

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Ekologická a evoluční biologie



Alena Besedová

Sekundární metabolity hub s antivirotickou aktivitou
Fungal secondary metabolites with antiviral activity

Bakalářská práce

Vedoucí závěrečné práce: Mgr. Adéla Čmoková

Praha 2021

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 11. 8. 2021

.....

Alena Besedová

Poděkování

Chtěla bych poděkovat své školitelce Mgr. Adéle Čmokové za rady a podporu při psaní mé bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat svému manželovi za trpělivost, s jakou mě podporoval ve studiu i v osobním životě, studijnímu oddělení Přírodovědecké fakulty UK za trpělivost při řešení všech problémů, které mě během psaní této bakalářské práce a mého studia potkaly. A také mé rodině, přátelům a všem ostatním, kteří věřili, že práci zdárně dokončím.

Abstrakt

Uplynulý rok 2020 jasně ukázal, jak rychle mohou některé virové infekce dosáhnout pandemických rozměrů. Je tedy stále potřeba objevovat nové látky s antivirotickou aktivitou. Takovéto látky (např. asteltoxin E, cytosporaquinon B) byly v minulosti objeveny u několika skupin hub, nicméně jejich potencionál jako zdroj virostatických chemoterapeutik není příliš prozkoumán. O možném využití hub jako zdroje látek s antivirotickou aktivitou vypovídá i použití některých druhů (např. *Ganoderma linghzi*, *Lentinula edoles*), při zmírnění nebo prevenci virotických onemocnění v lidové medicíně. Ve většině případů se však nepodařilo najít látky za tento účinek zodpovědné. Ve své bakalářské práci se proto budu nejprve zabývat rozborem hub tradičně využívaných při onemocněních virovými infekcemi v lidové medicíně. Dále shrnu nejvýznamější houbové látky, u kterých byla prokázala antivirotická aktivita. Bakalářská práce tak přinese ucelený přehled současně známých sekundárních metabolitů hub a jejich virostatických účinků. Informace shrnuté v práci tak mohou ukázat na možné kandidáty v boji proti virovým infekcím.

Klíčová slova: sekundární metabolity, houby, biologicky aktivní látky, antivirotika, antivirální aktivita

Abstract

The past year 2020 has clearly shown how quickly some viral infections can reach pandemic proportions. Thus, there is still a need to discover new substances with antiviral activity. Such substances (eg. asteltoxin E, cytosporaquinone B) have been discovered in the past in several groups of fungi, however, their potential as a source of virostatic chemotherapeutics has not been much explored. The possible use of fungi as a source of substances with antiviral activity is also indicated by the use of some species (eg. *Ganoderma linghzi*, *Lentinula edoles*) in the alleviation or prevention of viral diseases in traditional medicine. In most cases, however, it was not possible to find substances responsible for this effect. Therefore, in my bachelor's thesis I will first analyse kinds of fungi traditionally used as treatment of viral infections in traditional medicine. I will also summarize the most important fungal substances for which antiviral activity has been demonstrated. The bachelor's thesis will provide a comprehensive overview of currently known secondary metabolites of fungi and their virostatic effects. The information summarized in the work may point to possible candidates in the fight against viral infections.

Key words: Secondary metabolites, fungi, biologically active substances, antivirals, antiviral activity

Obsah

1	Úvod.....	6
2	Významné virové pandemie.....	7
2.1	Pandemie španělské chřipky (1918-1920).....	7
2.2	Pandemie asijské chřipky (1957-1958).....	8
2.3	Pandemie hongkongské chřipky (1968-1969).....	8
2.4	Pandemie mexické prasečí chřipky (2009-2010).....	9
2.5	Pandemie SARS-CoV-2 (2019 – současnost).....	9
3	Houby tradičně používané při onemocněních způsobených viry v lidové medicíně.....	10
3.1	<i>Ophiocordyceps sinensis</i> (<i>Cordyceps sinensis</i>).....	11
3.2	<i>Ganoderma</i>	11
3.3	<i>Grifola frondosa</i>	12
3.4	<i>Lentinula edodes</i>	13
3.5	<i>Wolfiporia cocos</i>	14
3.6	<i>Xylaria nigripes</i>	16
4	Sekundární metabolity hub s antivirotickou aktivitou.....	17
4.1	Antivirotika a antivirotický aktivní sekundární metabolity.....	18
4.1.1	Sekundární metabolity hub inhibující virus HIV.....	19
4.1.2	Sekundární metabolity hub inhibující virus chřipky.....	21
4.1.3	Sekundární metabolity hub inhibující herpes simplex virus (HSV).....	22
4.1.4	Sekundární metabolity hub inhibující viry hepatitid.....	23
5	Závěr.....	25
6	Seznam použité literatury.....	26

1 Úvod

V důsledku narůstající populační hustoty a globalizace planety způsobují virové infekce u lidí a hospodářských zvířat epidemie čím dál častěji přerůstající do pandemického charakteru. Mezi nejvýznamnější virové pandemie, které zásadně ovlivnily svět a zapříčinily tisíce úmrtí, patří například pandemie španělské chřipky, asijské chřipky, hongkongské chřipky či současná pandemie SARS-CoV-2.

Objevem antibiotik si dnešní medicína dokázala poradit s většinou bakteriálních infekcí, přestože mnohé bakterie získaly v průběhu let k těmto baktericidním látkám rezistenci. Antibiotika vyvinutá z houbových metabolitů, jako je β -laktam, léčivo snižující hladinu cholesterolu v krvi, lovastatin a penicilin, mají rozmanité biotechnologické aplikace ve farmaceutickém průmyslu a v oblasti medicíny (Devi et al., 2020). Metody jako fágová terapie nám ale dávají naději, že bakteriální infekce budeme snadno léčit i bez funkčních antibiotik. Takovou jistotu však v případě virů nemáme.

Ačkoliv moderní medicína dokázala vyvinout také vakcíny a léčiva proti mnohým typům virů, zůstávají viry (díky své nesmírné variabilitě) zdrojem možných závažných infekcí. Z tohoto důvodu je nezbytné nadále pokračovat ve výzkumu a vývoji látek s virostatickými účinky.

Sekundární metabolity hub nebo jejich části se jeví jako vhodný potenciální zdroj směřování studia virostatických látek s potenciálním využitím v antivirové chemoterapii (K. Hyde et al., 2019). U mnoha skupin hub byla objevena produkce široké škály sekundárních metabolitů, jako jsou pigmenty, antibiotika, vitamíny, aminokyseliny a organické sloučeniny, vyznačující se významnými biologickými aktivitami, jako jsou protiplísňové, protizánětlivé, antioxidační, antimikrobiální a protirakovinné (Devi et al., 2020). Bylo objeveno mnoho skupin hub vykazujících silnou inhibiční aktivitu proti lidským patogenním virům (např. HIV – human immunodeficiency virus; virus chřipky, HSV – herpes simplex virus, viry hepatitid, enterovirus-71, RSV – respiratory syncytial virus a další) (K. Hyde et al., 2019).

Nicméně jen pouze malé množství léčiv vyvinutých z hub se dostalo na trh.

2 Významné virové pandemie

V lékařských a sociálních kruzích se termíny epidemie a pandemie začaly užívat v 17. – 18. století, nejednalo se však o pojmy s jasnou a vymezenou definicí. Přesnější definice se začaly používat počátkem 19. století. Prvním celosvětově dlouhodobě podrobně popsaným šířením infekční choroby v tisku byla pandemie cholery v letech 1831–1832, která se postupně prostřednictvím obchodních cest šířila z Asie do Evropy (Morens, Folkers, & Fauci, 2009).

Přestože neexistuje jediná zcela akceptovaná definice pandemie, její základní rysy jsou jasně vymezeny. Pandemií nazýváme epidemii velkého rozsahu, která se šíří přes velké geografické oblasti (Morens et al., 2009). Jedná se o stav, kdy během určitého časového období dojde k navýšení výskytu incidence onemocnění a k následnému globálnímu rozšíření (Michaelis, Doerr, & Cinatl, 2009).

V historii lidstva došlo k několika významným virovým pandemiím, které představím v následující části své práce, a uvedu základní rysy infekce a užitou léčbu.

2.1 Pandemie španělské chřipky (1918-1920)

První zmínky o nově se šířící nemoci způsobené virem chřipky A subtypem H1N1 se začaly objevovat na jaře roku 1918 (Flecknoe, Charles Wakefield, & Simmons, 2018). V březnu 1918 došlo k prvnímu výraznému propuknutí nemoci v USA v armádním výcvikovém táboře. Vzhledem k probíhajícímu válečnému konfliktu se nemoc rychle šířila na frontách a v místech s vysokou koncentrací vojsk (Taubenberger & Morens, 2006).

Fyziologické projevy obvykle u pacientů trvaly sedm dní a zahrnovaly vysokou horečku doprovázenou zimnicí a třesem, slabost, nevolnost, ztrátu chuti k jídlu, faryngitidu, kašel a oči podlité krví. Po počátečním nástupu příznaků došlo u některých pacientů ke krátkodobému zotavení a návratu do normálního zdravotního stavu, po něm však následovalo agresivní zhoršení nemoci až smrt (Baroni et al., 2021). Virus působil zejména katastrofální poškození plic a dýchacích cest, u obětí docházelo ke zhoršení příznaků a přehnané reakci imunitního systému. Nakažení poté umírali vlivem přidružených bakteriálních infekcí (Morens, Taubenberger, Harvey, & Memoli, 2010).

Španělská chřipka byla donedávna považována za nejsmrtelnější virovou pandemii, počet obětí je odhadován na 1 až 5 % tehdejší populace, což odpovídá 50-100 milionům obětí (Taubenberger & Morens, 2006). Věkový průměr obětí byl mezi 20 až 40 lety (Crosby, 1976).

2.2 Pandemie asijské chřipky (1957-1958)

Virus asijské chřipky se poprvé objevil v provincii Jün-nan v Číně v únoru roku 1957 (Pyle & Patterson, 1984). Během následujících měsíců došlo k jeho rozšíření v oblasti Hongkongu, Singapuru, Tchaj-wanu a Japonska (Fukumi, 1959). Přibližně za šest měsíců zasáhl virus celou planetu. K šíření viru docházelo zejména po moři (Pyle, 1986).

