

КРАТКОЕ СООБЩЕНИЕ

Открытый доступ



Потенциал растительных экстрактов в отношении ингибирования SARS-CoV-2: пилотное исследование

Микела Луиза Де Пеллегрин (Michela Luisa De Pellegrin)¹, Анетт Рорхофер (Anette Rohrhofer)², Филипп Шустер (Philipp Schuster)¹, Барбара Шмидт (Barbara Schmidt)^{1,2}, Филипп Петербургс (Philipp Peterburs)^{3*}  и Андре Гесснер (André Gessner)

Автореферат

Актуальность. Растительные лекарственные средства имеют давнюю историю применения в лечении респираторных инфекций. В этом исследовании мы стремились оценить потенциал пяти валидированных растительных экстрактов в отношении их способности ограничивать репликацию SARS-CoV-2 *in vitro*: Бронхипрет тимьян-плющ (БРО), Бронхипрет тимьян-примула (БРО ТП), Тонзилгон (ТОН), Синупрет экстракт (СИНэ) и Тонзипрет (ТОП).

Методы. Клетки Веро инкубировали с различными концентрациями растительных экстрактов инфицировали SARS-CoV-2 и оценивали их влияние на репликацию через 48 часов. Угнетение репликации вируса оценивали путем определения количества копий вирусной РНК в супернатанте клеточной культуры с помощью количественной полимеразной цепной реакции (кПЦР).

Результаты. Количество копий РНК SARS-CoV-2 снижалось под действием нецитотоксических концентраций BRO-TP (примерно до 1 000 раз) и, в меньшей степени, IMU и ТОП (примерно в 10 раз).

Выводы. Некоторые растительные экстракты продемонстрировали многообещающую эффективность *in vitro* в отношении SARS-CoV-2, что свидетельствует о противовирусном потенциале растительных лекарственных средств. Потенциал растительных лекарственных препаратов в отношении угнетения SARS-CoV-2 и лечения COVID-19 необходимо дополнительно исследовать в клинических условиях.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, вирусная репликация, Бронхипрет тимьян-плющ (БРО), Бронхипрет тимьян-примула (БРО ТП), Тонзилгон (ТОН), Синупрет экстракт (SINx), Тонзипрет (ТОП)

Введение

Коронавирусная инфекция 2019 года (COVID-19), вызываемая коронавирусом тяжелого острого респираторного синдрома 2 (SARS-CoV-2), стала причиной продолжающейся пандемии и чрезвычайной ситуации в области общественного здравоохранения международного значения. По состоянию на 10 февраля 2020 года во всем мире было зарегистрировано более 107 миллионов подтвержденных случаев инфекции и более 2,34 миллиона подтвержденных смертей [1].

COVID-19 протекает главным образом как заболевание дыхательных путей, иногда приводящее к тяжелому или фатальному воспалению легких и нарушению функций органов вследствие цитокинового шторма. Тем не менее, самые частые клинические проявления заболевания включают легкие или умеренные гриппоподобные симптомы, такие как лихорадка, кашель, миалгия, а также нарушения восприятия вкуса и запаха [2, 3]. Проводимые во всем мире исследования направлены на создание безопасных и эффективных вакцин [4], а также фармакологических методов лечения [5]. Лекарственные

* Корреспонденция: Philipp.Peterburs@bionorica.de

³«Бионорика SE», Кершенштайнерштрассе 11–15, 92318 Ноймаркт, Германия.
Полный список информации об авторах см. в конце статьи

препараты могут специфически воздействовать на вирусные или клеточные структуры-мишени или обеспечивать неспецифическое облегчение симптомов, связанных с COVID-19. В целом, существует острая потребность в эффективных лекарственных средствах против COVID-19 с наименее выраженными побочными эффектами.

Растительные лекарственные средства являются привлекательным вариантом для лечения инфекционных заболеваний и представляют собой важный источник фармакологически активных соединений, что наиболее ярко продемонстрировано Нобелевской премией, присужденной за открытие растительного компонента артемизинина — эффективного средства против малярии [6]. Различным лекарственным растениям приписывают многообещающую противовирусную активность [7]. Растительные лекарственные средства могут оказывать влияние на различные этапы цикла репликации вируса и/или могут стимулировать процессы заживления и регенерации, модулируя иммунный ответ хозяина комбинированным образом. Кроме того, лечение растительными лекарственными средствами хорошо переносится, ввиду редкого развития нежелательных реакций. Многие растительные компоненты, например флавоноиды, терпеноиды, полисахариды или различные гликозилированные метаболиты эффективны против респираторных и воспалительных заболеваний, благодаря прямому противовирусному или противовоспалительному действию. В растительных экстрактах, состоящих из множества молекулярных компонентов, различные механизмы противовирусного действия могут сочетаться и оказывать дополнительный или даже синергетический эффекты [8].

