

Antivirale Eigenschaften des Extrakts aus *Cistus x incanus* L. Pandalis auch bei SARS-CoV-2 nachgewiesen

Antiviral properties of *Cistus x incanus* L. Pandalis extract also confirmed for SARS-CoV-2

Jens-Martin Träder^{1*}

¹Prof. Dr. med. Jens-Martin Träder
Institut für Allgemeinmedizin Universität zu Lübeck
Ratzeburger Allee 160, 23538 Lübeck
E-Mail: traeder@posteo.de

*Die in-vitro-Untersuchungen wurden am Fraunhofer Institut für Zelltherapie und Immunologie Leipzig (IZI) durchgeführt

Abstract (deutsch)

Da es noch keine zuverlässige Therapie oder einen zugelassenen Impfstoff gegen SARS-CoV-2 gibt, haben wir uns in der Forschung darauf konzentriert, vielversprechende Substanzen zu finden, die bereits verfügbar und zugelassen sind und denen man prophylaktische oder therapeutische Effekte nachweisen kann. In dieser Studie soll untersucht werden, ob das pflanzliche Präparat Cystus Pandalis[®] in vitro antivirale Eigenschaften gegen SARS-CoV-2 aufweist. Es hat sich bereits gegen mehrere andere Viren als wirksam erwiesen. Am Fraunhofer Institut für Zelltherapie und Immunologie (IZI) in Leipzig wurden Zellkulturen unter Anwendung von Cystus Pandalis[®]-Extrakt mit SARS-CoV-2 infiziert. Die Reduktion des Viruswachstums der Verumgruppe wurde mit dem Wachstum einer nicht behandelten Viruskultur durch den Vergleich von fokusbildenden Einheiten bewertet. Eine fast vollständige Hemmung des Viruswachstums durch Cystus Pandalis[®]-Extrakt wurde bei Konzentrationen von mehr als 15,6 µg/ml mit einer berechneten EC₅₀ von 1,94 µg/ml beobachtet. Der genaue Mechanismus dieses Extraktes beruht höchstwahrscheinlich auf einer Wirkung der hochpolymeren Polyphenole, die möglicherweise bestimmte virale Epitope umhüllen, wodurch Cystus Pandalis[®] als Eintrittsinhibitor wirkt. Aufgrund der hohen In-vitro-Aktivität erscheint es sinnvoll, Cystus Pandalis[®] als Prophylaxe gegen Infektionen mit SARS-CoV-2 einzusetzen. Um eine klinische Anwendung zu testen, sollte eine Feldstudie in einem Gebiet mit hohen Infektionsraten durchgeführt werden.

Schlüsselwörter: SARS-CoV-2, Covid-19, Cystus Pandalis®, Cistus incanus, Phytotherapie

Abstract (english)

Since there is no reliable therapy or approved vaccine against SARS-CoV-2 yet, research is focused on finding promising substances with prophylactic or therapeutic efforts that are already available. This study aims to investigate whether the herbal preparation Cystus Pandalis® shows antiviral properties against SARS-CoV-2 in vitro. It has previously been shown to be effective against several other viruses. At Fraunhofer Institute for Cell Therapy and Immunology in Leipzig (IZI), cell cultures had been infected with SARS-CoV-2 under the application of Cystus Pandalis® extract. We evaluated the reduction of virus growth by comparing foci forming units. An almost complete inhibition of virus growth by Cystus Pandalis® extract was observed at concentrations higher than 15.6 µg/ml with a calculated EC₅₀ of 1.94 µg/ml. The exact mechanism of this extract probably relies on an effect of the high polymeric polyphenols coating certain viral epitopes, by which Cystus Pandalis® acts as an entry inhibitor. Based on the high in vitro activity, it appears reasonable to use Cystus Pandalis® as a prophylaxis against infections with SARS-CoV-2. In order to test a clinical application, a field study in an area with high infection rates should be conducted.

Keywords: SARS-CoV-2, Covid-19, Cystus Pandalis®, Cistus incanus, Phytotherapy

Einleitung

Das Virus SARS-CoV-2, das derzeit weltweit zirkuliert, stellt die Menschen und das Gesundheitssystem vor große Herausforderungen. Seit der ersten Beobachtung einer Lungenentzündung unbekannter Ursache, die im Dezember 2019 in der chinesischen Stadt Wuhan begann, hat sich das neuartige Virus innerhalb weniger Monate weltweit verbreitet [1]. Das Pandemievirus gehört zur Familie der Coronaviren (Coronaviridae), zu der häufige Humanpathogene gehören; zwei Typen von Alphacoronaviren (229E und NL63) und zwei Typen von Betacoronaviren (OC43 und HKU1) zirkulieren beim Menschen und verursachen Erkältungen. In der Vergangenheit haben für den Menschen pathogenere Typen von Betacoronaviren bereits zu Epidemien oder Pandemien geführt. Dazu gehört die SARS-Pandemie 2002/2003, bei der insgesamt 8.096 Menschen mit SARS-CoV infiziert wurden, 774 davon starben [2]. Im Jahr 2012 wurde MERS-CoV erstmals in Saudi-Arabien bei einem infizierten Patienten festgestellt. Von dort entwickelte sich eine Epidemie, bei der sich zwischen 2012 und dem 31. Januar 2020 insgesamt 2.519 Menschen mit MERS-CoV infizierten, von denen 866 starben [3]. Wie alle Coronaviren ist SARS-CoV-2 ein behülltes

Virus mit einem einzelsträngigen RNA-Genom positiver Polarität von 29.903 Nukleotiden [4]. SARS-CoV-2-Partikel sind aus den vier Strukturproteinen S, M, N und E aufgebaut [5]. Seit dem Ausbruch der Pandemie wurden verschiedene Therapieversuche mit bereits zugelassenen Medikamenten durchgeführt. Gegenwärtig gibt es jedoch weder ein zugelassenes Medikament gegen SARS-CoV-2-Infektionen noch eine zuverlässige Behandlungsoption für die entsprechende Krankheit COVID-19.