U pacientů se objevovaly příznaky typické pro chřipková onemocnění. První syndromy se projevily nedlouho po nakažení. Pacienti trpěli třesem nohou, zimnicí, bolestí v krku, rýmou, kašlem a vysokou horečkou. U malých dětí, převážně u chlapců, se objevovalo krvácení z nosu (Jackson, 2009). Léčba zahrnovala klid na lůžku, jednoduchá antipyretická opatření, někteří lékaři předepisovali antibiotika, která však neměla žádoucí efekt (Jackson, 2009).

Bylo prokázáno, že virus asijské chřipky byl způsoben virem chřipky A i B (Fukumi, 1959). K jeho izolování došlo v květnu roku 1957, vakcína byla poprvé vyrobena v listopadu 1957 a o měsíc později bylo zahájeno očkování, které postupně vedlo k potlačení pandemie (Fukumi, 1959). Počet obětí je odhadován na 800 tisíc až 1,5 milionů lidí (Potter, 2001).

2.3 Pandemie hongkongské chřipky (1968-1969)

V červenci roku 1968 došlo v Hongkongu ke vzniku ohniska epidemie kmene chřipkového viru A, subtypu H3N2. Počátkem roku 1969 se již virus rozšířil celosvětově (Rogers, 2020).

Mezi typické příznaky onemocnění patřily převážně dýchací obtíže, horečka a svalové bolesti. Většina pacientů měla pouze klinicky mírný a nekomplikovaný průběh bez nutnosti hospitalizace s mediánem nemoci 5 dní. U těžkých případů byla hospitalizace spojená převážně se zápallem plic, bronchitidou a dalšími sekundárními bakteriálními infekcemi (Jester, Uyeki, & Jernigan, 2020).

Lékařské pokroky v 60. letech, především nástup antivirotik a rozšíření možností očkování proti chřipce, umožnily rychlejší potlačení pandemie. Amantadin byl schválen pro chemoprophylaxi infekce virem chřipky A roku 1966. Během pandemie se naskytl první velká

příležitost posoudit jeho účinek. Klinické nálezy u některých pacientů ukázaly, že amantadin byl účinný při snižování závažnosti a trvání onemocnění v případě, že byl podán do 48 hodin od prvních příznaků (Jester et al., 2020).

Počet obětí je odhadován na 1 – 4 miliony lidí (Rogers, 2020). Nižší úmrtnost, přestože se virus velmi rychle šířil, byla způsobena částečnou imunitou získanou během pandemie asijské chřipky (1957-1958) (Viboud, Grais, Lafont, Miller, & Simonsen, 2005).

2.4 Pandemie mexické prasečí chřipky (2009-2010)

První případy mexické prasečí chřipky, způsobené virem chřipky A subtypu H1N1, byly zaznamenány v Mexiku v březnu roku 2009 (Butler, 2009). Původně se jednalo o prasečí chřipkové onemocnění, které se přeneslo na člověka a následně se virus začal přenášet mezi lidmi (Michaelis et al., 2009).

U většiny pacientů byly pozorovány převážně mírné symptomy typické pro běžná chřipková onemocnění, např. zvýšená teplota, průjem, dýchací obtíže (Michaelis et al., 2009). Pacientům byly podávány antivirotika, zejména pokud spadali do rizikových skupin (těhotné, děti do dvou let nebo pacienti trpící jinými přidruženými závažnými onemocněními) (Zarocostas, 2009).

V souvislosti s nákazou mexickou prasečí chřipkou bylo celosvětově evidováno 700 milionů až 1,4 miliardy nakažených (Roos, 2011), z toho bylo potvrzeno 284 tisíc obětí (Control & Prevention, 2011).

2.5 Pandemie SARS-CoV-2 (2019 – současnost)

COVID-19 (SARS-CoV-2) byl poprvé potvrzen koncem roku 2019 v oblasti Wu-chan v Číně (Ciotti et al., 2020). Jedná se o onemocnění způsobené novým typem koronaviru s nejasným původem (Ciotti et al., 2020).

Mezi typické příznaky patří horečka, kašel, dušnost a problémy gastrointestinálního charakteru jako jsou průjem, zvracení či bolesti břicha (D. Wang et al., 2020). Pacienti mohou trpět mírným až závažným průběhem nemoci, v populaci je však také velké procento bezpříznakových přenašečů (Ciotti et al., 2020). K přenosu viru dochází skrze kapénky, vzdušným přenosem, nakazit se je možné také z kontaminovaných povrchů (Ciotti et al., 2020).

Mezi doporučená preventivní opatření patří nošení roušek a respirátorů, dodržování rozestupů a důsledná dezinfekce rukou, tato preventivní opatření brání přenosu infikovaných kapének (Ciotti et al., 2020). Léčebný postup je stanovován na základě stavu pacienta. U asymptomatických pacientů je na pacienta uvalena pouze karanténa (N. Zhu et al., 2020), u mírného průběhu nemoci je dále doporučována léčba konvenčními léčebnými prostředky na chřipkovou onemocnění na bázi paracetamolu, ibuprofenu, podpora imunitního systému kombinací vitamínu C a D (SZÚ, 2020), u závažných případů by měli být pacienti neprodleně hospitalizováni a monitorováni (Organization, 2020).

Ke 14. březnu 2021 je evidováno přes 119 700 000 nakažených, z toho 2 651 754 potvrzených úmrtí (University, 2021).

3 Houby tradičně používané při onemocněních způsobených viry v lidové medicíně

Tradiční lidová medicína je jedním z nejstarších léčebných postupů. Jedná se nevědecký medicínský léčebný systém založený na směsi teorie a praxe. Mnohdy zastává ideologie, které do značné míry ignorují biologické mechanismy a poznatky moderní vědy. Spoléhá se zejména na osvědčené dávné praktiky (Angell & Kassirer, 1998). Využívá přírodních léčebných prostředků jako jsou byliny, houby či minerály (Angell & Kassirer, 1998), ale také například akupunkturu, masáže a tělesná cvičení (Tang, Liu, & Ma, 2008). Konvenční léky bývají vnímány negativně jako toxické a méně účinné (Angell & Kassirer, 1998). Nejběžněji užívanou formou tradiční medicíny je bylinná medicína. Mezi významné terapeutické objevy tradiční medicíny s prokázanou účinností patří například použití máku setého na bolest, kašel nebo průjem (Brody, 1998).

Houby užívané v tradiční medicíně jsou zejména makrofágní, často prodávané na lokálních tržišťích (K. D. Hyde et al., 2019). Tradičně jsou těmto houbách připisovány zejména antibakteriální a protirakovinné účinky, užívají se také k léčbě diabetu, alergií, snižují krevní tlak nebo cukr (K. D. Hyde et al., 2019). Mezi houbami užívanými v tradiční medicíně existují také druhy užívané k léčbě virových onemocnění (K. D. Hyde et al., 2019).

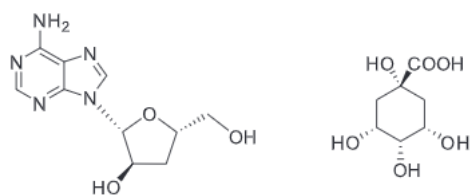
Specifické složky hub užívaných v tradiční medicíně mohou vykazovat různé biologické aktivity a vědecká zhodnocení těchto složek mohou ověřit tradiční použití a poskytnout vodítka

pro objevování a vývoj nových léčiv. Každodenní používání přírodních doplňků stravy se navíc celosvětově rychle zvyšuje a jejich popularita stoupá (Lee et al., 2012).

3.1 *Ophiocordyceps sinensis* (*Cordyceps sinensis*)

Ophiocordyceps sinensis, původně nazývaný *Cordyceps sinensis*, je druh entomoparazitické houby parazitující na larvách hmyzu (Xiang et al., 2014). Přirozeně se vyskytuje v Tibetu, Nepálu a Bhútánu v nadmořských výškách přes 3000 - 5000 metrů (Xiang et al., 2014). V tradiční medicíně se používá k léčbě onemocnění respiračních (kašle, astmatu, bronchitidy, zánětu plic apod.) a renálních (J.-S. Zhu, Halpern, & Jones, 1998a). Získání houby přirozenou cestou je obtížné vzhledem k jejímu životnímu cyklu a růstu ve specifických nadmořských výškách. K izolaci kmene (Cs-4) vhodného pro průmyslovou výrobu došlo v roce 1982 (J.-S. Zhu, Halpern, & Jones, 1998b).

Farmakologicky aktivní složky *O. sinensis* nebyly plně objasněny, avšak došlo k identifikaci dvou hlavních bioaktivních složek – cordycepinu (derivát adenosinu) a kyseliny cordycepsové (D-mannitol) (Lee et al., 2012) (Obr.1). Jedním z nejzajímavějších farmakologických účinků je vliv na respirační trakt spojený se zlepšením pulmonálních funkcí (vyšší sekrece). Tento vliv byl pozorován v rámci preklinických studií na myších a krysách (J.-S. Zhu et al., 1998b). Všeobecně je *O. sinensis* považován za bezpečný, dobře tolerovaný přírodní produkt, u něhož nebyly pozorovány mutagenní nebo teratogenní účinky (J.-S. Zhu et al., 1998b).



Obr. 1 Struktura cordycepinu a kyseliny cordycepsové (Lee et al., 2012)

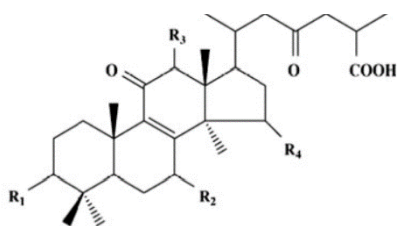
3.2 *Ganoderma*

Ganoderma je rod dřevokazných hub z oddělení Basidiomycota, čeledi Ganodermataceae (Paterson, 2006). Některé surové extrakty se v tradiční medicíně využívají již přes 2000 let (Richter, Wittstein, Kirk, & Stadler, 2015). Mezi běžné názvy komerčně vyráběných doplňků stravy z *Ganodermy* patří Lingzhi (Čína), Munnertake, Sachitake, Reishi (Japonsko) a Youngzhi (Korea) (Paterson, 2006). V tradiční medicíně je *Ganoderma* užívána jako „všelék“

vhodný pro léčbu „těla i mysli“. Mezi virová onemocnění, na něž se používá, patří např. hepatitida či AIDS.