Известно, что многие компоненты присутствующих на рынке растительных лекарственных средств обладают противовирусной активностью или стимулируют механизмы противовирусной защиты [9,10,11]. В рандомизированном клиническом исследовании у детей с острым вирусным тонзиллитом была показана безопасность и хорошая переносимость препарата Тонзилгон Н (Имупрет, BNO 1030), содержащего корень алтея, цветки ромашки, траву хвоща, листья грецкого ореха, траву тысячелистника, кору дуба и траву одуванчика [8, 12]. Также были показаны преимущества препарата Тонзилгон Н в отношении облегчения симптомов у пациентов, инфицированных вирусом Эпштейна-Барр [12]. Также Тонзилгон Н подавлял репликацию респираторно-синцициального вируса (РСВ) в культуре клеток и на животных моделях [13]. Кроме того, имеются обнадеживающие данные о том, что Синупрет® экстракт (BNO-1016), содержащий экстракты корня горечавки, цветков примулы бузины, травы щавеля и травы вербены, является эффективным средством дополнительной терапии острого риносинусита. Этот экстракт значительно уменьшает выраженность острых

симптомов и признаков синусита, как и другие мукоактивные агенты, и характеризуется частотой нежелательных явлений, сравнимой с плацебо [14,15,16,17,18]. На моделях *in vitro* продемонстрирована противовирусная активность препарата Синупрет® против ряда респираторных вирусов человека, включая вирус гриппа А и РСВ [19].

Эти растительные лекарственные средства много лет присутствуют на рынке, отпускаются без рецепта, предназначены для лечения инфекций дыхательных путей и имеют благоприятный профиль безопасности. Тем не менее, ни одно из этих хорошо зарекомендовавших себя, эффективных и безопасных растительных лекарственных средств не было изучено на предмет их активности в отношении SARS-CoV-2, наиболее актуального респираторного патогена в настоящее время. В настоящей публикации представлены данные пилотных экспериментов *in vitro* по оценке потенциала различных растительных экстрактов в отношении подавления SARS-CoV-2.

Методы

Экстракты

Исследованы следующие экстракты («Бионорика СЕ», Ноймаркт-ин-дер-Оберпфальц, Германия):

- Бронхипрет® тимьян-плющ (БПО), экстракты травы тимьяна (*Thymus vulgaris* L. или *Thymus zygis* L.) и листьев плюща (*Hedera helix* L.). БПО представляет собой смесь жидких экстрактов травы тимьяна (экстракционный растворитель: раствор аммиака 10 % (м/м) / глицерин (85 %) (м/м) / этанол 90 % (о/о) / вода (1:20:70:109); коэффициент экстракции (DER): 1:2–2,5) и листьев плюща (экстракционный растворитель: этанол 70 % (о/о); DER: 1:1), аналогично сиропу Бронхипрет® с соотношением жидких экстрактов тимьяна и плюща 10:1. С целью минимизации содержания этанола в тест-системе смесь экстрактов деалкоголизировали ротационным выпариванием до конечного содержания этанола 1 % (о/о). Для контроля потери летучих компонентов с концентратом проведены специальные испытания на подлинность.
- Бронхипрет® тимьян-примула (БПО ТП), экстракт травы тимьяна (*Thymus vulgaris* L. или *Thymus zygis* L.) и корня примулы (*Primula veris* L. или *Primula elatior* (L.) Hill). BROTP представляет собой смесь натуральных сухих экстрактов травы тимьяна (экстракционный растворитель: этанол 70 % (о/о); DER: 6–10:1) и корня примулы (экстракционный растворитель: этанол 47 % (о/о); DER 6–7:1), аналогичных содержащимся в препарате Бронхипрет® ТП таблетки, покрытые пленочной оболочкой, без вспомогательных веществ и с конечным соотношением сухих экстрактов тимьяна/примулы, равным 2,67:1.

- Тонзилгон Н (IMU), 100 г. Тонзилгон Н капли для приема внутрь, содержит: 29 г водно-спиртового экстракта (экстракционный растворитель: этанол 59 % (o/o)) из корня алтея лекарственного (*Althaea officinalis* L.) 0,4 г, цветков ромашки (*Matricaria recutita* L.) 0,3 г, травы хвоща (*Equisetum avense* L.) 0,5 г, листьев грецкого ореха (*Juglans regia* L.) 0,4 г, травы тысячелистника (*Achillea millefolium* L.) 0,4 г, коры дуба (*Quercus robur* L.) 0,2 г, травы одуванчика (*Taraxacum officinale* F.H. Wiggers) 0,4 г. Этанол 19 % (o/o). С целью минимизации содержания этанола в тест-системе смесь экстрактов деалкоголизировали (> 0,5 %, o/o) ротационным выпариванием. Качество деалкоголизированного испытуемого образца по показателю «Количественное определение» соответствовало требованиям для препарата Тонзилгон Н, капли для приема внутрь, что подтверждено результатами испытаний на подлинность и количественным анализом.
- Синупрет® экстракт (SINx), комбинированный натуральный сухой экстракт (BNO 1011) корня горечавки (*Gentiana lutea* L.), цветков примулы (*Primula veris* L.), травы щавеля (*Rumex crispus* L.), цветков бузины (*Sambucus nigra* L.) и травы вербены (*Verbena officinalis* L.) в соотношении 1:3:3:3:3 (экстракционный растворитель: этанол 51 % (o/o); DER 3–6:1), аналогично препарату Синупрет® экстракт, таблетки, покрытые оболочкой, без вспомогательных веществ.
- Тонзипрет® (ТОП), гомеопатическое разведение для приготовления таблеток для лечения тонзиллита, содержащий разведения 37,5 % перца кайенского D3 (*Capsicum annuum* L.), 37,5 % гваякового дерева D3 (*Guaiacum officinale* L./ *Guaiacum sanctum* L.) и 25,0 % матричной настойки фитолакки (*Phytolacca americana* L.). С целью минимизации содержания этанола в тест-системе смесь деалкоголизировали (> 0,5 %, o/o) ротационным выпариванием. Качество деалкоголизированного испытуемого образца соответствовало требованиям для стадии производства растительного лекарственного препарата Тонзипрет®, что подтверждено результатами испытаний на подлинность.