Cystus Pandalis[®]-Extrakt ist ein pflanzliches Präparat, das auf der Varietät der Graubehaarten Zistrose *Cistus × incanus* L. Pandalis basiert, die nur in einem begrenzten Gebiet Nordgriechenlands vorkommt. *Cistus × incanus* L. ist ein gutes Beispiel für die adaptive Radiation, bei der sich Pflanzen je nach Standort sehr spezifisch anpassen. So weist die gleiche Pflanzenart an einem anderen Standort mit unterschiedlichen Umweltbedingungen unterschiedliche biochemische Eigenschaften auf [6]. *Cistus × incanus* L. ist ein Chamaephyt mit einer Wuchshöhe von bis zu 1 Meter, graugrünen, sehr behaarten Blättern und rosa-violetten Blüten. *Cistus × incanus* L. ist ein natürlicher Hybrid aus *Cistus albidus* und *Cistus crispus* und kommt hauptsächlich im östlichen Mittelmeerraum vor. Aufgrund ihres ähnlichen Habitus wird die Graubehaarte Zistrose (*Cistus × incanus* L.) gelegentlich mit der Kretischen Zistrose (*Cistus creticus* L.) verwechselt, die jedoch nicht die entsprechenden Merkmale aufweist [7]. *Cistus × incanus* L. wird in der traditionellen Volksmedizin seit dem 4. Jahrhundert v. Chr. wegen ihrer entzündungshemmenden, antiulzerogenen, antimikrobiellen und wundheilenden Eigenschaften verwendet [8]. Vor allem in Nordgriechenland wurden traditionell alle oberirdischen Teile der Pflanze, bestehend aus verholzten Stängeln, Blättern und Blüten, therapeutisch genutzt [9]. Darüber hinaus ist *Cistus × incanus* L. reich an Polyphenolen, insbesondere an hochpolymeren Polyphenolen, während der Anteil an monomeren Polyphenolen weniger als 2 % beträgt [10]. Offenbar ist nicht nur die Menge der Polyphenole, sondern auch das spezifische Polyphenolmuster entscheidend für seine antiviralen Eigenschaften.

Cystus Pandalis[®]-Extrakt wurde seit der "Vogelgrippe" (Influenza A H5N1) mit bemerkenswerten Ergebnissen auf sein antivirales Potenzial untersucht. Tatsächlich zeigten mehrere Studien, dass die antivirale Wirkung nicht auf einen bestimmten Subtyp des Influenzavirus beschränkt ist, da alle getesteten Influenzaviren empfindlich waren. Daher war Cystus Pandalis[®] wirksam gegen H5N1, H7N1, aber auch gegen das pandemische H1N1 und andere Typen von Influenza-A-Viren [10-12]. Zusätzlich zu den Influenzaviren wurde auch in vitro bestätigt, dass der Cystus Pandalis[®]-Extrakt gegen humane Rhinoviren (HRV14) [10], Adenoviren [13], HI-Viren [14], Ebola-Viren [14] und Marburg-Viren [14] wirksam ist. In einer plazebokontrollierten klinischen Studie wurde der Cystus Pandalis[®]-Extrakt auch unter praktischen Bedingungen untersucht. Teilnehmer, die an einer akuten Atemwegsinfektion litten, erhielten täglich 6 x 2 Cystus Pandalis[®] in Form von Lutschtabletten. Sowohl die

subjektiven Krankheitssymptome als auch der CRP-Wert (C-reaktives Protein) nahmen in der Verumgruppe signifikant schneller ab, was auf eine verkürzte Infektionsdauer hinweist [15]. In einer kürzlich durchgeführten retrolektiven Studie, die den Zusammenhang zwischen der Anwendung von Cystus Pandalis[®]-Extrakt und dem Auftreten von COVID-19 untersuchte, verwendeten 125 Freiwillige mindestens 6 Wochen lang Cystus Pandalis[®]-Extrakt in Form von Lutschtabletten (3 x 2 täglich). Bis zum Ende der Studie hatte sich keiner der Teilnehmer mit SARS-CoV-2 infiziert. Besonders interessant ist, dass Familienangehörige, die im Haus von 9 Teilnehmern lebten, zwar COVID-19 entwickelten, die Teilnehmer selbst aber bei der Anwendung von Cystus-Pandalis[®]-Extrakt nicht infiziert wurden [16].

Im Hinblick auf die bereits nachgewiesene antivirale Aktivität gegen andere Viren soll in dieser Studie die Frage untersucht werden, ob der Cystus Pandalis[®]-Extrakt antivirale Eigenschaften gegen das Virus SARS-CoV-2 aufweist und daher als Prophylaktikum in der aktuellen Pandemie eingesetzt werden könnte. Zu diesem Zweck wird untersucht, ob der Extrakt das Potenzial hat, das Viruswachstum von SARS-CoV-2 in vitro wirksam zu reduzieren.

Material & Methoden

Um die antivirale Aktivität eines Pflanzenextrakts gegen SARS-CoV-2 zu untersuchen, wurde ein zellkulturbasiertes Infektionsmodell verwendet. Die Untersuchungen wurden am Fraunhofer Institut für Zelltherapie und Immunologie in Leipzig (IZI) durchgeführt.

Zellkultur und Pflanzenextrakte. Als Zelllinie für das Infektionsmodell wurden Vero E6-Zellen verwendet; als Virus wurde SARS-CoV-2 verwendet (Isolat Beta/CoV/Deutschland/BavPat1/2020 S.1, erhalten aus dem European Virus Archive Global, EVAg). Alle Experimente mit dem Virus wurden in der BSL-3-Anlage des Fraunhofer IZI durchgeführt. Der in trockener Form von Dr. Pandalis Urheimische[®] Medizin GmbH & Co. KG (Cystus Pandalis[®]) zur Verfügung gestellte Pflanzenextrakt (Cystus Pandalis[®]) wurde mit sterilem H₂O in einer 50 ml Stammlösung von 10 mg/ml gelöst und bis zum Beginn der Versuche bei 4 °C gelagert.

