

Farmacognosia del *Pelargonium sidoides*: un caso paradigmatico di fitoterapico

Franco Maggi
Dipartimento di
Scienze Farmacologiche
Università degli Studi di Milano

*La disponibilità dell'estratto di *Pelargonium sidoides* con caratteristiche costanti e riproducibili ha permesso la realizzazione di approfonditi studi farmacologici e di trial clinici che ne supportassero un utilizzo razionale nella terapia delle patologie infettive delle alte vie respiratorie*

Pelargonium è il genere a cui appartengono i comuni gerani che coltiviamo a scopo ornamentale. Alcune specie sudafricane, specificamente il *P. sidoides* e il *P. reniforme*, sono utilizzati nella medicina tradizionale di diversi gruppi etnici del Sudafrica per le loro proprietà curative. Gli studi di etnobotanica hanno descritto l'utilizzo dei tuberi di queste piante in infuso o decotto per curare numerose patologie sia a carattere infettivo, quali diarree, dissenteria e malattie respiratorie, sia non infettive, come problemi epatici e disturbi mestruali (Watt, 1962; Hutchings, 1996). A supporto di questi usi tradizionali, i primi dati scientifici (Kayser, 1997) hanno evidenziato una potenziale attività antibatterica per gli estratti acquosi della specie *sidoides*, aprendo la via agli studi sia farmacologici che clinici su questa pianta e in particolare su un suo estratto, EPs® 7630, prodotto in Germania e introdotto nella moderna

fitoterapia col nome di Umckaloabo®. Approfonditi studi di fitochimica (Kołodziej, 2007) hanno individuato diversi componenti polidrossilati caratteristici nelle radici di *P. sidoides*. Come in tutti i fitocomplessi, i componenti sono molto numerosi e questo rende particolarmente difficile una standardizzazione. Il problema è stato in gran parte superato con l'estratto EPs® 7630, derivato da piante selezionate, coltivate e preparate in maniera altamente controllata, e ottenuto con un processo estrattivo, con una miscela idroetanolica (11% m/m), anch'esso altamente standardizzato. Recentemente (Schoetz, 2008) sono stati caratterizzati i componenti caratteristici dell'estratto EPs® 7630, i polifenoli maggioritari sono prodelfinidine oligomeriche, tipo A e tipo B, che si distinguono per i differenti legami fra monomeri: C4-C8 e C7-O-C2 nel tipo A e C4-C8 nel tipo B (figura 1). Sono presenti anche piccole percentuali di cumarine me-

tossilate caratteristiche, come l'umckalina, e loro derivati solfati.

La disponibilità di un estratto con caratteristiche costanti e riproducibili ha permesso la realizzazione di approfonditi studi farmacologici e di trial clinici che ne supportassero un utilizzo razionale in terapia.

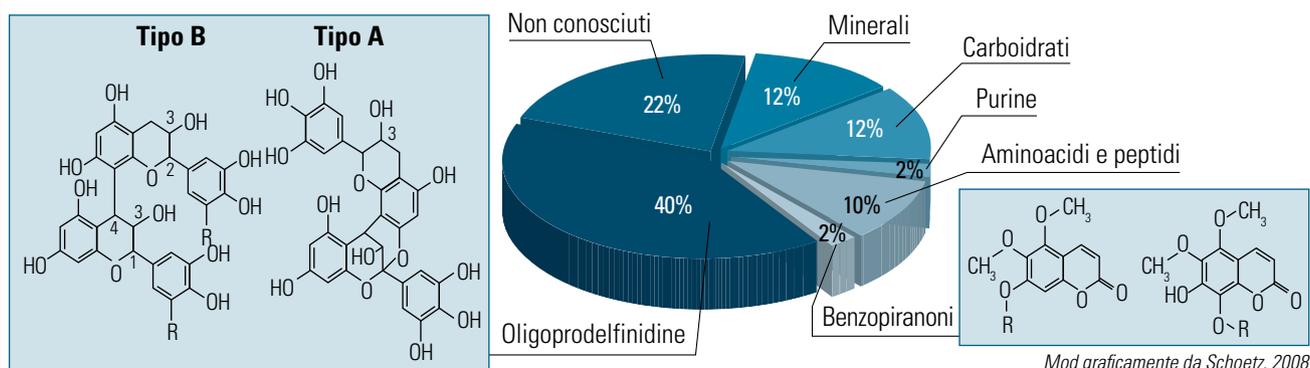
Questa rassegna prenderà in esame i principali studi di farmacologia, condotti nell'ultimo decennio, che costituiscono il razionale per l'uso degli estratti di *Pelargonium sidoides* nella terapia delle patologie infettive delle alte vie respiratorie.

Attività antibatterica e antitubercolare

L'uso tradizionale e iniziali osservazioni sull'attività antitubercolare degli estratti di *P. sidoides* (Bladt, 1977), hanno indotto lo studio dell'attività antibiotica diretta degli estratti di *P. sidoides* e dei loro principali compo-

Figura 1

Principali classi di derivati polifenolici e altri componenti dell'estratto EPs® 7630 di *Pelargonium sidoides*



nenti. Recentemente Kolodziej e coll (2007) hanno chiaramente dimostrato che un estratto totale di radici è in grado di inibire in vitro la crescita di *Mycobacterium tuberculosis*, anche se con una potenza notevolmente inferiore rispetto alla rifampicina.

L'attività antibatterica in vitro si estende anche a numerosi patogeni responsabili di infezioni respiratorie (Kayser, 1997), anche se le MIC sono relativamente elevate è interessante l'osservazione di Kolodziej (2003) sugli effetti nei confronti di batteri Gram+ multiresistenti: EPs® 7630 è in grado di inibire la crescita di ceppi di *S. aureus* anche resistenti a vancomicina e teicoplanina (tabella 1).