Концентрация этанола в экстрактах БРО, IMU и ТОП была доведена до 0,37 %. Концентрация экстрактов БРО ТП и SINx составляла 100 мг/мл. Экстракты центрифугировали (3 000 × g в течение 10 мин) и стерилизовали путем фильтрации (диаметр пор фильтра 0,22 мкм). Затем концентрацию этанола доводили до 0,37 % с помощью фосфатно-солевого буферного раствора (PBS) с целью получения исходного раствора для экспериментов. Для экспериментов готовили двукратные серийные разведения соответствующего исходного раствора в разведении 1:10 до получения разведения 1:2 560 в среде Игла в модификации Дульбекко (DMEM) с добавками. В качестве растворителя

для контроля использовали этанол той же концентрации, что и в испытуемых образцах.

Клетки и вирусы

Клетки Веро культивировали согласно стандартным процедурам в среде DMEM в атмосфере 5 % CO₂ и при температуре 37 °C. Для экспериментов клетки засеивали в 96-луночные планшеты.

Клетки инфицировали SARS-CoV-2, изолятом CA, при множественности заражения (MOI) 0,05 в течение 24 часов в присутствии одного из растительных экстрактов (серийные двукратные разведения) или растворителя для контроля, промывали и инкубировали еще 24 часа в присутствии растительных экстрактов перед сбором супернатантов клеточных культур и количественным определением вирусной рибонуклеиновой кислоты (РНК) с помощью обратной транскрипции/количественной полимеразной цепной реакции (кПЦР) в реальном времени [20] с использованием системы StepOnePlus™ (Thermo Fisher Scientific) с MS2 для внутреннего контроля.

Токсичность экстрактов оценивали с помощью анализа 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолийбромида (MTT) [21] после инкубации клеток Веро в отсутствие или в присутствии серийных двукратных разведений экстрактов в течение 48 часов. Перед добавлением МТТ клетки промывали и инкубировали в DMEM с добавками, но без растительных экстрактов. Полумаксимальную ингибирующую (IC₅₀) и полумаксимальную цитотоксическую концентрацию (CC₅₀) определяли с помощью GraphPadPrism, версия 8.4.2. Значимой считали токсичность, равную или превышающую 50 %.

Для оценки инактивации вируса вне клеток исходное разведение вируса SARS-CoV-2 (100 мкл), содержащее 4 000 бляшкообразующих единиц (БОЕ), инкубировали при комнатной температуре с выбранными экстрактами (100 мкл) в течение 15 минут или 1 часа, инкубация в PBS в течение 1 часа выступала в качестве контроля. Инкубацию останавливали добавлением 800 мкл DMEM с последующим титрованием на клетках Веро. В этом эксперименте лунки промывали через 2 часа после заражения и инкубировали в отсутствие экстрактов в течение 48 часов. Титры определяли количественно путем определения инфекционной дозы в культуре ткани (TCID₅₀ [22]).

Статистика

Статистические расчеты проводили с использованием логарифмически трансформированных данных вирусной нагрузки в супернатантах клеточных культур, которые сравнивали с разведением 1:2 560 с использованием однофакторного дисперсионного анализа с повторным измерением и множественного сравнения Даннета. Значимыми считались значения p менее 0,05.