Vero E6-Zellen wurden in 96-Well-Platten ausgesät (ca. 25.000 in 0,2 ml Medium pro Well). Einen Tag nach der Aussaat wurde 1 ml gelöster Pflanzenextrakt in ein frisches Fläschchen überführt und 15 Minuten lang bei 99 °C in einem Heizblock unter Vortexen alle 5 Minuten inkubiert. Direkt nach dem Erhitzen wurde eine serielle Verdünnung in Assaymedium (DMEM ohne FCS + 1 % Penicillin/Streptomycin) hergestellt, die zu Endkonzentrationen von 250 µg/ml, 125 µg/ml, 62,5 µg/ml, 31,25 µg/ml, 15,6 µg/ml und 0 µg/ml führte. In einem Sekundärexperiment wurden weitere Konzentrationen von 16 µg/ml, 8 µg/ml, 4 µg/ml, 2 µg/ml, 1 µg/ml, 0,5 µg/ml und 0 µg/ml getestet.

Infektion mit SARS-CoV-2. Die Infektion mit SARS-CoV-2 wurde in zwei Versuchsanordnungen durchgeführt. Variante 1 (Zellen+Pflanzenextrakt dem Virus zugesetzt): Von den Vero E6-Zellen wurde Medium entfernt und die Zellen wurden einmal mit PBS (phosphatgepufferte Kochsalzlösung) gewaschen. 50 µl/Well des verdünnten Pflanzenextrakts wurden den Zellen in Triplikaten zugegeben, und die Platten wurden für 10-15 Minuten bei Raumtemperatur (RT) inkubiert. SARS-CoV-2 enthaltender Zellkulturüberstand P3 (ca. 1×10^5 FFU [fokusbildende Einheiten]/ml) wurde 1:50 in Testmedium verdünnt, was zu einer Endkonzentration von ca. 100 FFU/Well führte. 50 µl des verdünnten Virus wurden in jedes Well pipettiert; negative Kontrollzellen erhielten Testmedium ohne Virus. Variante 2 (Virus+Pflanzenextrakt den Zellen zugesetzt): 50 µl/Well des verdünnten Pflanzenextrakts wurden in 96 Wells in Triplikaten pipettiert. SARS-CoV-2 mit Zellkulturüberstand P3 (ca. 1×10^5 FFU/ml) wurde 1:50 in Testmedium verdünnt, was zu einer Endkonzentration von ca. 100 FFU/Well führte. 50 µl/Well des verdünnten Virus wurden den Pflanzenextrakten zugesetzt. Die Platten wurden durch Schütteln gemischt, mit Klebefilm verschlossen und für 1 Stunde bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert. Von den Vero E6-Zellen wurde das Medium entfernt, die Zellen wurden einmal mit PBS gewaschen und das Virus/Pflanzenextrakt-Gemisch auf die Zellen übertragen; die negativen Kontrollzellen erhielten Testmedium ohne Virus. Nach Infektion mit SARS-CoV-2 durch Variante 1 oder 2 wurden Platten mit Inokulum durch Schütteln gemischt, 1 Stunde bei 37 °C und 5 % CO₂ bebrütet und das Inokulum entfernt. Danach wurden die Zellen mit 125 µl/Wells-Overlay-Medium (1 % Methylcellulose in DMEM + 2 % FCS) versetzt und die Zellen ca. 40 Stunden bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert. Als Positivkontrolle wurde die Infektion von Vero E6-Zellen mit SARS-CoV-2 in Medium ohne Zugabe des Pflanzenextraktes durchgeführt.

Fixierung und Antikörperfärbung. Das Overlay-Medium wurde entfernt, die Zellen wurden mit 200 µl/Well 4 % Formaldehyd in PBS für 20 Minuten bei RT fixiert und 4 Mal mit 200 µl/Well PBS gewaschen. Anschließend wurden die Zellen mit 150 µl/Well PermWash (PBS mit 0,1 % Saponin und 0,1 % BSA) über Nacht bei 4 °C permeabilisiert und blockiert. Die Blockierungslösung wurde entfernt, die Zellen wurden mit 50 µl/Well des verdünnten ersten Antikörpers für 2 Stunden bei RT inkubiert (1. Antikörper: *Anti-SARS-CoV-2 Spike-Glycoprotein S1 antibody CR3022 (ab273073)* 1:2000 in PermWash verdünnt) und dann 3 Mal mit 150 µl/Well PermWash gewaschen. Die Zellen wurden mit 50 µl/Well des verdünnten sekundären Antikörpers 2 Stunden lang bei RT inkubiert (2. Antikörper: *goat-anti-human-IgG HRP (Dianova, Nr. 109-035-088)* 1:1000 in PermWash verdünnt) und dann 3 Mal mit 150 µl/Well PermWash gewaschen. Zum Nachweis von Foci wurden die Zellen mit 50 µl/Well TrueBlue-Lösung (KPL, Seracare) für 15 Minuten bei RT inkubiert und dann 2-mal mit 200 µl/Well H₂O gewaschen. Anschließend wurden die Foci auf den getrockneten Platten mit

einem ELISPOT-Reader (AID) gezählt und die Focus bildenden Einheiten für jede Verdünnung der Pflanzenextrakte berechnet.

Ergebnisse

Um zu untersuchen, ob und in welcher Konzentration von Cystus Pandalis[®]-Extrakt eine antivirale Aktivität gegen SARS-CoV-2 beobachtet werden kann, wurden die Ergebnisse des zellkulturbasierten Infektionsmodells ausgewertet. Dazu wurden die detektierten Focus bildenden Einheiten (*focus forming units*; FFU) in Abhängigkeit von der Konzentration des Extraktes gezählt und verglichen.