Biomedicínské výzkumy zkoumající bioaktivní látky byly provedeny zejména v Číně, Koreji, Japonsku a USA (Paterson, 2006) a vedly k izolaci více než 400 sekundárních metabolitů z různých druhů *Ganoderma* (Baby, Johnson, & Govindan, 2015). Hlavními izolovanými sekundárními metabolity jsou kyseliny ganoderové, aldehydy, alkoholy, estery, glykosidy, laktony, ketony, lucidenové kyseliny, pentacyklické triterpeny, meroterpenoidy, farnesylhydrochinony, seskviterpenoidy, steroidy, alkaloidy, prenylhydrochinon, benzofurany, deriváty benzopyran-4-onu a benzenoidové deriváty (Baby et al., 2015). Jedním z podrobně zkoumaných druhů je *Ganoderma lucidum*, z níž bylo izolováno přes 240 sloučenin.

Nejvýznamější z těchto složek podílející se na biologických účincích *Ganodermy* jsou triterpenoidy a polysacharidy (Paterson, 2006). Sekvenováním nové generace a optickým mapováním genomu *G. lucidum* bylo odhaleno několik genů kódujících cytochrom P450s (CYP), transportéry a regulační proteiny, podílející se na sekundárním metabolismu (Baby et al., 2015). Triterpenoidy inhibující virus Epstein-Barr byly nalezeny analýzou *G. applanatum* (Chairul & Hayashi, 1994). Pomocí chromatografické techniky HPLC byly z *G. tsugae* izolovány další významné triterpenoidy - kyselina ganoderová E, C5, C6, G a D. Stejnou validovanou metodou bylo stanoveno množství kyseliny ganoderové B v různých částech *G. lucidum* (Obr.2) (Paterson, 2006) .



Obr. 2 Struktura kyseliny ganoderové (Paterson, 2006)

3.3 *Grifola frondosa*

Grifola frondosa (maitake) je polypórní houba rostoucí na bázi stromů, zejména dubů, jilmů a tomelů, patřící do oddělení Basidiomycota, vyskutující se vzácně na území Asie (Japonsko, Čína), Evropy a Severní Ameriky (Mayell, 2001). V tradiční lidové medicíně je

nejčastěji užívána jako komplexní lék působící blahodárně na celý organismus. Vliv má zejména na stimulaci imunitního systému, dále se také využívá jako podpůrná léčba při diabetu nebo při redukci hmotnosti (Mayell, 2001). Kultivační technika, která umožnila komerční využití, byla vyvinuta Ch. Hobbesem v roce 1979 (Ch, 1996) a na trh se dostala již roku 1981 v Japonsku, které je dodnes jejím největším producentem (Shen, 2001). Maitake obsahuje minerály, vitamíny B1 a B2, ergosterol a je bohatá na draslík a fosfór (Shen, 2001).

Ve studii Chien a spol. (Chien, Yang, Lai, & Mau, 2017) zjistili, že GFP-A extrahovaný z plodnice *G. frondosa* zmírňuje CTX-indukovanou imunologickou dysfunkci zlepšením imunitní reakce hostitele. Léčba GFP-A výrazně zlepšila fagocytární funkce intraabdominálních makrofágů myši, což naznačuje, že GFP-A může účinně antagonizovat imunosupresi způsobenou CTX. Díky nízké toxicitě a imunomodulační aktivitě by GFP-A mohl mít velký potenciál jako adjuvans chemoterapeutických léků (Xiao-Lei et al., 2015).

V roce 1991 Nanba a spol. (Nanba, Kodama, Schar, & Turner, 2000) studovali účinek extraktu z *G. frondosa* na virus HIV. Pacientům byly podávány tablety obsahující maitake v kombinaci s vitamínem C po dobu 12 měsíců. Extrakt zabraňoval viru HIV v napadání lymfocytů CD4⁺ a jeho účinnost byla srovnatelná s léčivem azidothymidinem. Jeho potencionálnímu komerčnímu využití však bránila silná *in vivo* toxicita s množstvím nežádoucích účinků (únava, úbytek váhy, ztráta zraku, vlasů, suchý kašel, noční pocení, zácpa, zčernání nehtů, zduření lymfatických uzlin) (Nanba et al., 2000).

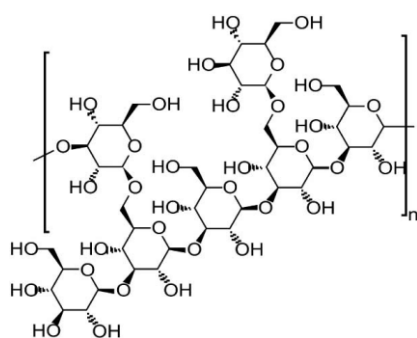
3.4 *Lentinula edodes*

Lentinula edodes, známá též jako šiitake, je jedlá houba z oddělení Basidiomycota, z čeledi Omphalotaceae. Přirozeně roste na rozkládajícím se dřevě listnatých lesů v teplé a vlhké oblasti jihovýchodní Asie (Jong & Birmingham, 1993). V tradiční medicíně je všeobecně využívána na podporu zdraví, zlepšuje výdrž a krevní oběh, léčí rýmu a snižuje hladinu cholesterolu v krvi (Jong & Birmingham, 1993). Šiitake obsahuje bílkoviny, tuky, vitamíny a minerály. Čerstvé a sušené šiitake jsou běžnou součástí asijské kuchyně, např. jako součást oblíbené japonské miso polévky (Jong & Birmingham, 1993).

Bioaktivita byla pozorována u polysacharidu lentinanu, u něhož byla objevena antimetastazická aktivita, protinádorová aktivita, antibakteriální, antifungální, antivirotická a antidiabetická aktivita (Rincão et al., 2012). Antivirotická aktivita byla zkoumána ve studii

provedené v roce 2012 Rincãem a spol. (Rincão et al., 2012). Cílem studie bylo stanovit inhibiční aktivitu vůči Polioviru (PV-1), neobaleného RNA viru spadající do kategorie Enterovirů zahrnující mnoho významných patogenů člověka a zvířat, a vůči bovinnímu herpesviru (BoHV-1), významnému patogenu dobytka (Rincão et al., 2012). Buněčné kultury byly pěstovány v médiu doplněném o antibiotika. Antivirotická aktivita byla otestována plak redukčním neutralizačním testem. Virová inhibice (% V.I.) byla vypočtena podle vzorce: % V.I. = $[1 - (\text{počet plaku v testu/počet plaku při kontrole viru})] \times 100$. Výsledky ukázaly, že extrakt inhiboval replikaci obou virů PV-1 a BoHV-1, nejsilnější efekt byl pozorován v počáteční fázi replikace (Rincão et al., 2012).

V několika experimentech byl zkoumán vliv extraktů *L. edodes* na virus HIV. V experimentu byl lentinan zkombinován s azidothymidinem (AZT) a následně byly jeho účinky porovnány vůči užití pouze samotného AZT. Lentinan v kombinaci s AZT potlačil povrchovou expresi antigenu HIV silněji než pouze samotný AZT *in vitro*. Mimo jiné také zvýšil účinek AZT na replikaci HIV v různých lidských hematopoetických buněčných liniích *in vitro* (Jong & Birmingham, 1993). Možnost využití imunomodulačních účinků extraktů *L. edodes* v léčbě HIV však není doposud dostatečně prozkoumána.



Obr. 3 Struktura lentinanu (Bisen, Baghel, Sanodiya, Thakur, & Prasad, 2010)

3.5 Wolfiporia cocos

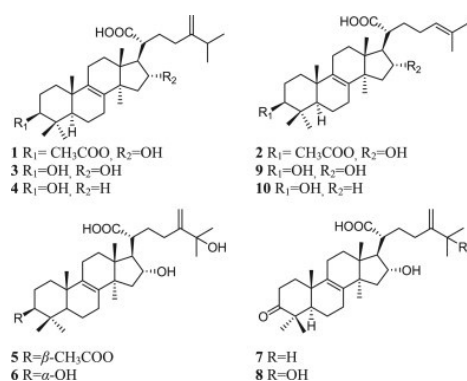
Wolfiporia cocos je dřevokazná houba vázaná na borovicové dřevo patřící do oddělení basidiomyceta, z čeledi Polyporaceae. Jedná se o druh hojně užívaný zejména v východní Asii (Y.-Z. Wang et al., 2013). V Číně a Japonsku se používá jako tradiční léčivá houba v doplňcích stravy (Y.-Z. Wang et al., 2013). První zmínky o této houbě nacházíme již kolem roku 102-200 n.l. (Y.-Z. Wang et al., 2013) Mezi její léčivé vlastnosti patří schopnost vyvolat diurézu, zklidňuje mysl, posiluje funkčnost sleziny a sedativní vlastnosti (Y. Wang, Li, Zhao, Zhang, & Liu, 2012).

Protizánětlivé a imunostimulační účinky *W. cocos* byly zkoumány v její surové podobě i jako její purifikované extrakty. Experimentální studie využívající citlivé metody, např. vysokoúčinnou kapalnou chromatografii (HPLC), naznačují, že purifikované extrakty dosahují lepšího účinku (Ríos, 2011). Hlavní sekundární metabolity podílející se na protinádorových, antioxidačních vlastnostech *W. cocos* jsou triterpeny a polysacharidy.

Z mycelia kultivovaného kmene *W. cocos* bylo izolováno šest polysacharidů nazývaných ac-PCM1, ac-PCM2, ac-PCM3-I a II a ac-PCM4-I a II. Ac-PCM1 a ac-PCM2 obsahovaly glukózu, galaktózu, manózu a fukózu. Ac-PCM3-I a ac-PCM3-II obsahovaly převážně D-glukózu (Y.-Z. Wang et al., 2013).

Triterpeny izolované z *W. cocos* téměř všechny pocházely z lanostanových nebo secolanostanových skeletů. Mezi nově popsané triterpeny patřily např. poriacoson A a poriacoson B, izolované Zhengem a spol. (Zheng & Yang, 2008).

Antivirotickým a protinádorovým efektem triterpenů se ve své práci zabývali Akihisa a spol, z jejichž *in vitro* indukčního testu EBV-EA (časný antigen Epstein-Barr viru) a *in vivo* dvoustupňového testu karcinogeneze vyplynulo, že triterpeny lanostanového typu pocházející ze sklerotia *W. cocos*, mohou sloužit jako cenná chemopreventivní činidla proti chemické karcinogenezi (Akihisa et al., 2007). Později stejní autoři dokončili studii s 11 sloučeninami izolovanými z *W. cocos* - 10 triterpenoidy a 1 diterpenem. Všechny vykazovaly inhibiční účinky *in vitro* vůči aktivaci EBV - EA indukované TPA (tkáňový polypeptidový antigen) v buňkách. Inhibiční aktivita *in vivo* však byla pozorována pouze u jediného. Autoři dospěli k závěru, že lanostanové triterpenoidy mohou mít potenciální chemopreventivní využití, nejsou však účinnými protinádorovými látkami (Akihisa et al., 2009).