Sono stati anche indagati gli effetti di alcuni dei componenti caratteristici presenti nell'estratto: alcune delle cumarine poliossigenate e il metil-estere dell'acido gallico hanno mostrato una significativa attività nei confronti di numerosi batteri patogeni in vitro (Kolodziej, 2007).

L'azione antibatterica diretta non è però in grado di spiegare l'efficacia di EPs® 7630 riscontrata nella pratica clinica, anche in considerazione del fatto che la gran parte delle infezioni delle vie aeree superiori sono causate

da virus, quali i virus para- e influenzali, gli echo-, adeno- e rinovirus, i coxackie virus.

Sono quindi stati indagati altri effetti dell'estratto, in particolare a carico degli elementi responsabili della risposta immune alle infezioni.

Attività antibatterica indiretta (immuno-modulazione)

I macrofagi rappresentano una parte integrante del sistema immunitario innato e giocano un ruolo importante nei meccanismi di difesa dell'organismo.

Quando sono attivati inibiscono la crescita dei microrganismi infettanti producendo specie reattive dell'ossigeno e nitroderivati che posseggono attività antimicrobiche, inoltre sintetizzano e liberano nell'ambiente circostante citochine e linfocchine che attivano a loro volta meccanismi di risposta cellulare.

I micobatteri della tubercolosi sono tipicamente dei patogeni intracellulari, alla luce degli effetti antitubercolari del *P. sidoides*, sono stati condotti diversi studi per valutare l'attività microbica di macrofagi attivati dalla fagocitosi di parassiti intracellulari quali la *Leishmania major* e la *Listeria monocytogenes* (Thäle, 2008; Thäle 2010).

In entrambi i casi è stato utilizzato l'estratto commerciale EPs® 7630, componente attivo delle formulazioni ormai diffuse in Italia ed Europa.

Utilizzando un particolare modello sperimentale di macrofagi murini e con un'elegante tecnica di citometria a flusso, Thäle e coll (2010) hanno osservato un significativo incremento della capacità dei macrofagi di distruggere il patogeno (figura 2), accompagnato da un significativo aumento della produzione di ossido di azoto (NO), una delle principali molecole antimicrobiche prodotte dai macrofagi attivati (McMicking, 1997; Nathan, 2000; Bogdan, 2000).

È particolarmente interessante notare che EPs® 7630 interagisce con l'IFN γ , una citochina ad attività antibatterica e antivirale normalmente prodotta dalle cellule del sistema immunitario, che sensibilizza i macrofagi affinché reagiscano in maniera più efficace agli stimoli indotti dai patogeni (per esempio LPS).

L'aumento della produzione di NO era già stata dimostrata da questi stessi autori (Thäle, 2008), in macrofagi stimolati e non, utilizzando diverse dosi di EPs® 7630, (figura 3).

Questi dati sono molto interessanti

Tabella 1

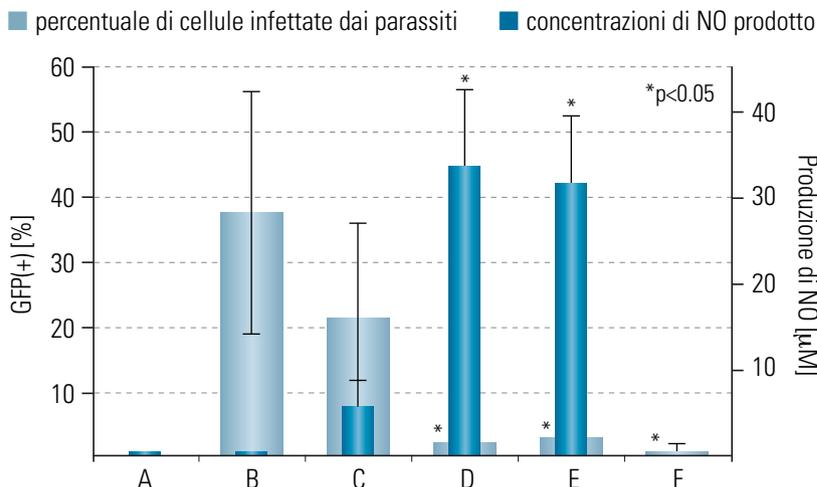
Attività antibatterica in vitro di EPs® 7630

Microrganismi	MIC (mg/ml)
• <i>Klebsiella pneumoniae</i> V 6089	13.8
• <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	>13.8
• <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	>13.8
• <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14153	3.3
• <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	3.3
Ceppi multiresistenti	3.3
<i>St. aureus</i> 1150.93	3.3
<i>St. aureus</i> 1583.93	3.3
<i>St. aureus</i> 999.93	3.3
<i>St. aureus</i> 134.93	3.3
<i>St. aureus</i> 1000.93	3.3

Mod da Kolodziej, 2003

Figura 2

Sopravvivenza di *L. major* e concomitante produzione di NO in macrofagi attivati: effetti dell'interferone γ (IFN γ), del lipopolisaccaride e di EPs® 7630

