerance je nejasný, ve studiích ale bylo prokázáno zesílení tolerance v přítomnosti většího množství proteinů (Feng, Lu, Whiteway et al., 2023).

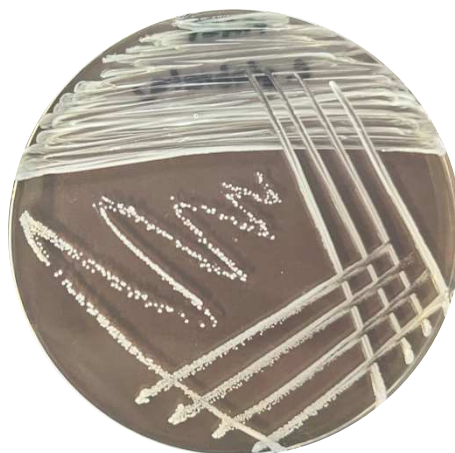
Candida albicans je nejvýznamnějším zástupcem s vysokou frekvencí výskytu u různých typů karcinomu (Tasso, Ferrisse, de Oliveira et al., 2023).

3.5.2 *Candida glabrata*

Candida glabrata, dříve *Torulopsis glabrata*, je nepohlavní haploidní kvasinka, jež netvoří hyfy. V určitých růstových podmínkách (vystavení CO₂, nedostatek dusíku,

inkubace s buněčnou linií myších makrofágů) může *Candida glabrata* změnit svoji strukturu tvorbou pseudohyf (Shantal, Juan, Lizbeth et al., 2022).

Kolonie *Candida glabrata* na M-H agaru jsou znázorněny na obrázku 27:



Obrázek 27 *Candida glabrata*

Byť byla kvasinka dříve považována za saprofytickou nepatogenní kvasinku kolonizující zdravé sliznice u zdravých jedinců, v současné době je vznikajícím oportunním patogenem. *Candida glabrata* vyvolává slizniční infekce a v důsledku napadání tkání způsobuje komplikace ve formě systémových infekcí až smrti (Shantal, Juan, Lizbeth et al., 2022).

Po *Candida albicans* je jednou z nejčastějších příčin vzniku kandidózy. První terapeutickou volbou u kvasinkových infekcí *Candida glabrata* jsou echinokandiny. Nicméně výskyt rezistentních kmenů vůči echinokandinu a azolu činí léčbu velmi náročnou. U některých izolátů bylo prokázáno vyvinutí křížové rezistence k antimykotikům po předchozím vystavení těchto léčivých přípravků. Na mechanismech rezistence se nejčastěji podílí efluxní pumpy či modifikace antimykotického cíle pomocí enzymů (Shantal, Juan, Lizbeth et al., 2022).

Candida glabrata se svým únikem imunitnímu systému podobá acidorezistentní bakterii *Mycobacterium tuberculosis*, kdy má schopnost vyhnout se fagocytóze a procesům s ní spojenými (Shantal, Juan, Lizbeth et al., 2022).

3.5.3 *Candida krusei*

Candida krusei, dnes známá pod pojmenováním *Pichia kudriavzevii*, způsobuje závažné, různě lokalizované infekce. Napadá močové a respirační ústrojí, ale také kolonizuje v GIT či krevním řečišti. Jeho invazivita je zaručena vylučováním fosfolipáz a proteáz, jež poškozují hostitelské buňky. Stejně jako *Candida glabrata* se vyznačuje schopností úniku před

imunitním systémem. Odhadované počty úmrtí na infekce patogenem *Pichia kudriavzevii* činí 44-67 %. Vysoká mortalita je spojena zejména u dospělých pacientů s žaludečními či hematologickými maligními onemocněními (Nguyen, Kim, Stocker et al., 2024).

Zvýšenému riziku infekce jsou vystaveni jedinci s oslabeným imunitním systémem, či osoby s nerovnováznou střevní mikroflórou. Typickým prostředím pro přenos kvasinky *Pichia kudriavzevii* jsou zdravotnická zařízení, a to zejména prostřednictvím kontaminovaných rukou. Základem pro zamezení infekce je tedy pečlivá hygiena rukou a udržování sterility centrálních žilních katétrů (Nguyen, Kim, Stocker et al., 2024).

Pichia kudriavzevii se vyznačuje rezistencí vůči flukonazolu a zároveň může být méně citlivá na amfotericin B. Mechanismy rezistence jsou stejné jako v předešlých případech – modifikace cílového místa pomocí enzymu, činnost efluxních pump. Co se týče snížené vnímavosti k amfotericinu B, ta je dosažena nižším obsahem ergosterolu v buněčné membráně (Nguyen, Kim, Stocker et al., 2024).

Růst kvasinky na M-H agaru je znázorněn na obrázku 28:



Obrázek 28 *Candida krusei*

3.5.4 *Candida tropicalis*

Candida tropicalis, jakožto druh non-*Candida albicans*, je běžným patogenem hospitalizovaných pacientů ve zdravotnických zařízeních, na jednotkách intenzivní péče. Dále je původcem infekcí u osob s oslabeným imunitním systémem, respektive s neutropenií, kdy způsobuje akutní diseminovanou kandidózu s kožními lézemi. *Candida tropicalis* byla identifikována u orálních a vulvovaginálních kandidóz či u infekcí močových cest (de Oliveira, Pereira, Castelo-Branco et al., 2020).

Infekce *Candida tropicalis* je zakončena úmrtím ve více případech než ostatní druhy non-*Candida albicans*. Zároveň ve srovnání s *Candida albicans* vyvolává *Candida tropicalis* trvalejší systémová infekční onemocnění (de Oliveira, Pereira, Castelo-Branco et al., 2020).

V současné době se objevují izoláty druhu *Candida tropicalis* rezistentní na azoly, ale také k jiným třídám antimykotických látek. Mechanismy rezistence jsou podobné výše zmíněným kvasinkám. Rezistence může být způsobena také zkříženou odolností mezi různými antikvasinkovými terapeutiky. (de Oliveira, Pereira, Castelo-Branco et al., 2020).

Růst *Candida tropicalis* je znázorněna na obrázku 29:



Obrázek 29 *Candida tropicalis*

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Cíl práce

Hlavním cílem bylo stanovení antibakteriální a antifungální aktivity u vybraných sulfonamidů, jakožto nových potencionálních látek s antimikrobiálním, resp. antifungálními účinky.

Minimální inhibiční koncentrace potencionálních antibiotik vůči vybraným mikroorganismům byla stanovena mikrodiluční bujónovou metodou, jejíž postup byl proveden podle platné normy ČSN EN ISO 20776-1 ED.2.

Před samotným testováním sulfonamidových derivátů složených ze sulfonamidové skupiny, na niž je v poloze 1 navázáno benzenové jádro s různými variantami substituentů a dále v poloze 4 je přes methylový zbytek navázán morfolin, bylo provedeno stanovení minimální inhibiční koncentrace sedmi druhů komerčních antibiotik vůči vybraným mikroorganismům. Získané hodnoty minimální inhibiční koncentrace komerčních antibiotik byly porovnány s nejnovějšími hodnotami dle EUCAST.

Nedílnou součástí diplomové práce k posouzení účinnosti nových potenciálních antibiotik je vyhodnocení získaných dat a porovnání s využívanými druhy komerčních antibiotik včetně sulfonamidu – sulfamethoxazolu.

4.2 Použité laboratorní pomůcky a vybavení

4.2.1 Laboratorní pomůcky

- Mikrotitrační destičky – 96 jamkové
- Eppendorf mikrozkušavky 1,5 ml, 2 ml
- Automatické pipety Eppendorf (10-100 μ l, 100-1000 μ l, 1-10 ml), multikanálová pipeta eppendorf (30-300 μ l)
- Jednorázové inokulační kličky 10 μ l, 1 μ l
- Petriho misky
- Bakteriologické zkumavky 10ml, krevní zkumavky 5 ml uzavřené kovovými zátkami
- Kovový stojan na zkumavky, plastový stojan na mikrozkušavky typu Eppendorf
- Plastové špičky (1-200 μ l, 10-100 μ l, 100-1000 μ l, 1-10 ml) – Eppendorf, Fisherbrand
- Erlenmayerovy baňky o objemu 300 ml, 500 ml
- Černá podložka
- Odměrný válec 250 ml, 500 ml

- Laboratorní lžička, kopistka
- Lodička na vážení

4.2.2 Laboratorní přístroje

- Analytická váha BOECO
- Vortex V-1 plus Biosan
- Den-1 McFarland denzitometr Biosan
- Plynový kahan
- Sterilizátor Sterilab, Sterimat plus
- Termostat POL-EKO APARATURA - 37 °C
- Lednice LIEBHERR, GORENJE
- Laboratorní váha KERN 440-43
- Autokláv Sterimat 5104.2, HS 122A

4.3 Reagencie a kultivační média

4.3.1 Fyziologický roztok

Složení: Chlorid sodný (8,5 g /1 liter), Lach-ner
Destilovaná voda 500 ml

Příprava: Dle pokynů výrobce Lach-ner bylo naváženo 4,25 g chloridu sodného do 500 ml destilované vody. Následovala sterilizace v autoklávu Sterilab při 121 °C po dobu 15 minut. Po vychladnutí byla Erlenmayerova baňka s fyziologickým roztokem skladována v chladničce při teplotě 2-8 °C.

4.3.2 Sterilní destilovaná voda

Složení: destilovaná voda 500 ml

Příprava: Do Erlenmayrový nádoby/uzavíratelné nádoby bylo pomocí odměrného válce odměřeno 500 ml destilované vody z centrálního rozvodu FCHT. Následně probíhala sterilizace v autoklávu Sterilab při 121 °C po dobu 15 minut. Po vychladnutí byla Erlenmayerova baňka (uzavíratelná láhev) s fyziologickým roztokem skladována v chladničce při teplotě 2-8 °C.

4.3.3 Kyselina mléčná

Kyselina mléčná 85 %, SIGMA-ALDRICH, Lot# SHBL8534

4.3.4 Mueller-Hinton agar

Mueller-Hinton agar (38,0 g/1 liter), HiMedia Laboratories, M391-500G

Složení: hovězí masová infuse 300,0 g/l
kyselý hydrolyzát kaseinu 17,5 g/l
škrob 1,5 g/l
agar 17,0 g/l

Příprava: Dle pokynů výrobce bylo do Erlenmayerovy baňky se širším hrdlem naváženo 15,2 g do 400 ml destilované vody. Následně probíhala sterilizace v autoklávu Sterilab při 121 °C po dobu 15 minut. Po mírném vychladnutí byl Mueller-Hinton agar nalit na Petriho misky a po ztuhnutí byly plotny skladovány do následujícího dne při laboratorní teplotě. Následně byly skladovány v chladničce při teplotě 2-8 °C.

4.3.5 Mueller-Hinton bujón

Mueller-Hinton bujón (21,0 g/1 liter), HiMedia Laboratories, M391-500G

Složení: hovězí masová infuse 300,0 g/l
kyselý hydrolyzát kaseinu 17,5 g/l
škrob 1,5 g/l

Příprava: Dle pokynů výrobce bylo do Erlenmayerovy baňky s užším hrdlem naváženo 10,5 g do 500 ml destilované vody. Následně probíhala sterilizace v autoklávu Sterilab při 121 °C po dobu 15 minut. Vysterilizovaný bujón byl po vychladnutí skladován v chladničce při teplotě 2-8 °C.

4.3.6 MALT extrakt agar

MALT extrakt agar GranuCult®, MERCK (48,0 g/1 liter), 1.05398.0500

Složení: MALT extrakt 30,0 g/l
Enzymaticky zpracovaný sójový extrakt 3,0 g/l
Agar 15,0 g/l

Příprava: Dle pokynů výrobce bylo do Erlenmayerovy baňky se širším hrdlem naváženo 19,2 g do 400 ml destilované vody. Následně probíhala sterilizace v autoklávu Sterilab při 121 °C po dobu 15 minut. Po mírném vychladnutí byl MALT agar nalit na Petriho misky a po ztuhnutí byly plotny skladovány do následujícího dne při laboratorní teplotě. Následně byly skladovány v chladničce při teplotě 2-8 °C.

4.3.7 MALT extrakt bujón

MALT extrakt bujón (17 g/1 litr), VWR chemicals, 84666.0500

Složení: MALT extrakt 17,00 g/l

Příprava: Dle pokynů výrobce bylo do Erlenmayerovy baňky s užším hrdlem naváženo 8,5 g do 500 ml destilované vody. Následně probíhala sterilizace v autoklávu Sterilab při 121 °C po dobu 15 minut. Vysterilizovaný bujón byl po vychladnutí skladován v chladničce při teplotě 2-8 °C.

4.4 Testované kmeny mikroorganismů

Kmeny mikroorganismů	Sbírková čísla
<i>Staphylococcus aureus</i>	CCM 4223
<i>Streptococcus pyogenes</i>	CCM 7418
<i>Escherichia coli</i>	CCM 3954
<i>Enterococcus faecalis</i>	CCM 7930
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i>	CCM 4415
<i>Proteus sp.</i>	Sbírka KBBV FCHT UPCE
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CCM 3956
<i>Salmonella Enteritidis</i>	CCM 4420
VRE	Sbírka KBBV FCHT UPCE
<i>Bacillus subtilis</i>	Sbírka KBBV FCHT UPCE
<i>Candida albicans</i>	CCM 8186
<i>Candida glabrata</i>	CCM 8278
<i>Candida tropicalis</i>	CCM 8223
<i>Candida krusei</i>	CCM 8271

Tabulka 4 Testované kmeny mikroorganismů

4.5 Testované antimikrobiální látky

Pro zajištění správného postupu stanovení a hodnocení MIC nově syntetizovaných derivátů sulfonamidů dle normy ČSN EN ISO 20776-1 ED.2, byla nejprve otestována účinnost sedmi zástupců komerčních antimikrobiálních látek – viz tabulka 5:

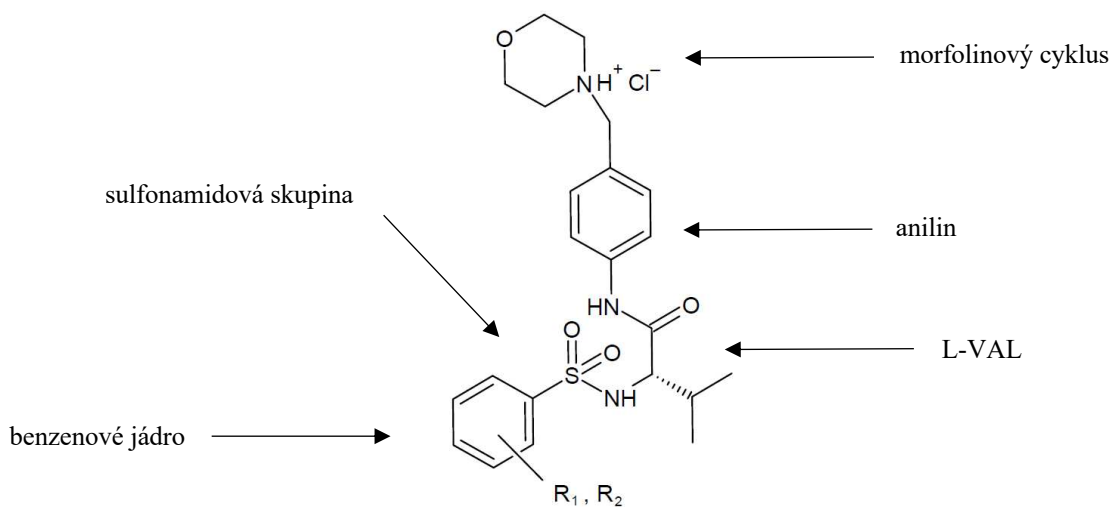
Účinek antibiotik	Označení	Komerční název	Výrobce	LOT
Baktericidní	AMP	Ampicilin	SIGMA-ALDRICH	0000127014
	CPR	Cefoperazon	SIGMA-ALDRICH	014K0524
	CIP	Ciprofloxacin	TCI	HRKFM-UO
	OFL	Ofloxacin	TCI	OFRFG-RZ
Bakteriostatické	ERY	Erythromycin	TCI	NJOFN-IJ
	SMX	Sulfamethoxazol	SIGMA-ALDRICH	BCBT1141
Fungicidní, částečně fungistatické	AMF	Amfotericin B	Duchefa	009046.03

Tabulka 5 Testované komerční antimikrobiální látky

Antimikrobiálními látkami využitými k testování účinnosti na vybrané mikroorganismy byly nově syntetizované sulfonamidové deriváty (tabulka 6) na bázi 4-(morfolin-4-ylmethyl) anilinu – viz chemická struktura 7:

Označení	Systematický název	R ₁	R ₂
Derivát 1	(S)-4-(4-(3-methyl-2-(fenylsulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochlorid	-	-
Derivát 2	(S)-4-(4-(3-methyl-2-((4-methylfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochlorid	4-Me	-
Derivát 3	(S)-4-(4-(3-methyl-2-((3-fluor-4-methylfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochlorid	3-F	4-Me
Derivát 4	(S)-4-(4-(3-methyl-2-((3-chlor-4-methylfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochlorid	3-Cl	4-Me
Derivát 5	(S)-4-(4-(3-methyl-2-((3-chlor-4-fluorfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochlorid	3-Cl	4-F
Derivát 6	(S)-4-(4-(3-methyl-2-((3-fluorfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochlorid	3-F	-
Derivát 7	(S)-4-(4-(3-methyl-2-((3-chlorfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochlorid	3-Cl	-
Derivát 8	(S)-4-(4-(3-methyl-2-((3,5-difluorfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochlorid	3-F	5-F
Derivát 9	(S)-4-(4-(3-methyl-2-((3,5-dichlorfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochlorid	3-Cl	5-Cl

Tabulka 6 Nově syntetizované sulfonamidové deriváty



Chemická struktura 7 Základní struktura testovaných derivátů

4.6 Pracovní postup

Pro stanovení antimikrobiální a antifungální aktivity u (potencionálních) antimikrobiálních látek se pracuje dle současně platných norem ČSN EN ISO 20776-1 ED.2 a ČSN EN ISO 20776-2 ED.2.