Die Infektion mit SARS-CoV-2 wurde in zwei Versuchsanordnungen durchgeführt (Variante 1 (n=2): Virus+Extrakt den Zellen zugesetzt; Variante 2 (n=4): Zellen+Extrakt dem Virus zugesetzt), um zu analysieren, ob das Versuchsverfahren einen Einfluss auf die antivirale Aktivität des Cystus Pandalis[®]-Extrakts gegen SARS-CoV-2 hatte. Die Ergebnisse zeigten jedoch keinen Unterschied in der Menge der nachgewiesenen Foci zwischen diesen beiden Varianten. In beiden Experimenten wurde bereits bei der niedrigsten getesteten Konzentration des Cystus-Pandalis[®]-Extrakts von 15,6 µg/ml eine signifikante Reduktion von FFU beobachtet (**Abb. 1**).

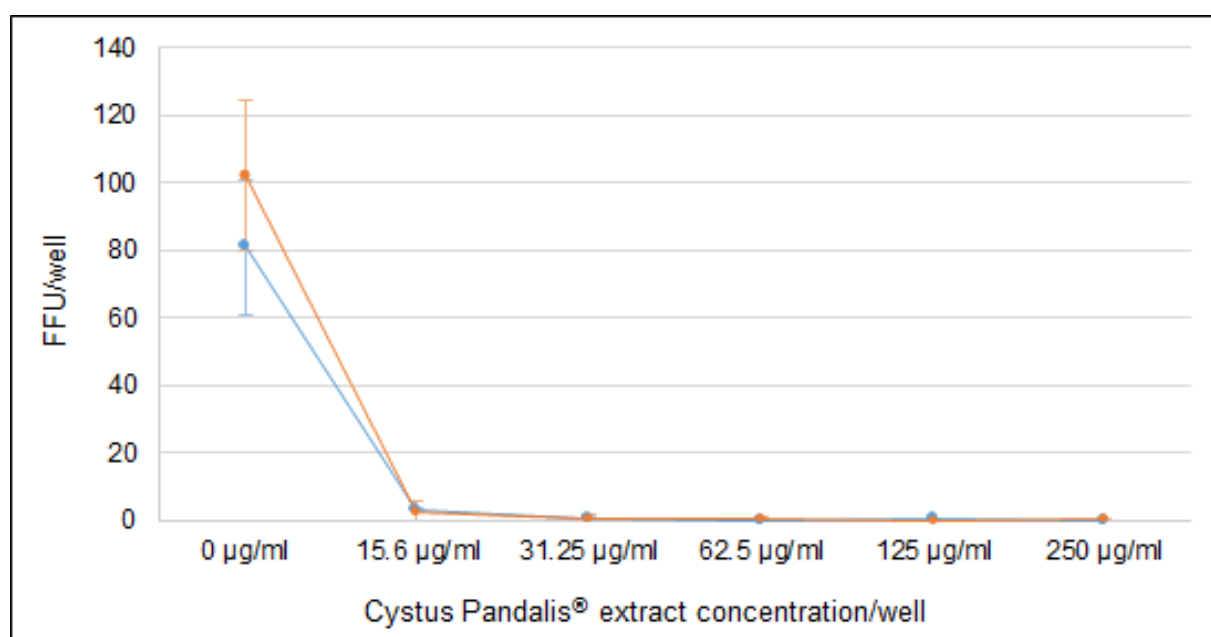


Abbildung 1: Reduktion des Viruswachstums in Abhängigkeit von der Cystus Pandalis[®]-Extraktkonzentration. Anzahl der nachgewiesenen FFU/Well (focus forming units=FFU) in Abhängigkeit von der getesteten Konzentration des Cystus Pandalis[®]-Extrakts nach Infektion von Vero E6-Zellen mit SARS-CoV-2 durch Versuchsvariante 1 (Virus+Extrakt den Zellen zugesetzt; n=2; blau) oder Variante 2 (Zellen+Extrakt dem Virus zugesetzt; n=4; orange) (Mittelwert und Standardabweichung).

In Zellen, die mit SARS-CoV-2 gemäß Variante 1 infiziert wurden, betrug die Anzahl der FFU/Well ohne Zugabe des Extrakts (0 µg/ml) $80,85 \pm 20,01$ FFU/Well (Mittelwert \pm Standardabweichung), während bei der niedrigsten getesteten Extraktkonzentration von 15,6 µg/ml $3,15 \pm 0,21$ FFU/Well nachgewiesen wurden. Bei höheren Extraktkonzentrationen war die Anzahl der nachgewiesenen FFU/Well sogar noch geringer (31,25 µg/ml: $0,5 \pm 0,71$ FFU/Well; 62,5 µg/ml: 0 ± 0 FFU/Well; 125 µg/ml: $0,15 \pm 0,21$ FFU/Well; 250 µg/ml: 0 ± 0 FFU/Well) (**Abb. 1** blaue Datenpunkte).

In mit SARS-CoV-2 gemäß Variante 2 infizierten Zellen betrug die Anzahl FFU/Well ohne Zugabe des Extraktes (0 µg/ml) $102,23 \pm 22,29$ FFU/Well, während bei der niedrigsten getesteten Extraktkonzentration von 15,6 µg/ml $2,35 \pm 3,17$ FFU/Well nachgewiesen wurden. Bei höheren Extraktkonzentrationen war die Anzahl der nachgewiesenen FFU/Well sogar noch geringer (31,25 µg/ml: $0,5 \pm 1$ FFU/Well; 62,5 µg/ml: $0,5 \pm 0,44$ FFU/Well; 125 µg/ml: 0 ± 0 FFU/Well; 250 µg/ml $0,18 \pm 0,35$ FFU/Well) (**Abb. 1** orangene Datenpunkte).

Bei der höchsten getesteten Konzentration von 250 µg/ml Cystus Pandalis[®]-Extrakt konnten schwache toxische Wirkungen beobachtet werden, die durch Zellablösung angezeigt wurden.

Eine signifikante Reduktion des Viruswachstums wurde dabei bereits bei 15,6 µg/ml Cystus Pandalis[®]-Extrakt beobachtet, unabhängig davon, ob das Virus oder die Zellen zuerst mit dem Extrakt inkubiert wurden. Deshalb wurden in einem Sekundärexperiment noch niedrigere Extraktkonzentrationen getestet, um einen EC₅₀-Wert zu berechnen und die Konzentration zu bestimmen, bei der dieser Effekt auf das Viruswachstum einsetzt. Die Infektion von Zellen mit SARS-CoV-2 wurde in diesem sekundären Experiment nur als Variante 2 (Zellen+Extrakt dem Virus zugesetzt; n=2) durchgeführt.

