



بررسی تاثیر کپسول عصاره هسته *Vitis vinifera* در درمان بیماران کووید-۱۹: یک مطالعه دوسوکور و کنترل شده با دارونما

هدا مجیری فروشانی: استادیار فارماکولوژی، مرکز تحقیقات بالینی مرکز آموزشی آیت الله طالقانی، دانشگاه علوم پزشکی آبادان، آبادان، ایران (* نویسنده مسئول)
H.mojiriforushani@abadanums.ac.ir

علی اصغر همتی: استاد فارماکولوژی، مرکز تحقیقات علوم دریایی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران

سعید بیطرف: اپیدمیولوژیست، موسسه تحقیقات علوم بالینی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران

منا ابراهیم زاده: مربی پرستاری، مرکز تحقیقات بالینی مرکز آموزشی آیت الله طالقانی، دانشگاه علوم پزشکی آبادان، آبادان، ایران

الهام مطوری: دانشجوی پرستاری، مرکز تحقیقات بالینی مرکز آموزشی آیت الله طالقانی، دانشگاه علوم پزشکی آبادان، آبادان، ایران

ایلناز قنوتی: دانشجوی پرستاری، مرکز تحقیقات بالینی مرکز آموزشی آیت الله طالقانی، دانشگاه علوم پزشکی آبادان، آبادان، ایران

علیرضا عیسوند محمودی: دانشجوی پرستاری، مرکز تحقیقات بالینی مرکز آموزشی آیت الله طالقانی، دانشگاه علوم پزشکی آبادان، آبادان، ایران

چکیده

کلیدواژه‌ها

ویتیس وینیفرا،

عصاره هسته انگور،

کووید-۱۹،

گباهان دارویی،

درمان دارویی کووید-۱۹

زمینه و هدف: در حال حاضر تحقیقات برای یافتن درمان بیماری کووید-۱۹ ادامه دارد. استفاده از ترکیبات گیاهی در درمان بیماری‌ها همواره مطرح بوده است. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر عصاره هسته انگور در درمان بیماری کووید-۱۹ می‌باشد.
روش کار: تحقیق حاضر یک کارآزمایی بالینی تصادفی دوسوکور موازی بود که بر روی ۸۰ بیمار بستری مبتلا به کووید-۱۹ در بیمارستان آیت الله طالقانی آبادان در سال ۱۴۰۰ انجام شد. بیماران به صورت تصادفی (تصادفی بلوکی) ۲۰۰ میلی گرم عصاره هسته انگور یا دارونما دو بار در روز و به مدت ۱۴ روز، به همراه پروتکل ملی درمان کووید-۱۹ دریافت کردند. اشیاع O₂، تعداد تنفس، فشار خون، شمارش کامل خون، سطح هماتوکریت، تعداد گلبول‌های سفید، سطح هموگلوبین، الکالین فسفاتاز، نیتروژن اوره خون، سرعت رسوب گلبول‌های قرمز، آلانین آمینوترانسفراز سرم، اسپارترات آمینوترانسفراز، نسبت نرمال شده بین المللی، کراتینین سرم، زمان ترومبوپلاستین جزئی و زمان پرترومبین در ابتدا و بعد از درمان مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند. جهت مقایسه نتایج اولیه، آزمون تی مستقل و تحلیل رگرسیون خطرات متناسب کاکس استفاده شد. آزمون ANOVA نیز برای ارزیابی نتایج ثانویه بکارگرفته شد. برای کنترل اندازه گیری‌های پایه، آزمون ANCOVA انجام شد.

یافته‌ها: هیچ یک از پارامترهای ارزیابی شده در این مطالعه بین بیماران دریافت کننده عصاره هسته انگور و گروه دارونما تفاوت معنی داری نداشت. تفاوت بین گروه مداخله و مقایسه در روزهای بستری نیم روز بود اما این تفاوت معنی دار نبود.