4.6.1 Příprava kultivačních médií, reagensů a sterilizace laboratorních pomůcek

Před samostatným zahájením práce v laboratoři bylo nutné připravit potřebná kultivační média a reagensie – sterilní destilovaná voda, fyziologický roztok, bujóny a agarové plotny s příslušnými půdami – MALT, M-H (postup uveden v podkapitole 4.3 Reagensie a kultivační média). Připravené sterilní roztoky byly po zchladnutí skladovány v lednici, zatímco sterilní agary byly po mírném vychladnutí nality na jednotlivé Petriho misky. Jejich skladování po ztuhnutí probíhalo za stejných podmínek jako v případě roztoků.

Zároveň bylo nutné provést sterilizaci potřebných pomůcek – biologické zkumavky, krevní zkumavky, špičky, zkumavky typu eppendorf apod.

4.6.2 Inokulace mikroorganismů a příprava mikrobiálních suspenzí

Základním kamenem testování antimikrobiální, respektive antifungální aktivity chemických látek, je udržování životnosti využívaných mikroorganismů. Jednotlivé kmeny bakterií a kvasinek byly pravidelně přeočkovávány na předem uvařené a ztuchlé půdy. Po inkubaci v termostatu (24 h, $36 \pm 1^\circ\text{C}$) bylo možné přistoupit ke stanovení antimikrobiální a antifungální aktivity chemických látek. Jednodenní kultury vyrostlé na neselektivních médiích byly využity pro tvorbu bakteriální suspenze o zákalu 0,5 MF. Ta byla připravena v krevních zkumavkách s 5 ml vytemperovaného fyziologického roztoku. V případě potřeby byla kultura upravena přidávkem dalšího fyziologického roztoku.

Hodnota 0,5 MF odpovídá $1-2 \cdot 10^8$ CFU (kolonie tvořící jednotky) /ml. Suspenze buněk poté byla upravena pomocí bujónu na výsledný $1 \cdot 10^6$ CFU/ml, a to přenesením 0,1 ml suspenze buněk do 9,9 ml bujónu.

4.6.3 Příprava antimikrobiálních látek

Zvolená komerční antibiotika byla rozpustná ve vodě (baktericidní antibiotika), popř. v 0,1M NaOH (sulfamethoxazol) či DMSO (dimethylsulfoxid) (erythromycin, amfotericin B). Bakteriostatická antibiotika byla po rozpuštění dále ředěna pomocí fosfátového pufru PBS. Testovaná koncentrační řada u komerčních antibiotik byla 0,0625-32 mg/l.

Veškeré sulfonamidové deriváty byly rozpustné ve vodě. Pracovní roztoky byly připraveny ze zásobních roztoků o koncentracích 10 240 mg/l, respektive 6 400 mg/l, a to

ředěním v bujónu 1:10, respektive 1:100. Výsledná testovaná koncentrační řada pro každý nový derivát sulfonamidu byla 0,0625-512 mg/l.

Při přípravě pracovního roztoku o koncentraci 1 024 mg/l bylo kvůli probíhajícím srážecím reakcím nutné přidat 100 μ l kyseliny mléčné, jež posloužila k úpravě pH do rozmezí 6-7, oblasti vhodné pro růst mikroorganismů.

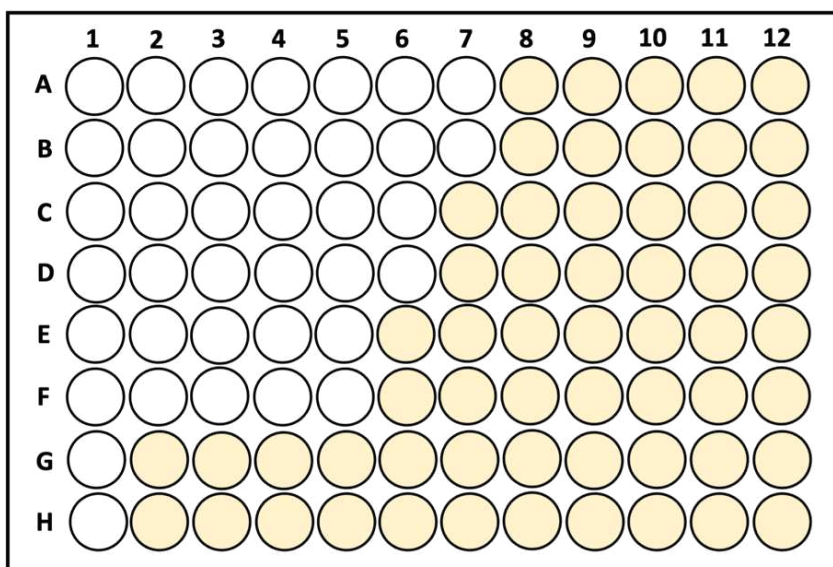
4.6.4 Příprava mikrotitračních destiček

Do jednotlivých jamek v mikrotitrační destičce bylo napipetováno 50 μ l příslušného bujónu (sloupce 2-12). Sloupec č.1 byl určen pro pracovní roztok testovaného antibiotika (150 μ l), jenž sloužil jako negativní kontrola. Naopak pozitivní kontrola růstu byla soustředěna do sloupce č.12, který mimo 50 μ l bujónu následně obsahoval také 50 μ l suspenze buněk.

Dvojkovým ředěním, jehož výchozí koncentrace byla rovna koncentracím pracovních roztoků, byla vytvořena klesající koncentrační řada antimikrobiálních látek (mimo sloupec č.12). Následně bylo do každé jamky přidáno 50 μ l připravené suspenze buněk, čímž byla upravena suspenze buněk v jednotlivých jamkách na výsledných $5 \cdot 10^5$ CFU/ml.

Připravené mikrotitrační destičky byly uzavřeny v sáčku a inkubovány v termostatu, při teplotě $35 \pm 1^\circ\text{C}$ po dobu 18 ± 2 h. Po dosažení inkubační doby bylo provedeno okometrické vyhodnocení MIC – viz obrázek 31, a případně bylo dotestována MBC – nanesení 1 μ l z jednotlivých jamek na agarovou plotnu. Hodnoty MBC byly odečteny po 24hodinové inkubaci při $36 \pm 1^\circ\text{C}$.

Stanovení MIC u nových sulfonamidových derivátů bylo provedeno v dubletu a zároveň ve třech opakováních.



Obrázek 30 Mikrodiluční metoda – vyhodnocení MIC

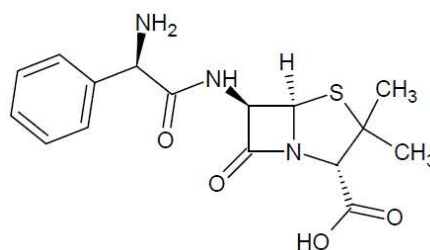
4.7 Získané hodnoty MIC komerčních antibiotik

4.7.1 Baktericidní antimikrobiální látky

4.7.1.1 Ampicilin

Mikroorganismus	MIC [mg/l]
<i>Staphylococcus aureus</i> (CCM 4223)	0,125
<i>Streptococcus pyogenes</i> (CCM 7418)	≤ 0,0625
<i>Enterococcus faecalis</i> (CCM 7930)	≤ 0,0625
VRE – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	2
<i>Escherichia coli</i> (CCM 3954)	4
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i> (CCM 4415)	> 32
<i>Proteus sp.</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	2
<i>Salmonella Enteritidis</i> (CCM 4420)	1
<i>Bacillus subtilis</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	≤ 0,0625
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CCM 3956)	> 32

Tabulka 7 Hodnoty MIC ampicilinu



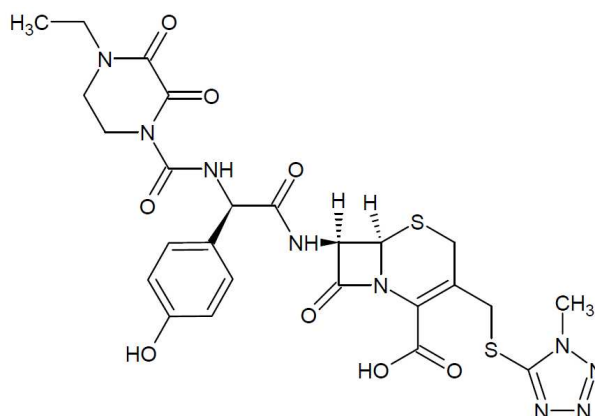
Chemická struktura 8 Ampicilin

Stanovením MIC u ampicilinu – viz chemická struktura 8 – byla potvrzena citlivost mikroorganismů (mimo *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae* a *Pseudomonas aeruginosa*) na testované antibiotikum. Nejvyšší účinnost ampicilinu byla prokázána u grampozitivních bakterií – *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis* (MIC ≤ 0,0625 mg/l). Testováním byla potvrzena širokospektrální účinnost ampicilinu, hodnoty MIC odpovídají nejnovějším datům dle EUCAST. Překvapivou hodnotou je MIC = 2 mg/l u VRE, jež je jinak rezistentní vůči vysokému množství antimikrobiálních látek.

4.7.1.2 Cefoperazon

Mikroorganismus	MIC [mg/l]
<i>Staphylococcus aureus</i> (CCM 4223)	8
<i>Streptococcus pyogenes</i> (CCM 7418)	0,5
<i>Enterococcus faecalis</i> (CCM 7930)	8
VRE – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	> 32
<i>Escherichia coli</i> (CCM 3954)	0,125
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i> (CCM 4415)	1
<i>Proteus sp.</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	4
<i>Salmonella</i> Enteritidis (CCM 4420)	2
<i>Bacillus subtilis</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CCM 3956)	16

Tabulka 8 Hodnoty MIC cefoperazonu



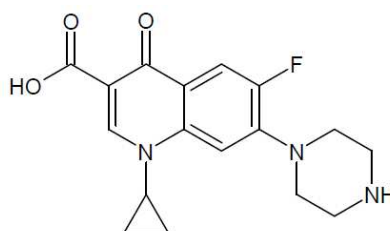
Chemická struktura 9 Cefoperazon

Cefoperazon (chemická struktury 9) je taktéž zástupcem širokospektrých antibiotik, což bylo mikrodiluční bujónovou metodou potvrzeno. Nejvyšší účinnost byla prokázána u *Escherichia coli* o MIC = 0,125 mg/l. Naopak jediným rezistentním mikroorganismem byl VRE (MIC > 32 mg/l).

4.7.1.3 Ciprofloxacin

Mikroorganismus	MIC [mg/l]
<i>Staphylococcus aureus</i> (CCM 4223)	0,5
<i>Streptococcus pyogenes</i> (CCM 7418)	1
<i>Enterococcus faecalis</i> (CCM 7930)	0,5
VRE – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	> 32
<i>Escherichia coli</i> (CCM 3954)	≤ 0,0625
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i> (CCM 4415)	0,125
<i>Proteus sp.</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	0,125
<i>Salmonella</i> Enteritidis (CCM 4420)	≤ 0,0625
<i>Bacillus subtilis</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	0,125
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CCM 3956)	0,5

Tabulka 9 Hodnoty MIC ciprofloxacinu



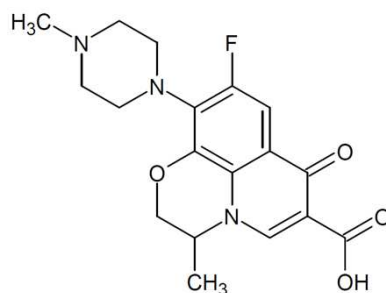
Chemická struktura 10 Ciprofloxacin

Fluorichinolonová antibiotika, respektive ciprofloxacin – viz chemická struktura 10 – je vysoce účinný vůči všem vybraným mikroorganismům, kdy hodnoty MIC nepřesahovaly 1 mg/l. Výjimkou je VRE (MIC > 32 mg/l), u nějž je nutné zvolit jiné účinné antibiotikum.

4.7.1.4 Ofloxacin

Mikroorganismus	MIC [mg/l]
<i>Staphylococcus aureus</i> (CCM 4223)	1
<i>Streptococcus pyogenes</i> (CCM 7418)	2
<i>Enterococcus faecalis</i> (CCM 7930)	2
VRE – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	> 32
<i>Escherichia coli</i> (CCM 3954)	≤ 0,0625
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i> (CCM 4415)	0,125
<i>Proteus sp.</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	0,25
<i>Salmonella Enteritidis</i> (CCM 4420)	0,125
<i>Bacillus subtilis</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	0,25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CCM 3956)	2

Tabulka 10 Hodnoty MIC ofloxacinu



Chemická struktura 11 Ofloxacin

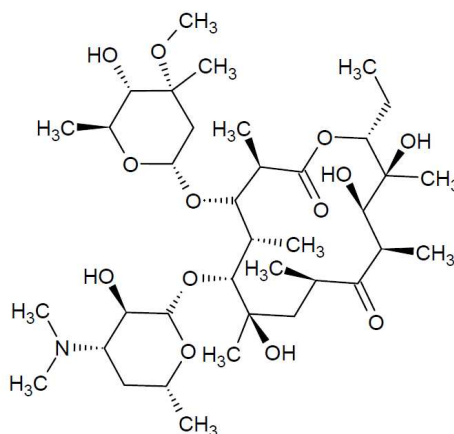
Ofloxacin – viz chemická struktura 11 – jakožto další zástupce fluorochinolonů, vykazoval vysoký účinek vůči všem vybraným mikroorganismům mimo VRE. Hodnoty MIC mezi ciprofloxacinem a ofloxacinem nebyly natolik odlišné, nejvyšší účinnost těchto širokospektrých antibiotik byl u skupiny gramnegativních tyčinek.

4.7.2 Bakteriostatické antimikrobiální látky

4.7.2.1 Erythromycin

Mikroorganismus	MIC [mg/l]	MBC [mg/l]
<i>Staphylococcus aureus</i> (CCM 4223)	0,5	> 32
<i>Streptococcus pyogenes</i> (CCM 7418)	≤ 0,0625	0,25
<i>Enterococcus faecalis</i> (CCM 7930)	0,5	> 32
VRE – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	> 32	
<i>Escherichia coli</i> (CCM 3954)	> 32	
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i> (CCM 4415)	> 32	
<i>Proteus sp.</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	> 32	
<i>Salmonella Enteritidis</i> (CCM 4420)	32	> 32
<i>Bacillus subtilis</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	0,125	0,25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CCM 3956)	> 32	

Tabulka 11 Hodnoty MIC erythromycinu



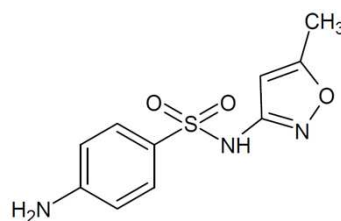
Chemická struktura 12 Erythromycin

Gramnegativní tyčinky a VRE vykazovaly rezistenci na erythromycin (ERY) – viz chemická struktura 12. U gram pozitivních bakterií byla prokázána inhibice růstu při nízkých koncentracích < 1 mg/l. MIC < 32 mg/l byly vyočkovány na agar pro průkaz MBC, zda odpovídá MIC – zde nebyla prokázána rovnost mezi MIC a MBC.