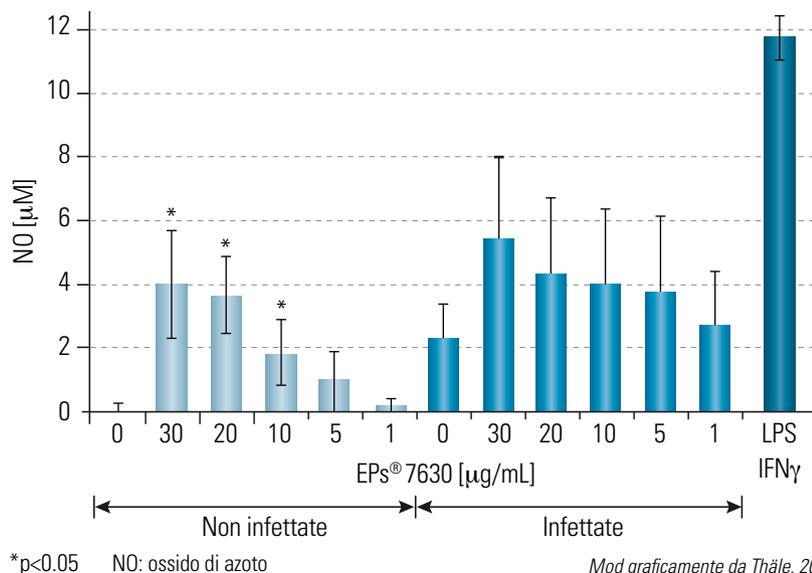


NO: ossido di azoto; GFP: proteina fluorescente verde; A: cellule non infettate
 B: cellule infettate e non trattate (controllo negativo); C: cellule infettate e trattate con IFN γ ;
 D: cellule infettate e trattate con IFN γ +LPS; E: cellule infettate e trattate con IFN γ +EPs® 7630
 F: cellule infettate e trattate con anofetericina B (controllo positivo)

Mod graficamente da Thäle, 2010

Figura 3

Produzione e liberazione di NO da parte di macrofagi attivati (infettati da *L. monocytoides*) e non: effetto di diverse concentrazioni di EPs® 7630 a confronto con IFN γ +LPS come controllo positivo



per due ragioni: in primo luogo sono efficaci anche concentrazioni molto piccole dell'estratto, ragionevolmente raggiungibili anche in vivo dopo somministrazione del fitoterapico, inoltre gli effetti sono più marcati nelle cellule attivate, dove una produzione e liberazione di NO è importante per l'attività microbica.

Occorre d'altra parte puntualizzare che gli effetti di EPs® 7630 su questo parametro sono comunque meno marcati, anche alle dosi più elevate, rispetto alla stimolazione indotta dalla associazione di IFN γ e LPS.

Sono anche stati condotti degli studi (Kolodziej, 2007) sull'effetto di singoli componenti purificati (figura 4). Sia i derivati gallici che le cumarine poliossigenate del *P. sidoides* sono in grado di indurre la produzione e secrezione di NO dai macrofagi attivati, suggerendo che potrebbero essere questi polifenoli a basso peso molecolare i responsabili dell'attività di EPs® 7630 sulla capacità microbica dei macrofagi.

L'attivazione dei macrofagi è un evento polifenotipico, caratterizzato dalla secrezione di citochine che modulano la risposta immune protettiva nei confronti dei microrganismi patogeni. Fra le prime citochine prodotte vi sono le

interleuchine IL-1, IL-12 e il TNF α . La capacità da parte di EPs® 7630 di modulare anche queste funzioni macrofagiche era stata già dimostrata per via indiretta da Kayser (2001) e Kolodziej (2007), e successivamente confermata da Thäle (2008). In quest'ultimo lavoro

gli autori hanno valutato sia le citochine prodotte e legate alla membrana (con un elegante metodo di citometria a flusso) sia quelle secrete (con una valutazione quantitativa tramite ELISA) da macrofagi murini attivati da *L. monocytoides* (figura 5).

Anche per quanto riguarda la secrezione di citochine in vitro EPs® 7630 dimostra un'attività dose-dipendente, inoltre, come nel caso della produzione di NO le cellule attivate rispondono in maniera più marcata, in particolare per quanto riguarda la secrezione di IL-1 β e TNF α . Il dato relativo al TNF è particolarmente interessante in quanto questa citochina gioca un ruolo importante nella risposta immune ed è necessaria per la difesa dell'organismo da certi tipi di patogeni (Beutler, 1989). La produzione intra ed extracellulare di IL-1 β , IL-12 e TNF α conferma ulteriormente la potenzialità di EPs® 7630 di indurre i meccanismi di difesa dell'organismo per il controllo delle infezioni. Per esempio la IL-1 sinergizza con il TNF α nell'induzione della produzione di IL-12, che a sua volta induce la liberazione di IFN γ sia dai T linfociti che dalle cellule natural killer. L'IFN γ , come già prima ricordato, media la protezione dagli agenti infettivi anche aumentando la produzione di NO.

Figura 4

Produzione e liberazione di NO da parte di macrofagi murini attivati (infezione da *L. donovani*) in seguito a stimolazione con EPs® 7630 e diversi polifenoli a basso peso molecolare del *P. sidoides*