نتیجه‌گیری: درمان با عصاره هسته انگور هیچ بهبود قابل توجهی در علائم بالینی یا یافته‌های آزمایشگاهی بیماران کووید-۱۹ ایجاد نکرد. با این حال، طبق پاور آنالیز انجام شده، عصاره هسته انگور ممکن است در درمان کووید-۱۹ موثر باشد. در نهایت، ارزیابی این ترکیب در جمعیت بزرگ در آینده پیشنهاد می‌شود.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: حامی مالی ندارد.

شیوه استناد به این مقاله:

Mojiri-Forushani H, Hemmati AA, Bitaraf S, Ebrahimzadeh M, Matory E, Ghanavaty E, Eisvand Mahmudi A. Assessments of *Vitis vinifera* Seed Extract Capsules in the Treatment of COVID-19 Patients: A Double-blind Placebo-Controlled Study. Razi J Med Sci. 2024(22 Jul);31.72.

Copyright: ©2024 The Author(s); Published by Iran University of Medical Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the CC BY-NC-SA 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.en>).

*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 4.0 صورت گرفته است.

Assessments of *Vitis vinifera* Seed Extract Capsules in the Treatment of COVID-19 Patients: A Double-blind Placebo-Controlled Study

- Hoda Mojiri-Forushani:** Assistant Professor, Clinical Research Development Unit, Taleghani Educational Hospital, Abadan University of Medical Sciences, Abadan, Iran (* Corresponding Author) H.mojiriforushani@abadanums.ac.ir
- Ali Asghar Hemmati:** Professor, Marine Pharmaceutical Research Center, School of Pharmacy, Ahvaz Judishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
- Saeid Bitaraf:** Epidemiologist, Clinical Sciences Research Institute, Judishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
- Mona Ebrahimzadeh:** Instructor, Clinical Research Development Unit, Taleghani Educational Hospital, Abadan University of Medical Sciences, Abadan, Iran
- Elham Matory:** Nursing Student, Clinical Research Development Unit, Taleghani Educational Hospital, Abadan University of Medical Sciences, Abadan, Iran
- Eilnaz Ghanavaty:** Nursing Student, Clinical Research Development Unit, Taleghani Educational Hospital, Abadan University of Medical Sciences, Abadan, Iran
- Alireza Eisvand Mahmudi:** Nursing Student, Clinical Research Development Unit, Taleghani Educational Hospital, Abadan University of Medical Sciences, Abadan, Iran

Abstract

Background & Aims: The coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak was initially announced in Wuhan, China in late December 2019, which is caused by SARS-CoV-2, and rapidly spread worldwide (1). The severity of the disease varied from asymptomatic to the need for a ventilator (3, 4). Generally, there are no beneficial antiviral drugs for COVID-19. The used medications are commonly prescribed to relieve the complications of COVID-19, such as fever, inflammation, chest pain, cough, and respiratory distress (5-7). The immune system involvement and an increase in the release of inflammatory cytokines can be observed in COVID-19 patients. On the other hand, herbal drugs with anti-inflammatory and immunomodulatory properties can be preventive and even treat COVID-19 (8). The effectiveness of natural and herbal medicines for the prevention and treatment of COVID-19 have been reported (9-11). Among herbal medicines, the grape seed extract (GSE) has valuable medicinal properties due to having proanthocyanidins, flavonoids and polyphenols compounds. GSE as a natural bioactive compound possesses several pharmacological benefits, including cardioprotective, neuroprotective, antioxidant, hepatoprotective, antidiabetic, anti-inflammatory, anticarcinogenic, antiaging, anti-cholesterol, anti-platelet and antimicrobial properties (14, 15). Grape seed extract also exerts antiviral effects in the management of patients with human enteric virus, hepatitis A virus (HAV) (18) hepatitis C virus (HCV) (19), human immunodeficiency virus 1 (HIV) (20), and human norovirus surrogates, such as murine norovirus (MNV-19) (21) and feline calicivirus (FCV) strain F9. But its effects on COVID-19 remain unclear. The purpose of this study was to evaluate the effects of GSE on the treatment of hospitalized patients with COVID-19.