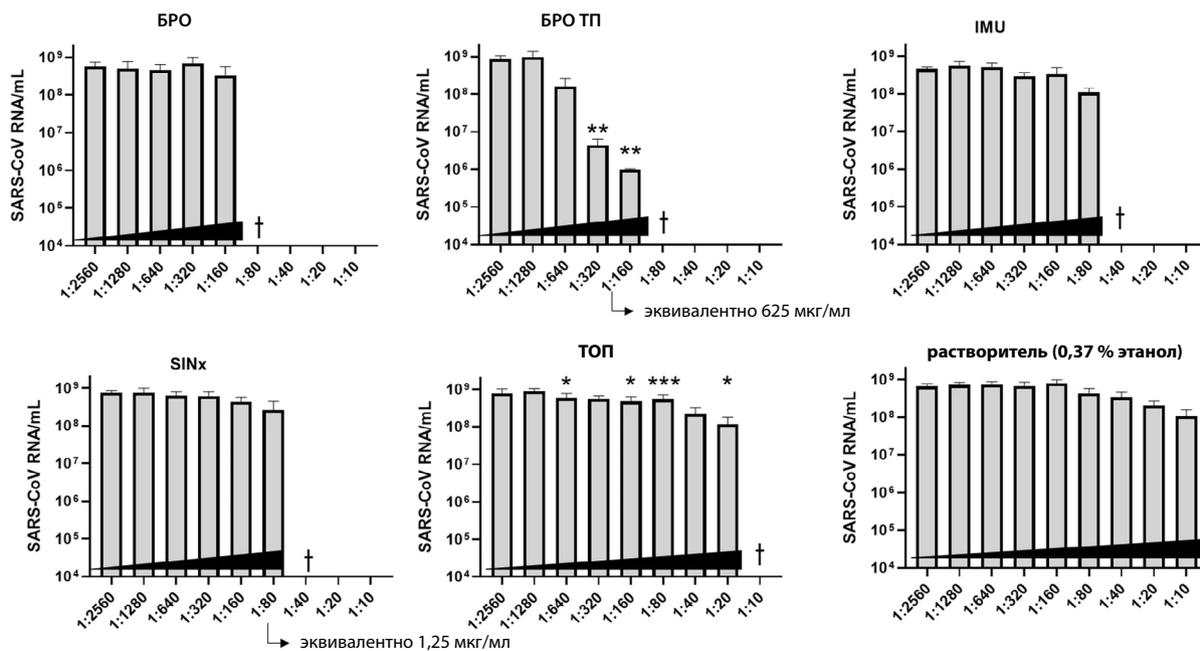


Рисунок 1. Снижение количества копий РНК SARS-CoV-2 под действием растительных экстрактов. Клетки Веро инфицировали SARS-CoV-2 (MOI 0,05) и обрабатывали серийными двукратными разведениями указанных растительных экстрактов или растворителем (0,37 % этанол) в течение 48 часов с последующим определением вирусной РНК в супернатанте (кПЦР). Представлены средние значения трех независимых экспериментов ± ст. ош. Символом крестика («†») обозначены концентрации экстрактов ≥ CC_{50} . БРО ТП и SINx: исходный раствор имел концентрацию 100 мг/мл, следовательно, концентрации в ходе анализа составляла 10 мг/мл (разведение 1:10), 5 мг/мл (1:20), 2,5 мг/мл (1:40), 1,25 мг/мл (1:80), 625 мкг/мл (1:160), 312,5 мкг/мл (1:320), 156,25 мкг/мл (1:640), 78 мкг/мл (1:1280) и 39 мкг/мл (1:2560), соответственно. Статистические расчеты проводили с использованием логарифмически трансформированных данных вирусной нагрузки в супернатантах клеточных культур, которые сравнивали с разведением 1:2 560 с использованием однофакторного дисперсионного анализа с повторным измерением и множественного сравнения Даннета. Значимыми считались значения p менее 0,05

Результаты

Целью описанных в настоящей публикации пилотных экспериментов была оценка потенциала растительных экстрактов в отношении значимого угнетения репликации SARS-CoV-2. Клетки Веро были выбраны в качестве системы культивирования клеток, поскольку они подвержены инфицированию SARS-CoV-2 [23].

Сначала клетки Веро инкубировали с последовательными двукратными разведениями экстрактов в течение 48 часов, чтобы определить, влияют ли они на жизнеспособность клеток. Высокие концентрации экстрактов оказывали дозозависимое токсическое воздействие. Были Определены полумаксимальные цитотоксические концентрации (CC_{50}) в диапазоне от 1:17 (ТОП) до 1:174 (БРО). Токсичность экстрактов также определялась на клетках Веро , инфицированных SARS-CoV-2, и былиполучены сходные результаты со значениями CC_{50} в диапазоне от 1:6,75 (ТОП) до 1:153 (БРО) (таблица 1). Значимой считалась цитотоксичность ≥ 50 %. Следовательно, какие-либо выводы о противовирусном действии экстрактов при концентрациях ≥ CC_{50} не делались. .

Таблица 1. Цитотоксичность растительных экстрактов в клетках Веро . Полумаксимальные цитотоксические концентрации (CC_{50}), определенные с помощью анализа МТТ

	Неинфицирован- ные клетки	Инфицированные клетки
БРО	1:174	1:153
БРО ТП	1:153,5 (651 мкг/мл)	1:156,7 (638 мкг/мл)
IMU	1:94,6	1:73,8
SINx	1:58,9 (1 698 мкг/мл)	1:52,6 (1 901 мкг/мл)
ТОП	1:17	1:6,75
Растворитель (этанол)	1:6,3	1:1,73

Чтобы оценить противовирусную активность экстрактов при нецитотоксических концентрациях, клетки Веро инфицировали SARS-CoV-2 в присутствии серийных двукратных разведений экстрактов или растворителя для контроля. Через 48 часов после инфицирования определяли количество копий вирусной РНК в супернатанте методом кПЦР в режиме реального времени (рисунок 1).

Экстракты БРО и SINx существенно не снижали количество копий вирусной РНК. Снижение количества копий вирусной РНК примерно на один порядок наблюдалось под действием ТОП и IMU в максимальной не токсической концентрации ($< CC_{50}$). ТОП и IMU каждый по отдельности снижали количество копий вирусной РНК до 87 %, что сходно со снижением вирусной нагрузки, наблюдаемой под действием растворителя (этанола) в самом низком разведении. Однако удивительно, что БРО ТП приводил к снижению количества копий вирусной РНК SARS-CoV-2 на три порядка (в 1 000 раз) в зависимости от концентрации в нецитотоксическом диапазоне, что указывает на значительную противовирусную активность (рисунк 1).