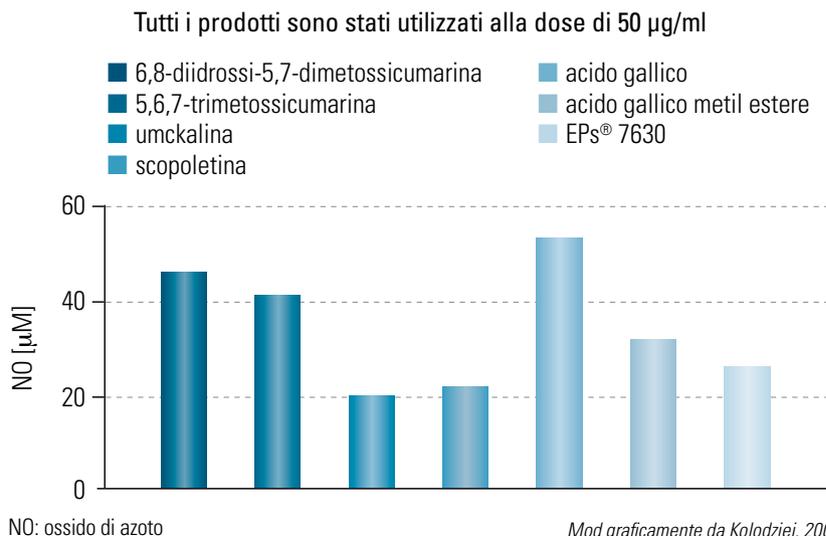
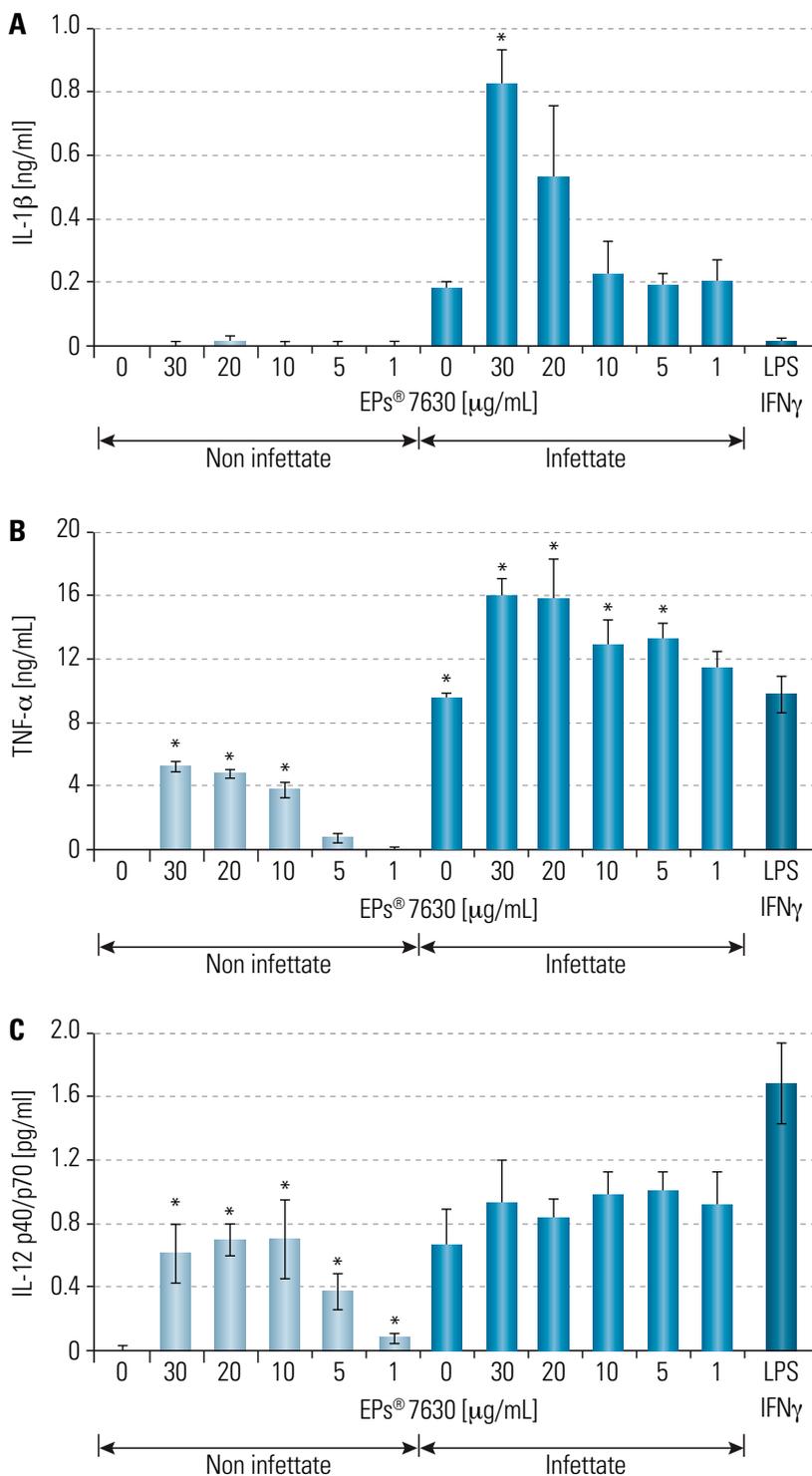


Figura 5

Livelli di IL-1 β (A), IL-12 (B) e TNF α (C) prodotti da macrofagi murini attivati e non, dopo incubazione (6 ore) con EPs[®] 7630 a concentrazioni crescenti

L'incubazione con IFN γ e LPS è stata utilizzata come controllo positivo



*p<0.05

Mod graficamente da Thäle, 2008

L'attivazione di questa complessa rete di funzioni suggerisce che il *P. sidoides*, in particolare il suo estratto EPs[®] 7630, manifesti una azione protettiva anche nei confronti delle infezioni virali, che, fra l'altro, rappresentano la causa più frequente di malattia delle alte vie respiratorie.

Attività antivirale

Per lo studio degli effetti sulle infezioni da virus è stato utilizzato un modello sperimentale complesso di colture cellulari in vitro: cellule macrofagi che sono state incubate con i diversi prodotti e dopo 48 ore i medium di incubazione, contenenti le molecole sintetizzate e liberate dai macrofagi, sono stati trasferiti su colture di fibroblasti infettate con un virus (virus dell'encefalomiocardite - EMCV) valutando poi la sopravvivenza delle cellule all'infezione (Kolodziej, 2003; Thäle, 2010).