Die Ergebnisse des zweiten Experiments zeigten deutlich eine Abhängigkeit der Reduktion des Viruswachstums von der Konzentration des Cystus Pandalis[®]-Extrakts (**Abb. 2**). Ohne Zugabe des Extraktes (0 µg/ml) wiesen die infizierten Zellen $97,45 \pm 37,83$ FFU/Well auf. Bei einer Konzentration des Extrakts von 0,5 µg/ml wurden $89,25 \pm 28,35$ FFU/Well und bei einer Konzentration von 1 µg/ml wurden $95,1 \pm 33,38$ FFU/Well nachgewiesen. Bei einer Konzentration des Extrakts von 2 µg/ml wurden $46,75 \pm 5,3$ FFU/Well und bei einer Konzentration des Extrakts von 4 µg/ml wurden $12,1 \pm 4,1$ FFU/Well nachgewiesen. Bei einer Konzentration von 8 µg/ml wurden $9,9 \pm 5,8$ FFU/Well und bei einer Konzentration von 16 µg/ml wurden $4,5 \pm 1,7$ FFU/Well nachgewiesen.

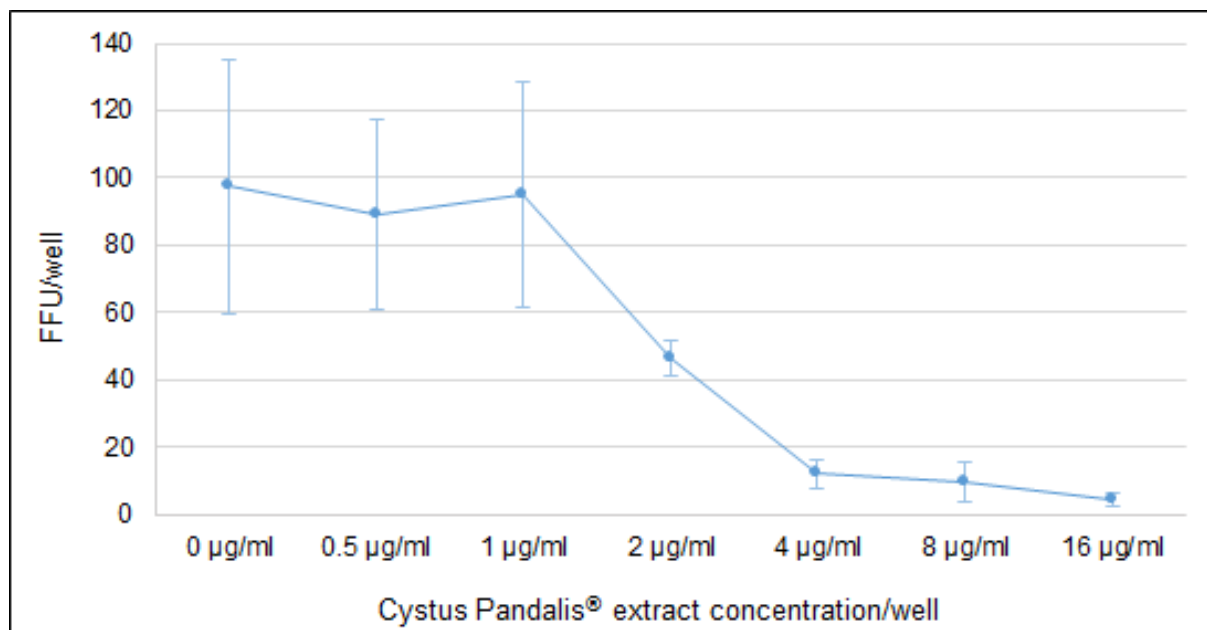


Abbildung 2: Reduktion des Viruswachstums in Abhängigkeit von der Cystus Pandalis®-Extraktkonzentration. Anzahl der nachgewiesenen FFU/Well (focus forming units=FFU) in Abhängigkeit von der getesteten Konzentration des Cystus Pandalis®-Extrakts nach Infektion von Vero E6-Zellen mit SARS-CoV-2 (Mittelwert und Standardabweichung; n=2).

Basierend auf diesen Ergebnissen wurde der EC_{50} -Wert für eine Hemmung des Viruswachstums durch Cystus Pandalis®-Extrakt mit 1,94 µg/ml ermittelt.

Diskussion

Cystus Pandalis®-Extrakt hemmt das Viruswachstum von SARS-CoV-2 in einem Zellkultur-in-vitro-Modell. Bemerkenswert ist, dass dieser Effekt auf die Wachstumshemmung bei einem EC_{50} von nur 1,94 µg/ml gegen SARS-CoV-2 beobachtet wurde, was auf eine noch größere Wirksamkeit als gegen alle anderen bisher getesteten Viren hinweist. Bei Influenza-A-Viren war die EC_{50} mehr als 10-mal höher (Ø 25,12 µg/ml), in einigen Fällen sogar 40-mal höher (76,22 µg/ml) [11]. Auch bei HIV-1 (Ø 9,08 µg/ml), HIV-2 (14,05 µg/ml), Ebola-Virus (5,2 µg/ml) und Marburg-Virus (4,7 µg/ml) war die EC_{50} ebenfalls höher [14].