4.7.2.2 Sulfamethoxazol

Mikroorganismus	MIC [mg/l]	MBC [mg/l]
<i>Staphylococcus aureus</i> (CCM 4223)	> 32	
<i>Streptococcus pyogenes</i> (CCM 7418)	> 32	
<i>Enterococcus faecalis</i> (CCM 7930)	> 32	
VRE – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	> 32	
<i>Escherichia coli</i> (CCM 3954)	8	16
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i> (CCM 4415)	> 32	
<i>Proteus sp.</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	> 32	
<i>Salmonella</i> Enteritidis (CCM 4420)	> 32	
<i>Bacillus subtilis</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	32	32
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CCM 3956)	> 32	
<i>Candida albicans</i> (CCM 8186)	> 32	
<i>Candida glabrata</i> (CCM 8278)	> 32	
<i>Candida krusei</i> (CCM 8271)	> 32	
<i>Candida tropicalis</i> (CCM 8223)	> 32	

Tabulka 12 Hodnoty MIC sulfamethoxazolu



Chemická struktura 13 Sulfamethoxazol

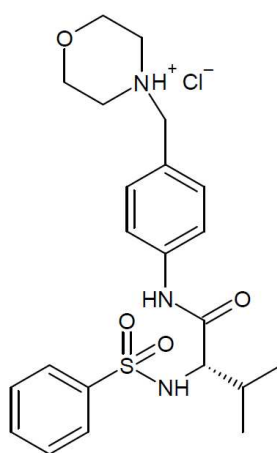
SMX – viz chemická struktura 13 – je jediným sulfonamidovým komerčním antibiotikem, jež bylo testováno. Jediným mikroorganismem, u něž byla prokázána vyšší citlivost je *Escherichia coli* (MIC = 8 mg/l, MBC = 16 mg/l). *Bacillus subtilis* prokázal hraniční hodnotu účinnosti (MIC = 32 mg/l), kdy MBC = MIC. Z důvodu možného využití SMX jako podpůrné léčby kandidóz způsobených *Candida albicans* bylo provedeno také testování účinnosti vůči kvasinkám, avšak zde nebyla prokázána žádná antimikrobiální aktivita.

4.8 Výsledné MIC nově syntetizovaných sulfonamidových derivátů

4.8.1 (S)-4-(4-(3-methyl-2-(fenylsulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochlorid (derivát 1)

Mikroorganismus	MIC [mg/l]
<i>Staphylococcus aureus</i> (CCM 4223)	512
<i>Streptococcus pyogenes</i> (CCM 7418)	256
<i>Enterococcus faecalis</i> (CCM 7930)	512
VRE – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	512
<i>Escherichia coli</i> (CCM 3954)	512
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i> (CCM 4415)	512
<i>Proteus sp.</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	512
<i>Salmonella</i> Enteritidis (CCM 4420)	512
<i>Bacillus subtilis</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	512
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CCM 3956)	512
<i>Candida albicans</i> (CCM 8186)	128
<i>Candida glabrata</i> (CCM 8278)	> 512
<i>Candida krusei</i> (CCM 8271)	512
<i>Candida tropicalis</i> (CCM 8223)	512

Tabulka 14 Hodnoty MIC derivátu 1



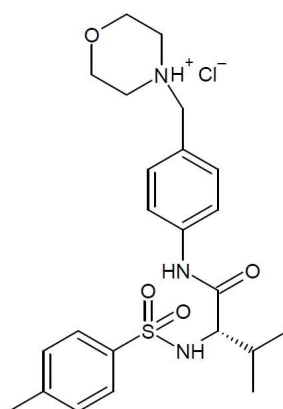
Chemická struktura 15 Derivát 1

Vybrané mikroorganismy jsou rezistentní vůči derivátu 1. Nejnižší hodnota MIC (128 mg/l) byla zjištěna u kvasinky *Candida albicans*.

4.8.2 (S)-4-(4-(3-methyl-2-((4-methylfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl) morfolin hydrochlorid (derivát 2)

Mikroorganismus	MIC [mg/l]
<i>Staphylococcus aureus</i> (CCM 4223)	256
<i>Streptococcus pyogenes</i> (CCM 7418)	128
<i>Enterococcus faecalis</i> (CCM 7930)	256
VRE – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	256
<i>Escherichia coli</i> (CCM 3954)	256
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i> (CCM 4415)	512
<i>Proteus sp.</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	256
<i>Salmonella</i> Enteritidis (CCM 4420)	256
<i>Bacillus subtilis</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	256
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CCM 3956)	256
<i>Candida albicans</i> (CCM 8186)	128
<i>Candida glabrata</i> (CCM 8278)	> 512
<i>Candida krusei</i> (CCM 8271)	512
<i>Candida tropicalis</i> (CCM 8223)	512

Tabulka 15 Hodnoty MIC derivátu 2



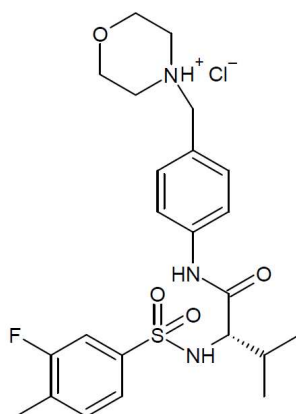
Chemická struktura 16 Derivát 2

Nejnižší hodnoty MIC derivátu 2 byly zaznamenány u gram pozitivní bakterie *Streptococcus pyogenes* (128 mg/l) a kvasinky *Candida albicans* (128 mg/l).

4.8.3 (S)-4-(4-(3-methyl-2-((3-fluor-4-methylphenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochlorid (derivát 3)

Mikroorganismus	MIC [mg/l]
<i>Staphylococcus aureus</i> (CCM 4223)	512
<i>Streptococcus pyogenes</i> (CCM 7418)	256
<i>Enterococcus faecalis</i> (CCM 7930)	256
VRE – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	256
<i>Escherichia coli</i> (CCM 3954)	512
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i> (CCM 4415)	256
<i>Proteus sp.</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	256
<i>Salmonella</i> Enteritidis (CCM 4420)	512
<i>Bacillus subtilis</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	512
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CCM 3956)	512
<i>Candida albicans</i> (CCM 8186)	256
<i>Candida glabrata</i> (CCM 8278)	> 512
<i>Candida krusei</i> (CCM 8271)	> 512
<i>Candida tropicalis</i> (CCM 8223)	> 512

Tabulka 16 Hodnoty MIC derivátu 3



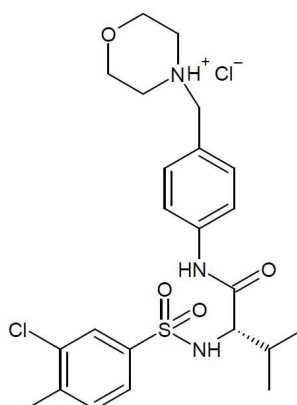
Chemická struktura 17 Derivát 3

Nejnižší hodnoty MIC derivátu 3 byly zjištěny u gram pozitivních bakterií (*Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis* a VRE), gram negativních bakterií (*Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae* a *Proteus sp.*) a také u kvasinky *Candida albicans* (256 mg/l).

4.8.4 (S)-4-(4-(3-methyl-2-((3-chlor-4-methylfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochlorid (derivát 4)

Mikroorganismus	MIC [mg/l]
<i>Staphylococcus aureus</i> (CCM 4223)	256
<i>Streptococcus pyogenes</i> (CCM 7418)	256
<i>Enterococcus faecalis</i> (CCM 7930)	256
VRE – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	512
<i>Escherichia coli</i> (CCM 3954)	512
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i> (CCM 4415)	512
<i>Proteus sp.</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	512
<i>Salmonella</i> Enteritidis (CCM 4420)	512
<i>Bacillus subtilis</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	256
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CCM 3956)	512
<i>Candida albicans</i> (CCM 8186)	128
<i>Candida glabrata</i> (CCM 8278)	> 512
<i>Candida krusei</i> (CCM 8271)	> 512
<i>Candida tropicalis</i> (CCM 8223)	512

Tabulka 17 Hodnoty MIC derivátu 4



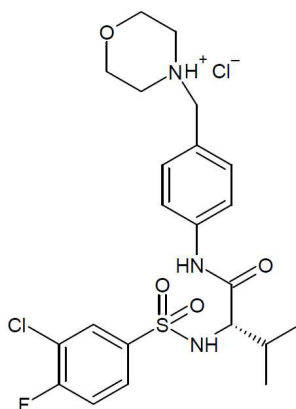
Chemická struktura 18 Derivát 4

Nejnižší hodnoty MIC derivátu 4 byly zaznamenány u kvasinky *Candida albicans* (128 mg/l). V kontrastu s tím však zjištěné MIC u ostatních testovaných kvasinek byly 512 mg/l nebo i vyšší.

4.8.5 (S)-4-(4-(3-methyl-2-((3-chlor-4-fluorfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochlorid (derivát 5)

Mikroorganismus	MIC [mg/l]
<i>Staphylococcus aureus</i> (CCM 4223)	256
<i>Streptococcus pyogenes</i> (CCM 7418)	128
<i>Enterococcus faecalis</i> (CCM 7930)	256
VRE – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	256
<i>Escherichia coli</i> (CCM 3954)	256
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i> (CCM 4415)	256
<i>Proteus sp.</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	256
<i>Salmonella</i> Enteritidis (CCM 4420)	256
<i>Bacillus subtilis</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	256
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CCM 3956)	256
<i>Candida albicans</i> (CCM 8186)	256
<i>Candida glabrata</i> (CCM 8278)	> 512
<i>Candida krusei</i> (CCM 8271)	> 512
<i>Candida tropicalis</i> (CCM 8223)	> 512

Tabulka 18 Hodnoty MIC derivátu 5



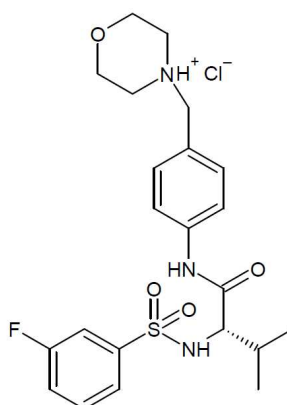
Chemická struktura 19 Derivát 5

U derivátu 5 byla prokázána nejnižší MIC u gram pozitivní bakterie *Streptococcus pyogenes* (128 mg/l).

4.8.6 (S)-4-(4-(3-methyl-2-((3-fluorfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl) morfolin hydrochlorid (derivát 6)

Mikroorganismus	MIC [mg/l]
<i>Staphylococcus aureus</i> (CCM 4223)	512
<i>Streptococcus pyogenes</i> (CCM 7418)	256
<i>Enterococcus faecalis</i> (CCM 7930)	512
VRE – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	512
<i>Escherichia coli</i> (CCM 3954)	512
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i> (CCM 4415)	512
<i>Proteus sp.</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	512
<i>Salmonella</i> Enteritidis (CCM 4420)	512
<i>Bacillus subtilis</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	512
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CCM 3956)	512
<i>Candida albicans</i> (CCM 8186)	128
<i>Candida glabrata</i> (CCM 8278)	> 512
<i>Candida krusei</i> (CCM 8271)	512
<i>Candida tropicalis</i> (CCM 8223)	512

Tabulka 19 Hodnoty MIC derivátu 6



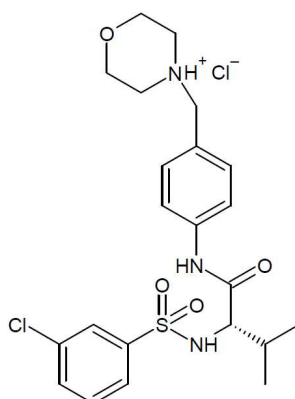
Chemická struktura 20 Derivát 6

Nejnižší MIC bylo stanoveno u *Candida albicans* (128 mg/l). Ostatní mikroorganismy vykazovaly vysokou rezistenci vůči derivátu 6.

4.8.7 (S)-4-(4-(3-methyl-2-((3-chlorfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl) morfolin hydrochlorid (derivát 7)

Mikroorganismus	MIC [mg/l]
<i>Staphylococcus aureus</i> (CCM 4223)	256
<i>Streptococcus pyogenes</i> (CCM 7418)	256
<i>Enterococcus faecalis</i> (CCM 7930)	256
VRE – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	256
<i>Escherichia coli</i> (CCM 3954)	512
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i> (CCM 4415)	512
<i>Proteus sp.</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	512
<i>Salmonella</i> Enteritidis (CCM 4420)	512
<i>Bacillus subtilis</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	256
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CCM 3956)	256
<i>Candida albicans</i> (CCM 8186)	64
<i>Candida glabrata</i> (CCM 8278)	> 512
<i>Candida krusei</i> (CCM 8271)	256
<i>Candida tropicalis</i> (CCM 8223)	512

Tabulka 20 Hodnoty MIC derivátu 7



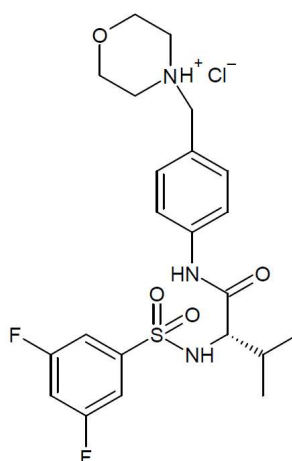
Chemická struktura 21 Derivát 7

U derivátu 7 vykazovala kvasinka *Candida albicans* inhibici růstu při 64 mg/l. Ostatní mikroorganismy byly na tento derivát vysoce rezistentní, kdy hodnoty MIC byly 256 mg/l a (>) 512 mg/l.

4.8.8 (S)-4-(4-(3-methyl-2-((3,5-difluorfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl) morfolin hydrochlorid (derivát 8)

Mikroorganismus	MIC [mg/l]
<i>Staphylococcus aureus</i> (CCM 4223)	128
<i>Streptococcus pyogenes</i> (CCM 7418)	128
<i>Enterococcus faecalis</i> (CCM 7930)	128
VRE – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	256
<i>Escherichia coli</i> (CCM 3954)	256
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i> (CCM 4415)	256
<i>Proteus sp.</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	256
<i>Salmonella</i> Enteritidis (CCM 4420)	256
<i>Bacillus subtilis</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	256
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CCM 3956)	256
<i>Candida albicans</i> (CCM 8186)	128
<i>Candida glabrata</i> (CCM 8278)	> 512
<i>Candida krusei</i> (CCM 8271)	512
<i>Candida tropicalis</i> (CCM 8223)	512

Tabulka 21 Hodnoty MIC derivátu 8



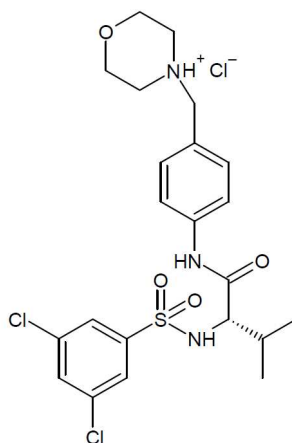
Chemická struktura 22 Derivát 8

Nejnižší MIC derivátu 8 byla odečtena u *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis* a *Candida albicans* (128 mg/l).

4.8.9 (S)-4-(4-(3-methyl-2-((3,5-dichlorfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl) morfolin hydrochlorid (derivát 9)

Mikroorganismus	MIC [mg/l]
<i>Staphylococcus aureus</i> (CCM 4223)	256
<i>Streptococcus pyogenes</i> (CCM 7418)	128
<i>Enterococcus faecalis</i> (CCM 7930)	256
VRE – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	256
<i>Escherichia coli</i> (CCM 3954)	256
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i> (CCM 4415)	256
<i>Proteus sp.</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	256
<i>Salmonella</i> Enteritidis (CCM 4420)	256
<i>Bacillus subtilis</i> – sbírka mikroorganismů KBBV UPCE	128
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CCM 3956)	128
<i>Candida albicans</i> (CCM 8186)	128
<i>Candida glabrata</i> (CCM 8278)	> 512
<i>Candida krusei</i> (CCM 8271)	512
<i>Candida tropicalis</i> (CCM 8223)	512

Tabulka 22 Hodnoty MIC derivátu 9

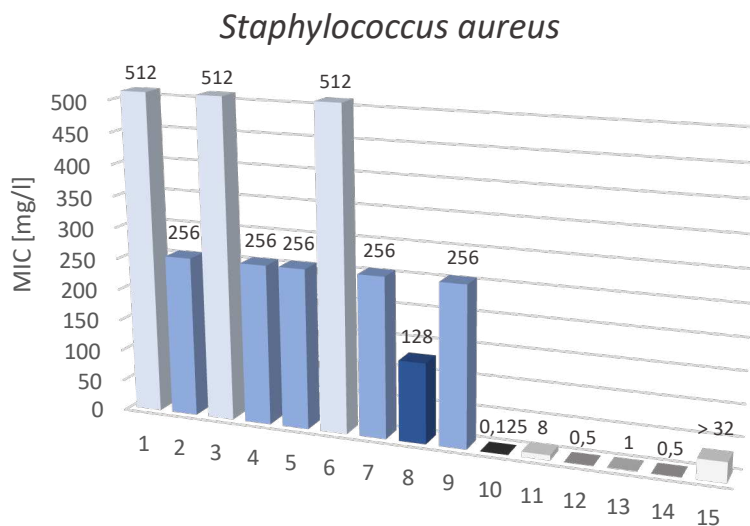


Chemická struktura 23 Derivát 9

Derivát 9 inhiboval růst při MIC = 128 mg/l u gram pozitivní bakterie *Streptococcus pyogenes*, gram negativní bakterie *Pseudomonas aeruginosa* a kvasinky *Candida albicans*. Ostatní mikroorganismy byly inhibovány při MIC = 256 mg/l či (>) 512 mg/l.