Obr. 4 Struktura triterpenů izolovaných z *W. cocos* (Y.-Z. Wang et al., 2013)

3.6 *Xylaria nigripes*

Xylaria nigripes je cenná léčivá houba z oddělení Ascomycota, z čeledi Xylariaceae, běžně se vyskytující na odumřelém dřevě. V tradiční medicíně je používána jako lék při léčbě deprese, duševních chorob a chorob nervového a trávicího systému a také zlepšují zánětlivé stavy u pacientů trpících diabetem 2. typu (Lin et al., 2013). Kapsle mohou také vyvolávat ospalost, a tak přispět ke zlepšení nespavosti a zvýšení kvality spánku u pacientů trpících nespavostí (Jen, Su, Lu, Lai, & Ng, 2021).

Byly v ní zjištěny látky s protirakovinnými, cytotoxickými a antivirálními účinky. Za zmínku stojí např. Xylarial A a B, působící proti hepatocelulárnímu karcinomu buněčné linie Hep G2 nebo různé cytochalasiny, které působí proti některým typům leukémie.

Přestože jsem v této kapitole představila několik významných druhů hub užívaných v tradiční medicíně k léčbě virových onemocnění, z nichž se podařilo izolovat látky zodpovědné za pravděpodobný léčebný efekt, je obtížné prokázat jejich skutečnou efektivitu (Ernst & Singh, 2008).

Tradiční medicína je často chápána jako „pseudověda“ obsahující velké množství základních pojmů, které není možné podložit vědeckými důkazy, např. čchi - primární substanci vesmíru, v medicíně chápánou jako biologickou vitální energii těla; meridiány nebo akupresurní body. Samotná tradiční medicínská teorie i praxe je tak často postavená na nevědeckých poznatcích, jejíž vliv proniká do dalšího bádání (Ernst & Singh, 2008).

Jedním z důvodů proč je obtížné prokazatelně demonstrovat účinnost látek izolovaných z druhů užívaných v tradiční medicíně je ten, že použité vzorky často nespĺňujú požiadavky na kontrolu kvality a standardizaci západní medicíny (Wen, Long, Kang, Wang, & Zeng, 2017).

Přezkumem výsledků analýzou nákladové efektivity se také ukázalo, že publikované studie poskytly pouze nízkou úroveň důkazů, s neprokázanými mechanismy účinku a mnohdy se jednalo o výsledky publikované v časopisech s nízkým impaktovým faktorem (IF), ten se měří počtem citovatelných článků v časopise děleno počtem časopisů, ve kterých byl citován ("Hard to swallow," 2007).

Významná cesta na trh přírodním produktům se otevřela v roce 2004, kdy FDA (americký úřad pro kontrolu potravin a léčiv) vydala nové směrnice o botanických léčivech, které

odstraňovaly povinnost charakterizovat všechny sloučeniny v extraktu u produktů s prokazatelnou historií použití, čímž se významně usnadnilo získání výtažků použitelných v klinických studiích ("Hard to swallow," 2007). I tak je pro přírodní produkty velmi náročné splnit požadavky na registraci jako léčiva. Na trhu je tak běžněji nalézáme jako doplňky stravy, jejichž účinnost není nikterak ověřována a svým složením, vzhledem a charakterem informací uváděných na obalu se léčivým přípravkům pouze podobají. Národní zdravotní orgány pouze posuzují jejich zdravotní nezávadnost, ale nejsou určeny k léčbě nebo prevenci (SÚKL, 2010).

Současný výzkum v této oblasti je převážně zaměřen na hledání jednotlivých sloučenin, které by mohly hrát roli při léčbě konkrétních chorob. Příkladem úspěšně izolované látky využívané ve farmaceutickém průmyslu mající své základy v tradiční medicíně je artemisinin, který je v dnešní době na trhu považován za nejúčinnější léčbu malárie ("Hard to swallow," 2007).

I přes všechny problémy provázející hodnověrnost publikovaných studií je zřejmé, že přírodní produkty užívané v tradiční medicíně jsou obrovským potencionálním zdrojem pro výzkum a vývoj nových léčiv a je možné z nich izolovat látky, jejichž účinnost lze prokázat. Nově izolované látky je však nutné podrobit důkladným klinickým testům a při jejich studiu využívat validované metody.

4 Sekundární metabolity hub s antivirotickou aktivitou

Metabolity jsou organické sloučeniny s nízkou molekulární hmotností vznikající jako meziprodukt či konečný produkt metabolismu bakterií, hub nebo rostlin (Hui & Tag, 2019). Dle jejich funkce v organismu je dělíme do dvou skupin, a to na primární metabolity a sekundární metabolity (Venes, 2017).

Primární metabolity se v organismu podílejí na fyziologických funkcích jako je růst, vývoj a rozmnožování. Mezi primární metabolity patří například kyselina mléčná nebo některé aminokyseliny (Buchanan, Gruissem, & Jones, 2015).

Sekundární metabolity obvykle obstarávají v organismu interakce ekologického charakteru, jedinci poskytují výhody zvýšením jeho šancí na přežití nebo plodnosti. Důležitou roli například hrají sekundární metabolity v obraně rostlin proti herbivorům nebo během mezidruhové kompetice (Hui & Tag, 2019).

Houbová říše zahrnuje mnohé významné druhy, jejichž metabolické produkty jsou využívána jako farmaceutika, např. statiny, peniciliny či cyklosporiny (Keller, Turner, & Bennett, 2005), ochucovadla, barviva nebo rekreační drogy (Hui & Tag, 2019). Roku 1922 britský biochemik Harold Raistrick provedl první systematickou studii houbových sekundárních metabolitů, v níž se mu podařilo určit více než 200 těchto metabolitů (Keller et al., 2005). Po objevu antibiotik došlo ke zvýšení zájmu o studium sekundárních metabolitů a byly nalezeny téměř všechny významné skupiny antibakteriálních antibiotik (cefalosporiny, tetracykliny, makrolidy, aminoglykosidy) Berdy (2005) a další látky s antivirovými, cytotoxickými, mutagenními, karcinogenními, imunosupresivními nebo jinými biologickými účinky (Keller et al., 2005).

V následující části své práce se zaměřím na sekundární metabolity houbového původu, u nichž byl pozorován antivirotický účinek.

4.1 Antivirotika a antivirotický aktivní sekundární metabolity

Antivirotika jsou léčiva užívaná k léčbě virových onemocnění. Většinou se jedná o léčiva zaměřená na specifický druh viru. V posledních letech stoupá zájem o vývoj širokospektrých antivirotik v souvislosti se zvyšující se rezistencí proti léčivům (Rossignol, 2014). Mezi největší problémy spojené s vývojem a dlouhodobým účinkem antivirotik je schopnost virů rychle mutovat. Mnohé významné virové onemocnění byly vymýceny za pomoci účinných vakcín, např. neštovice, obrna, spalničky, příušnice, zarděnky. Mezi viry, na které doposud nebyla nalezena účinná vakcinace, patří zejména viry postihující dýchací cesty jako jsou adenoviry, rhinoviry nebo široce rozšířené papilomaviry, cytomegaloviry či Epstein-Barr virus (De Clercq, 2002).

Antivirotika inhibují virovou infekci zaměřením se na konkrétní virové proteiny nebo na hostitelské buněčné proteiny, které viry využívají k reprodukci (De Clercq, 2002). Antivirotika orientovaná na virové proteiny umožňují vznik specifitějších, méně toxických sloučenin s úzkým zaměřením na konkrétní virus, ale s větší pravděpodobností vzniku rezistence. Zaměřením se na proteiny hostitelské buňky vznikají antivirotika se širokospektrálním využitím, menším rizikem vzniku virové rezistence, ale s vyšší pravděpodobností toxicity pro hostitele (De Clercq, 2002).

Mezi moderní přístupy výzkumu a vývoje antivirotik patří zamření se na fáze životního cyklu viru nebo na schopnost viru přichytit se k hostitelské buňce (De Clercq, 2002).

4.1.1 Sekundární metabolity hub inhibující virus HIV

Syndrom získaného selhání imunity (AIDS) byl poprvé zaznamenán u mladých homosexuálních mužů v roce 1981 v USA (Ammaranond & Sanguansittianan, 2012). Následně byl objeven také v jiných populacích, zahrnující uživatele injekčních drog, příjemců transfuzí nebo u hemofiliků (Fuchs, Wachter, & Wille, 1986).

Jedná se o soubor příznaků a infekcí vzniklých poškozením imunitního systému působením retroviru HIV v těle hostitele, ty se v průběhu měsíců či let stanou závažnými a nakonec vedou ke smrti. Mezi hlavní znaky přítomnosti infekce virem HIV patří snížení počtu lymfocytů CD4+ a inverze v normálním poměru počtu lymfocytů CD4+/CD8+ (Ammaranond & Sanguansittianan, 2012). U nakažených jedinců se mohou v prvních měsících nákazy vyskytovat příznaky podobné chřipce (horečka, bolest hlavy, vyrážka nebo bolest v krku). S postupujícím stádiem nemoci dochází ke zhoršení příznaků, zahrnují zduření lymfatických uzlin, úbytek hmotnosti, horečku, průjem a kašel. Zároveň je nakažený náchylnější k závažným onemocněním jako je tuberkulóza, kryptokoková meningitida, bakteriální infekce a některé druhy rakoviny včetně lymfomů a Kaposiho sarkomu (Organization, 2021).

Jedním z mechanismů vývoje antiretrovirových léčiv určeným k léčbě HIV je cílení na HIV-1 reverzní transkripázu, přeměňující virovou RNA na DNA, jež je pak inkorporována do genomu hostitele (K. D. Hyde et al., 2019). V houbové říši bylo objeveno několik zástupců, u nichž byly zaznamenány sekundárně aktivní metabolity s možným využitím jako potenciální léčiva s tímto mechanismem účinku.