In figura 6 sono riportati i risultati dello studio di Thäle (2010) che chiaramente indicano che la preincubazione di macrofagi con anche basse concentrazioni di EPs[®] 7630 induce la produzione di molecole che a loro volta proteggono i fibroblasti dall'infezione virale.

Si può osservare che la citoprotezione indotta da EPs[®] 7630 ha un andamento dose dipendente, ma non va in parallelo con la produzione di NO, suggerendo che altre molecole ad attività antivirale vengano prodotte in seguito al trattamento con EPs[®] 7630. Dati preliminari suggeriscono che si potrebbe trattare di interferoni (Kolodziej, 2003).

In un recentissimo articolo (Michaelis, 2011) è stata anche dimostrata una diretta attività antivirale di EPs[®] 7630. Gli autori hanno valutato la replicazione di numerosi virus patogeni per le alte vie respiratorie: virus influenzali stagionali (H1N1, H3N2, H5N1), virus respiratorio sinciziale (RSV), virus parainfluenzali (parainfluenza 3), rinovirus (rhino 16), coronavirus (HCo-229E), coxsackie virus. Per la maggior parte dei ceppi studiati (H1N1, H3N3, RSV, HCo-229E, Coxsackie A9) è stata dimostrata una significativa attività inibitoria

dose dipendente (figura 7).

Le dosi efficaci per questa attività antivirale diretta sono decisamente più elevate rispetto a quelle precedentemente riportate per l'attività indiretta (immunostimolazione), ma questi dati aggiungono comunque un tassello in più alla complessa immagine dell'attività dell'estratto di *P. sidoides* sulle patologie infettive dell'albero respiratorio.

Altri meccanismi di protezione dalle infezioni

I dati precedentemente riassunti indicano che l'attività protettiva di EPs® 7630 nei confronti delle infezioni si basa su meccanismi indiretti (aumento della risposta del sistema immunitario) più che su una diretta attività antiinfettiva.

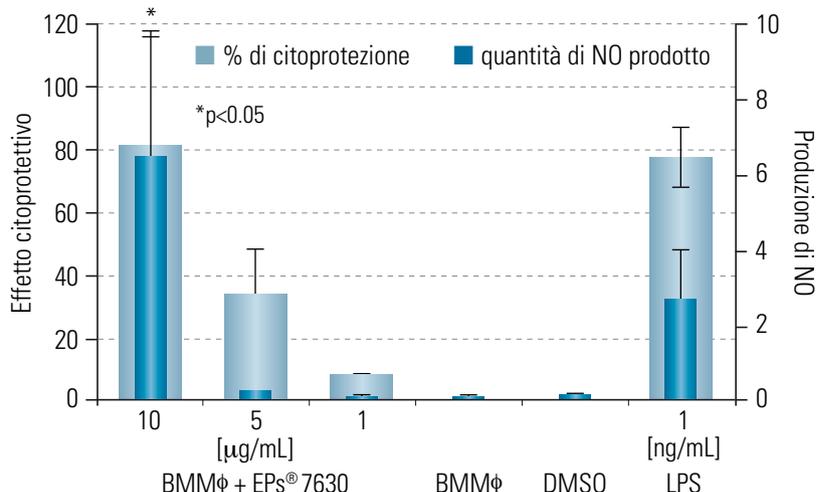
Altri meccanismi indiretti sono stati recentemente indagati.

L'interazione dei batteri con la bar-

Figura 6

Saggio di protezione di fibroblasti dall'infezione di EMCV

Le cellule sono state trattate con i surnatanti ottenuti dall'incubazione di macrofagi con EPs® 7630 (1, 5, 10 µg/ml) o LPS, come controllo positivo