Bislang ist unklar, auf welchem genauen Mechanismus dieser Effekt beruht. Es scheint jedoch weder auf einer viruziden Wirkung noch auf einem konventionellen Desinfektionsmechanismus zu beruhen. Wahrscheinlicher ist, dass der Extrakt die Fähigkeit des Virus zur Anheftung an Zellen hemmt, wie bereits von Ehrhardt et al. und Ludwig et al. vermutet wurde [10, 13]. In früheren Studien über Influenzaviren wurde eine Umhüllung bestimmter Viruskomponenten durch die im Extrakt enthaltenen hochpolymeren Polyphenole

als Wirkmechanismus vorgeschlagen [10], was auch bei SARS-CoV-2 der Fall sein könnte. Influenza-A-Viren haben die Fähigkeit, rote Blutkörperchen mit Hilfe des viralen Oberflächenproteins Hämagglutinin zu agglutinieren. Dieses virale Glykoprotein bindet an die N-Acetylneuraminsäure auf der Oberfläche der roten Blutkörperchen und bewirkt durch Vernetzung mehrerer Blutkörperchen eine Agglutination. Der Cystus Pandalis[®]-Extrakt kann diese Verklumpung verhindern, aber nur, wenn die Viren vorher mit dem Extrakt vorinkubiert werden oder wenn Viren und Extrakt gleichzeitig zu den Zellen gegeben werden. Neben dieser Beobachtung wurde eine Senkung des Virustiters nur beobachtet, wenn die Viren mit dem Extrakt vorinkubiert oder den Zellkulturen gleichzeitig zugegeben wurden [10]. Daher zeigt Cystus Pandalis[®]-Extrakt starke Wechselwirkungen mit viralen Oberflächenstrukturen, scheint aber gleichzeitig weder die Lebensfähigkeit der Wirtszellen negativ zu beeinflussen, noch andere zelluläre Reaktionen auszulösen oder mit zellulären Rezeptoren zu interagieren. In diesem Zusammenhang ist auch interessant, dass die Verwendung von Cystus Pandalis[®]-Extrakt bei den Influenzaviren zu keiner Resistenzentwicklung geführt hat, im Gegensatz zum viralen Erreger Amantadin, der zum Vergleich herangezogen wurde [10]. Ebenso wurde gezeigt, dass der Extrakt gegen H5N1-Virusstämme wirksam ist, die gegen Tamiflu[®] (Oseltamivir) resistent sind [11].

Bei SARS-CoV-2 könnte daher ebenfalls eine Umhüllung bestimmter Virusbestandteile durch die hochpolymeren Polyphenole der Fall sein, aber es ist unsicher, welches der Virusproteine das bevorzugte Ziel für den Cystus Pandalis[®]-Extrakt ist – das S-Protein (Spike, Membranprotein), das E-Protein (Envelope, Membranprotein), das M-Protein (Membranprotein) oder das N-Protein (Nukleokapsidprotein). Da viruswachstumshemmende Wirkungen von Cystus Pandalis[®] bisher vor allem dann beobachtet wurden, wenn der Extrakt gleichzeitig mit der Infektion zugegeben wurde oder wenn Viren mit dem Extrakt vorinkubiert wurden, kann davon ausgegangen werden, dass wahrscheinlich die Membranproteine (S, E, M) betroffen sind.

Insgesamt beruht die antivirale Wirkung des Cystus Pandalis[®]-Extraktes vermutlich auf der Hemmung des Eindringens der Viren in die Zelle, wahrscheinlich dadurch, dass die hochpolymeren Polyphenole, die sich an Oberflächenstrukturen der Viren binden und so eine Interaktion der Viren mit den Wirtszellen verhindern. Daher wirkt der Cystus Pandalis[®]-Extrakt wahrscheinlich als Eintrittsinhibitor (**Abb. 3**).