4.9 Vyhodnocení účinnosti nově syntetizovaných sulfonamidových derivátů a komerčních antibiotik vůči jednotlivým mikroorganismům

4.9.1 Účinnost testovaných antibiotik vůči *Staphylococcus aureus*

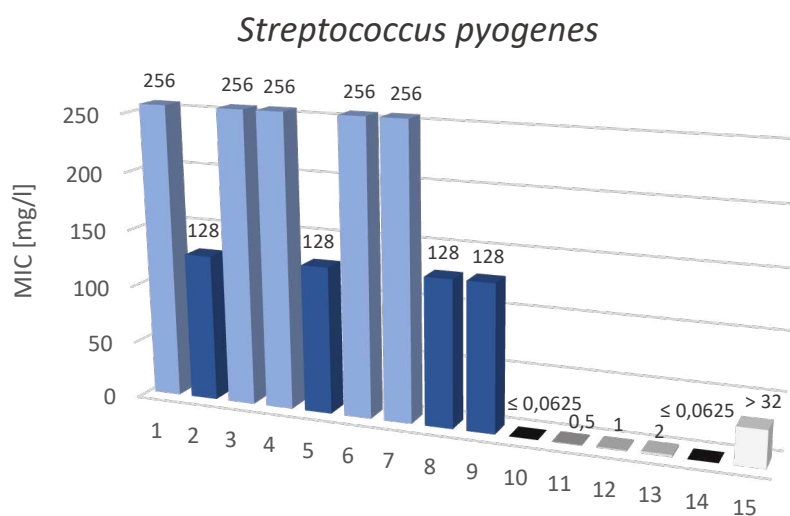


Graf 1 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotiky vůči *Staphylococcus aureus*

Legenda: 1 – derivát 1
2 – derivát 2
3 – derivát 3
4 – derivát 4
5 – derivát 5
6 – derivát 6
7 – derivát 7
8 – derivát 8
9 – derivát 9
10 – AMP
11 – CPR
12 – CIP
13 – OFL
14 – ERY
15 – SMX

Staphylococcus aureus (CCM 4223) je značně rezistentní vůči všem nově syntetizovaným sulfonamidovým derivátům a také vůči sulfamethoxazolu. V souladu s klinickou praxí je jeho růst inhibován těmito antibiotiky: ampicilin (MIC = 0,125 mg/l), cefoperazon (MIC = 8 mg/l), ciprofloxacin a erythromycin (MIC = 0,5 mg/l) a ofloxacin (MIC = 1 mg/l) – viz graf 1.

4.9.2 Účinnost testovaných antibiotik vůči *Streptococcus pyogenes*



Graf 2 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotiky vůči *Streptococcus pyogenes*

Legenda: 1 – derivát 1

2 – derivát 2

3 – derivát 3

4 – derivát 4

5 – derivát 5

6 – derivát 6

7 – derivát 7

8 – derivát 8

9 – derivát 9

10 – AMP

11 – CPR

12 – CIP

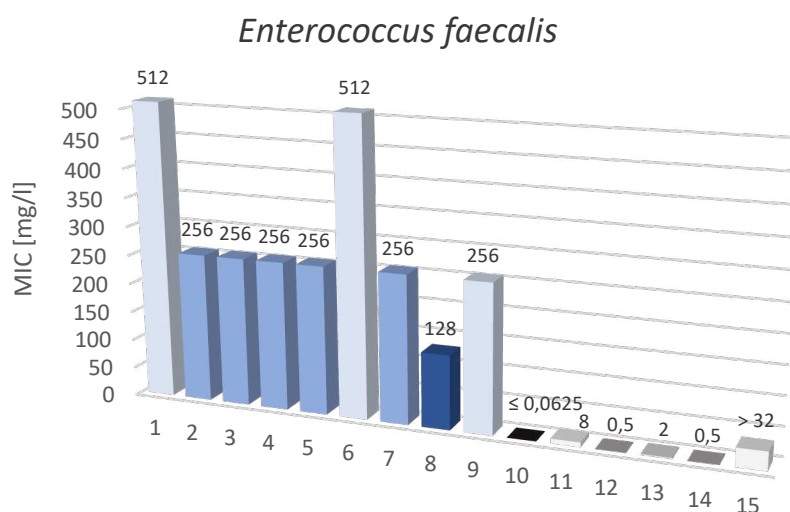
13 – OFL

14 – ERY

15 – SMX

Pro *Streptococcus pyogenes* (CCM 7418) byly stanoveny MIC sulfonamidových derivátů ve velmi vysokých hodnotách (128 mg/l, 256 mg/l). Tyto hodnoty činí mikroorganismus rezistentní na sulfonamidové deriváty. *Streptococcus pyogenes* citlivý na všechna testovaná komerční antibiotika (mimo sulfamethoxazol), kdy je jeho růst inhibován při velmi nízkých koncentracích – viz graf 2.

4.9.3 Účinnost testovaných antibiotik vůči *Enterococcus faecalis*



Graf 3 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotiky vůči *Enterococcus faecalis*

Legenda: 1 – derivát 1

2 – derivát 2

3 – derivát 3

4 – derivát 4

5 – derivát 5

6 – derivát 6

7 – derivát 7

8 – derivát 8

9 – derivát 9

10 – AMP

11 – CPR

12 – CIP

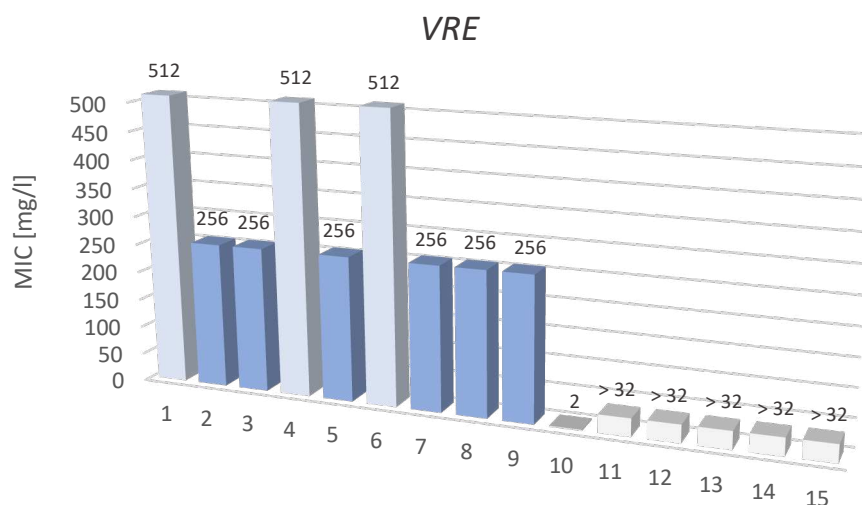
13 – OFL

14 – ERY

15 – SMX

Enterococcus faecalis (CCM 7930) nebyl téměř inhibován. Hodnoty MIC u jednotlivých sulfonamidů byly převážně rovny 256 mg/l, popřípadě 512 mg/l. Rezistence byla prokázána i v případě sulfamethoxazolu, kde je MIC > 32 mg/l. U ostatních komerčních antibiotik byla potvrzena známá citlivost *Enterococcus faecalis* – viz graf 3.

4.9.4 Účinnost testovaných antibiotik vůči VRE

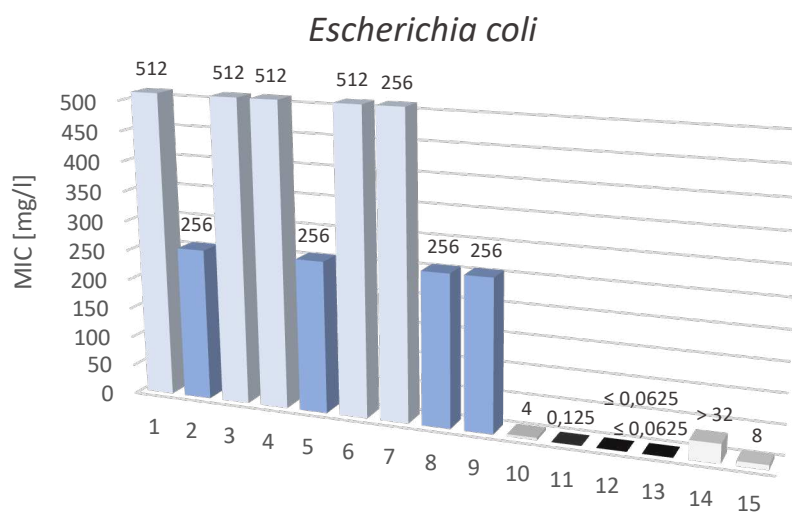


Graf 4 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotika vůči VRE

Legenda: 1 – derivát 1
2 – derivát 2
3 – derivát 3
4 – derivát 4
5 – derivát 5
6 – derivát 6
7 – derivát 7
8 – derivát 8
9 – derivát 9
10 – AMP
11 – CPR
12 – CIP
13 – OFL
14 – ERY
15 – SMX

Vankomycin rezistentní enterokoky jsou známé svou vysokou mírou rezistence na mnoho druhů antimikrobiálních látek, což se projevilo i v podobě zjištěné rezistence na testované sulfonamidové deriváty. Hodnoty MIC se pohybují v rozmezí hodnot 256-512 mg/l. V našem případě je vankomycin rezistentní enterokok (sbírka KBBV FCHT UPCE) citlivý na ampicilin (MIC = 2 mg/l) – viz graf 4.

4.9.5 Účinnost testovaných antibiotik vůči *Escherichia coli*



Graf 5 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotiky vůči *Escherichia coli*

Legenda: 1 – derivát 1

2 – derivát 2

3 – derivát 3

4 – derivát 4

5 – derivát 5

6 – derivát 6

7 – derivát 7

8 – derivát 8

9 – derivát 9

10 – AMP

11 – CPR

12 – CIP

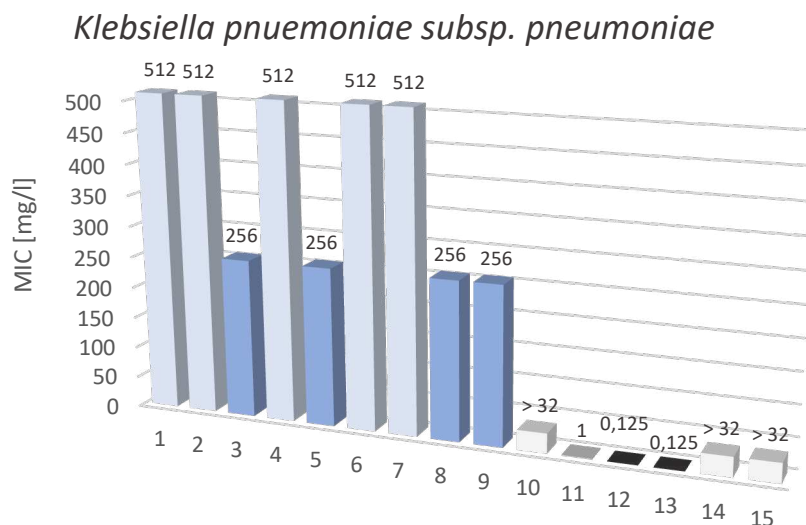
13 – OFL

14 – ERY

15 – SMX

Escherichia coli (CCM 3954) je rezistentní na všechny sulfonamidové deriváty. MIC u komerčně využívaných antimikrobiálních látek jsou ve srovnání se sulfonamidovými deriváty v oblasti velmi nízkých koncentrací – viz graf 5. *Escherichia coli* je jediným mikroorganismem citlivým na sulfamethoxazol, kdy její růst je inhibován při MIC = 8 mg/l. Naopak byla zaznamenána rezistence *Escherichia coli* vůči erythromycinu (> 32 mg/l).

4.9.6 Účinnost testovaných antibiotik vůči *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*



Graf 6 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotika vůči *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*

Legenda: 1 – derivát 1

2 – derivát 2

3 – derivát 3

4 – derivát 4

5 – derivát 5

6 – derivát 6

7 – derivát 7

8 – derivát 8

9 – derivát 9

10 – AMP

11 – CPR

12 – CIP

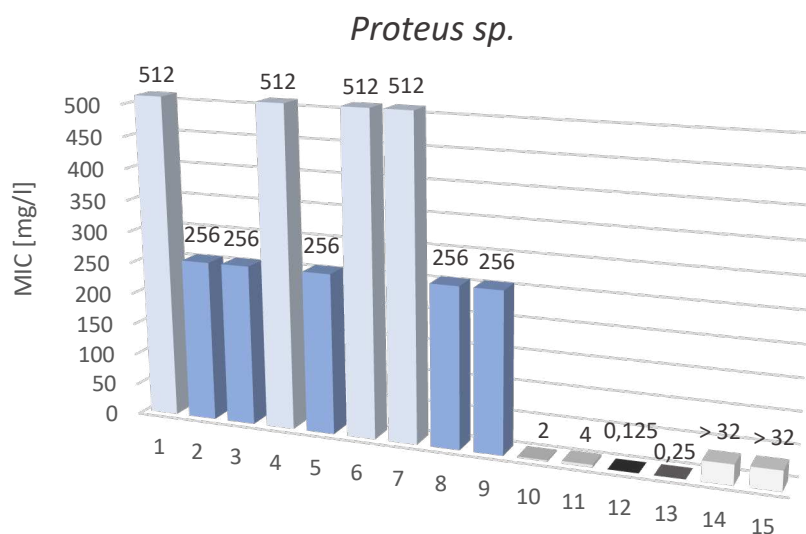
13 – OFL

14 – ERY

15 – SMX

Klebsiella pneumoniae subsp. *pneumoniae* (CCM 4415) je rezistentní nejen na všechny sulfonamidové deriváty, ale také na některá komerční antibiotika – ampicilin, erythromycin a sulfamethoxazol. Citlivost této gramnegativní tyčinky tvořící mukózní kolonie byla potvrzena u cefoperazonu (MIC = 1 mg/l), ciprofloxacinu a ofloxacinu (MIC = 0,125 mg/l) – viz graf 6.

4.9.7 Účinnost testovaných antibiotik vůči *Proteus sp.*



Graf 7 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotiky vůči *Proteus sp.*

Legenda: 1 – derivát 1

2 – derivát 2

3 – derivát 3

4 – derivát 4

5 – derivát 5

6 – derivát 6

7 – derivát 7

8 – derivát 8

9 – derivát 9

10 – AMP

11 – CPR

12 – CIP

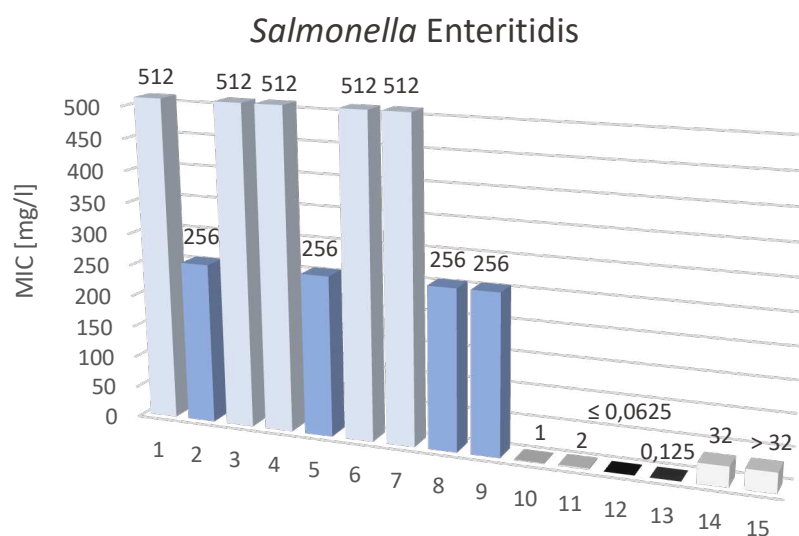
13 – OFL

14 – ERY

15 – SMX

Proteus sp. (sbírka KBBV FCHT UPCE) je na základě zaznamenaných hodnot MIC (256 mg/l, 512 mg/l) rezistentní na nové sulfonamidové deriváty. Rezistenci vykazuje také vůči erythromycinu a sulfamethoxazolu. Mezi účinná komerční antibiotika patří ampicilin, cefoperazon, ciprofloxacín a ofloxacin, jež způsobovaly inhibici růstu *Proteus sp.* při nízkých koncentracích – viz graf 7.