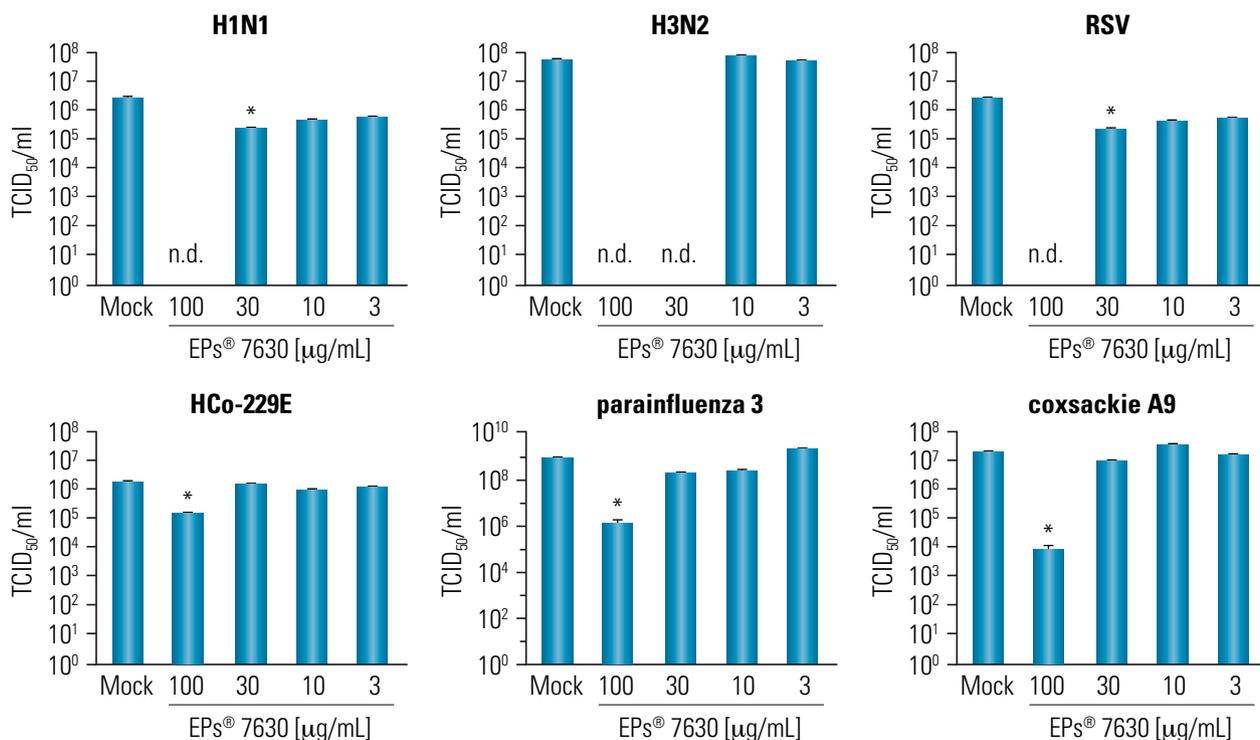


NO: ossido di azoto; BMMφ: macrofagi (del midollo osseo)
DMSO: dimetilsolfossido; LPS: lipopolisaccaride

Mod graficamente da Thäle, 2010

Figura 7

Effetti di EPs® 7630 sul titolo virale (TCID₅₀/ml) valutato su diverse linee cellulari infettate con virus influenzali H1N1 e H3N2, virus sinciziale (RSV), coronavirus (HCo-229E), virus parainfluenzale (parainfluenza 3) e coxsackie virus (coxsackie A9)



*p<0.05

Mod graficamente da Michaelis, 2010

riera epiteliale, in pratica l'adesione dei batteri alle cellule epiteliali e la loro penetrazione nell'epitelio, costituisce una tappa preliminare e fondamentale per una successiva colonizzazione ed infezione batterica del tessuto (Courtnei, 2002; LaPenta, 1994; Osterlund, 1997).

Recentemente due gruppi di ricercatori tedeschi (Conrad, 2007; Janecki, 2011) hanno valutato gli effetti di EPs® 7630 sull'adesione di streptococ-

chi del gruppo A (SGA) a colture in vitro di cellule epiteliali umane. Le cellule epiteliali (HEp-2) e gli streptococchi sono stati incubati con dosi crescenti di EPs® 7630, dopo di che è stata valutata l'adesione dei batteri sia con un test di citometria a flusso (figura 8) sia con visualizzazione diretta attraverso la microscopia in fluorescenza (figura 9).

EPs® 7630 riduce in maniera dose dipendente l'adesione dei batteri, la man-

canza di effetto della preincubazione delle cellule epiteliali con EPs® 7630 rispetto all'efficacia della preincubazione dei batteri con l'estratto (Conrad, 2007) porta gli autori a concludere che si tratti di uno specifico antagonismo nei confronti di proteine d'adesione presenti sulla superficie batterica.

Un recente studio (Janecki, 2011) suggerisce che i responsabili di questa attività siano le protoantocianidine presenti nell'estratto, in maniera simile a quanto già osservato per questo tipo di molecole presenti in diverse specie di *Vaccinium* (Weiss, 2002; Foo, 2000).

Un potenziale meccanismo di difesa nei confronti dei patogeni delle vie aeree superiori è costituito dalla funzione mucociliare delle mucose respiratorie. Questo ben coordinato sistema è costituito dalle cellule secretorie della mucosa delle vie aeree, che producono uno strato di muco che ricopre la superficie mucosale, e dalle cellule ciliate che spingono il muco, e tutti i materiali in esso invischiati, con un movimento retrogrado verso il nasofaringe (Deitmer, 1996). La frequenza del movimento ciliare svolge in questo processo un ruolo fondamentale (Boeck, 2002).

Basandosi su questi presupposti Neugebauer e coll (2005) hanno valutato gli effetti di EPs® 7630 sulla mobilità ciliare di cellule epiteliali della mucosa respiratoria umana in coltura primaria. Con un sofisticato sistema di microscopia associata a videoregistrazione gli autori hanno misurato la frequenza del movimento ciliare in presenza di concentrazioni crescenti di EPs® 7630 nel medium di coltura (figura 10).

Anche se questo effetto risulta statisticamente significativo in vitro, occorrono convalide sperimentali che provino che l'EPs® 7630 è in grado di incrementare la frequenza ciliare anche in vivo.

Questo potrebbe aprire nuove prospettive per un utilizzo topico di preparazioni a base di EPs® 7630 direttamente sulla mucosa delle alte vie respiratorie.

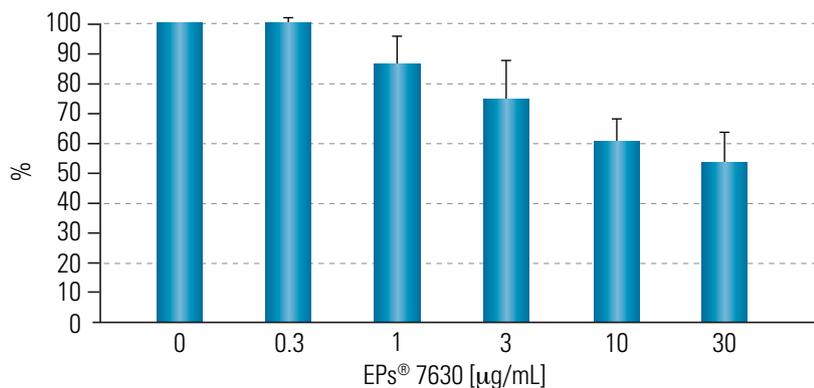
Conclusioni

La farmacologia sta riscoprendo e rivalutando i fitocomplessi ottenuti dalle piante medicinali. Queste mi-