Methods: The current double-blind, parallel, randomized clinical trial was performed in 2021 on Ayatollah Taleghani Hospital, Abadan, Iran. The supplemental Figure 1 presents the study flowchart. COVID-19 cases (N=80) were randomly assigned to the GSE and placebo groups via block randomization using block randomization (block sizes of 4 and 8, respectively). The GSE group was given one capsule of GSE (with 200 mg of GSE) every 12 hours, plus national standard treatment for COVID-19. The placebo group was treated with placebo capsules. The COVID-19 clinical symptoms, respiratory rate, O₂ saturation (SaO₂), and blood pressure were evaluated at baseline and on day 14. Complete blood count, hematocrit level, white blood cell count, hemoglobin level, alkaline phosphatase, blood urea nitrogen, erythrocyte sedimentation rate, serum alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, international normalized ratio, serum creatinine, partial thromboplastin time, and prothrombin time were evaluated at baseline and after the treatment. Comparison of the primary outcome

Keywords

Vitis vinifera,
Grape seed extract,
COVID-19,
Herbal,
COVID-19 Drug
Treatment

Received: 02/03/2024

Published: 22/07/2024

of this study (hospital stay difference) was done between the two groups by independent *t*-test and Cox proportional hazards regression analysis. ANOVA test was also used to evaluate secondary outcomes. To control for the baseline measurements, ANCOVA test was performed.

Results: The patients' baseline information in the placebo and GSE groups is shown in Table 1. Moreover, an intention-to-treat analysis was our primary analysis on all patients with random assignment. Based on *t*-test, the hospital stay was half a day longer in the placebo group than the GSE group; however, this difference was not significant (mean difference=0.5; 95% CI: -1.09-2.09; P=0.53). The secondary outcomes were compared using *t*-test (Table 2). Based on the results of this table, no significant difference was found between the secondary outcomes, except for the red blood cells (RBC) and hemoglobin level. After adjusting for the baseline values of RBC and hemoglobin based on the analysis of covariance (ANCOVA), no significant difference was detected between the two groups in these two variables (mean difference for RBC= -0.11; 95% CI: -0.32, 0.08; P=0.26; mean difference for Hb= -1.78, 95% CI: -3.64, -0.08, P=0.06). After expanding the data to the sample size using an expansion module in STATA (version 12), a 17% difference in the mean duration of hospitalization became significant between the GSE and placebo groups (HR=0.85; 95% CI: 0.93-0.33; P=0.001). After controlling for age, sex, and blood pressure, this relationship remained significant.

Conclusion: The results indicated that GSE did not affect the clinical signs or biochemical markers of 80 patients evaluated in this study. However, the power analysis showed that the difference in hospital stay would be significant if the study was performed on a larger sample size (about 1,273 cases) in each group. Due to similarities between HCV, HIV and SARS-CoV-2, medicines that are used for the treatment of HIV and HCV have been also suggested for COVID-19. One of the similarities between HIV and COVID-19 is that both viruses can increase the generation of proinflammatory cytokines. They increase the formation of cytokines involved in secondary complications associated with the viral load of SARS-CoV-2 (29). Since no specific accepted antiviral medicine is available to treat COVID-19, antiviral agents for HIV and HCV infections have been suggested for treatment (29, 30). Evidence suggests that GSE has antiviral effects against human enteric virus, hepatitis A virus (18), HCV(19), HIV-1 (20), and human norovirus surrogates, including the MNV-19 and FCV (21). It is known that GSE contains a high level of proanthocyanidins, can suppress HCV replication (34). Zannella et al 2021, indicated that *Vitis vinifera* leaf extract showed the inhibitory effect on SARS-CoV-2 replication in the early stages of infection. They suggested that directly blocking the proteins enriched on the viral surface may be involved mechanism (22). According findings of Hajibeygi et al in 2022, diet Iranian traditional including *Ficus carica*, *Vitis vinifera*, *Cicer arietinum*; *Descurainiasophia* seeds, Safflower, *Ziziphus jujuba*, chicken soup; barley soup, rose water, and saffron and cinnamon spices decrease the inflammatory markers and CPR level in COVID-10 patients (23). So, recent studies indicated the efficacy of different parts of *Vitis vinifera* in decreasing symptoms of COVID-19, but more researches with a larger sample size was suggested.