4.9.8 Účinnost testovaných antibiotik vůči *Salmonella* Enteritidis

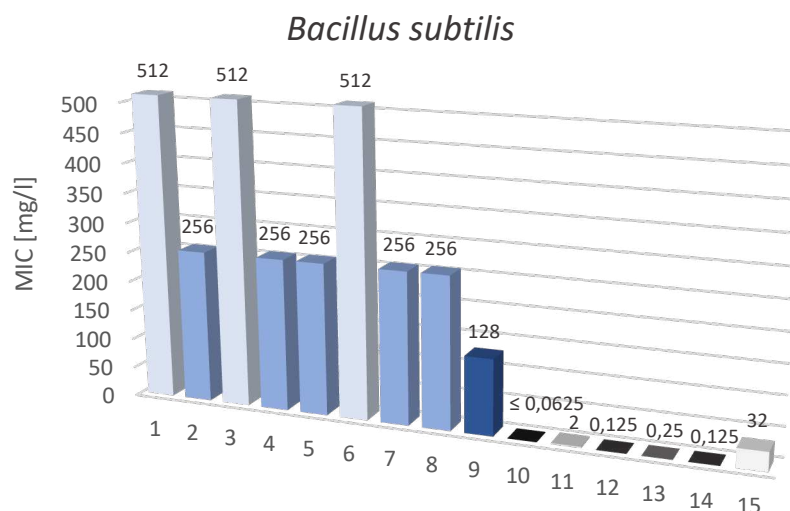


Graf 8 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotiky vůči *Salmonella* Enteritidis

Legenda: 1 – derivát 1
2 – derivát 2
3 – derivát 3
4 – derivát 4
5 – derivát 5
6 – derivát 6
7 – derivát 7
8 – derivát 8
9 – derivát 9
10 – AMP
11 – CPR
12 – CIP
13 – OFL
14 – ERY
15 – SMX

Byla zaznamenána rezistence *Salmonella* Enteritidis (CCM 4420) na veškeré sulfonamidy (MIC = 256 mg/l, 512 mg/l) včetně komerčně využívaného sulfamethoxazolu. Nízké zaznamenané hodnoty MIC u ampicilinu, cefoperazonu, ciprofloxacinu a ofloxacinu potvrzují citlivost bakterie ke zmíněným antibiotikům. U erythromycinu nebyla zaznamenána antimikrobiální aktivita – viz graf 8.

4.9.9 Účinnost testovaných antibiotik vůči *Bacillus subtilis*



Graf 9 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotiky vůči *Bacillus subtilis*

Legenda: 1 – derivát 1

2 – derivát 2

3 – derivát 3

4 – derivát 4

5 – derivát 5

6 – derivát 6

7 – derivát 7

8 – derivát 8

9 – derivát 9

10 – AMP

11 – CPR

12 – CIP

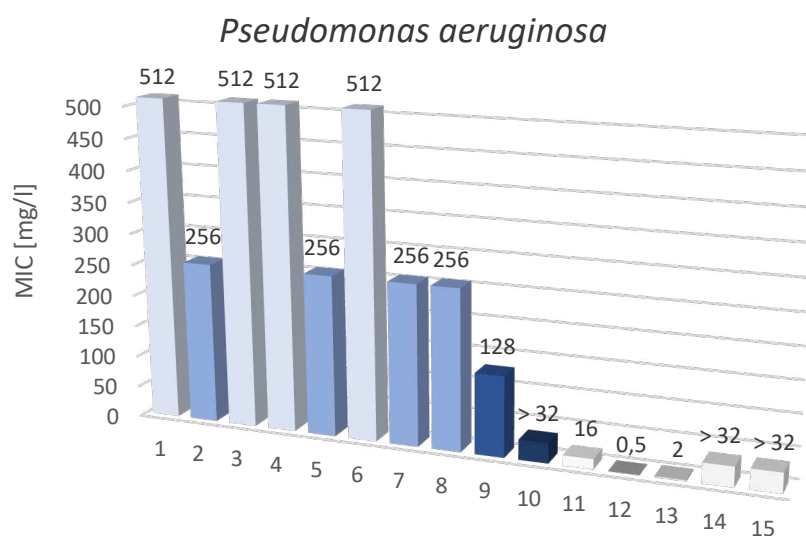
13 – OFL

14 – ERY

15 – SMX

Růst bakterie *Bacillus subtilis* (sbírka KBBV FCHT UPCE) byl inhibován derivátem 9 při 128 mg/l. U zbylých derivátů byly zaznamenány vyšší hodnoty MIC (256 mg/l, popř. 512 mg/l). Citlivost *Bacillus subtilis* byla prokázána vůči všem testovaným komerčním antibiotikům, přičemž nejnižší hodnoty MIC byly odečteny u ampicilinu ($\leq 0,0625$ mg/l) – viz graf 9.

4.9.10 Účinnost testovaných antibiotik vůči *Pseudomonas aeruginosa*



Graf 10 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotika vůči *Pseudomonas aeruginosa*

Legenda: 1 – derivát 1

2 – derivát 2

3 – derivát 3

4 – derivát 4

5 – derivát 5

6 – derivát 6

7 – derivát 7

8 – derivát 8

9 – derivát 9

10 – AMP

11 – CPR

12 – CIP

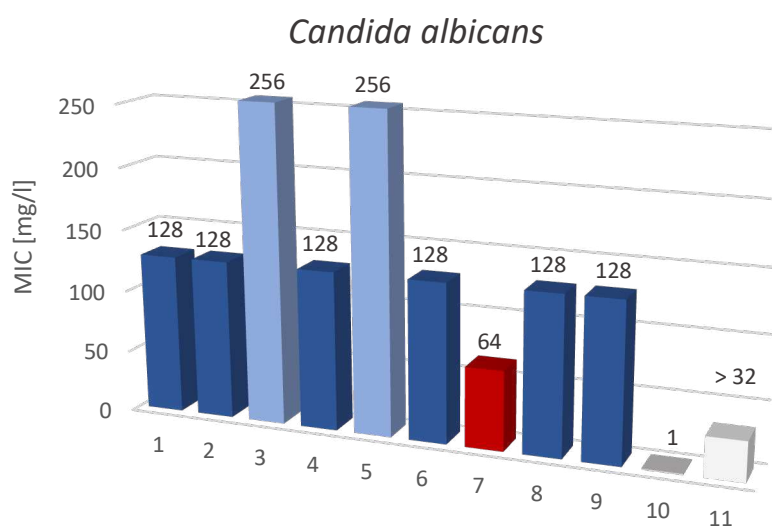
13 – OFL

14 – ERY

15 – SMX

Podobně jako u ostatních organismů, *Pseudomonas aeruginosa* (CCM 3956) je rezistentní na sulfonamidové deriváty – viz graf 10. Nejnižší MIC byla zaznamenána u derivátu 9 (128 mg/l). Nefermentující gramnegativní tyčinka je rezistentní také vůči ampicilinu, erythromycinu a sulfamethoxazolu. Citlivost *Pseudomonas aeruginosa* je prokázána vůči ciprofloxacinu (MIC = 0,5 mg/l), ofloxacinu (MIC = 2 mg/l), popř. u cefoperazonu /MIC = 16 mg/l).

4.9.11 Účinnost testovaných antibiotik vůči *Candida albicans*

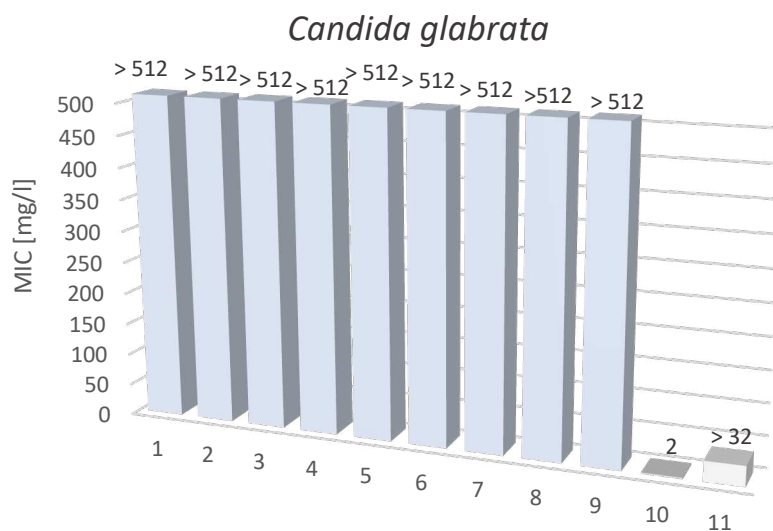


Graf 11 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotiky vůči *Candida albicans*

Legenda: 1 – derivát 1
2 – derivát 2
3 – derivát 3
4 – derivát 4
5 – derivát 5
6 – derivát 6
7 – derivát 7
8 – derivát 8
9 – derivát 9
10 – AMF
11 – SMX

Derivát 7 inhiboval růst kvasinky *Candida albicans* (CCM 8186) při MIC = 64 mg/l. Hodnoty MIC u zbylých derivátů byly vyšší (128 mg/l, popř. 256 mg/l). V případě komerčních antibiotik je prokázána citlivost *Candida albicans* vůči amfotericinu B (MIC = 1 mg/l), kdežto na sulfamethoxazol je *Candida albicans* rezistentní – viz graf 11.

4.9.12 Účinnost testovaných antibiotik vůči *Candida glabrata*

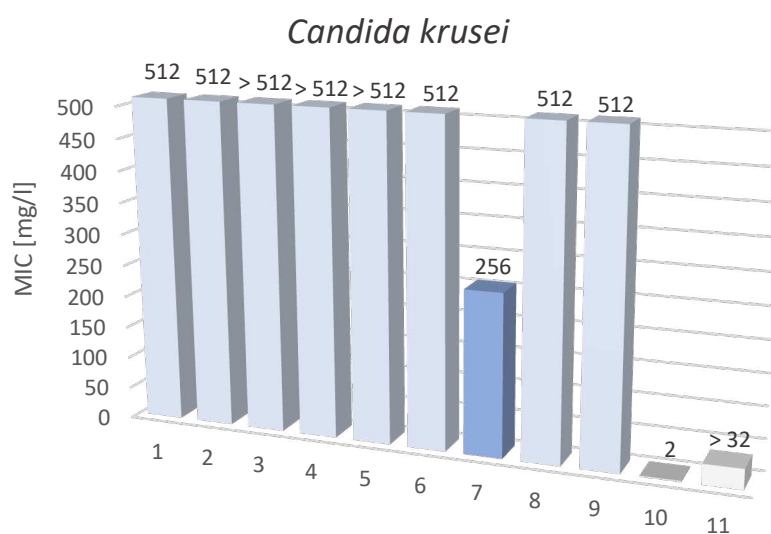


Graf 12 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotika vůči *Candida glabrata*

Legenda: 1 – derivát 1
2 – derivát 2
3 – derivát 3
4 – derivát 4
5 – derivát 5
6 – derivát 6
7 – derivát 7
8 – derivát 8
9 – derivát 9
10 – AMF
11 – SMX

Nebyla zjištěna antimikrobiální účinnost sulfonamidových derivátů vůči kvasince *Candida glabrata* (CCM 8278). Zároveň byla zaznamenána rezistence *Candida glabrata* na komerční antibiotika amfotericin B a sulfamethoxazol – viz graf 12.

4.9.13 Účinnost testovaných antibiotik vůči *Candida krusei*

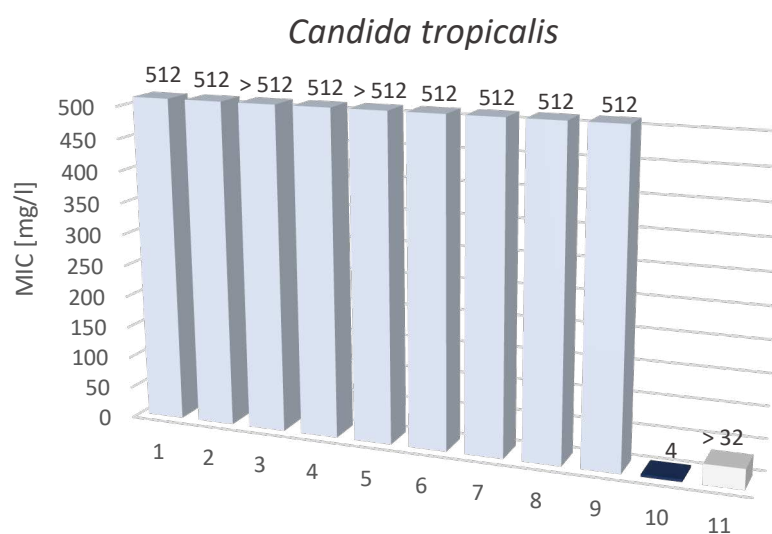


Graf 13 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotiky vůči *Candida krusei*

Legenda: 1 – derivát 1
2 – derivát 2
3 – derivát 3
4 – derivát 4
5 – derivát 5
6 – derivát 6
7 – derivát 7
8 – derivát 8
9 – derivát 9
10 – AMF
11 – SMX

Derivát 7 inhiboval růst *Candida krusei* (CCM 8271) při MIC = 256 mg/l. U zbylých derivátů byly zaznamenány vyšší hodnoty MIC (512 mg/l, > 512 mg/l). Co se týče komerčních antibiotik, zde je *Candida krusei* stejně jako *Candida glabrata* rezistentní vůči amfotericinu B a sulfamethoxazolu.

4.9.14 Účinnost testovaných antibiotik vůči *Candida tropicalis*



Graf 14 Minimální inhibiční koncentrace sulfonamidových derivátů ve srovnání s komerčními antibiotiky vůči *Candida tropicalis*

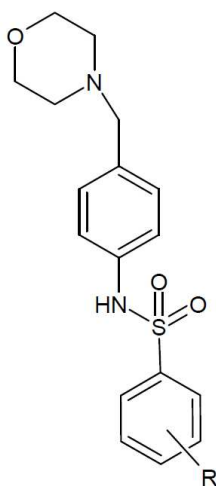
Legenda: 1 – derivát 1
2 – derivát 2
3 – derivát 3
4 – derivát 4
5 – derivát 5
6 – derivát 6
7 – derivát 7
8 – derivát 8
9 – derivát 9
10 – AMF
11 – SMX

U většiny sulfonamidových derivátů byla pozorována inhibice růstu *Candida tropicalis* (CCM 8223) až při 512 mg/l, u derivátu 3 a 5 nebyla inhibice růstu zaznamenána. Kvasinka je rezistentní také na komerční antibiotika (amfotericin B, sulfamethoxazol).

5 DISKUSE

Diplomová práce se věnuje stanovení antimikrobiální a antifungální aktivity sulfonamidových derivátů na bázi 4-(morfolin-4-ylmethyl) anilinu. Navazuje na předchozí diplomovou práci týkající se testování účinnosti sulfonamidových derivátů připravených na odlišné bázi.

V roce 2021 byla na KBBV realizována diplomová práce, ve které byl výzkum zaměřen na antimikrobiální a antifungální aktivitu substituovaných morfolinomethylfenylbenzen sulfonamidů. Testované látky, jejichž struktura je znázorněna jako chemická struktura 24, nebyly nerozpustné ve vodě, tudíž bylo nutné je rozpustit v roztoku dimethylsulfoxidu. Celkem bylo testováno 16 sulfonamidových derivátů, přičemž u 8 derivátů byla morfolinová skupina navázaná v poloze 2 a u zbylých derivátů v poloze 4. Dále se deriváty lišily v navázaných substituentech. Nejdříve bylo testování zaměřeno na ověření hodnoty MIC u komerčně dodávaných antibiotik. Na základě zaznamenaných vysokých hodnot MIC byly testované mikroorganismy vyhodnoceny jako vysoce rezistentní vůči sulfonamidovým derivátům na bázi morfolinomethylfenylbenzenu. Výjimkou byl 4-methyl-N-(4-(morfolinmethyl)fenyl) benzonsulfonamid, jenž vykázal nejnižší hodnotu MIC = 32 mg/l vůči *Candida tropicalis*. Většina ostatních sulfonamidových látek inhibovala růst mikroorganismů až při MIC > 1024 mg/l (Franko, 2021).



Chemická struktura 24 Základní struktura sulfonamidových derivátů testovaných v diplomové práci Franko 2021

R: H, 4-CH₃, 3,5-(CH₃)₂, 3-F-4-CH₃, 3-Cl-4-CH₃, 3-F, 3-Cl, 3,5-F₂

V této diplomové práci byly pro testování využity stejné mikroorganismy – grampozitivní bakterie (*Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*),

gramnegativní bakterie (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus sp.*) a kvasinky (*Candida albicans*, *Candida tropicalis*). Stanovením antimikrobiální, respektive antifungální aktivity byly získány nižší hodnoty MIC oproti diplomové práci z roku 2021. Podíl na tom může mít forma sulfonamidových derivátů – hydrochloridy – jež zajišťují rozpustnost derivátů ve vodě. Použití vody jako rozpouštědla oproti dimethylsulfoxidu přináší další výhodu pro možné budoucí využití testovaných derivátů jako antimikrobiálních látek užitých *in vivo*.

Nejlepší výsledky antimikrobiální a antifungální aktivity sulfonamidových derivátů byly zaznamenány u grampozitivních bakterií a kvasinek, konkrétně u *Streptococcus pyogenes* a *Candida albicans*. V kontrastu s nízkou hodnotou MIC u *Candida albicans* (64 mg/l) nebyl zaznamenán téměř žádný antifungální účinek u *Candida glabrata*. Také u gramnegativních bakterií nebyl zaznamenán žádný antibakteriální účinek.

Nejlepších výsledků bylo dosaženo při testování všech derivátů vůči *Candida albicans*, jež byla inhibována při nejnižších hodnotách MIC. Výjimku tvoří deriváty 3 a 5, u nichž byla vyhodnocena MIC = 256 mg/l. Derivát číslo 7 – (S)-4-(4-(3-methyl-2-((3-chlorfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl) morfolin hydrochlorid nabízí nejslibnější klinické výsledky *in vitro* (MIC = 64 mg/l).