Чтобы выяснить, обусловлена ли противовирусная активность БРО ТП прямой инактивацией вируса по сравнению с IMU и ТОП, SARS-CoV-2 инкубировали с соответствующими экстрактами в течение 1 часа. Эта обработка приводила к снижению титров вируса в зависимости от времени до 38 % в случае БРО ТП, до 59 % в случае IMU и до 65 % в случае ТОП по сравнению с инкубацией в буфере PBS в течение 1 часа (таблица 2). Это может указывать на потенциальную вирулицидную активность растительных экстрактов, но не объясняет мощную противовирусную активность БРО ТП при культивировании с инфицированными клетками Веро .

Таблица 2. Инактивация по титрам SARS-CoV-2 вне клеток. Титры SARS-CoV-2 после инкубации с выбранными растительными экстрактами в течение указанного времени. Значения выражены в процентах от титра после обработки PBS в течение 1 часа (=100 %).

	15 мин	1 ч
БРО ТП	88 %	62 %
IMU	60 %	41 %
ТОП	70 %	35 %

Обсуждение результатов

Потенциал активности растительных лекарственных средств в отношении SARS-CoV-2 и COVID-19 очень мало изучен. Тем не менее, в ранних китайских клинических рекомендациях по лечению и сдерживанию новой пандемии рекомендовалось использовать традиционные лекарственные средства, включая препараты растительного происхождения [24]. Одним из примеров растительного компонента, обладающего активностью в отношении вируса, является микро-РНК, экстрагированная из жимолости. Описано угнетение репликации SARS-CoV-2 под действием данной микро-РНК [25]. Прочие исследования метаболитов растений ограничивались главным образом экспериментами *in silico* с использованием таких подходов, как молекулярный докинг, для оценки потенциальной ингибирующей активности хорошо изученных молекул

растительного происхождения в отношении вирусных факторов [26,27,28]. В настоящее время экспериментальные подтверждения противовирусной активности таких метаболитов растительного происхождения практически отсутствуют.

Представленные здесь результаты пилотных экспериментов свидетельствуют о том, что некоторые растительные экстракты (в частности, БРО ТП и, в меньшей степени, IMU и ТОП) могут препятствовать репликации SARS-CoV-2 в клетках Веро . Другие исследованные растительные экстракты (БРО и SINx) не оказали заметного влияния на количество копий РНК вируса SARS-CoV-2 в этой системе. Следовательно, растительные экстракты различаются по своей потенциальной противовирусной активности в культуре клеток, что позволяет предположить, что эффекты определенных экстрактов являются специфическими. Полученные результаты указывают на разную эффективность всех испытуемых образцов в отношении репликации SARS-CoV-2. Это подтверждает достоверность наших результатов, полученных с использованием сложной методологии. Растворитель (этанол) приводил к умеренному снижению количества копий вирусной РНК в максимальной исследованной концентрации (разведение исходного раствора 1:10, что соответствует 0,037 % этанола). Эта концентрация растворителя значительно превышала CC_{50} каждого из исследуемых экстрактов, что с высокой вероятностью исключает то, что противовирусное действие обусловлено растворителем. Прямая инактивация вируса растительными экстрактами была неполной после инкубации в течение 1 часа, что означает, что противовирусный эффект БРО ТП в основном обусловлен влиянием на репликацию вируса и/или клеточную биологию репликации вируса. Таким образом, некоторые растительные экстракты могут обладать потенциалом угнетения репликации SARS-CoV-2 *in vitro*. Растительные лекарственные средства в настоящее время широко применяются для уменьшения выраженности симптомов респираторных заболеваний, таких как риносинусит и простудные заболевания [14,16,29,30,31,32,33,34,35,36,37]. Кроме того, показано, что эти препараты обладают противовоспалительным действием, что может быть полезно при лечении инфекций SARS-CoV-2 [17,30,32,33,34,35,36]. Идентификация молекул растительного происхождения может помочь в определении новых ведущих структур и терапевтических целей для лечения инфекции SARS-CoV-2 в будущем. Компоненты корня примулы могут представлять особый интерес для более детального изучения [31,32,33]. В независимых клинических исследованиях БРО и БРО ТП была показана сопоставимая эффективность при остром бронхите [31,38].

В системе клеточной культуры, использованной для этих пилотных экспериментов, токсичность экстрактов определялась при более высоких концентрациях.

Вероятное объяснение этой цитотоксичности — чувствительность культивируемых клеток к растительным компонентам, таким как терпеноиды и сапонины [39]. Однако на основании многолетнего опыта практического применения в клинических условиях известно, что все исследованные растительные лекарственные средства являются безопасными и вызывают лишь легкие или умеренные нежелательные явления.