GSE did not have significant effects on the biochemical markers and signs of COVID-19. However, the current study is the first randomized controlled trial, in which the GSE effects were observed in COVID-19 patients. This clinical trial had some limitations. Such as it was conducted in the main referral hospital for COVID-19 patients with low population, severity of disease was not considered and total extract of Grape seed was used. Finally, it is suggested to conduct a similar survey as a multi-center trial on a large population in the future.

Conflicts of interest: None

Funding: None

Cite this article as:

Mojiri-Forushani H, Hemmati AA, Bitaraf S, Ebrahimzadeh M, Matory E, Ghanavaty E, Eisvand Mahmudi A. Assessments of *Vitis vinifera* Seed Extract Capsules in the Treatment of COVID-19 Patients: A Double-blind Placebo-Controlled Study. Razi J Med Sci. 2024(22 Jul);31.72.

Copyright: ©2024 The Author(s); Published by Iran University of Medical Sciences. This is an open-access article distributed under the terms of the CC BY-NC-SA 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.en>).

*This work is published under CC BY-NC-SA 4.0 licence.

مقدمه

اولین مورد بیماری کروناویروس ۲۰۱۹ (کووید-۱۹) که توسط Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2, SARS-CoV-2 ایجاد می شود اواخر دسامبر ۲۰۱۹ در ووهان چین اعلام شد و به سرعت در سراسر جهان گسترش یافت (۱). سازمان بهداشت جهانی (World Health Organization, WHO) نیز در ۱۲ مارس ۲۰۲۰، کووید-۱۹ را یک بیماری همه گیر گزارش کرد و وضعیت همه گیری در جهان اعلام شد (۲). علائم رایج این بیماری شامل سرفه، تب و تنگی نفس است. پنومونی نیز در موارد شدید گزارش شده است که می تواند منجر به نارسایی اندام و مرگ شود. در حالی که اکثر بیماران کووید-۱۹ بهبود می یابند، نزدیک به ۵ تا ۱۵٪ دچار دیسترس تنفسی حاد، نارسایی تنفسی هیپوکسمیک، ذات الریه شدید و در نهایت نارسایی چند ارگانی می شوند (۳). این بیماران نیاز به دریافت اکسیژن تکمیلی از طریق تهویه مکانیکی تهجمی دارند (۴). با این حال، ممکن است نیمی از بیماران دارای عفونت حاد و نیازمند تهویه مکانیکی در طول بستری در بیمارستان از بین بروند (۵). بنابراین، مقامات بهداشتی باید در پی یافتن راهبردهای مناسب برای مدیریت و درمان بیماران کووید-۱۹ باشند.