Vzhledem k zisku vysokých hodnot MIC, nebylo přistoupeno ke stanovení MBC.

Antibakteriální a antifungální aktivita nově syntetizovaných sulfonamidů byla porovnána s komerčními antibiotiky (ampicilin, cefoperazon, ciprofloxacín, ofloxacín, erythromycin, amfotericin B), jejichž součástí bylo také sulfonamidové antibiotikum sulfamethoxazol.

Testované mikroorganismy jsou v naprosté většině citlivé vůči komerčním antibiotikům mimo sulfamethoxazol. Byla potvrzena rezistence vankomycin-rezistentního enterokoka na antimikrobiální látky. V kontrastu s tím byla zjištěna překvapující citlivost na ampicilin (MIC = 2 mg/l). U ampicilinu jsme se setkali s rezistencí vůči *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae* a *Pseudomonas aeruginosa*, jež nereagovaly na působení antibiotika.

Odolnost mikroorganismů vůči působení bakteriostatických antibiotik je daleko častější. Jedinými mikroorganismy citlivými na sulfamethoxazol je *Escherichia coli* s MIC = 8 mg/l, a poté *Bacillus subtilis* s hraniční citlivostí (MIC = 32 mg/l), přičemž MIC *Bacillus subtilis* odpovídá MBC.

V konečném srovnání nedosahují nově syntetizované sulfonamidové deriváty hodnot minimálních inhibičních koncentrací antibiotik využívaných v klinické praxi. Zejména gramnegativní bakterie a některé kvasinky na ně projevují vysokou míru rezistence.

V této diplomové práci však bylo dosaženo lepších celkových výsledků, ačkoliv v předchozí diplomové práci byl vyhodnocen derivát 4-methyl-N-(4-(morfolinmethyl)fenyl) benzensulfonamid účinný vůči *Candida tropicalis* s MIC = 32 mg/l.

Krátký et al. (2015) publikoval studii, kde se zabývali vývojem nových sulfonamidových derivátů. Za spolupráce Univerzity Karlovy v Hradci Králové a Krajského zdravotního ústavu v Ostravě, respektive laboratoře pro mykobakteriální diagnostiku a tuberkulózu, proběhla syntéza a následné hodnocení antimikrobiální aktivity močoviny na bázi sulfamethoxazolu a jejich cyklických analogů imidazolidin-2,4,5-trionů, jakožto potenciálních látek s antimikrobiálními účinky. K průkazu *in vitro* aktivity byly vybrány zástupci mykobakterií, kvasinek, grampozitivních i gramnegativních bakterií. Výtěžky derivátů byly uspokojivé, v rozmezí 40-96 %. Nejvýznamnější účinek z hlediska acidorezistentních bakterií měly mykobakterie kategorizující se do skupiny tzv. netuberkulózních mykobakterií, zejména *Mycobacterium kansasii*. Cyklizace močoviny měla příznivý účinek pouze v případech, že se jednalo o cyklizace močoviny s nižší antimikrobiální aktivitou, kdy výsledným účinkem bylo snížení MIC. Grampozitivní koky (*Staphylococcus aureus*, methicilin-rezistentní enterokok, *Staphylococcus epidermidis* a *Enterococcus sp.*) byly inhibovány při MIC = 125 $\mu\text{mol/l}$ a více, přičemž nejvyšší účinek byl prokázán u rodu *Staphylococcus*. Ve srovnání s MIC sulfamethoxazolu, aktivita derivátu N-heptylmočoviny byla shodná, popř. mírně vyšší. U některých derivátů nebyl prokázán žádný antibakteriální účinek, např. nedošlo k inhibici růstu gramnegativních bakterií (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*) (Krátký, Stolaříková, Vinšová, 2025). Tento fenomén byl zaznamenán i v této diplomové práci.

V práci Deblais et al. (2019) byly zkoumány účinky derivátů benzylthiofensulfonamidů vůči *Campylobacter*. Jeden z hlavních patogenů způsobující tzv. kampylobakteriózu, alimentární gastroenteritidu, byl několika deriváty inhibován. MIC účinnějších derivátů bylo vůči *Campylobacter jejuni* rovno 100 $\mu\text{mol/l}$, popř. 50 $\mu\text{mol/l}$. Dalším inhibovaným zástupcem byl *Campylobacter coli*, jehož růst byl inhibován sloučeninami při MIC 12,5-25 $\mu\text{mol/l}$. Výsledky jsou velmi slibné, jelikož byla použita mnohonásobně nižší koncentrační řada ve srovnání s předchozími studiemi. Sloučeniny TH-4 a TH-8, které jsou analogy (5-chlor- N- (4-chlorbenzyl)-2-thiofensulfonamidu, vykazovaly nejlepší účinnost vůči *Campylobacter jejuni* a *Campylobacter coli*. Do budoucna by mohly představovat slibné výchozí sloučeniny pro vývoj potenciálních terapeutik. Následující studie se budou zabývat účinnými deriváty, jejich cílem bude vývoj nových sloučenin na bázích TH-4 a TH-8 a také metody pro usnadnění klinického

využití – biologická dostupnost molekul v hostiteli po prodělané léčbě (Deblais, Helmy, Kumar et al., 2019).

Meşeli et al. v roce 2021 vyvíjeli nové sulfonamidové deriváty odvozené od 4-(thiofen-2-yl)thiazol-2-aminu. *In vitro* testování účinnosti bylo provedeno ve srovnání s komerčními antibiotiky – sulfadiazinem, sulfathiazolem. Testování proběhlo vůči širokému spektru bakterií, z nichž *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* a kvasinka *Candida albicans* byly hodnoceny i v této diplomové práci. Z celkového počtu dvanácti derivátů byly tři deriváty nejaktivnější vůči různým kmenům *Staphylococcus aureus*. Nejlepšími MIC *Staphylococcus aureus* byly hodnoty 0,25 µg/ml (derivát SA7), respektive 0,5 µg/ml (derivát SA11). Dokonce methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* byl vyhodnocen jako citlivý vůči SA7 s MIC = 1 µg/ml, ale také vůči derivátu SA12, kde MIC činilo 2,5 µg/ml. Navíc byla u účinných derivátů prokázána nízká cytotoxicita vůči lidským plicním fibroblastům, a to pomocí měření životaschopnosti kultivovaných buněk. Získaná data naznačují nový přístup k modifikaci sulfonamidů s cílem potlačení antimikrobiální rezistence, zejména v případě *Staphylococcus aureus* (Meşeli, Doğan, Gündüz et al., 2021).

Studie z roku 2023 hodnotila *in vitro* účinek pěti nových sulfonamidových derivátů působících na *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* a *Pseudomonas aeruginosa*. Výsledky byly srovnávány s kombinací antibiotik trimethoprim-sulfamethoxazol. Mimo stanovení antibakteriální aktivity studie zahrnovala také testování cytotoxicity a genotoxicity. Všechny deriváty vykazovaly antibakteriální aktivitu s velmi nízkými MIC vůči gramnegativním bakteriím, a to zejména vůči *Escherichia coli* a *Klebsiella pneumoniae*. Účinné deriváty by byly potenciálně vhodnými deriváty i z pohledu cytotoxicity a genotoxicity (Imène, Akram, Eddine et al., 2023).

Nejnovější studie se také zaměřují na syntézu sulfonamidů vycházejících ze Schiffových bází (kondenzace se salicylaldehydy). *In vitro* antimikrobiální testy prokázaly účinnost vůči grampozitivním kokům včetně MRSA, ale také vůči izolátům odolných vůči působení trimethoprim-sulfamethoxazol. Ve srovnání s komerčními sulfonamidy (sulfamethoxazol, sulfamethazin a sulfathiazol) byly na základě MIC a MBC hodnoceny jako baktericidní. Sloučeniny nevyvolávaly hemolýzu a zároveň některé z nich také vykazovaly nízkou toxicitu vůči lidským buněčným liniím, což označuje deriváty za možná potenciální léčiva infekcí. (Krátký, 2024).

6 ZÁVĚR

V diplomové práci bylo testováno dle normy ČSN EN ISO 20776-1 ED.2 celkem devět nových sulfonamidových derivátů na bázi 4-(morfolin-4-ylmethyl) anilinu vůči 14 mikroorganismům zahrnujícím zástupce grampozitivních bakterií, gramnegativních bakterií a kvasinek.

Ze získaných hodnot MIC lze usoudit účinnost sulfonamidových derivátů na *Candida albicans* a grampozitivní bakterie, zejména *Streptococcus pyogenes*. V případě *Candida albicans* byla odečtena nejnižší hodnota MIC celého testování – 64 mg/l, a to u derivátu 7 – (S)-4-(4-(3-methyl-2-((3-chlorfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochloridu. Nicméně účinnost vůči *Candida albicans* byla potvrzena i v ostatních případech sulfonamidových derivátů, kdy MIC bylo převážně rovno 128 mg/l. *Streptococcus pyogenes* měl relativně nízké hodnoty MIC u čtyř derivátů – (S)-4-(4-(3-methyl-2-((4-methylfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochloridu, (S)-4-(4-(3-methyl-2-((3-chlor-4-fluorfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl)morfolinhydrochloridu, (S)-4-(4-(3-methyl-2-((3,5difluorfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochloridu a (S)-4-(4-(3-methyl-2-((3,5-dichlorfenyl)sulfonamido)butanamido)benzyl)morfolin hydrochloridu – kde hodnoty MIC nabývaly 128 mg/l.

U gramnegativních tyčinek naopak nebyl prokázán žádný potenciál, což může být způsobeno odlišným složením buněčné stěny bakterií a kvasinek.

Bylo dosaženo nižších hodnot MIC než v diplomové práci z roku 2021, a to i přes to, že nebyla prokázána aktivita vůči gramnegativním bakteriím. Účinnost sulfonamidových derivátů však v obou pracích vykazuje potenciál vůči grampozitivním bakteriím a kvasinkám. Přesto ale nebylo dosaženo tak nízkých hodnot, jako u komerčně využívaných antibiotik.

Díky rozpustnosti derivátů ve vodě se testované sulfonamidové deriváty jeví jako vhodnější pro využití *in vivo*, ve srovnání s deriváty testovanými ve zmíněné diplomové práci z roku 2021. Využití vody namísto roztoku dimethylsulfoxidu eliminuje riziko toxicity pro živé organismy.

Sloučeniny na bázi sulfonamidů mají vysoký potenciál z hlediska ceny, jednoduché syntézy a tím i technologické uplatnitelnosti. Dlouhodobě se vývoji a testování nových sulfonamidů věnují výzkumné skupiny na Katedře fyzikální chemie ve spolupráci s Ústavem organické chemie a technologie a Katedrou biologických a biochemických věd Fakulty chemicko-technologické Univerzity Pardubice.

7 POUŽITÁ LITERATURA

1. AHMED, Yunus; MAYA, Akser Alam Siddiqua; AKHTAR, Parul; ALMOHAMADI, Hamad; MOHAMMAD, Abdul Wahab et al. Advancements and challenges in Fenton-based advanced oxidation processes for antibiotic removal in wastewater: From the laboratory to practical applications. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2025, **13**(1), 1-21.
2. AKINSEMOLU, Adenike A.; ONYEAKA, Helen; ODION, Samuel a ADEBANJO, Idris. Exploring *Bacillus subtilis*: Ecology, biotechnological applications, and future prospects. *Journal of Basic Microbiology*. 2024, **64**(6), 1-19.
3. ALENAZY, Rawaf. Antibiotic resistance in *Salmonella*: Targeting multidrug resistance by understanding efflux pumps, regulators and the inhibitors. *Journal of King Saud University - Science*. 2022, **34**(7), 1-8.
4. ALHARBI, Fatimah; ALMANIFI, Eyad a ASHRAFUZZAMAN, Md. Targeting BCL-2 family proteins using BH3 mimetic drugs for cancer therapy: A systematic review of randomized clinical trials. *Medicine in Drug Discovery*. 2024, **24**, 1-16.
5. ALJOHNI, Mamdouh S.; HARUN-UR-RASHID, Mohammad a SELIM, Samy. Emerging threats: Antimicrobial resistance in extended-spectrum beta-lactamase and carbapenem-resistant *Escherichia coli*. *Microbial Pathogenesis*. 2025, **200**, 1-21.
6. AMINA; ULLAH, Habib; ABBAS, Qumber; EL-NAGGAR, Ali; MOHAMED, Badr A. et al. Synergistic interactions and mechanism of calcium peroxide-driven radicals-based advanced oxidative degradation of antibiotics. *Journal of Water Process Engineering*. 2025, **70**, 1-18.
7. APAYDIN, Sinem a TÖRÖK, Marianna. Sulfonamide derivatives as multi-target agents for complex diseases. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2019, **29**(16), 2042-2050.
8. BALE, Babatunde Ismail; ELEBESUNU, Emmanuel Ebuka; MANIKAVASAGAR, Pirakalai; AGWUNA, Favour Obianuju; OGUNKOLA, Isaac Olushola et al. Antibiotic resistance in ocular bacterial infections: an integrative review of ophthalmic chloramphenicol. *Tropical Medicine and Health*. 2023, **51**(1), 1-10.
9. BAQUERO, Fernando a LEVIN, Bruce R. Proximate and ultimate causes of the bactericidal action of antibiotics. *Nature Reviews Microbiology*. 2021, **19**(2), 123-132.
10. BEFENZI, Hasna; EZZARIAI, Amine; MECHICHI, Tahar; KOUISNI, Lamfeddal; HAFIDI, Mohamed et al. Degradation of antibiotics by homogeneous and

- heterogeneous Fenton processes: A review. *Journal of Hazardous Materials Advances*. 2025, **17**, 1-30.
11. BHATIA, Neha a THAREJA, Suresh. Aromatase inhibitors for the treatment of breast cancer: An overview (2019–2023). *Bioorganic Chemistry*. 2024, **151**, 1-43.
 12. BLICHARZ-FUTERA, Klaudia; KAMIŃSKI, Michał; GRYCHOWSKA, Katarzyna; CANALE, Vittorio a ZAJDEL, Paweł. Current development in sulfonamide derivatives to enable CNS-drug discovery. *Bioorganic Chemistry*. 2025, **156**, 1-41.
 13. BORMIO NUNES, Julia Helena; HIDEKI NAKAHATA, Douglas; CORBI, Pedro Paulo a FERRAZ DE PAIVA, Raphael Enoque. Beyond silver sulfadiazine: A dive into more than 50 years of research and development on metal complexes of sulfonamides in medicinal inorganic chemistry. *Coordination Chemistry Reviews*. 2023, **490**, 1-45.
 14. BRDOVÁ, Daniela; RUML, Tomáš a VIKTOROVÁ, Jitka. Mechanism of staphylococcal resistance to clinically relevant antibiotics. *Drug Resistance Updates*. 2024, **77**, 1-24.
 15. ČSN EN ISO 20776-1 ED.2 (857006). *Zkoušení citlivosti původců infekcí a hodnocení účinnosti prostředků pro stanovení antimikrobiální citlivosti – část 1: Referenční metody mikroředění v tekuté půdě pro zkoušení aktivity antimikrobiálních činidel in vitro proti rychle rostoucím aerobním bakteriím způsobujícím infekční nemoci*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2021, 1-32.
 16. D’ALESSANDRO, Maria Clara Bila; KANAAN, Salim; GELLER, Mauro; PRATICÒ, Domenico a DAHER, João Paulo Lima. Mitochondrial Dysfunction in Alzheimer’s Disease. Online. *Ageing Research Reviews*. 2025. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2025.102713>.
 17. *Dapson* DrugBank. 2025. Dostupné z: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00250>.
 18. DAVID, Liliana; BRATA, Anca Monica; MOGOSAN, Cristina; POP, Cristina; CZAKO, Zoltan et al. Artificial Intelligence and Antibiotic Discovery. *Antibiotics*. 2021, **10**(11), 1-13.
 19. DAVIES, Thomas Q.; TILBY, Michael J.; SKOLC, David; HALL, Adrian a WILLIS, Michael C. Primary Sulfonamide Synthesis Using the Sulfinylamine Reagent N - Sulfinyl- O -(tert -butyl)hydroxylamine, t -BuONSO. *Organic Letters*. 2020, **22**(24), 9495-9499.
 20. DE OLIVEIRA, Jonathas Sales; PEREIRA, Vandbergue Santos; CASTELO-BRANCO, Débora de Souza Collares Maia; CORDEIRO, Rossana de Aguiar; SIDRIM, José Júlio Costa et al. The yeast, the antifungal, and the wardrobe *Candida tropicalis*: a

- journey into antifungal resistance mechanisms of *Candida tropicalis*. *Canadian Journal of Microbiology*. 2020, **66**(6), 377-388.
21. DEBLAIS, Loïc; HELMY, Yosra A.; KUMAR, Anand; ANTWI, Janet; KATHAYAT, Dipak et al. Novel narrow spectrum benzyl thiophene sulfonamide derivatives to control *Campylobacter*. *The Journal of Antibiotics*. 2019, roč. **72**(7), 555-565.
 22. DEJA, Erin N. Aminoglycoside antibiotics: Trying to find a place in this world. *Clinical Microbiology Newsletter*. 2024, **46**, 4-10.
 23. DING, Dong; WANG, Bin; ZHANG, Xiaolan; ZHANG, Junxi; ZHANG, Huanhuan et al. The spread of antibiotic resistance to humans and potential protection strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2023, **254**, 1-14.
 24. DUAN, Weiyang; CUI, Hongwu; JIA, Xinyu a HUANG, Xiao. Occurrence and ecotoxicity of sulfonamides in the aquatic environment: A review. *Science of The Total Environment*. 2022, **820**, 1-11.
 25. EDWARDS, Brett D. a FIELD, Stephen K. The Struggle to End a Millennia-Long Pandemic: Novel Candidate and Repurposed Drugs for the Treatment of Tuberculosis. *Drugs*. 2022, **82**(18), 1695-1715.
 26. EICHEL, V.M.; LAST, K.; BRÜHWASSER, C.; VON BAUM, H.; DETTENKOFER, M. et al. Epidemiology and outcomes of vancomycin-resistant enterococcus infections: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Hospital Infection*. 2023, **141**, 119-128.
 27. EISENREICH, Wolfgang; RUDEL, Thomas; HEESEMANN, Jürgen a GOEBEL, Werner. Link Between Antibiotic Persistence and Antibiotic Resistance in Bacterial Pathogens. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2022, **12**. 1-26.
 28. ELDESOUKY, Hassan E.; LI, Xiaoyan; ABUTALEB, Nader S.; MOHAMMAD, Haroon a SELEEM, Mohamed N. Synergistic interactions of sulfamethoxazole andazole antifungal drugs against emerging multidrug-resistant *Candida auris*. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2018, **52**(6), 754-761.
 29. FENG, Yanru; LU, Hui; WHITEWAY, Malcolm a JIANG, Yuanying. Understanding fluconazole tolerance in *Candida albicans*: implications for effective treatment of candidiasis and combating invasive fungal infections. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2023, **35**, 314-321.