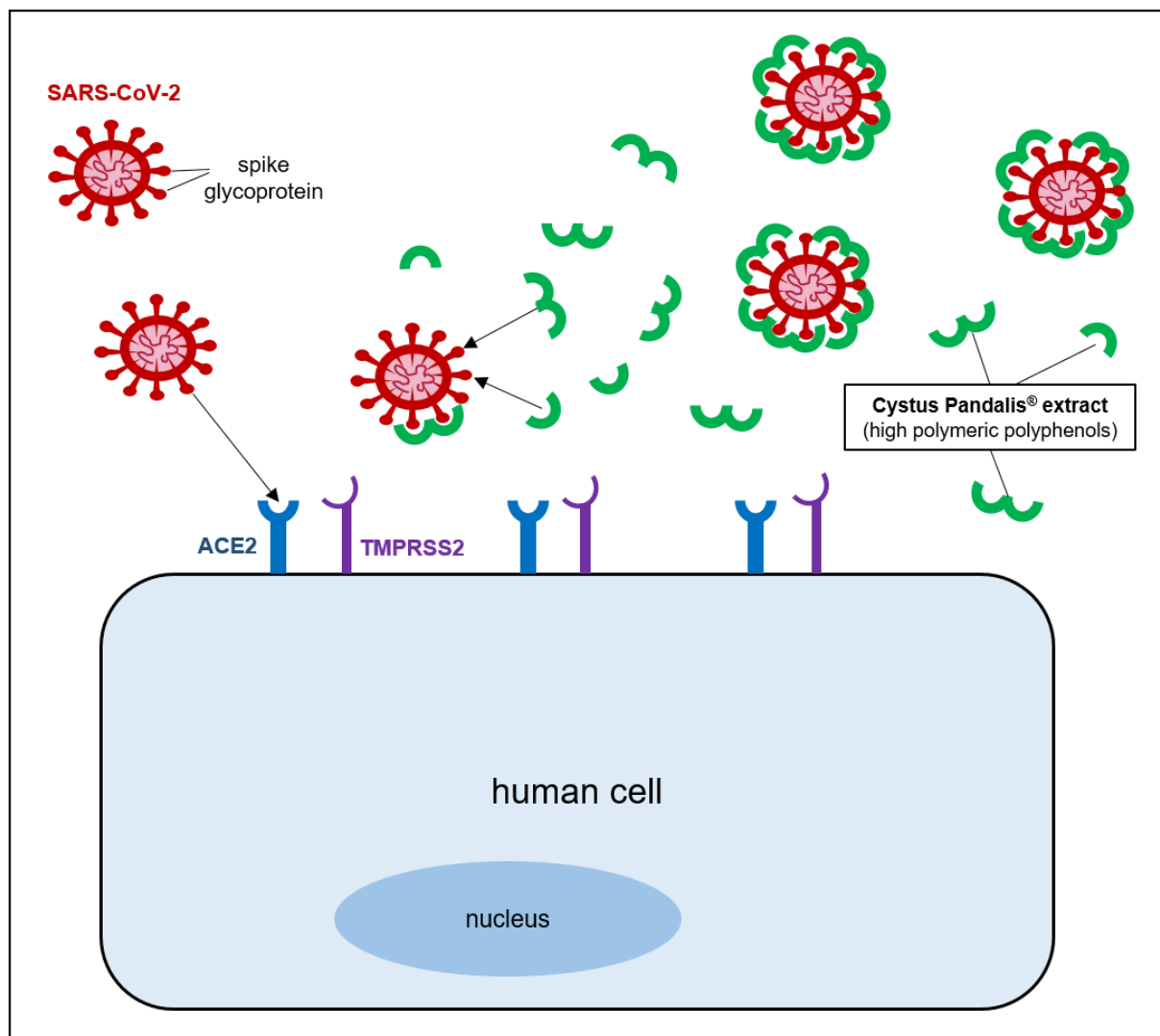


Abbildung 3: Vermuteter Wirkungsmechanismus von Cystus Pandalis®-Extrakt gegen SARS-CoV-2. Die hochpolymeren Polyphenole (grün) interagieren mit bestimmten viralen Epitopen von SARS-CoV-2 (rot) und umhüllen das Virus und verhindern dadurch seine Anheftung an zelluläre Rezeptoren (blau und violett), was wiederum eine Infektion der Zelle (hellblau) verhindert.

Da es sich bei Cystus Pandalis®-Extrakt um ein Mehrkomponentengemisch handelt, ist es darüber hinaus denkbar, dass die verschiedenen hochpolymeren Polyphenole mit mehreren Strukturen gleichzeitig interagieren, was wahrscheinlich ein großer Vorteil dieses pflanzlichen Präparates ist. Neuere Studien haben gezeigt, dass verschiedene Polyphenole wie Epigallocatechingallat, Myricetin und Quercetin neben dem S-Protein auch mit anderen Oberflächenproteinen von SARS-CoV-2 interagieren [17]. Da diese Polyphenole auch im Cystus Pandalis®-Extrakt reichlich vorhanden sind, wäre dieser Mechanismus plausibel [8].

Was die Tatsache betrifft, dass in der höchsten verwendeten Konzentration (250 µg/ml) schwache zytotoxische Effekte beobachtet wurden, so scheinen diese in vivo keinen

relevanten Faktor darzustellen, da es Produkte auf dem Markt gibt, die eine viel höhere Konzentration (von bis zu 23.000 µg/ml) aufweisen. Bisher gibt es jedoch trotz jahrelanger Anwendung und Millionen von Anwendungen keine Berichte über irgendwelche schädlichen Auswirkungen dieser Produkte. Interessant ist auch, dass ein anderer Pflanzenextrakt, der zum Vergleich verwendet wurde (Quecke), keine hemmende Wirkung auf das Viruswachstum zeigte (Daten nicht gezeigt). Daher kann man nicht erwarten, dass jedweder Pflanzenextrakt in ausreichender Dosierung das Wachstum von Coronaviren in irgendeiner Weise hemmt. Vielmehr scheint es sich um eine spezifische Wirkung von Cystus Pandalis[®]-Extrakt zu handeln, möglicherweise aufgrund seines speziellen Polyphenolmusters.

Unter Berücksichtigung der vorgestellten Experimente dieser Studie und der Auswertung früherer Studien zu diesem Extrakt scheint es sinnvoll, Cystus Pandalis[®] als Prophylaxe gegen Infektionen mit SARS-CoV-2 einzusetzen, da Untersuchungen von Adler [16] und Kalus et al. [15] bereits auf eine protektive Wirkung des Extraktes hindeuteten. Hierfür ist die Anwendung in Form von Lutschtabletten, die der Anwender langsam im Mund zergehen lassen sollte, am besten geeignet. Eine solche topische Verabreichung erlaubt es dem Cystus Pandalis[®]-Extrakt, sein antivirales Potential direkt an der Eintrittsstelle von Infektionen zu entfalten. Daher stellt eine Anwendung in Form von Lutschtabletten die beste Möglichkeit dar, den Extrakt an den Wirkort zu bringen. Entsprechende Produkte mit dem Extrakt aus der Sorte *Cistus x incanus* L. Pandalis sind seit Jahren auf dem Markt, werden seit langem verkauft und angewendet und sind für jedermann direkt erhältlich. Darüber hinaus bietet dieses pflanzliche Präparat nicht nur eine optimale Verträglichkeit, sondern auch eine sichere Anwendung ohne Nebenwirkungen. Daher besteht Grund zu der Annahme, dass eine breite prophylaktische Anwendung von Cystus Pandalis[®]-Extrakt eine sinnvolle Ergänzung der Prophylaxe ist, zumindest solange, bis wirksame und zugelassene Impfstoffe in ausreichender Anzahl zur Verfügung stehen.

Als nächster Schritt könnte ein Feldversuch mit einer ausreichenden Anzahl von Testpersonen durchgeführt werden, die in einem Gebiet mit einer hohen Infektionsrate von SARS-CoV-2 leben. Die Teilnehmer müssten zunächst negativ getestet werden und sollten dann Cystus Pandalis[®]-Extrakt in Form von Lutschtabletten anwenden. Diese Probanden sollten dann mit nicht behandelten Kontrollpersonen verglichen werden (Alter, Geschlecht, Infektionsrisiko, Vorerkrankungen und begleitende medikamentöse Therapie). Nach einer ausreichenden Zeitspanne, z. B. drei Monaten, sollte dann die Infektionsrate verglichen werden.