کووید-۱۹ تأثیرات قابل توجهی بر اقتصاد جهانی نیز داشته است بطوریکه تعداد زیاد بیماران بستری در بیمارستان، عوارض بیماری و مرگ و میر، اقتصاد جهانی را با رکود مواجه کرده است. با این وجود، تا به حال هیچ دارو یا درمان موثری برای کووید-۱۹ به عنوان یک بیماری عفونی و تهدید کننده زندگی ساخته یا کشف نشده است. علیرغم کمیاب بودن اطلاعات موجود در مورد اثربخشی و ایمنی رمد سیویر در درمان کووید-۱۹، سازمان غذا و داروی ایالات متحده (Food and Drug Administration, FDA) اجازه استفاده اضطراری از این دارو را برای موارد شدید مشکوک یا تایید شده کووید-۱۹ در کودکان و بزرگسالان در ۱ می ۲۰۲۰ صادر کرد. به طور کلی، هیچ داروی ضد ویروسی موثری برای درمان کووید-۱۹ وجود ندارد. داروهای موجود معمولاً برای تسکین عوارض کووید-۱۹ مانند تب، التهاب، درد قفسه سینه، سرفه و دیسترس تنفسی تجویز می شوند (۷-۵).

درگیری سیستم ایمنی و افزایش انتشار سیتوکین های التهابی از علایم مشاهده شده در بیماران کووید-۱۹ هستند. از سوی دیگر، داروهای گیاهی دارای خواص ضد التهابی و تعدیل کننده سیستم ایمنی می توانند نقش پیشگیری کننده و حتی درمانی در کووید-۱۹ داشته باشند (۸). مواردی از اثربخشی داروهای طبیعی و گیاهی در پیشگیری و درمان کووید-۱۹ گزارش شده است (۹-۱۱). همراهی درمان های گیاهی با مراقبت های استاندارد باعث بهبود علائم و نشانه های کووید-۱۹، کاهش غلظت پروتئین واکنش گر (C-Reactive Protein, CRP) و نشانگرهای التهابی، افزایش عملکرد ریوی و کاهش بروز آسیب های ریوی مانند فیبروز می شود. علاوه بر این، درمان با داروهای گیاهی باعث کاهش مدت بستری و میزان مرگ و میر نسبت به داروهای شیمیایی می شود. اثرات قابل توجه درمان ترکیبی، شامل داروهای گیاهی و شیمیایی، بر علائم بیماری مانند تب، سرفه، خستگی، خشکی یا گلودرد، شمارش کامل خون (Complete Blood Count, CBC) از جمله درصد لنفوسیت، تعداد لنفوسیت ها، تعداد گلبول های سفید خون (WBC: White Blood Cell) و سطوح پروکالسی تونین و CRP نیز گزارش شده است (۹، ۱۲، ۱۳). اگرچه مطالعات زیادی در مورد اثربخشی داروهای گیاهی در درمان کووید-۱۹ در حال انجام است، با این حال، اثربخشی داروهای ضد ویروسی و گیاهی موجود در برابر SARS-CoV-2 نیازمند بررسی های بیشتر است.

در میان داروهای گیاهی، عصاره هسته انگور، به دلیل دارا بودن ترکیبات پروآنتوسیانیدین، فلاونوئیدها و پلی فنول ها دارای خواص دارویی ارزشمندی است. این ترکیب زیست فعال طبیعی دارای فواید دارویی زیادی از جمله تقویت قلب و سیستم عصبی، خاصیت آنتی اکسیدان، تقویت کبد، ضد دیابت، ضد التهاب، ضد سرطان، ضد پیری، ضد کلسترول، ضد پلاکت و خواص ضد میکروبی است (۱۴، ۱۵).

عصاره هسته انگور بواسطه ی داشتن ترکیبات آنتی اکسیدانی ارزشمندی مانند پروآنتوسیانیدین ها، آنتوسیانیدین ها، فلاونوئیدها و رزوراترول در کاهش میزان بیان ژن های التهابی و پیش التهابی موثر بوده است. مهار مسیرهای التهابی مهم مانند NF-kB و آنزیم

لذا در این مطالعه، اثرات عصاره هسته انگور در درمان بیماران بستری در بیمارستان آیت الله طالقانی شهرستان آبادان مبتلا به کووید-۱۹ مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار

جمعیت مورد مطالعه: کارآزمایی بالینی تصادفی دوسوکور موازی حاضر بر روی بیماران بستری مبتلا به کووید-۱۹ در بیمارستان آیت الله طالقانی آبادان در سال ۱۴۰۰ انجام شد. تشخیص کووید-۱۹ بر اساس یافته‌های سی‌تی‌اسکن و استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بی‌درنگ (Reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) روی نمونه‌های نازوفارنکس تایید شد. افراد دارای ۱۸ سال سن یا بیشتر که تمایل به شرکت در این مطالعه داشتند، وارد مطالعه شدند. از سوی دیگر، زنان باردار و شیرده، مواردی که سابقه خونریزی گوارشی یا زخم روده داشتند و بیماران کمتر از ۱۸ سال از مطالعه خارج شدند. نمودار شماره ۱ فلوجارت مطالعه را نشان می‌دهد.

شرکت کنندگان با امضای یک فرم رضایت نامه بطور داوطلبانه در این مطالعه شرکت کردند. این پژوهش توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی آبادان (IR.ABADANUMS.REC.1399.098) تایید و در سازمان ثبت کارآزمایی‌های بالینی ایران (<https://www.irct.ir/trial/51199>) با شماره (IRCT20200921048783N1) به ثبت رسید.

محا سبه حجم نمونه: در یک متاآنالیز، میانگین مدت بستری بیماران کووید-۱۹ پنج روز بود (۲۵). برای کاهش این مدت به ۲٫۵ روز، نسبت خطر دو در نظر گرفته شد. با توان ۸۰ درصد و خطای نوع اول ۰/۰۵ حجم نمونه ۸۰ محاسبه شد (۲۶).

آماده سازی عصاره هسته انگور: عصاره هیدروالکلی خشک *Vitis vinifera* از شرکت سوهاجیسا واقع در تنکابن، ایران تهیه شد. برای ارزیابی محتوای آنتوسیانین کل عصاره از تکنیک دیفرانسیل pH استفاده شد (۲۷). آنتوسیانین کل عصاره، عصاره ۱۹۰ میلی گرم بر گرم

سیکلوآکسیژناز از اثرات این ترکیب گزارش شده است (۱۶).

همچنین، پروآنتوسیانیدین‌های موجود در عصاره هسته انگور، دارای خواص آپوپتوز بوده و در مسدود کردن آنزیم سیکلوآکسیژناز ۲ و گیرنده پروستاگلندین E2 نقش دارند (۱۷). علاوه بر خواص ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی این ترکیب، برخی مطالعات اثرات ضد ویروسی عصاره هسته انگور را گزارش کرده‌اند، عصاره *Vitis vinifera* دارای اثرات ضد ویروسی در بیماری‌های ویروسی از جمله بیماری‌های روده ای انسان، هپاتیت A (۱۸)، هپاتیت C (۱۹)، ایدز (۲۰)، و انواع نوروویروس‌ها مانند نوروویروس موش و کلسی ویروس گربه سویه F9 می‌باشد (۲۱). در جدیدترین مطالعه بر روی این ترکیب اثرات مهارتی بر تکثیر ویروس SARS-COV2 در محیط‌های آزمایشگاهی گزارش شده است (۲۲). *Vitis vinifera* به همراه برخی ترکیبات طبیعی و گیاهی باعث کاهش میزان سطح CRP و برخی نشانگرهای التهابی در بیماران مبتلا به کووید-۱۹ شده است (۲۳).