30. FERNÁNDEZ-VILLA, Daniel; AGUILAR, Maria Rosa a ROJO, Luis. Folic Acid Antagonists: Antimicrobial and Immunomodulating Mechanisms and Applications. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019, **20**(20), 1-30.
31. FRANKO, Benjamín. *Antimikrobiální účinek nově syntetizovaných sulfonamidů*. Diplomová práce, Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, 2021.
32. GAO, Shuo-Wen; CHEN, Li-Hua; CUI, Yuan-Yuan a YANG, Cheng-Xiong. Sacrificial template synthesis of hollow sulfonate group functionalized microporous organic network for efficient solid phase extraction of sulfonamide antibiotics from milk and honey samples. *Journal of Chromatography A*. 2024, roč. **1721**, 1-13.
33. GAO, Yangyang; CHEN, Huimin; YANG, Weicheng; WANG, Shuang; GONG, Daohong et al. New avenues of combating antibiotic resistance by targeting cryptic pockets. *Pharmacological Research*. 2024, **210**, 1-21.
34. GERADA, Alessandro; HARPER, Nicholas; HOWARD, Alex; REZA, Nada; HOPE, William et al. Determination of minimum inhibitory concentrations using machine-learning-assisted agar dilution. *Microbiology Spectrum*. 2024, **12**(5), 1-13.
35. GOMES, Tânia A.T.; ELIAS, Waldir P.; SCALETSKY, Isabel C.A.; GUTH, Beatriz E.C.; RODRIGUES, Juliana F. et al. Diarrheagenic Escherichia coli. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2016, **47**, 3-30.
36. GUO, Xingying; CHEN, Haibo; TONG, Yongqi; WU, Xintong; TANG, Can et al. A review on the antibiotic florfenicol: Occurrence, environmental fate, effects, and health risks. *Environmental Research*. 2024, **244**, 1-14.
37. GUO, Yuan-Yuan; ZHANG, Jing-Yi; SUN, Jin-Feng a GAO, Hua. A comprehensive review of small-molecule drugs for the treatment of type 2 diabetes mellitus: Synthetic approaches and clinical applications. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2024, **267**, 1-15.
38. GUPTA, Nomita; CHAUHAN, Kanchan; SINGH, Garima; CHAUDHARY, Shobhi a RATHORE, Jitendra Singh. Decoding antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa: Embracing innovative therapies beyond conventional antibiotics. *The Microbe*. 2025, **6**, 1-23.
39. HALAWA, Esraa M.; FADEL, Mohamed; AL-RABIA, Mohammed W.; BEHAIRY, Ali; NOUH, Nehal A. et al. Antibiotic action and resistance: updated review of mechanisms, spread, influencing factors, and alternative approaches for combating resistance. *Frontiers in Pharmacology*. 2024, **14**, 1-17.

40. HANSEN, Mathias H; STEGMANN, Evi a CRYLE, Max J. Beyond vancomycin: recent advances in the modification, reengineering, production and discovery of improved glycopeptide antibiotics to tackle multidrug-resistant bacteria. *Current Opinion in Biotechnology*. 2022, **77**, 1-10.
41. HE, Tianci; ZHOU, Beihai; CHEN, Huilun a YUAN, Rongfang. Degradation of organic chemicals in aqueous system through ferrate-based processes: A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2022, **10**(6), 1-19.
42. HO, Charlotte S; WONG, Carlos T H; AUNG, Thet Tun; LAKSHMINARAYANAN, Rajamani; MEHTA, Jodhbir S et al. Antimicrobial resistance: a concise update. *The Lancet Microbe*. 2025, **6**(1), 1-14.
43. HOSSAIN, Tanim Jabid. Methods for screening and evaluation of antimicrobial activity: A review of protocols, advantages, and limitations. *European Journal of Microbiology and Immunology*. 2024, **14**(2), 97-115.
44. HU, Jiahui; LI, Xiaoyan; LIU, Feifei; FU, Wenjie; LIN, Lin et al. Comparison of chemical and biological degradation of sulfonamides: Solving the mystery of sulfonamide transformation. *Journal of Hazardous Materials*. 2022, **424**, 1-15.
45. HUANG, Xiaoxuan; WEN, Donghui a WANG, Jianlong. Radiation-induced degradation of sulfonamide and quinolone antibiotics: A brief review. *Radiation Physics and Chemistry*. 2024, **215**, 1-8.
46. HUEMER, Markus; MAIRPADY SHAMBAT, Srikanth; BRUGGER, Silvio D a ZINKERNAGEL, Annelies S. Antibiotic resistance and persistence—Implications for human health and treatment perspectives. *EMBO reports*. 2020, **21**(12), 1-24.
47. HULANKOVA, Radka. Methods for Determination of Antimicrobial Activity of Essential Oils In Vitro—A Review. *Plants*. 2024, **13**(19), 1-23.
48. HUNG, Te-Yu; PHUONG, Linny K.; GROBLER, Anneke; TONG, Steven Y.C.; FREETH, Pippin et al. Antibiotics to eradicate *Streptococcus pyogenes* pharyngeal carriage in asymptomatic children and adults: A systematic review. *Journal of Infection*. 2024, **88**(3), 1-10.
49. HUTCHINGS, Matthew I; TRUMAN, Andrew W a WILKINSON, Barrie. Antibiotics: past, present and future. *Current Opinion in Microbiology*. 2019, **51**, 72-80.
50. CHEN, Heming; SU, Wei; LI, Tingting; WANG, Yun; LI, Zhuangyu et al. Recent advances in small molecule design strategies against hepatic fibrosis. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2025, **286**, 1-18.

51. CHUNG LEUNG, Gulice Yiu; RAMALINGAM, Balamurugan; LOH, Gabriel a CHEN, Anqi. Efficient and Practical Synthesis of Sulfonamides Utilizing SO₂ Gas Generated On Demand. *Organic Process Research & Development*. 2020, **24**(4), 546-554.
52. IHEAGWAM, Franklyn Nonso a IHEAGWAM, Olawumi Toyin. Diabetes mellitus: The pathophysiology as a canvas for management elucidation and strategies. *Medicine in Novel Technology and Devices*. 2025, **25**, 1-18.
53. IMÈNE, Becheke; AKRAM, Melakhessou Mohamed; EDDINE, Marref Salah; ISMAHENE, Grib; AMAROUAYACHE, Mounia et al. Antibacterial, Cytotoxic and Genotoxic Assessment of New Sulfonamide Derivatives. *Chemistry & Biodiversity*. 2023, **20**(9), 1-10.
54. IRSHAD, Iram; ALQAHTANI, Saleh A; IKEJIMA, Kenichi; YU, Ming-Lung; ROMERO-GOMEZ, Manuel et al. Energy metabolism: an emerging therapeutic frontier in liver fibrosis. *Annals of Hepatology*. 2025, 1-31.
55. JAYASHREE, B.S.; NIKHIL, P. Sai a PAUL, Soumyajeet. Bioisosterism in Drug Discovery and Development – An Overview. *Medicinal Chemistry*. 2022, **18**(9), 915-925.
56. JI, Jing; ZHU, Qing; YANG, Xinru a WANG, Cuiping. Review of biodegradation of sulfonamide antibiotics influenced by dissolved organic matter and iron oxides. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2023, **11**(5), 1-11.
57. KANAFIN, Yerkanat N.; ABDUVALOV, Alshyn; KAIKANOV, Marat; POULOPOULOS, Stavros G. a ATABAEV, Timur Sh. A review on WO₃ photocatalysis used for wastewater treatment and pesticide degradation. *Heliyon*. 2025, **11**(1), 1-22.
58. KAUR, Jaspreet a NOBILE, Clarissa J. Antifungal drug-resistance mechanisms in *Candida* biofilms. *Current Opinion in Microbiology*. 2023, **71**, 1-6.
59. KHAJOUEI, Golnoosh; FINKLEA, Harry O. a LIN, Lian-Shin. UV/chlorine advanced oxidation processes for degradation of contaminants in water and wastewater: A comprehensive review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2022, **10**(3), 1-18.
60. KRÁTKÝ, Martin; STOLARŽÍKOVÁ, Jiřina a VINŠOVÁ, Jarmila. Syntéza a antimikrobiální aktivita nových sulfonamidových derivátů. *Česká a slovenská farmacie*. 2015, **64**, 269-304.

61. KRÁTKÝ, Martin. Novel Sulfonamide Derivatives as a Tool to Combat Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus*. *Future Medicinal Chemistry*. 2024, **16**(6), 545-562.
62. KRAWCZYK, Szymon J.; LEŚNICZAK-STASZAK, Marta; GOWIN, Ewelina a SZAFIARSKI, Witold. Mechanistic Insights into Clinically Relevant Ribosome-Targeting Antibiotics. *Biomolecules*. 2024, **14**(10), 1-13.
63. KUMAR VERMA, Santosh; VERMA, Rameshwari; XUE, Fan; KUMAR THAKUR, Piyush; GIRISH, Y.R. et al. Antibacterial activities of sulfonyl or sulfonamide containing heterocyclic derivatives and its structure-activity relationships (SAR) studies: A critical review. *Bioorganic Chemistry*. 2020, **105**, 1-14.
64. LAWANI, Blessing Temitope; BAYODE, Michael Tosin; SADIBO, Muyideen Enitan; AWODIRE, Elizabeth Foluke; ARO, Olayemi Philemon et al. Antibiotic Resistance Microbes' (ARM) Mechanisms and Management: A Phytomedicinal Approach. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*. 2024, **94**(4), 697-704.
65. LEE, Wei-I; LAM, Lydia; BACCHI, Stephen; JIANG, Melinda; INGLIS, Joshua M. et al. Antibiotic prophylaxis in immunosuppressed patients – Missed opportunities from trimethoprim-sulfamethoxazole allergy label. *World Allergy Organization Journal*. 2024, **17**(1), 1-14.
66. LERMINIAUX, Nicole A. a CAMERON, Andrew D.S. Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in clinical environments. *Canadian Journal of Microbiology*. 2019, **65**(1), 34-44.
67. LHOTSKÁ, Alexandra. *Stanovení antimikrobiální aktivity vybraných sulfonamidových derivátů*. Diplomová práce, Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, 2024.
68. LI, Diandian; SU, Yuan; LI, Jie; LIU, Rong; FANG, Bing et al. Applications and Challenges of Bacteriostatic Aptamers in the Treatment of Common Pathogenic Bacteria Infections. *Biomacromolecules*. 2023, **24**(11), 4568-4586.
69. LI, Jingchen; ZHAO, Lin; FENG, Mingbao; HUANG, Ching-Hua a SUN, Peizhe. Abiotic transformation and ecotoxicity change of sulfonamide antibiotics in environmental and water treatment processes: A critical review. *Water Research*. 2021, **202**, 1-18.
70. LI, Juan; PENG, Xiangtian; ZENG, Ping; SHEN, Liang; LI, Mingyue et al. Removal of sulfonamides by persulfate-based advanced oxidation: A mini review. *Chemosphere*. 2025, **370**, 1-25.

71. LI, Kongyan; ZHONG, Wei; LI, Penghui; REN, Jianpeng; JIANG, Kangjie et al. Antibacterial mechanism of lignin and lignin-based antimicrobial materials in different fields. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023, **252**, 1-21.
72. LIANG, Xiaoxia; WU, Pan; YANG, Qian; XIE, Yunyu; HE, Changliang et al. An update of new small-molecule anticancer drugs approved from 2015 to 2020. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2021, **220**, 1-43.
73. LLUKA, Telmah a STOKES, Jonathan M. Antibiotic discovery in the artificial intelligence era. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2023, **1519**(1), 74-93.
74. LU, Zedong; LING, Yanchen; SUN, Wenjun; LIU, Chaoran; MAO, Ted et al. Antibiotics degradation by UV/chlor(am)ine advanced oxidation processes: A comprehensive review. *Environmental Pollution*. 2022, **308**, 1-15.
75. MAHDALLY, Norhan H; ELSHIEKH, Riham A; THISSERA, Bathini; ELTAHER, Ashraf; OSAMA, Aya et al. Dihydrophenazine Acinetobacter baumannii and restores carbapenem and oxidative stress susceptibilities: a multifunctional new weapon that kills multidrug-resistant Acinetobacter baumannii and restores carbapenem and oxidative stress susceptibilities. *Journal of Applied Microbiology*. 2024, **135**(5), 1-16.
76. MANCUSO, Giuseppe; MIDIRI, Angelina; GERACE, Elisabetta a BIONDO, Carmelo. Bacterial Antibiotic Resistance: The Most Critical Pathogens. *Pathogens*. 2021, **10**(10), 1-14.
77. MELO, Marcelo C. R.; MAASCH, Jacqueline R. M. A. a DE LA FUENTE-NUNEZ, Cesar. Accelerating antibiotic discovery through artificial intelligence. *Communications Biology*. 2021, **4**(1), 1-13.
78. MEŞELI, Tuğba; DOĞAN, Şengül Dilem; GÜNDÜZ, Miyase Gözde; KÖKBUDAK, Zülbiye; SKARO BOGOJEVIC, Sanja et al. Design, synthesis, antibacterial activity evaluation and molecular modeling studies of new sulfonamides containing a sulfathiazole moiety. *New Journal of Chemistry*. 2021, **45**(18), 8166-8177.
79. MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ ČESKÉ REPUBLIKY. *Ministerstvo zdravotnictví připomíná Světový den Parkinsonovy nemoci. Její léčba slaví již 20 let.* Ministerstvo zdravotnictví České republiky. 2018. Dostupné z: <https://mzd.gov.cz/tiskove-centrum-mz/ministerstvo-zdravotnictvi-pripomina-svetovy-den-parkinsonovy-nemoci-jeji-lecba-slavi-jiz-20-let/>.
80. MISHRA, Parnika; TRIPATHI, Gyanendra; MISHRA, Vaishnavi; ILYAS, Talat; IRUM et al. Antibiotic contamination in wastewater treatment plant effluents: Current