Экстракты, исследованные в рамках описанных здесь экспериментов, различаются по составу и содержат ряд потенциально активных веществ, таких как флавоноиды, терпеноиды и полисахариды. В настоящее время непосредственные молекулярные механизмы угнетения репликации SARS-CoV-2 неизвестны. Противовирусная активность может быть объяснена связыванием некоторых из этих компонентов с вирусными белками, что приводит к угнетению проникновения или репликации вируса. Кроме того, нельзя исключить потенциал прямого вирулицидного действия, особенно для ТОП и ИМУ. Насколько известно авторам, до настоящего времени не описано прямое противовирусное действие ни для одного из компонентов ТОП (*Capsicum annuum*, *Guaiacum* и *Phytolacca americana*). Необходимы дальнейшие исследования, чтобы выяснить, является ли угнетение вирусной репликации результатом прямого взаимодействия с вирусом и/или ингибированием определенного вирусного или клеточного белка. Определенные метаболиты, содержащиеся в исследованных растительных экстрактах, такие как лютеолин, кверцетин или апигенин [40], могут связываться с ангиотензин-превращающим ферментом 2 (АПФ2, рецепторприкрепления SARS-CoV-2 к клетке) или с вирусными белками, такими как основная протеаза, тем самым нарушая проникновение или угнетая репликацию вируса соответственно [26,27,28]. Поскольку исследованные растительные лекарственные препараты содержат множество метаболитов, велика вероятность, что их компоненты нацелены на разные стадии репликации вируса и могут действовать синергетически.

Кроме того, противовирусная активность также может быть обусловлена благоприятной модуляцией иммунного ответа, что приводит к уменьшению симптомов. Подобные иммуномодулирующие эффекты трудно оценить на моделях клеточных культур. Таким образом, необходимы исследования *in vivo* для дальнейшего выяснения полного противовирусного потенциала растительных лекарственных средств в отношении SARS-CoV-2. Умеренный противовирусный эффект в культуре клеток

может проявляться в виде более выраженного эффекта *in vivo*.

Наиболее значимым ограничением описанных здесь пилотных экспериментов является то, что результаты, полученные на культуре клеток, невозможно напрямую перенести в клинические условия. Тем не менее, данные результаты являются первыми доказательствами того, что растительные экстракты могут иметь потенциал в отношении угнетения SARS-CoV-2. Все растительные лекарственные средства, исследованные в рамках этих экспериментов, использовались в течение многих лет для симптоматической терапии инфекций дыхательных путей. Эти препараты могут облегчать симптомы COVID-19, особенно при легком течении заболевания, которые обычно характерны для респираторных вирусных инфекций, например, кашель или боль в горле. Растительные препараты способны предотвратить первоначальное распространение вируса в верхних дыхательных путях после контакта с SARS-CoV-2, например, в аэрозоле, где вирусная нагрузка часто невысокая. Очевидно, необходимы дополнительные клинические исследования для дальнейшего выяснения потенциала растительных лекарственных средств в отношении активности против SARS-CoV-2 и облегчения симптомов COVID-19.

Сокращения

CC₅₀ – цитотоксическая концентрация
 COVID-19 – коронавирусная инфекция 2019
 DER – коэффициент экстракции
 DMEM – среда Игла в модификации Дульбекко
 ИМУ – Имупрет®
 MOI – множественность заражения
 МТТ – 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид
 PBS – фосфатно-солевой буферный раствор
 SARS-CoV-2 – коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома 2
 SINx – Синупрет® экстракт
 TCID₅₀ – инфекционная доза в культуре ткани
 АПФ2 – ангиотензин-превращающий фермент 2
 БОЕ – бляшкообразующая единица
 БРО ТП – Бронхипрет® тимьян-примула
 БРО – Бронхипрет® тимьян-плющ
 кПЦР – количественная полимеразная цепная реакция
 РНК – рибонуклеиновая кислота
 РСВ – респираторно-синцитиальный вирус
 Ст. ош. – стандартная ошибка среднего
 ТОП – Тонзипрет®

Благодарности

Авторы благодарят доктора Яна Зайбеля (Jan Seibel) за критическое обсуждение и поправки, особенно в отношении BRO и SINx, в процессе подготовки и проверки. Также авторы выражают признательность компании so.medical (Берлин, Германия) за помощь в подготовке медицинских текстов.

Вклад авторов

Концепция и дизайн экспериментов: B.S., A.G., P.S., P.P. Сбор и анализ данных: M.D.P., A.R., B.S., P.S. Интерпретация данных: B.S., P.S., A.G. Авторы прочли и подтвердили итоговую версию рукописи.

Финансирование

Компания «Бионорика SE» принимала участие в разработке исследования и подготовке рукописи, но не в сборе, анализе и интерпретации данных.

Доступность данных и материалов

Наборы данных, использованные и/или проанализированные в ходе текущего исследования, доступны по запросу у автора, ответственного за переписку.

Заявления**Соблюдение этических норм и согласие на участие**

Не применимо. В данной статье не описываются исследования с использованием тканей животных или человека.

Согласие на публикацию

Не применимо. В данной статье отсутствуют чьи-либо персональные данные.

Конфликт интересов

A.G., A.R., M.D.P., P.S. и B.S. заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Подробная информация об авторах

¹Институт клинической микробиологии и гигиены, Университетская больница Регенсбурга, Регенсбург, Германия. ²Институт медицинской микробиологии и гигиены, университет Регенсбурга, Регенсбург, Германия. ³«Бионорика SE», Кершенштайнерштрассе 11–15, 92318 Ноймаркт, Германия.