با این حال، اثرات ضد ویروسی عصاره هسته انگور، متفاوت بوده و به طور کامل ارزیابی نشده است. با اینکه اثرات عصاره هسته انگور در درمان فیروز ریوی در یک مدل حیوانی گزارش شده است (۲۴)، اما اثرات عصاره هسته انگور بر بهبودی علائم بالینی و بیوشیمیایی در مان کووید-۱۹ در مطالعات بالینی هنوز بررسی نشده است. اهداف این مطالعه شامل بررسی اثرات عصاره هسته انگور (*Vitis vinifera*) بر بهبودی علائم بیوشیمیایی بیماران مبتلا به کووید-۱۹ که شامل تعداد سلول‌های خونی، سطح هموگلوبین و هماتوکریت، سطوح آنزیم‌های آلکالن فسفاتاز، آلانین آمینوترانسفراز، آسپاراتات آمینوترانسفراز و آنزیم‌های انعقادی PT، PTT و سطح سرمی ESR، سطح نیتروژن اوره خون و کراتینین سرم می‌باشد و همچنین ارزیابی اثرات این عصاره گیاهی در کاهش علائم بالینی بیماران که شامل میزان دمای بدن، تعداد تنفس، میزان فشارخون شریانی و اشباع O₂ می‌باشد و مدت زمان بستری بیمار در بیمارستان در نظر گرفته شده است.

را با استفاده از کارت های یادآوری ارزیابی می کرد و اطلاعاتی در مورد علائم کووید-۱۹ از جمله تعداد تنفس و دمای بدن از روز ۱ تا ۱۴ جمع آوری کرد. اندازه گیری ها از طریق معاینه، مشاهده بالینی یا مصاحبه با بیماران انجام شد. تعداد تنفس در یک دقیقه در نظر گرفته شد. علاوه بر این، یک پالس اکسیمتر برای ارزیابی SaO_2 استفاده شد. فشار خون دیاستولیک و سیستولیک دو بار به فاصله ۱۵ دقیقه بر روی بازوی راست با فشارسنج جیوه ای کالیبره شده توسط موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران اندازه گیری شد. فشار خون های دیاستولیک و سیستولیک پس از دو بار اندازه گیری و میانگین گیری تعیین شدند.

ارزیابی بیوشیمیایی: نمونه خون (۱۰ میلی لیتر) از همه بیماران در ابتدا و در روز ۱۴ (پس از درمان) جمع آوری شد. سطح CBC، هماتوکریت (Hematocrit)، HCT، سطح هموگلوبین (Hemoglobin, Hb) و تعداد WBC با استفاده از شمارنده سلولی اندازه گیری شد. همچنین از روش Wintergreen برای اندازه گیری سرعت رسوب گلوبول قرمز (ESR Erythrocyte Sedimentation Rate) استفاده شد. همچنین استخراج سرم از خون کامل از طریق سانتریفیوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. سطوح سرمی آلانین آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و آسپاراتات آمینوترانسفراز با استفاده از کیت های رنگ سنجی آنزیمی (شرکت پارس آزمون، ایران) تعیین شد. برای اندازه گیری اوره آز، از روش آنزیمی تعیین سطح نیتروژن اوره خون (شرکت پارس آزمون، ایران) استفاده شد. علاوه بر این، سنجش های اسپکتروفتومتری (برند Unico مدل ۲۱۰۰) برای اندازه گیری سطح کراتینین سرم (شرکت پارس آزمون، ایران) انجام شد. در نهایت، نسبت نرمال شده بین المللی (International Normalised Ratio, INR)، زمان پروترومبین و زمان ترومبوپلاستین جزئی با استفاده از یک کیت تجاری (Thermo Fisher Scientific Inc., USA) تعیین شد.

تجزیه و تحلیل آماری: مقایسه نتایج اولیه این مطالعه (تفاوت در مدت بستری) بین دو گروه با آزمون تی مستقل و تحلیل رگرسیون خطرات متناسب کاکس

عصاره خشک، معادل ۳۸ میلی گرم در هر کپسول محاسبه شد. این دارو به صورت کپسولی (۲۰۰ میلی گرم) در مرکز رشد واحدهای فن آوری فرآورده دارویی اهواز، ایران فرموله شد.