Zusammenfassung

Der Pflanzenextrakt Cystus Pandalis® hat gegen das Coronavirus SARS-CoV-2 in vitro wachstumshemmende Eigenschaften gegen dieses Virus bewiesen, wie er es auch schon bei anderen Viren (Influenza A-Viren, Rhinoviren, Adenoviren, HI-Viren, Ebola-Viren und Marburg-Viren) nachgewiesen hat. Die Wirkung beruht nicht auf desinfektorischen oder viruziden Mechanismen. Wir nehmen an, dass die Infektionshemmung durch einen Coating-Prozess bewirkt wird. Das Virus wird durch eine Ummantelung einiger Epitope des Virus, die an der Wirtszelle ansetzen sollen, an der Bindung an die körpereigenen Zellen gehindert. Dafür sind wahrscheinlich spezielle Polyphenole dieses Pflanzenextraktes verantwortlich. Bis zum Einsatz von wirksamen, verträglichen und zugelassenen Impfstoffen kann man mit Cystus Pandalis®-Extrakt die Infektion mit dem SARS-CoV-2-Virus zu verhindern versuchen. Eine größer angelegte Feldstudie in einem Land mit hoher Infektionszahl steht noch aus.

Danksagung

Frau Dr. Jasmin Fertey und PD Dr. Sebastian Ulbert vom Fraunhofer Institut für Zelltherapie und Immunologie, Leipzig sei Dank für die Durchführung des experimentellen Teils der Viruskultur und der Auszählung der Kolonien.

Literaturverzeichnis

- [1] WHO. Pandemie der Coronavirus-Krankheit (COVID-19).
<https://www.euro.who.int/de/health-topics/health-emergencies/coronavirus-covid-19/novel-coronavirus-2019-ncov>, 2020, cited August 14th 2020.
- [2] WHO. Summary of probable SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003. April 21st 2004.
- [3] WHO. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) – The Kingdom of Saudi Arabia. Disease Outbreak News. February 24th 2020.
- [4] Wu F, Zhao S, Yu B, Chen YM, Wang W, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. Nature 2020, 579(7798), 265-269.
doi:10.1038/s41586-020-2008-3
- [5] Doerr HW, & Gerlich WH. Medizinische Virologie: Grundlagen, Diagnostik, Prävention und Therapie viraler Erkrankungen. 2010, 2nd Edition. Thieme Verlag, Stuttgart, S. 46
- [6] Pott R. Polymorphismus bei Cistrosen, Welche Varietät ist als Heilmittel tauglich? KFN Press conference, 2006.

- [7] Pott R. Wissenschaftliche Stellungnahme zur Klärung der unsicheren Taxonomie der Pflanzengattung *Cistus*, vor allem in Hinblick auf *Cistus creticus* L. und *Cistus incanus* L. 2019.
- [8] Riehle P. Phenolische Inhaltsstoffe in *Cistus incanus* Tee – Charakterisierung und Stabilität innerhalb der Teezubereitung, Dissertation, Universität Hamburg, 2014.
- [9] Petereit F. Polyphenolische Inhaltsstoffe und Untersuchungen zur entzündungshemmenden Aktivität der traditionellen Arzneipflanze *Cistus incanus* L. (Cistaceae). Dissertation, Universität Münster, 1992.
- [10] Ehrhardt C, Hrincius ER, Korte V, Mazur I, Droebner K, et al. A polyphenol rich plant extract, CYSTUS052, exerts anti influenza virus activity in cell culture without toxic side effects or the tendency to induce viral resistance. *Antiviral research* 2007, 76(1), 38-47. doi:10.1016/j.antiviral.2007.05.002
- [11] Droebner K, Haasbach E, Mueller C, Ludwig S, & Planz O. The polyphenol rich plant extract CYSTUS052 is highly effective against H5N1 and pandemic H1N1v influenza A virus. *Influenza and Other Respiratory Viruses* 2011, 5, 237-239. doi:10.1111/j.1750-2659.2011.00209.x
- [12] Droebner K, Ehrhardt C, Poetter A, Ludwig S, & Planz O. CYSTUS052, a polyphenol-rich plant extract, exerts anti-influenza virus activity in mice. *Antiviral research* 2007, 76(1), 1-10. doi:10.1016/j.antiviral.2007.04.001
- [13] Ludwig S, Ehrhardt C, Haasbach E, Hrincius ER, Lapuse J, et al. Antiadhäsive Eigenschaften der Pflanzenextrakte *Cystus052* und *Ladania067* als breit wirksames antivirales Prinzip gegen respiratorische Viren. *Zeitschrift für Phytotherapie* 2013, 34(S 01), P19. doi:10.1055/s-0033-1338221
- [14] Rebensburg S, Helfer M, Schneider M, Koppensteiner H, Eberle J, et al.. Potent in vitro antiviral activity of *Cistus incanus* extract against HIV and Filoviruses targets viral envelope proteins. *Scientific reports* 2016, 6, 20394. doi:10.1038/srep20394
- [15] Kalus U, Grigorov A, Kadecki O, Jansen JP, Kiesewetter H, et al. *Cistus incanus* (CYSTUS052) for treating patients with infection of the upper respiratory tract: a prospective, randomised, placebo-controlled clinical study. *Antiviral research* 2009, 84(3), 267-271. doi:10.1016/j.antiviral.2009.10.001
- [16] Adler M. Retrolektive Therapiebeobachtung im Rahmen der Pandemie mit Covid-19. *Zeitschrift für Phytotherapie* 2020; 41(03): 111-112. doi:10.1055/a-1102-1686
- [17] Mhatre S, Srivastava T, Naik S, & Patravale V. Antiviral Activity of Green Tea and Black Tea Polyphenols in Prophylaxis and Treatment of COVID-19: A Review. *Phytomedicine* 2020, 153286. doi:10.1016/j.phymed.2020.153286

Interessenkonflikte

Der Autor erklärt, dass es keine Interessenkonflikte gibt. Die Geldgeber hatten keine Rolle bei der Konzeption der Studie, bei der Sammlung, Analyse oder Interpretation der Daten, bei der Abfassung des Manuskripts oder bei der Entscheidung, die Ergebnisse zu veröffentlichen.