Получено: 11 января 2021 г. Принято: 26 февраля 2021 г.

Публикация онлайн: 8 марта 2021 г.

Библиография

1. WHO. Coronavirus disease (COVID-19) pandemic. Numbers at a glance. 2020 [18 Dec 2020]. Available from: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
2. Tay MZP, Rénia CM. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol.* 2020;20(6):363–74.
3. Cevik M, Kuppalli K, Kindrachuk J, Peiris M. Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2. *BMJ.* 2020;371:m3862.
4. Kaur SP, Gupta V. COVID-19 Vaccine: A comprehensive status report. *Virus Res.* 2020;288:198114.
5. Sahebnasagh A, Avan R, Saghafi F, Mojtahedzadeh M, Sadremomtaz A, Arasteh O, et al. Pharmacological treatments of COVID-19. *Pharmacol Rep.* 2020;72(6):1446–78. <https://doi.org/10.1007/s43440-020-00152-9>.
6. Tu Y. The discovery of artemisinin (qinghaosu) and gifts from Chinese medicine. *Nat Med.* 2011;17(10):1217–20.
7. Akram M, Tahir IM, Shah SMA, Mahmood Z, Altaf A, Ahmad K, et al. Antiviral potential of medicinal plants against HIV, HSV, influenza, hepatitis, and coxsackievirus: A systematic review. *Phytother Res.* 2018;32(5):811–22.
8. Popovych V, Koshel I, Malofichuk A, Pyletska L, Semeniuk A, Filippova O, et al. A randomized, open-label, multicenter, comparative study of therapeutic efficacy, safety and tolerability of BNO 1030 extract, containing marshmallow root, chamomile flowers, horsetail herb, walnut leaves, yarrow herb, oak bark, dandelion herb in the treatment of acute non-bacterial tonsillitis in children aged 6 to 18 years. *Am J Otolaryngol.* 2019;40(2):265–73.
9. Kim Y, Narayanan S, Chang KO. Inhibition of influenza virus replication by plant-derived isoquercetin. *Antiviral Res.* 2010;88(2):227–35.
10. Kashiwada Y, Aoshima A, Ikeshiro Y, Chen YP, Furukawa H, Itoigawa M, et al. Anti-HIV benzyloisoquinoline alkaloids and flavonoids from the leaves of *Nelumbo nucifera*, and structure-activity correlations with related alkaloids. *Bioorg Med Chem.* 2005;13(2):443–8.
11. Karimi A, Moradi MT, Saeedi M, Asgari S, Rafeian-Kopaei M. Antiviral activity of *Quercus persica* L.: High efficacy and low toxicity. *Adv Biomed Res.* 2013;2:36.
12. Popovich VI, Koshel IV. Dysbiosis of the nasopharynx in chronic adenoiditis associated with Epstein-Barr virus infection. The possibilities of its correction to determine the indications for adenotomy. *Rynolohyya.* 2015;2015(1):20–9.
13. Wosikowski K, Seifert S, Melnykov O, Haunschild J. Imupret® inhibits respiratory syncytial virus replication and displays *in vitro* and *in vivo* immunomodulatory properties. *Planta Med.* 2013;79:PB48.
14. Jund R, Mondigler M, Steindl H, Stammer H, Stierna P, Bachert C. Clinical efficacy of a dry extract of five herbal drugs in acute viral rhinosinusitis. *Rhinology.* 2012;50(4):417–26.
15. Jund R, Mondigler M, Steindl H, Stammer H, Stierna P, Bachert C. Clinical efficacy of a herbal drug combination in acute viral rhinosinusitis. *MMW Fortschritte der Medizin.* 2015;157(157 Suppl 4):6–11.
16. Jund R, Mondigler M, Stammer H, Stierna P, Bachert C. Herbal drug BNO 1016 is safe and effective in the treatment of acute viral rhinosinusitis. *Acta Oto-Laryngologica.* 2015;135(1):42–50.
17. Seibel J, Pergola C, Werz O, Kryshen K, Wosikowski K, Lehner MD, et al. Bronchipret® syrup containing thyme and ivy extracts suppresses bronchoalveolar inflammation and goblet cell hyperplasia in experimental bronchoalveolitis. *Phytomedicine.* 2015;22(13):1172–7.
18. Melzer J, Saller R, Schapowal A, Brignoli R. Systematic review of clinical data with BNO-101 (Sinupret) in the treatment of sinusitis. *Forschende Komplementarmedizin (2006).* 2006;13(2):78–87.
19. Glatthaar-Saalmüller B, Rauchhaus U, Rode S, Haunschild J, Saalmüller A. Antiviral activity *in vitro* of two preparations of the herbal medicinal product Sinupret® against viruses causing respiratory infections. *Phytomedicine.* 2011;19(1):1–7.
20. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020;25(3):2000045.
21. Cory AH, Owen TC, Barltrop JA, Cory JG. Use of an aqueous soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth assays in culture. *Cancer Commun.* 1991;3(7):207–12.
22. Reed LJ, Muench H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *Am J Epidemiol.* 1938;27(3):493–7.
23. Jureka AS, Silvas JA, Basler CF. Propagation, inactivation, and safety testing of SARS-CoV-2. *Viruses.* 2020;12(6):622.