Stachybotrys je rod vřeckovýtrusných vláknitých hub vyskytujících se po celém světě, zejména na substrátech obsahujících celulózu (rostlinné zbytky, půda) (Zhao et al., 2017). Tento druh je známý produkcí různých sekundárních metabolitů s širokou škálou bioaktivity, např. trichocenové mykotoxiny, diterpeny, cochlioquinony (Zhao et al., 2017). Sedm antivirovicky aktivních derivátů fenylspirodrimanu, stachybotrysiny A-G, bylo izolováno z druhu *Stachybotrys chartarum*. V provedené studii byla prokázána nízká antivirová aktivita u stachybotrysinu A, B, E a G (za užití léčiva efavirenz, využívající stejný mechanismus účinku, jako pozitivní kontroly) (Zhao et al., 2017).

Druhým mechanismem využívaným při tvorbě léčiv proti HIV je cílení na vstup viru do buňky hostitele. Virus HIV při vstupu do buňky interaguje s proteiny hostitele. Možností jak zabránit vstupu viru do buňky je např. zacílení na HIV-1 proteázu, jež je klíčovým enzymem podílejícím se na replikaci a zrání viru HIV (K. D. Hyde et al., 2019). Jednou z látek využívající tento mechanismus, u níž byl objeven antivirotický účinek, je bis-indolyquinon či hinnuliquinon izolovaný z neznámé houby nalezené na *Quercus coccifera* (Dub kermesový) (Singh et al., 2004).

Další antivirotické aktivní látky inhibující vstup viru do buňky byly nalezeny zkoumáním vřeckovýtrusného rodu *Aspergillus* (Eurotiales). *Aspergillus* je celosvětově rozšířená houba, některé její druhy mohou způsobovat infekce (např. aspergilóza, ušní či kožní onemocnění), jiné jsou využívány ke komerčnímu použití (alkoholové kvašení, výroba laxativa/barviva anthrachinonu nebo výroby kyseliny citrónové) (Toma et al., 2021). Během hledání anti-HIV látek v mořských mikroorganismech bylo objeveno 14 přírodních produktů pocházejících z hub rodu *Aspergillus* vykazující inhibiční aktivitu vůči viru HIV (Tan et al., 2019). Všechny nalezené látky pocházející z byly následně testovány pomocí využití TZM-bl buněk jako buněčné linie běžně užívané k měření infekce HIV (Zhou et al., 2016). Nejúčinnější z těchto látek se jevila látka penicillixanthone A, která vykazovala slibný inhibiční účinek na chemokinové receptory CCR5 a CXCR4 (Tan et al., 2019) působící jako hlavní receptory HIV při spojení s primárním receptorem CD4 (Moore, Kitchen, Pugach, & Zack, 2004). Dalšími látkami izolovanými z rodu *Aspergillus sp.* byly také tři fenalonové a cytochalasinové deriváty (Pang et al., 2017) nebo malformin C izolovaný z druhu *Aspergillus niger* (K. D. Hyde et al., 2019).

U vřeckovýtrusného endofytického rodu *Periconia sp.* byly objeveny metabolity s periconon B a perconiasin J, které taktéž vykazovaly mírný inhibiční účinek vůči HIV. Byly hodnoceny *in vitro* za užití efavirenz jako pozitivní kontroly (J.-M. Liu et al., 2017; J. Liu et al., 2016).

Třetím mechanismem, který je využíván v léčivech inhibující virus HIV, je cílení aktivní látky na integraci viru. HIV integráza je jedním z proteinů kódovaných virem HIV-1, jež umožňuje integraci DNA (vzniklé za účasti enzymu reverzní transkriptázy) do genomové DNA hostitele (K. D. Hyde et al., 2019).

Hned několik sekundárních metabolitů s inhibičním účinkem vůči HIV cílícím na integrázu je produkováno rodem *Fusarium*. Jedná se o početný rod vřeckovýtrusných hub

široce rozšířených v půdě i jiných organických substrátech. Obsahuje množství významných patogenů rostlin, zvířat i lidí (Booth, 1971). Equisetin je metabolit poprvé izolovaný v roce 1974 z *F. equiseti*, jeho struktura byla objasněna roku 1989. V rámci screeningu mikrobiálních extraktů provedených Singhem a jeho týmem byl equisetin izolován z *F. heterosporum*. Equisetin a jeho deriváty inhibovaly integrační reakce katalyzované preintegračními komplexy izolovaných z buněk infikovaných HIV-1 (Singh et al., 1998). Během stejného pozorování byly nalezeny shodné výsledky také u phomasetinu, metabolitu izolovaného z druhu *Phoma sp.* (Singh et al., 1998). Čtyři nafto-g-pyrony (isochaetochromin B1, isochaetochromin B2, isochaetochromin D1 a oxychaetochromin B), inhibující HIV-1 integrázu, byly objeveny při screeningu fungálních extraktů *Fusaria sp.* pomocí rekombinantní *in vitro* analýzy. Tyto metabolity inhibovali jak vázanou, tak i přenosovou aktivitu HIV-1 integrázy (Singh, Zink, Bills, et al., 2003).

Další metabolity s potencionálním využitím v boji proti HIV byly produkovány rodem *Penicillium sp.* (xanthoviridicatin E a F (Singh, Zink, Guan, et al., 2003) a funalenon (Shiomi et al., 2005)).

4.1.2 Sekundární metabolity hub inhibující virus chřipky

Chřipka je vysoce nakažlivou infekcí způsobující sezónní epidemie a nepředvídatelné pandemie (To & Torres, 2019). Je zapříčiněna obaleným, segmentovaným RNA virem, poprvé izolovaným v roce 1932 (Potter, 2001), patřící do čeledi *Orthomyxoviridae* (To & Torres, 2019). Projevuje se mírným až těžkým průběhem, který může vyústit v smrt nakaženého jedince (Prevention, 2020). Je provázena typickými respiračními příznaky jako jsou horečka, bolesti svalů, únava, kašel, bolest v krku nebo rýma (Potter, 2001; Prevention, 2020). U některých lidí, zejména u dětí a starší populace, se může vyskytnout také průjem nebo zvracení (Prevention, 2020).

Byly identifikovány čtyři základní typy chřipkových virů, klasifikovány dle jejich základních proteinů na A, B, C a D) (To & Torres, 2019). Za sezónní chřipkové epidemie jsou odpovědné chřipkové viry A a B (To & Torres, 2019). Základem léčby chřipky je symptomatická terapie, zaměřená především na úlevu nemocnému od projevů nemoci. Důležitý je dostatečný přísun tekutin, vitamínu C, klid, užití antipyretik/analgetik na horečku, bolest a únavu, užití antitusik na suchý kašel, expectorancií na vlhký kašel a adrenomimetik na rýmu (Rohová, 2013).

Mezi přírodní léčiva fungálního původu participující na léčbě influenza viru řadíme látky inhibující zejména virus chřipky H1N1 a H3N2 (K. D. Hyde et al., 2019). Inhibiční aktivita vůči viru chřipky byla objevena u několika metabolitů produkovaných druhů z rodu *Aspergillus*. Ve výzkumu zaměřeném na objev nových sekundárních metabolitů provedeném Wangem a jeho týmem (J. Wang et al., 2016) byl analyzován půdní izolát houby *Aspergillus ochraceopetaliformis*. Extrakt vykazoval významnou *in vitro* antivirotickou aktivitu proti viru H1N1. Zkoumáním extraktu kultury bylo objeveno pět nových merosesquiterpenoidů, které byly pojmenovány ochraceopony A-E (J. Wang et al., 2016). Jejich antivirotická aktivita byla testována testem zábrany CPE (za užití tamiflu jako pozitivní kontroly) (J. Wang et al., 2016). Dalšími metabolity izolovanými z *Aspergillus sp.* byly dva nové asteltoxiny pojmenované asteltoxin E a F a 7-hydroxy-2-(2-hydroxypropyl)-5-pentylchromon (Tian et al., 2016). Antivirotické aktivity těchto látek byly také testovány testem zábrany CPE. Oba asteltoxiny vykazovaly významnou antivirotickou aktivitu vůči H3N2, asteltoxin E byl účinný i vůči H1N1 (Tian et al., 2016).

Inhibiční aktivita vůči viru chřipky A byla dále nalezena u stachyflinu izolovaného z rodu *Stachybotrys sp* (Minagawa et al., 2002). Mírný inhibiční účinek proti H1N1 byl také objeven u dvou azaphilonů (8,11-didehydrochermesinon B a (7*S*)-7-hydroxy-3,7-dimethylisochromen-6,8-dion) izolovaných z *Nigrospora sp.* (Zhang et al., 2016).

4.1.3 Sekundární metabolity hub inhibující herpes simplex virus (HSV)

Herpes simplex virus (HSV) patří mezi další běžné patogeny člověka. Jedná se o obalený DNA virus, způsobující infekce orofaciálních povrchů sliznic (HSV-1) a genitálních slizničních povrchů (HSV-2) (Taylor, Brockman, McNamee, & Knipe, 2002). V aktivní fázi infekce dochází ke vzniku vezikulárních lézí na sliznici. Jedním z charakteristických znaků všech herpetických virových infekcí je schopnost přejít do latentního stavu a setrvat v tkáních hostitele po zbytek jeho života (Taylor et al., 2002). Během latence genom HSV zůstává v jádru neuronu jako kruhová, extrachromozomální DNA a je skrytý před imunitním systémem (Taylor et al., 2002).

Dosud není na trhu žádný lék potlačující HSV virus, přestože inhibiční aktivita byla pozorována u několika látek (K. D. Hyde et al., 2019). Doporučená léčba je symptomatická, má za cíl ulevit nakaženému od akutních potíží a zmenšit rozsah vzniku lézí. Základem terapie je nasazení protivirových přípravků jako jsou acyklovir, valacyklovir, případně famcyclovir,

jako podpůrná terapie se doporučují analgetika mírnící bolesti, koupele ve slané vodě nebo lokální užití lidokainového gelu (M. Holub, 2019).

Chemickým zkoumáním houby *Aspergillus versicolor* bylo izolováno množství sekundárních metabolitů různých struktur (alkaloidy, terpenoidy, antrachinony atd.), z nichž některé vykazovaly antifungální, antibakteriální, antioxidační a cytotoxické aktivity. Během výzkumu mořského hlubinného kmene *A. versicolor* SCSIO 41502 (= DFFSCS010) byly objeveny dva nové antrachinony (aspergilol H, aspergilol I) vykazující inhibiční aktivitu vůči HSV-1 (Huang et al., 2017). Jejich inhibiční aktivita byla hodnocena pomocí plak redukčního neutralizačního testu za užití acykloviru jako pozitivní kontroly (Huang et al., 2017).