- research and future perspectives. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*. 2025, **23**, 1-17.
81. MONDAL, Shovan a MALAKAR, Suniti. Synthesis of sulfonamide and their synthetic and therapeutic applications: Recent advances. *Tetrahedron*. 2020, **76**(48), 1-28.
 82. MORAES, Dunya Mara Cardoso; ALMEIDA, Ana Maria De Souza; ANDRADE, Maria Auxiliadora; NASCENTE, Eduardo de Paula; DUARTE, Sabrina Castilho et al. Antibiotic Resistance Profile of Salmonella sp. Isolates from Commercial Laying Hen Farms in Central-Western Brazil. *Microorganisms*. 2024, **12**(4), 1-15.
 83. NGUYEN, Thi Anh; KIM, Hannah Yejin; STOCKER, Sophie; KIDD, Sarah; ALASTRUEY-IZQUIERDO, Ana et al. *Pichia kudriavzevii* (Candida krusei): A systematic review to inform the World Health Organisation priority list of fungal pathogens. *Medical Mycology*. 2024, **62**(6), 1-18.
 84. NOR AMDAN, Nur Asyura; SHAHRULZAMRI, Nur Atikah; HASHIM, Rohaidah a MOHAMAD JAMIL, Norashirene. Understanding the evolution of macrolides resistance: A mini review. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2024, **38**, 368-375.
 85. NUNES, Olga C.; MANAIA, Célia M.; KOLVENBACH, Boris A. a CORVINI, Philippe F.-X. Living with sulfonamides: a diverse range of mechanisms observed in bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2020, **104**(24), 10389-10408.
 86. OLAWADE, David B.; FAPOHUNDA, Oluwaseun; EGBON, Eghosasere; EBIESUWA, Oladipo A.; USMAN, Sunday Oluwadamilola et al. Phage therapy: A targeted approach to overcoming antibiotic resistance. *Microbial Pathogenesis*. 2024, **197**, 1-13.
 87. OLIVER, Antonio; ROJO-MOLINERO, Estrella; ARCA-SUAREZ, Jorge; BEŞLI, Yeşim; BOGAERTS, Pierre et al. *Pseudomonas aeruginosa* antimicrobial susceptibility profiles, resistance mechanisms and international clonal lineages: update from ESGARS-ESCMID/ISARPAE Group. *Clinical Microbiology and Infection*. 2024, **30**(4), 469-480.
 88. OSTRÝ, Vladimír a KÝROVÁ, Veronika. Příběh jedné plísně – „*Penicillium notatum*“ a objev penicilinu. Státní zdravotní ústav. 2019, 1-6. Dostupné z: https://archiv.szu.cz/uploads/CZVP/Penicillium_notatum_a_penicilin_90_let_vyroci.pdf.
 89. OTTOSEN, Cecilie F.; BJERG, Poul L.; KÜMMEL, Steffen; RICHNOW, Hans H.; MIDDELDORP, Peter et al. Natural attenuation of sulfonamides and metabolites in

- contaminated groundwater – Review, advantages and challenges of current documentation techniques. *Water Research*. 2024, **254**, 1-17.
90. PASSERINI, Matteo; NAYFEH, Tarek; YETMAR, Zachary A.; COUSSEMENT, Julien; GOODLET, Kellie J. et al. Trimethoprim-sulfamethoxazole significantly reduces the risk of nocardiosis in solid organ transplant recipients: systematic review and individual patient data meta-analysis. *Clinical Microbiology and Infection*. 2024, **30**(2), 170-177.
91. PEDERSEN, Ole Skouvig; RUDOLF, Frauke; JOHANSEN, Isik Somuncu; ANDERSEN, Åse Bengård; LILLEBÆK, Troels et al. Drug-resistant tuberculosis is a global cause of concern. *Ugeskrift for Læger*. 2024, 1-8.
92. PERVAIZ, Muhammad; RIAZ, Aqsa; MUNIR, Anfal; SAEED, Zohaib; HUSSAIN, Shah et al. Synthesis and characterization of sulfonamide metal complexes as antimicrobial agents. *Journal of Molecular Structure*. 2020, **1202**, 1-9.
93. Preparation of inoculum. *EUCAST Disk Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing*. Version 13.0. EUCAST, 2025, 8. Dostupné z: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/2025_manuals/Manual_v_13.0_EUCAST_Disk_Test_2025.pdf.
94. RAFEI, Rayane; AL IAALI, Rayane; OSMAN, Marwan; DABBOUSSI, Fouad a HAMZE, Monzer. A global snapshot on the prevalent macrolide-resistant emm types of Group A Streptococcus worldwide, their phenotypes and their resistance marker genotypes during the last two decades: A systematic review. *Infection, Genetics and Evolution*. 2022, **99**, 1-15.
95. RANA, S.; KUMAR, A.; DHIMAN, P.; MOLA, G.T.; SHARMA, G. et al. Recent advances in photocatalytic removal of sulfonamide pollutants from waste water by semiconductor heterojunctions: a review. *Materials Today Chemistry*. 2023, **30**, 1-27.
96. REISSIER, Sophie; PENVEN, Malo; GUÉRIN, François a CATTOIR, Vincent. Recent Trends in Antimicrobial Resistance among Anaerobic Clinical Isolates. *Microorganisms*. 2023, **11**(6), 1-19.
97. RIVERA, Alba; VIÑADO, Belén; BENITO, Natividad; DOCOBO-PÉREZ, Fernando; FERNÁNDEZ-CUENCA, Felipe et al. Recommendations of the Spanish Antibiogram Committee (COESANT) for in vitro susceptibility testing of antimicrobial agents by disk diffusion. *Enfermedades infecciosas y microbiología clinica (English ed.)*. 2023, **41**(9), 571-576.

98. RODRÍGUEZ-SANTIAGO, J.; CORNEJO-JUÁREZ, P.; SILVA-SÁNCHEZ, J. a GARZA-RAMOS, U. Polymyxin resistance in Enterobacterales: overview and epidemiology in the Americas. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2021, **58**(5), 1-25.
99. RONG, Mingcong; HUANG, Yi; LIN, Chunxiao; LAI, Limin; WU, Yanfang et al. Recent advances in optical sensing for tetracycline antibiotics. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2024, **178**, 1-27.
100. SANCHEZ ARMENGOL, Eva; HARMANCI, Melisa a LAFFLEUR, Flavia. Current strategies to determine antifungal and antimicrobial activity of natural compounds. *Microbiological Research*. 2021, **252**, 1-12.
101. SHAH, Assar Ali; ALWASHMI, Ameen S.S.; ABALKHAIL, Adil a ALKAHTANI, Abdullah M. Emerging challenges in Klebsiella pneumoniae: Antimicrobial resistance and novel approach. *Microbial Pathogenesis*. 2025, **202**, 1-11. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2025.107399>
102. SHANTAL, Castrejón-Jiménez Nayeli; JUAN, Castillo-Cruz; LIZBETH, Baltierra-Uribe Shantal; CARLOS, Hernández-González Juan a ESTELA, García-Pérez Blanca. Candida glabrata is a successful pathogen: An artist manipulating the immune response. *Microbiological Research*. 2022, **260**, 1-14.
103. SHAO, Binbin; SHEN, Leyuan; LIU, Zhifeng; TANG, Lin; TAN, Xiaofei et al. Disinfection byproducts formation from emerging organic micropollutants during chlorine-based disinfection processes. *Chemical Engineering Journal*. 2023, **455**, 1-23.
104. SHI, Jianhong; SUN, Chaoli; AN, Tingxuan; JIANG, Changhai; MEI, Shenglong et al. Unraveling the effect of micro/nanoplastics on the occurrence and horizontal transfer of environmental antibiotic resistance genes: Advances, mechanisms and future prospects. *Science of The Total Environment*. 2024, **947**, 1-13.
105. SCHUMACHER, A.; VRANKEN, T.; MALHOTRA, A.; ARTS, J. J. C. a HABIBOVIC, P. In vitro antimicrobial susceptibility testing methods: agar dilution to 3D tissue-engineered models. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2018, **37**(2), 187-208.
106. SIBALI, Asenathi; MOKHOTHU, Thabang Hendrica; MOHOMANE, Samson Masulubanye; PAKADE, Vusumzi Emmanuel; CHOKWE, Ramakwala Christinah et al. Applications of molecularly imprinted titania-based photocatalysis for degradation of pharmaceutical pollutants in the aqueous environment. *Journal of Hazardous Materials Advances*. 2024, **16**, 1-11.

107. SINGH, Komal; KHARE, Manish; KHARE, Ashish a KOHLI, Neena. Review on computational methods for the detection and classification of Parkinson's Disease. *Computers in Biology and Medicine*. 2025, **187**, 1-25.
108. SONG, Chuang a KAZEMI, Mosstafa, 2024. Based on magnetically recoverable catalysts: a green strategy to sulfonamides. *Molecular Diversity*. 2024, 1-30.
109. SPAGNOLO, Fabrizio; TRUJILLO, Monica; DENNEHY, John J.; LOPATKIN, BARNARD COLLEGE, Allison a YOUNT, Jacob. Why Do Antibiotics Exist? *MBio*. 2021, **12**(6), 1-15.
110. SÚKL. *Seznam léčivých látek vydaný Státním ústavem pro kontrolu léčiv dne 30.5.2024*. Celní správa ČR. 2024, 1-6. Dostupné z: <https://celnisprava.gov.cz/cz/dalsi-kompetence/ochrana-spolecnosti-a-zivotniho-prostredi/Documents/Seznam%20l%C3%A9%20C4%8Div%C3%BDch%20l%C3%A1tek%20ze%20dne%2030.5.2024.pdf>.
111. *Sulfacetamid*. DrugBank. 2025. Dostupné z: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00634>.
112. *Sulfamethoxazol*. DrugBank. 2025. Dostupné z: <https://go.drugbank.com/drugs/DB01015>.
113. *Sulfanilamide*. PubChem. 2025. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/sulfanilamide>.
114. *Sulfasalazine*. PubChem. 2025. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sulfasalazine>.
115. TABREZ, Shams; R. JABIR, Nasimudeen; SHAKIL, Shazi; H. GREIG, Nigel; ALAM, Qamre et al. A Synopsis on the Role of Tyrosine Hydroxylase in Parkinson's Disease. *CNS & Neurological Disorders – Drug Targets*. 2012, **11**(4), 395-409.
116. TANG, Kai a ZHAO, Heng. Quinolone Antibiotics: Resistance and Therapy. *Infection and Drug Resistance*. 2023, **16**, 811-820.
117. TASSO, Camilla Olga; FERRISSE, Túlio Morandin; DE OLIVEIRA, Analú Barros; RIBAS, Beatriz Ribeiro a JORGE, Janaina Habib. Candida species as potential risk factors for oral squamous cell carcinoma: Systematic review and meta-analysis. *Cancer Epidemiology*. 2023, **86**, 1-9.
118. TERAN PLASENCIA, Juan a ASHRAF, Muhammad Salman. Management of Bacteriuria and Urinary Tract Infections in the Older Adult. *Urologic Clinics of North America*. 2024, **51**(4), 585-594.
119. THE NOBEL PRIZE. *Gerhard Domagk - Facts*. The Nobel Prize. b.r. Dostupné z: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1939/domagk/facts/>

120. *Trimethoprim*. DrugBank. 2025. Dostupné z: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00440>.
121. UDDIN, Tanvir Mahtab; CHAKRABORTY, Arka Jyoti; KHUSRO, Ameer; ZIDAN, BM Redwan Matin; MITRA, Saikat et al. Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *Journal of Infection and Public Health*. 2021, **14**(12), 1750-1766.
122. VAEZ, Hamid; KALARESTAGHI, Hossein; SAHEBKAR, Amirhossein a KHADEMI, Farzad. Prevalence of antibiotic resistance of *Proteus* species in urinary tract infections in Iran: A systematic review and meta-analysis. *Gene Reports*. 2022, **27**, 1-8.
123. VAŘEKOVÁ, Denisa. [Jaké jsou výhody a nevýhody diluční metody oproti difúzní metodě?]. ChatGPT. GPT-4 Tubro, 3. 1. 2025.
124. WADA, Ojima Zechariah a OLAWADE, David Bamidele. Recent occurrence of pharmaceuticals in freshwater, emerging treatment technologies, and future considerations: A review. *Chemosphere*. 2025, **374**, 1-27. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2025.144153>.
125. WADA, Yusuf; AFOLABI, Hafeez A.; AL-MHANNA, Sameer Badri; BELLO, Kizito Eneyi; IREKEOLA, Adebayo Ahmed et al. Global occurrence of linezolid-resistant *Enterococcus* (LRE): The first systematic review and meta-analysis. *The Microbe*. 2024, **2**, 1-15.
126. WAINWRIGHT, Mark a KRISTIENSEN, Jette E. On the 75th anniversary of Prontosil. Online. *Dyes and Pigments*. 2011, **88**(3), 231-234.
127. WAN, Yichao; FANG, Guoqing; CHEN, Hongjuan; DENG, Xu a TANG, Zilong. Sulfonamide derivatives as potential anti-cancer agents and their SARs elucidation. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2021, **226**, 1-21.
128. WANG, Zhu; LI, Ying; WANG, Jie a LI, Si. Tetracycline antibiotics in agricultural soil: Dissipation kinetics, transformation pathways, and structure-related toxicity. *Science of The Total Environment*. 2024, **949**, 1-12.
129. ZAIDI, Sani-e-Zehra; ZAHEER, Rahat; ZOVOILIS, Athanasios a MCALLISTER, Tim A. Enterococci as a One Health indicator of antimicrobial resistance. *Canadian Journal of Microbiology*. 2024, **70**(8), 303-335.
130. ZANGO, Zakariyya Uba; KHOO, Kuan Shiong; GARBA, Abdurrahman; LAWAL, Muhammad Abubakar; ABIDIN, Asmaa' Zainal et al. A review on carbon-based biowaste and organic polymer materials for sustainable treatment of sulfonamides

- from pharmaceutical wastewater. *Environmental Geochemistry and Health*. 2024, **46**(4), 1-51.
131. ZAREI-BAYGI, Ali a SMITH, Adam L. Intracellular versus extracellular antibiotic resistance genes in the environment: Prevalence, horizontal transfer, and mitigation strategies. *Bioresource Technology*. 2021, **319**, 1-15.
132. ZASHEVA, Anelia; BATCHEVA, Elina; IVANOVA, Kremena Dimitrova a YANAKIEVA, Antoniya. Differences in Patient Access to Newly Approved Antibacterial Drugs in EU/EEA Countries. *Antibiotics*. 2024, **13**(11), 1-13.
133. ZHAO, Lijun; LIU, Shijie; LI, Miaoyun; LEE, Jong-Hoon; ZHU, Yaodi et al. Bibliometric Analysis of Probiotic Bacillus in Food Science: Evolution of Research Trends and Systematic Evaluation. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 2025, 1-21.
134. ZHUANG, Lin-Lan; QIAN, Weiyi; WANG, Xiaoxiong; WANG, Tong a ZHANG, Jian. General performance, kinetic modification, and key regulating factor recognition of microalgae-based sulfonamide removal. *Journal of Hazardous Materials*. 2024, **475**, 1-14.

ZDROJE OBRÁZKŮ, TABULEK A GRAFŮ

1. Alexander Fleming's Contamination Petri dish. Microbiology society. 2014. Dostupné z: https://microbiologysociety.org/resource_library/knowledge-search/schoolzone-war-infections-and-the-advent-of-antibiotics.html. [cit. 2024-11-17].
2. CORREA, Matías Guerrero; MARTÍNEZ, Fernanda B a PATIÑO VIDAL, Cristian et al. *Vyhodnocení metody ředění agaru*. Sciencedirect. 2020. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/org/science/article/pii/S2190428620001355#F2>. [cit. 2025-01-18].
3. DARBY, Elizabeth M.; TRAMPARI, Eleftheria a SIASAT, Pauline et al. *Přehled molekulárních mechanismů antibiotické rezistence*. Nature reviews microbiology. 2022. Dostupné z: <https://www.nature.com/articles/s41579-022-00820-y?fromPaywallRec=false/>. [cit. 2025-01-18].
4. FEßLER, Andrea T.; WANG, Yang a BURBICK, Claire R. et al. *Makrodiluční bujónová metoda*. BioMed Central. 2023. Dostupné z: <https://onehealthadv.biomedcentral.com/articles/10.1186/s44280-023-00024-w>. [cit. 2025-01-18].
5. LEWIS, Kim. *Časová osa objevování antibiotik*. Sciencedirect. 2020. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867420302336>. [cit. 2025-01-18].
6. LIANG, Chenglin; WU, Rendun a HAN, Yu et al. *Disková difúzní metoda*. Nature reviews microbiology. 2019. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2223-7747/8/3/66>. [cit. 2025-01-18].
7. MOHAMMED, Salim Jasim; AL-HADEDI, Azzam a ABOOD, Salih. *Prontosilová cesta*. ResearchGate. 2022. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/363865508_The_Role_of_Sulfa_Drugs_in_our_Life. [cit. 2025-03-26].
8. PURI, Bipin; VAISHYA, Raju a VAISH, Abhishek. *Globální distribuce událostí vzniku AMR*. Sciencedirect. 2020. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0377123724001321>. [cit. 2025-01-18].
9. RELLER, L. Barth; WEINSTEIN, Melvin; JORGENSEN, James H. a FERRARO, Mary Jane. *Stanovení MIC metodou E-test Staphylococcus aureus na vankomycin (VA), daptomycin (DM) a linezolid (LZ) na M-H agaru*. Oxford Academic. 2009. Dostupné z: <https://academic.oup.com/cid/article/49/11/1749/34438>. [cit. 2025-01-18].

10. WALESCH, Sebastian; BIRKELBACH, Joy a JÉZÉQUEL, Gwenaëlle et al. *Stanovení priority patogenů dle WHO*. National Library of Medicine. 2022. Dostupné z: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9827564/>. [cit. 2025-01-18].
11. YADAV, Shivani; SHAH, Dhruvi; DALAI, Parmeswar a AGRAWAL-RAJPUT, Reena. The tale of antibiotics beyond antimicrobials: Expanding horizons. *Cytokine*. 2023,**169**, 1-8. [cit. 2025-03-26].