Figura 8

Effetti di EPs® 7630 sulla adesione di SGA* a cellule epiteliali in vitro

Cellule HEp-2 e batteri sono stati coincubati per 120 min con concentrazioni crescenti di EPs® 7630: l'adesione è stata valutata con un test di citometria a flusso



*SGA: streptococchi del gruppo A

Mod graficamente da Conrad, 2007

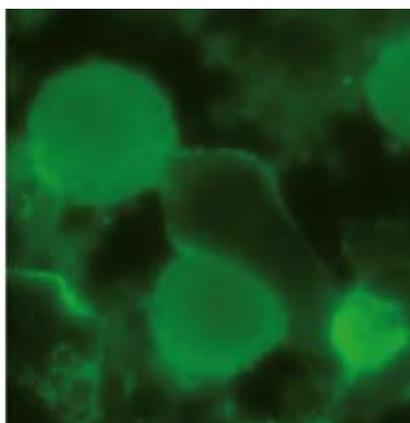
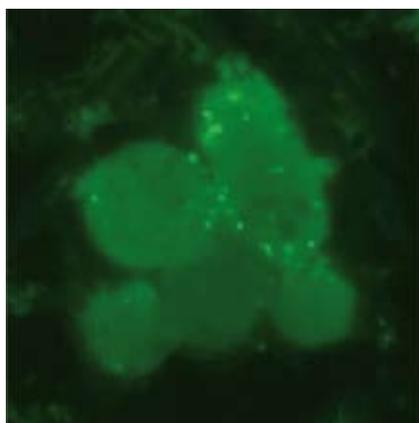
Figura 9

Effetti di EPs® 7630 sulla adesione di SGA* a cellule epiteliali in vitro

Cellule HEp-2 e batteri sono stati coincubati per 120 min con concentrazioni crescenti di EPs® 7630: l'adesione è stata valutata in maniera semi quantitativa con la microscopia in fluorescenza

Incubazione in assenza di estratto

Coincubazione con 30 µg/ml di EPs® 7630

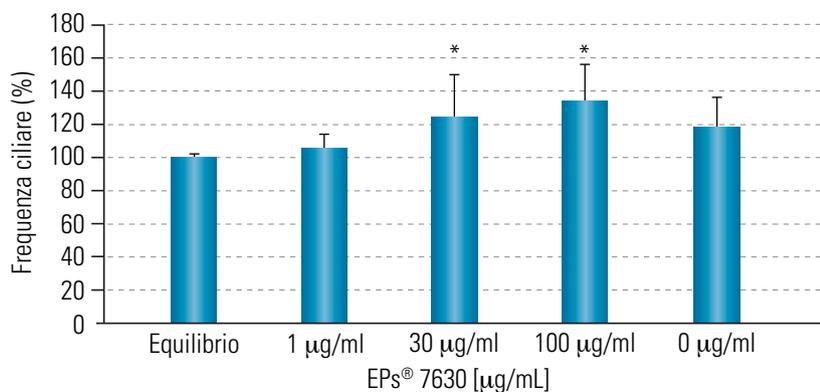


*SGA: streptococchi del gruppo A

Tratto da Conrad, 2007

Figura 10

Effetto di EPs® 7630 sulla frequenza ciliare di cellule epiteliali respiratorie umane coltivate in vitro



*p<0.05

Mod graficamente da Neugebauer, 2005

sce di principi attivi se da un lato possono porre problemi di standardizzazione del prodotto, d'altro canto possono rappresentare approcci molto interessanti per la cura delle patologie a eziologia complessa. Il fitocomplesso del *Pelargonium sidoides* ne è un esempio paradigmatico. Questa pianta della medicina tradizionale sudafricana è stata studiata dal punto di vista della fitochimica e della farmacologia: le attività dimostrate

dagli studi condotti in vitro sono perfettamente in linea con il suo proposto utilizzo nella terapia delle malattie infettive delle alte vie respiratorie. Non è stato possibile individuare una molecola specifica responsabile di queste attività, indicando che il fitocomplesso nel suo insieme è necessario per promuovere la risposta immune. La mancanza di un definito principio attivo comporta un problema di attore standardizzazione degli

estratti fitoterapici: la possibilità di disporre di un prodotto costante dal punto di vista qualitativo è fondamentale per assicurare efficacia e sicurezza nel suo utilizzo in terapia. Il problema è stato in gran parte superato con l'estratto EPs® 7630. La droga da cui è preparato deriva da piante geneticamente selezionate, coltivate e raccolte in maniera altamente controllata; inoltre il processo estrattivo utilizzato, una miscela idro-etanolica (11% m/m) con un rapporto 1:8-10 fra droga ed estratto ottenuto, è altamente standardizzato, permettendo di ottenere una notevole costanza e riproducibilità del prodotto. EPs® 7630 costituisce, infatti, la base per la formulazione farmaceutica riconosciuta a livello europeo, così come in Italia, come "farmaco tradizionale", una definizione che assicura costanza, riproducibilità e livelli di controllo farmaceutico del prodotto. I meccanismi farmacologici dimostrati per l'estratto idroalcolico EPs® 7630 di aumento delle naturali risposte del sistema immunitario agli agenti infettivi costituiscono una solida base razionale per il suo utilizzo nel trattamento delle affezioni delle alte vie respiratorie, sia di origine virale che batterica.