Během výzkumu zaměřeného na studium potenciálu sekundárních metabolitů mořských mikroorganismů byly izolováno pět halovirů A-E (Rowley, Kelly, Kauffman, Jensen, & Fenical, 2003). Izolát byl získán z karibské mořské trávy *Halodule wrightii*, vzorek byl vysušen na vzduchu, nakrájen na malé kousky, umístěn na agarové médium na bázi mořské vody obsahující antibiotika zamezující růstu bakterií. Po získání čisté kultury byl vzorek mikroskopicky zkoumán a byl identifikován jako rod *Scytalidium* sp. (Rowley et al., 2003). Haloviry A-E vykazovaly antivirotickou aktivitu proti oběma typům viru herpes simplex. Byla prokázána přímá inaktivace viru HSV-1 v závislosti na čase a koncentraci, což dokazuje silný virucidní mechanismus účinku (Rowley et al., 2003). V daném výzkum byl zkoumán také mechanismus účinku těchto halovirů. Bylo zjištěno, že haloviry mohou interagovat analogickým způsobem s lipidovým obalem viru HSV. Halovir A způsobil membránovou destabilizaci lipidového obalu viru a jeho membrána se tak stala citlivější na narušení.

Destabilizace membrány by mohla být dokonce nejúčinnější metodou jak učinit HSV neinfekčním. K úplnému pochopení mechanismu je však potřeba dalšího rozsáhlého výzkumu (Rowley et al., 2003).

4.1.4 Sekundární metabolity hub inhibující viry hepatitid

Virová hepatitida je infekční onemocnění jaterní tkáně nejčastěji způsobené viry hepatitidy A,B,C,D a E. Mezi typické příznaky patří žluté zbarvení kůže a bělma očí (žloutenka), nechůť k jídlu, zvracení, únava, bolesti břicha a průjem (MedlinePlus, 2016). Hepatitida A a E se šíří zejména kontaminovanými potravinami a vodou. Hepatitida B je přenášena hlavně sexuálně, z matky na dítě během těhotenství nebo porodu nebo infikovanou

krví. Hepatitida C se šíří infikovanou krví. Hepatitidou D se může infikovat pouze osoba, která je již infikovaná hepatitidou B (MedlinePlus, 2016). Mezi produkty působící proti virům hepatitid patří metabolity interagující s receptorem pro vstup HBV do buňky nebo inhibují replikaci HBV-X (K. D. Hyde et al., 2019).

Jedním z metabolitů, u něhož byly prokázány inhibiční účinky vůči viru hepatitidy blokováním vstupu viru do buněk, je vanitaracin A izolovaný z rodu *Talaromyces sp.* Tento metabolit interagoval s vstupujícím receptorem přenášející polypeptid (NTCP) a narušoval transportní aktivitu žlučových kyselin. Vanitaracin A inhiboval infekci všemi testovanými genotypy HBV (genotypy A až D). Byl silným a dobře tolerovaným a inhibítoem vstupu HBV a mohl by být součástí antivirové strategie pro prevenci reinfekce HBV (Kaneko et al., 2015).

Dalším slibným sekundárním metabolitem v léčbě HBV by mohl být rhodatin. Rhodatin byl izolován společně s dalšími pěti seskviterpenoidy, pojmenovanými rhodocorany A-E z basidiomycoty *Rhodotus palmatus*, vzácné lignikolní houby rostoucí na mrtvém dřevě listnáčů, nejčastěji jilmu (Sandargo et al., 2019). Antivirotická aktivita rhodatinu byla hodnocena v lidských jaterních buňkách. Virová infekčnost byla silně inhibována bez jakéhokoli vlivu na životaschopnost buněk za užití molekuly zeleného čaje EGCG jako pozitivní kontroly. Vzhledem k nízké cytotoxicitě a značné inhibiční aktivitě je rhodatin slibným kandidátem na další hodnocení jako možné antihepatitické terapie (Sandargo et al., 2019). Rhodocorany A-E vykazovaly různé cytotoxické a antibiotické účinky (Sandargo et al., 2019).

Chemickou analýzou extraktů z kultur patogenní rostlinné houby *Cytospora sp.* došlo k objevení sekundárního metabolitu 2-(3,4,5-trihydroxyfenyl)-3,6-dihydroxy-5-(4- γ,γ -dimethylallyloxyfenyl)-2,5-cyclohexadienu-1,4-dionu, triviálně pojmenovaného jako cytosporaquinon B (Narmani et al., 2019). Antivirotická aktivita proti HCV byla zkoumaná za užití lidských jaterních buněk. Došlo k výrazné inhibici infekčnosti HCV a zároveň sloučenina nevykazovala žádnou cytotoxicitu (Narmani et al., 2019).

5 Závěr

V minulosti došlo na naší planetě ke vzniku několika významných virových pandemií, které zásadně ovlivnily tehdejší společnost a způsobily velké ztráty na životech. Současná epidemiologická situace dokládá, že i dnes stále dochází ke vzniku nových virových infekcí, které se mohou snadno globálně šířit a narůst do pandemických rozměrů.

Farmaceutický průmysl dokázal vyvinout účinná léčiva a vakcíny, které dokáží potlačit mnohé bakteriální infekce, léků s antivirotickými účinky se však dostalo na trh výrazně méně. Houby a jejich sekundární metabolity mají velký potenciál jako zdroj virostatických látek s možným využitím v antivirové léčbě. U mnoha skupin hub byla objevena produkce řady sekundárních metabolitů s biologickými aktivitami.

Již v tradiční medicíně nacházíme houbové produkty užívané k léčbě virotických onemocnění. Přestože se jedná o nevědecký medicínský léčebný systém spolehající na osvědčené dávné praktiky, studie ukázaly, že i v tradičních produktech lze najít sloučeniny, které by mohly podporovat jejich biologické aktivity. Použité vzorky však často nesplňují požadavky na kontrolu kvality a standardizaci západní medicíny a je obtížné prokázat účinnost izolátů v klinických studiích, tak aby mohlo dojít k jejich registraci jako léčiva.

Ve své práci jsem také představila čtyři významné lidské virové infekce (HIV, hepatitidu, HSV a virus chřipky), jejichž účinná léčba chybí. Výzkumy ukázaly, že se podařilo izolovat několik sekundárních metabolitů z různých druhů hub, které by mohly být vhodné k dalšímu studiu antivirotických účinků a umožnit vznik účinného léčiva. Mezi moderní přístupy výzkumu a vývoje antivirotik patří zamření se na fáze životního cyklu viru nebo na schopnost viru přichytit se k hostitelské buňce.

Sekundární metabolity hub tak představují vhodnou oblast výzkumu pro vývoj nových antivirotik. Je však nutné podrobit izoláty důkladné analýze, s využitím moderních validovaných metod a umožnit tak testování vzorků v klinických studiích.

6 Seznam použité literatury

- Akihisa, Toshihiro, Nakamura, Yuji, Tokuda, Harukuni, Uchiyama, Emiko, Suzuki, Takashi, Kimura, Yumiko, . . . Nishino, Hoyoku. (2007). Triterpene acids from *Poria cocos* and their anti-tumor-promoting effects. *Journal of Natural Products*, 70(6), 948-953.
- Akihisa, Toshihiro, Uchiyama, Emiko, Kikuchi, Takashi, Tokuda, Harukuni, Suzuki, Takashi, & Kimura, Yumiko. (2009). Anti-tumor-promoting effects of 25-methoxyporicoic acid A and other triterpene acids from *Poria cocos*. *Journal of natural products*, 72(10), 1786-1792.
- Ammaranond, Palanee, & Sanguansittianan, Sayompoo. (2012). Mechanism of HIV antiretroviral drugs progress toward drug resistance. *Fundamental & clinical pharmacology*, 26(1), 146-161.
- Angell, Marcia, & Kassirer, Jerome P. (1998). *Alternative medicine—the risks of untested and unregulated remedies*: Mass Medical Soc.
- Baby, Sabulal, Johnson, Anil John, & Govindan, Balaji. (2015). Secondary metabolites from *Ganoderma*. *Phytochemistry*, 114, 66-101.
- Baroni, Francesca, Mancini, Damiana, Tuscano, Silvia Clara, Scarlata, Simone, Lunghi, Christian, Cerritelli, Francesco, & Haxton, Jason. (2021). Osteopathic manipulative treatment and the Spanish flu: a historical literature review. *Journal of Osteopathic Medicine*, 121(2), 181-190. doi: doi:10.1515/jom-2020-0112
- Berdy, Janos. (2005). Bioactive microbial metabolites. *The Journal of antibiotics*, 58(1), 1-26.
- Bisen, PS, Baghel, Rakesh K, Sanodiya, Bhagwan S, Thakur, Gulab S, & Prasad, GBKS. (2010). *Lentinus edodes*: a macrofungus with pharmacological activities. *Current medicinal chemistry*, 17(22), 2419-2430.
- Booth, Colin. (1971). The genus *Fusarium*. *The genus Fusarium*.
- Brody, Jane E. (1998). Alternative medicine makes inroads, but watch out for curves. *New York Times*, F7.
- Buchanan, Bob B, Gruissem, Wilhelm, & Jones, Russell L. (2015). *Biochemistry and molecular biology of plants*: John wiley & sons.
- Butler, Declan. (2009). *Swine flu goes global*: Nature Publishing Group.
- Ciotti, Marco, Ciccozzi, Massimo, Terrinoni, Alessandro, Jiang, Wen-Can, Wang, Cheng-Bin, & Bernardini, Sergio. (2020). The COVID-19 pandemic. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 57(6), 365-388.
- Control, Centers for Disease, & Prevention. (2011). Influenza diagnostic testing during the 2009–2010 flu season.
- Crosby, Alfred W. (1976). *Epidemic and peace, 1918*.
- De Clercq, Erik. (2002). Strategies in the design of antiviral drugs. *Nature Reviews drug discovery*, 1(1), 13-25.
- Devi, Rubee, Kaur, Tanvir, Guleria, Geetika, Rana, Kusam Lata, Kour, Divjot, Yadav, Neelam, . . . Saxena, Anil Kumar. (2020). Chapter 9 - Fungal secondary metabolites and their biotechnological applications for human health. In A. A. Rastegari, A. N. Yadav & N. Yadav (Eds.), *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* (pp. 147-161): Elsevier.
- Ernst, Edzard, & Singh, Simon. (2008). *Trick or treatment: The undeniable facts about alternative medicine*: WW Norton & Company.
- Flecknoe, Daniel, Charles Wakefield, Benjamin, & Simmons, Aidan. (2018). Plagues & wars: the 'Spanish Flu' pandemic as a lesson from history. *Medicine, Conflict and Survival*, 34(2), 61-68.
- Fuchs, Dietmar, Wachter, Helmut, & Wille, Reinhard. (1986). AIDS in haemophiliacs, parenteral drug abusers, and homosexuals. *The Lancet*, 327(8476), 324.