24. Jin YH, Cai L, Cheng ZS, Cheng H, Deng T, Fan YP, et al. A rapid advice guideline for the diagnosis and treatment of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infected pneumonia (standard version). *Military Med Res.* 2020;7(1):4.
25. Zhou LK, Zhou Z, Jiang XM, Zheng Y, Chen X, Fu Z, et al. Absorbed plant MIR2911 in honeysuckle decoction inhibits SARS-CoV-2 replication and accelerates the negative conversion of infected patients. *Cell Discov.* 2020;6:54.
26. Khare P, Sahu U, Pandey SC, Samant M. Current approaches for target-specific drug discovery using natural compounds against SARS-CoV-2 infection. *Virus Res.* 2020;290:198169.
27. Mani JS, Johnson JB, Steel JC, Broszczak DA, Neilsen PM, Walsh KB, et al. Natural product-derived phytochemicals as potential agents against coronaviruses: A review. *Virus Res.* 2020;284:197989.
28. Sharma A, Vora J, Patel D, Sinha S, Jha PC, Shrivastava N. Identification of natural inhibitors against prime targets of SARS-CoV-2 using molecular docking, molecular dynamics simulation and MM-PBSA approaches. *J Biomol Struct Dynamics.* 2020:1–16. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1846624>.
29. Holzinger F, Chenot JF. Systematic review of clinical trials assessing the effectiveness of ivy leaf (*hedera helix*) for acute upper respiratory tract infections. *Evid-Based Complemen Alter Med.* 2011;2011:382789.
30. Müller M, Sewald K, Braun A, Haunschild J, Seibel J. Anti-inflammatory efficacy of the herbal medicinal product Bronchipret® tablets in murine respiratory syncytial virus lung infection. *Keystone Symposia; Keystone* 2014.
31. Kemmerich B. Evaluation of efficacy and tolerability of a fixed combination of dry extracts of thyme herb and primrose root in adults suffering from acute bronchitis with productive cough. A prospective, double-blind, placebo-controlled multicentre clinical trial. *Arzneimittelforschung.* 2007;57(9):607–15.
32. Seibel J, Kryshen K, Pongrácz JE, Lehner MD. *In vivo* and *in vitro* investigation of anti-inflammatory and mucus-regulatory activities of a fixed combination of thyme and primula extracts. *Pulm Pharmacol Ther.* 2018;51:10–7.
33. Seibel J, Wonnemann M, Werz O, Lehner MD. A tiered approach to investigate the mechanism of anti-inflammatory activity of an herbal medicinal product containing a fixed combination of thyme herb and primula root extracts. *Clin Phytosci.* 2018;4(1):4.
34. Cho DY, Skinner D, Mackey C, Lampkin HB, Elder JB, Lim DJ, et al. Herbal dry extract BNO 1011 improves clinical and mucociliary parameters in a rabbit model of chronic rhinosinusitis. *Int Forum Allergy Rhinol.* 2019;9(6):629–37.
35. Rossi A, Dehm F, Kiesselbach C, Haunschild J, Sautebin L, Werz O. The novel Sinupret® dry extract exhibits anti-inflammatory effectiveness *in vivo*. *Fitoterapia.* 2012;83(4):715–20.
36. Kreindler JL, Chen B, Kreitman Y, Kofonow J, Adams KM, Cohen NA. The novel dry extract BNO 1011 stimulates chloride transport and ciliary beat frequency in human respiratory epithelial cultures. *Am J Rhinol Allergy.* 2012;26(6):439–43.
37. Zupanets IA, Shebeko SK, Popovych VI, Zimin SM. Study of the anti-inflammatory effect of the combined extract BNO 1016 in a leukotriene-dependent *in vivo* inflammation model. *Clin Phytosci.* 2020;6(1):7.
38. Kemmerich B, Eberhardt R, Stammer H. Efficacy and tolerability of a fluid extract combination of thyme herb and ivy leaves and matched placebo in adults suffering from acute bronchitis with productive cough. A prospective, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Arzneimittelforschung.* 2006;56(9):652–60.
39. EMA. Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC) Assessment report on *Juglans regia* L., folium. 9 July 2013. EMA/HMPC/346740/2013 [3 Dec 2020]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/final-assessment-report-juglans-regia-l-folium_en.pdf
40. EMA. Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC) Assessment report on *Matricaria recutita* L., flos and *Matricaria recutita* L., aetheroleum. 7 July 2015. EMA/HMPC/55837/2011 2015 [3 Dec 2020]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/final-assessment-report-matricaria-recutita-l-flos-matricaria-recutita-l-aetheroleum_en.pdf.

Примечание от издателя

Springer Nature сохраняет нейтралитет относительно заявлений о компетенциях в опубликованных картах и указанных принадлежностей к учреждениям.

Отправьте свою статью в журнал SpringerOpen[®] и воспользуйтесь преимуществами:

- ▶ удобная подача онлайн,
- ▶ тщательное рецензирование,
- ▶ открытый доступ: статьи бесплатно доступны онлайн,
- ▶ высокая узнаваемость в отрасли,
- ▶ сохранение авторских прав на статью.

Подайте свою следующую рукопись на веб-сайте ▶ springeropen.com