BIBLIOGRAFIA

- Beutler B, Cerami A. The biology of cachectin/TNF: a primary mediator of host response against a human tumor necrosis factor-α receptor. *Annu Rev Immunol* 1989; 7: 625-55.
- Bladt S. Umckaloabo® - Droge der afrikanischen. *Vollksmedizin Dtsch Apoth Ztg* 1977; 117, 1655-60.
- Boek, WM, Graamans, K, Natzijl H et al. Nasal mucociliary transport: new evidence for a key role of ciliary beat frequency. *Laryngoscope* 2000; 112: 570-73.
- Bogdan C, Rölinghoff M, Dieffenbach A. Reactive oxygen and reactive nitrogen intermediates in innate specific immunity. *Curr Opin Immunol* 2000; 12: 64-76.
- Conrad A, Jung I, Tioua D et al. Extract of *Pelargonium sidoides* (EPs® 7630) inhibits the interactions of group A-streptococci and host epithelia in vitro. *Phytomedicine* 2007; 14 (Suppl 6): 52-59.
- Courtney HS, Hasty DL, Dale JB. Molecular mechanisms of adhesion, colonisation and invasion of group A-streptococci. *Ann Med* 2007; 34: 77-87.
- Deitmer T. Moderne Funktionsdiagnostik der Nase und der Nasennebenhöhlen. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1996; Suppl I: 1-71.
- Foo LY, Lu Y, Howell AB, Vorsa N. A-type proanthocyanidin trimers from cranberry that inhibit adherence of uropathogenic p-fimbriated *E. coli*. *J Natural Products* 2000; 63: 1225-28.
- Hutchings A. Zulu Medicinal Plants. Natal University Press, Pietermaritzburg, 1996.
- Janecki A, Conrad A, Engels I et al. Evaluation of an aqueous-ethanolic extract from *Pelargonium sidoides* (EPs® 7630) for its activity against group A-streptococci adhesion to human HEp-2 epithelial cells. *J Ethnopharmacol* 2011; 133: 147-152.
- Kayser O, Kolodziej H. Antibacterial activity of extracts, constituents of *Pelargonium sidoides* and *Pelargonium reniforme*. *Planta Med* 1997; 63: 508-10.
- Kayser O, Kolodziej H, Kiderlen AF. Immunomodulatory principles of *Pelargonium sidoides*. *Phytother Res* 2001; 15: 122-26.
- Kayser O, Kolodziej H. Antibacterial activity of extracts and constituents of *Pelargonium sidoides* and *Pelargonium reniforme*. *Planta Med* 1997; 63: 508-10.
- Kolodziej H, Kayser O, Radtke OA et al. Pharmacological profile of extracts of *Pelargonium sidoides* and their constituents. *Phytomedicine* 2003; 10 (Suppl 4): 18-24.
- Kolodziej H, Kiderlen AF. In vitro evaluation of antibacterial and immunomodulatory activities of *Pelargonium reniforme*, *Pelargonium sidoides* and the related herbal drug preparation EPs 7630. *Phytomedicine* 2007; 14 (Suppl 6): 18-26.
- Kolodziej H. Fascinating metabolic pools of *Pelargonium sidoides* and *Pelargonium reniforme*, traditional and phytomedicinal sources of the herbal medicine Umckaloabo. *Phytomedicine* 2006; 14 (Suppl 6): 9-17.
- LaPenta D, Rubens C, Chi E, Cleary P. Group A streptococci efficiently invade human respiratory epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 12115-119.
- MacMicking J, Xie QW, Nathan C. Nitric oxide and macrophage function. *Annu Rev Immunol* 1997; 15: 323-50.
- Michaelis M, Doerr HW, Cinatl J Jr. Investigation of the influence of EPs® 7630, a herbal drug preparation from *Pelargonium sidoides*, on replication of a broad panel of respiratory viruses. *Phytomedicine* 2011; 18: 384-86.
- Nathan C, Shiloh MU. Reactive oxygen and nitrogen intermediates in the relationship between mammalian host and microbial pathogens. *Proc Natl Acad Sci* 2000; 97: 8841-48.
- Neugebauer P, Mickenhagen A, Siefer O. A new approach to pharmacological effects on ciliary beat frequency in cell cultures-exemplary measurements under *Pelargonium sidoides* extract (EPs® 7630). *Phytomedicine* 2005; 12(1-2): 46-51.
- Österlund A, Poppa R, Nikkila T et al. Intracellular reservoir of *Streptococcus pyogenes* in vivo: a possible explanation for recurrent pharyngotonsillitis. *Laryngoscope* 1997; 107: 640-47.
- Shoetz K, Erdelmeier C, Germer S et al. A detailed view of the constituents of EPs® 7630. *Planta Med* 2008; 74: 667-74.
- Thäle C, Kiderlen A, Kolodziej H. Anti-infective mode of action of EPs 7630 at the molecular level. *Planta Med* 2008; 74: 675-81.
- Thäle C, Kiderlen AF, Kolodziej H. Anti-infective activities of *Pelargonium sidoides* (EPs® 7630): Effects of induced NO production on *Leishmania major* in infected macrophages and antiviral effects as assessed in a fibroblast-virus protection assay. *Planta Med* 2011; 77: 718-25.
- Watt C, Breyer-Brandwyk MG. Medicinal and poisonous plants of southern and eastern Africa. Livingstone, Edinburgh/London, 1992; 449-55.
- Weiss EI, Lev-Dor R, Sharon N, Ofek I. Inhibitory effect of a high molecular weight constituent of cranberry on adhesion of oral bacteria. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2002; 42: 285-92.