- Fukumi, Hideo. (1959). Summary report on the Asian influenza epidemic in Japan, 1957. *Bulletin of the World Health Organization*, 20(2-3), 187.
- Hard to swallow. (2007). *Nature*, 448(7150), 106-106. doi: 10.1038/448106a
- Huang, Zhonghui, Nong, Xuhua, Ren, Zhe, Wang, Jie, Zhang, Xiaoyong, & Qi, Shuhua. (2017). Anti-HSV-1, antioxidant and antifouling phenolic compounds from the deep-sea-derived fungus *Aspergillus versicolor* SCSIO 41502. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 27(4), 787-791.
- Hui, Pallabi Kalita, & Tag, Hui. (2019). Secondary Metabolites—Their Impact on Plants. *Advances in Plant Physiology Vol. 18, 18*, 281.
- Hyde, K., Xu, J., Rapior, S., Jeewon, R., Lumyong, S., Niego, Allen Grace T., . . . Stadler, M. (2019). The amazing potential of fungi: 50 ways we can exploit fungi industrially. *Fungal Diversity*, 1-136.
- Hyde, Kevin D, Xu, Jianchu, Rapior, Sylvie, Jeewon, Rajesh, Lumyong, Saisamorn, Niego, Allen Grace T, . . . Brooks, Siraprapa. (2019). The amazing potential of fungi: 50 ways we can exploit fungi industrially. *Fungal Diversity*, 97(1), 1-136.
- Ch, Hobbs. (1996). Medicinal mushrooms. *An exploration of tradition, healing and culture*, 2.
- Chairul, Sofni M, & Hayashi, Yuji. (1994). Lanostanoid triterpenes from *Ganoderma applanatum*. *Phytochemistry*, 35(5), 1305-1308.
- Chien, Rao-Chi, Yang, Yi-Chi, Lai, Eric Icheng, & Mau, Jeng-Leun. (2017). Anti-inflammation and lipogenic inhibition of Taiwanofungus salmonea mycelium and *Grifola frondosa* fruiting body. *International journal of medicinal mushrooms*, 19(7).
- Jackson, Claire. (2009). History lessons: the Asian Flu pandemic. *British Journal of General Practice*, 59(565), 622-623. doi: 10.3399/bjgp09X453882
- Jen, Chia-I, Su, Chun-Han, Lu, Mei-Kuang, Lai, Ming-Nan, & Ng, Lean-Teik. (2021). Synergistic anti-inflammatory effects of different polysaccharide components from *Xylaria nigripes*. *Journal of Food Biochemistry*, 45(4), e13694.
- Jester, Barbara J., Uyeki, Timothy M., & Jernigan, Daniel B. (2020). Fifty Years of Influenza A(H3N2) Following the Pandemic of 1968. *American Journal of Public Health*, 110(5), 669-676. doi: 10.2105/ajph.2019.305557
- Jong, S C[†], & Birmingham, JM. (1993). Medicinal and therapeutic value of the shiitake mushroom. *Advances in applied microbiology*, 39, 153-184.
- Kaneko, Manabu, Watashi, Koichi, Kamisuki, Shinji, Matsunaga, Hiroki, Iwamoto, Masashi, Kawai, Fumihiro, . . . Suzuki, Ryosuke. (2015). A novel tricyclic polyketide, vanitaracin A, specifically inhibits the entry of hepatitis B and D viruses by targeting sodium taurocholate cotransporting polypeptide. *Journal of virology*, 89(23), 11945-11953.
- Keller, Nancy P, Turner, Geoffrey, & Bennett, Joan W. (2005). Fungal secondary metabolism—from biochemistry to genomics. *Nature Reviews Microbiology*, 3(12), 937-947.
- Lee, Kuo-Hsiung, Morris-Natschke, Susan L, Yang, Xiaoming, Huang, Rong, Zhou, Ting, Wu, Shou-Fang, . . . Itokawa, Hideji. (2012). Recent progress of research on medicinal mushrooms, foods, and other herbal products used in traditional Chinese medicine. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 2(2), 1-12.
- Lin, Yan, Wang, Xiao-yun, Ye, Ren, Hu, Wan-hua, Sun, Shu-chen, Jiao, Hong-juan, . . . Zheng, Guo-qing. (2013). Efficacy and safety of Wuling capsule, a single herbal formula, in Chinese subjects with insomnia: A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of ethnopharmacology*, 145(1), 320-327.
- Liu, Ji-Mei, Zhang, De-Wu, Zhang, Min, Chen, Ri-Dao, Yan, Zheng, Zhao, Jian-Yuan, . . . Dai, Jun-Gui. (2017). Periconones B–E, new meroterpenoids from endophytic fungus *Periconia* sp. *Chinese chemical letters*, 28(2), 248-252.
- Liu, Jimei, Zhang, Dewu, Zhang, Min, Liu, Xia, Chen, Ridao, Zhao, Jinlian, . . . Dai, Jungui. (2016). Periconiasins I and J, two new cytochalasans from an endophytic fungus *Periconia* sp. *Tetrahedron Letters*, 57(51), 5794-5797.

- M. Holub, S. Arientová, H. Rozsypal, K. Labská, J. Mašata, M. Kacerovský, J. Zach. (2019). Doporučený postup pro diagnostiku a léčbu genitálního herpesu u žen. *Doporučený postup Společnosti infekčního lékařství České lékařské společnosti J. E. Purkyně*.
- Mayell, Mark. (2001). Maitake extracts and their therapeutic potential—a review. *Alternative Medicine Review*, 6(1), 48-60.
- MedlinePlus. (2016). Hepatitis. from <https://medlineplus.gov/hepatitis.html>
- Michaelis, Martin, Doerr, Hans Wilhelm, & Cinatl, Jr. (2009). An influenza A H1N1 virus revival—pandemic H1N1/09 virus. *Infection*, 37(5), 381-389.
- Minagawa, Kazuyuki, Kouzuki, Shuichi, Yoshimoto, JUN, Kawamura, Yoshimi, Tani, Hiroyoshi, Iwata, Tatsuo, . . . Hattori, Naohiko. (2002). Stachyflin and acetylstachyflin, novel anti-influenza A virus substances, produced by *Stachybotrys* sp. RF-7260 I. Isolation, structure elucidation and biological activities. *The Journal of antibiotics*, 55(2), 155-164.
- Moore, John P, Kitchen, Scott G, Pugach, Pavel, & Zack, Jerome A. (2004). The CCR5 and CXCR4 coreceptors—central to understanding the transmission and pathogenesis of human immunodeficiency virus type 1 infection. *AIDS research and human retroviruses*, 20(1), 111-126.
- Morens, David M, Folkers, Gregory K, & Fauci, Anthony S. (2009). What is a pandemic? : The University of Chicago Press.
- Morens, David M, Taubenberger, Jeffery K, Harvey, Hillery A, & Memoli, Matthew J. (2010). The 1918 influenza pandemic: lessons for 2009 and the future. *Critical care medicine*, 38(4 Suppl), e10.
- Nanba, Hiroaki, Kodama, Noriko, Schar, Douglas, & Turner, Denise. (2000). Effects of Maitake (*Grifola frondosa*) glucan in HIV-infected patients. *Mycoscience*, 41(4), 293-295.
- Narmani, Abolfazl, Teponno, Rémy Bertrand, Arzanlou, Mahdi, Surup, Frank, Helaly, Soleiman E, Wittstein, Kathrin, . . . Stadler, Marc. (2019). Cytotoxic, antimicrobial and antiviral secondary metabolites produced by the plant pathogenic fungus *Cytospora* sp. CCTU A309. *Fitoterapia*, 134, 314-322.
- Organization, World Health. (2020). Global surveillance for COVID-19 caused by human infection with COVID-19 virus: interim guidance, 20 March 2020: World Health Organization.
- Organization, World Health. (2021). HIV/AIDS. from https://www.who.int/health-topics/hiv-aids#tab=tab_2
- Pang, Xu, Zhao, Jian-Yuan, Fang, Xiao-Mei, Zhang, Tao, Zhang, De-Wu, Liu, Hong-Yu, . . . Yu, Li-Yan. (2017). Metabolites from the plant endophytic fungus *Aspergillus* sp. CPCC 400735 and their anti-HIV activities. *Journal of natural products*, 80(10), 2595-2601.
- Paterson, R Russell M. (2006). Ganoderma—a therapeutic fungal biofactory. *Phytochemistry*, 67(18), 1985-2001.
- Potter, Christopher W. (2001). A history of influenza. *Journal of applied microbiology*, 91(4), 572-579.
- Prevention, Centres for Disease Control and. (2020). Flu Symptoms & Diagnosis. Retrieved 27-Jul, 2021, from [cdc.gov/flu/symptoms/index.html](https://www.cdc.gov/flu/symptoms/index.html)
- Pyle, Gerald F. (1986). *The diffusion of influenza: patterns and paradigms*: Rowman & Littlefield.
- Pyle, Gerald F, & Patterson, K David. (1984). Influenza diffusion in European history: patterns and paradigms. *Ecology of Disease*, 2(6), 173-184.
- Richter, Christian, Wittstein, Kathrin, Kirk, Paul M, & Stadler, Marc. (2015). An assessment of the taxonomy and chemotaxonomy of *Ganoderma*. *Fungal Diversity*, 71(1), 1-15.
- Rincão, Vinicius Pires, Yamamoto, Kristie Aimi, Ricardo, Nágila Maria Pontes Silva, Soares, Sandra Aguiar, Meirelles, Luzia Doretto Paccola, Nozawa, Carlos, & Linhares, Rosa Elisa Carvalho. (2012). Polysaccharide and extracts from *Lentinula edodes*: structural features and antiviral activity. *Virology journal*, 9(1), 1-6.
- Ríos, José-Luis. (2011). Chemical constituents and pharmacological properties of *Poria cocos*. *Planta medica*, 77(07), 681-691.

- Rogers, Kara. (2020). 1968 flu pandemic.
- Rohová, Iveta. (2013). Chřipka a možnosti její léčby. *Prakt. lékáren*, 9(1), 38-40.
- Roos, Robert. (2011). Study puts global 2009 H1N1 infection rate at 11% to 21%. *Center for Infectious Disease Research and Policy*, 8.
- Rossignol, Jean-François. (2014). Nitazoxanide: a first-in-class broad-spectrum antiviral agent. *Antiviral research*, 110, 94-103.
- Rowley, David C, Kelly, Sara, Kauffman, Christopher A, Jensen, Paul R, & Fenical, William. (2003). Halovirs A–E, new antiviral agents from a marine-derived fungus of the genus *Scytalidium*. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 11(19), 4263-4274.
- Sandargo, Birthe, Michehl, Maira, Praditya, Dimas, Steinmann, Eike, Stadler, Marc, & Surup, Frank. (2019). Antiviral meroterpenoid rhodatin and sesquiterpenoids rhodocoranes A–E from the wrinkled peach mushroom, *Rhodotus palmatus*. *Organic letters*, 21(9), 3286-3289.
- Shen, Qing. (2001). *Molecular phylogenetic analysis of Grifola frondosa (Maitake) and related species and the influence of selected nutrient supplements on mushroom yield*: The Pennsylvania State University.
- Shiomi, Kazuro, Matsui, Ryosuke, Isozaki, Miki, Chiba, Harumi, Sugai, Takahiro, Yamaguchi, Yuichi, . . . Yan, Hua. (2005). Fungal phenalenones inhibit HIV-1 integrase. *The journal of antibiotics*, 58(1), 65-68.
- Singh, Sheo B, Ondeyka, John G, Tsipouras, Nasios, Ruby, Carolyn, Sardana, Vinod, Schulman, Marvin, . . . Munshi, Sanjeev. (2004). Hinnuliquinone, a C2-symmetric dimeric non-peptide fungal metabolite inhibitor of HIV-1 protease. *Biochemical and biophysical research communications*, 324(1), 108-113.
- Singh, Sheo B, Zink, Deborah L, Bills, Gerald F, Teran, Ana, Silverman, Keith C, Lingham, Russell B, . . . Hazuda, Daria J. (2003). Four novel bis-(naphtho- γ -pyrones) isolated from *Fusarium* species as inhibitors of HIV-1 integrase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 13(4), 713-717.
- Singh, Sheo B, Zink, Deborah L, Goetz, Michael A, Dombrowski, Anne W, Polishook, Jon D, & Hazuda, Daria J. (1998). Equisetin and a novel opposite stereochemical homolog phomasetin, two fungal metabolites as inhibitors of HIV-1 integrase. *Tetrahedron Letters*, 39(16), 2243-2246.
- Singh, Sheo B, Zink, Deborah L, Guan, Ziqiang, Collado, Javier, Pelaez, Fernando, Felock, Peter J, & Hazuda, Daria J. (2003). Isolation, Structure, and HIV-1 Integrase Inhibitory Activity of Xanthoviridicatin E and F, Two Novel Fungal Metabolites Produced by *Penicillium chrysogenum*. *Helvetica Chimica Acta*, 86(10), 3380-3385.
- SÚKL. (2010). Rozlišení doplňků stravy od léčivých přípravků. . Retrieved 10-08-2021, from <https://www.sukl.cz/leciva/rozliseni-doplнку-stravy-od-lecivych-pripravku>
- SZÚ. (2020). *Základní informace o onemocnění novým koronavirem – covid-19*. Retrieved from http://www.szu.cz/uploads/Epidemiologie/Coronavirus/Zakladni_info/Zakladni_informace_covid_6_aktualizace_29_10_2020_.pdf.
- Tan, Suiyi, Yang, Bin, Liu, Juan, Xun, Tianrong, Liu, Yonghong, & Zhou, Xuefeng. (2019). Penicillixanthone A, a marine-derived dual-coreceptor antagonist as anti-HIV-1 agent. *Natural product research*, 33(10), 1467-1471.
- Tang, Jin-Ling, Liu, Bao-Yan, & Ma, Kan-Wen. (2008). Traditional chinese medicine. *The Lancet*, 372(9654), 1938-1940.
- Taubenberger, Jeffery K, & Morens, David M. (2006). 1918 Influenza: the mother of all pandemics. *Revista Biomedica*, 17(1), 69-79.
- Taylor, Travis J, Brockman, Mark A, McNamee, Elizabeth E, & Knipe, David M. (2002). Herpes simplex virus. *Front Biosci*, 7, d752-d764.

- Tian, Yong-Qi, Lin, Xiu-Ping, Wang, Zhen, Zhou, Xue-Feng, Qin, Xiao-Chu, Kaliyaperumal, Kumaravel, . . . Liu, Yonghong. (2016). Asteltoxins with antiviral activities from the marine sponge-derived fungus *Aspergillus* sp. SCSIO XWS02F40. *Molecules*, *21*(1), 34.
- To, Janet, & Torres, Jaume. (2019). Viroporins in the influenza virus. *Cells*, *8*(7), 654.
- Toma, Maria Afroz, Nazir, KHM, Mahmud, Md, Mishra, Pravin, Ali, Md, Kabir, Ajan, . . . Alim, Md. (2021). Isolation and Identification of Natural Colorant Producing Soil-Borne *Aspergillus niger* from Bangladesh and Extraction of the Pigment. *Foods*, *10*(6), 1280.
- University, Johns Hopkins. (2021). COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU). 2021, from 2021-03-14
- Venes, Donald. (2017). *Taber's cyclopedic medical dictionary*: FA Davis.
- Viboud, Cécile, Grais, Rebecca F., Lafont, Bernard A. P., Miller, Mark A., & Simonsen, Lone. (2005). Multinational Impact of the 1968 Hong Kong Influenza Pandemic: Evidence for a Smoldering Pandemic. *The Journal of Infectious Diseases*, *192*(2), 233-248. doi: 10.1086/431150
- Wang, Dawei, Hu, Bo, Hu, Chang, Zhu, Fangfang, Liu, Xing, Zhang, Jing, . . . Xiong, Yong. (2020). Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus–infected pneumonia in Wuhan, China. *Jama*, *323*(11), 1061-1069.
- Wang, Junfeng, Wei, Xiaoyi, Qin, Xiaochu, Tian, Xinpeng, Liao, Li, Li, Kemin, . . . Zhang, Tianyu. (2016). Antiviral merosesquiterpenoids produced by the antarctic fungus *Aspergillus ochraceopetaliformis* SCSIO 05702. *Journal of natural products*, *79*(1), 59-65.
- Wang, Yuan-Zhong, Zhang, Ji, Zhao, Yan-Li, Li, Tao, Shen, Tao, Li, Jie-Qing, . . . Liu, Hong-Gao. (2013). Mycology, cultivation, traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Wolfiporia cocos* (Schwein.) Ryvardeen et Gilb.: a review. *Journal of Ethnopharmacology*, *147*(2), 265-276.
- Wang, Yuanzhong, Li, Tao, Zhao, Yanli, Zhang, Ji, & Liu, Honggao. (2012). Contents of some metabolites in the peel and flesh of the medicinal mushroom *Wolfiporia cocos* (FA Wolf) Ryvardeen et Gilb.(Higher Basidiomycetes). *International journal of medicinal mushrooms*, *14*(1).
- Wen, TC, Long, FY, Kang, C, Wang, F, & Zeng, W. (2017). Effects of additives and bioreactors on cordycepin production from *Cordyceps militaris* in liquid static culture. *Mycosphere*, *8*(7), 886-898.
- Xiang, Li, Li, Ying, Zhu, Yingjie, Luo, Hongmei, Li, Chunfang, Xu, Xiaolan, . . . He, Liu. (2014). Transcriptome analysis of the *Ophiocordyceps sinensis* fruiting body reveals putative genes involved in fruiting body development and cordycepin biosynthesis. *Genomics*, *103*(1), 154-159.
- Xiao-Lei, MA, Meng, MENG, Li-Rong, HAN, Zheng, LI, Xiao-Hong, CAO, & Chun-Ling, WANG. (2015). Immunomodulatory activity of macromolecular polysaccharide isolated from *Grifola frondosa*. *Chinese journal of natural medicines*, *13*(12), 906-914.
- Zarocostas, John. (2009). WHO recommends early antiviral treatment for at risk groups with suspected swine flu. *BMJ: British Medical Journal (Online)*, *339*.
- Zhang, Shou-Peng, Huang, Rong, Li, Fang-Fang, Wei, Hong-Xia, Fang, Xiao-Wei, Xie, Xiao-Song, . . . He, Jian. (2016). Antiviral anthraquinones and azaphilones produced by an endophytic fungus *Nigrospora* sp. from *Aconitum carmichaeli*. *Fitoterapia*, *112*, 85-89.
- Zhao, Jinlian, Feng, Jiamin, Tan, Zhen, Liu, Jimei, Zhao, Jianyuan, Chen, Ridao, . . . Yu, Liyan. (2017). Stachybotryns A–G, phenylspirodrimane derivatives from the fungus *Stachybotrys chartarum*. *Journal of natural products*, *80*(6), 1819-1826.
- Zheng, Yan, & Yang, Xiu-Wei. (2008). Poriacosones A and B: two new lanostane triterpenoids from *Poria cocos*. *Journal of Asian natural products research*, *10*(7), 640-646.
- Zhou, Xuefeng, Fang, Wei, Tan, Suiyi, Lin, Xiuping, Xun, Tianrong, Yang, Bingjie, . . . Liu, Yonghong. (2016). Aspernigrins with anti-HIV-1 activities from the marine-derived fungus *Aspergillus niger* SCSIO Jcsw6F30. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, *26*(2), 361-365.

- Zhu, Jia-Shi, Halpern, Georges M, & Jones, Kenneth. (1998a). The scientific rediscovery of a precious ancient Chinese herbal regimen: Cordyceps sinensis Part II. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 4(4), 429-457.
- Zhu, Jia-Shi, Halpern, Georges M, & Jones, Kenneth. (1998b). The scientific rediscovery of an ancient Chinese herbal medicine: Cordyceps sinensis Part I. *The Journal of alternative and complementary medicine*, 4(3), 289-303.
- Zhu, Na, Zhang, Dingyu, Wang, Wenling, Li, Xingwang, Yang, Bo, Song, Jingdong, . . . Lu, Roujian. (2020). A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *New England journal of medicine*.