تصادفی سازی و کور کردن: بیماران کووید-۱۹ با استفاده از تصادفی سازی بلوکی (به ترتیب اندازه های ۴ و ۸) به گروه های کپسول عصاره هسته انگور و دارونما تقسیم شدند. توالی تصادفی سازی با استفاده از یک برنامه نرم افزاری مبتنی بر وب (www.sealedenvelope.com) ایجاد شد. برای پنهان سازی تخصیص، از روش sealed envelope استفاده شد و کدهای تصادفی یکتا توسط نرم افزار آنلاین مذکور تولید شد. لیست تولید شده به صورت آنلاین از آدرس مشاهده است:

<https://www.sealedenvelope.com/simple-randomiser/v1/lists>

به گروه کپسول عصاره هسته انگور هر ۱۲ ساعت یک کپسول (حاوی ۲۰۰ میلی گرم عصاره هسته انگور) به علاوه درمان استاندارد ملی برای کووید-۱۹ (۲۰۰ میلی گرم رمدسیور، هر ۱۲ ساعت؛ ساخت شرکت روناک دارو، ایران) داده شد. گروه دارونما با کپسول های حاوی نشا سته (هر ۱۲ ساعت) که از نظر رنگ و ظاهر مشابه کپسول های عصاره هسته انگور بود، همراه با درمان معمول، تحت درمان قرار گرفتند. برای اطمینان از استفاده از دارونما و کپسول عصاره هسته انگور زمان دریافت کپسول توسط بیماران ثبت شد.

ارزیابی متغیرها: ابتدا داده ها شامل سن، جنس، سابقه بیماری زمینه ای (به عنوان مثال، دیابت، فشار خون بالا، آسم، بیماری تیروئید و چربی خون) و مصرف سیگار در یک پرسشنامه تایید شده ثبت شد. علائم بالینی کووید-۱۹، تعداد تنفس، دمای بدن، اشباع O_2 ($\text{Saturation O}_2, \text{SaO}_2$) و فشار خون در ابتدا و در روز ۱۴، یعنی روز پایانی درمان ارزیابی شدند. همچنین پارامترهای آزمایشگاهی و بالینی در ابتدا و پس از درمان (روز ۱۴) مورد ارزیابی قرار گرفتند. بهبود بالینی و زمان مرگ در ابتدا و در روز ۱۴ ثبت شد.

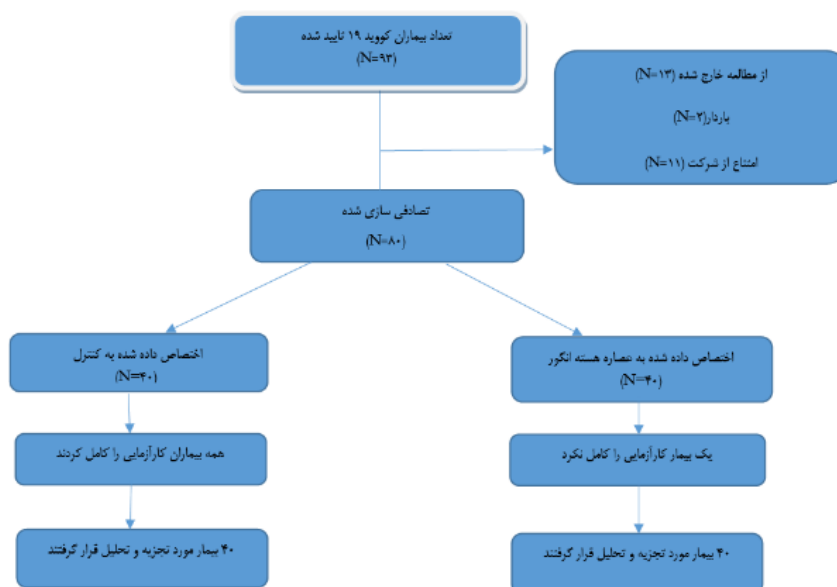
ارزیابی علائم: یک پرستار باتجربه روزانه همه بیماران

آماري با نرم افزار STATA 12.0 انجام شد.

یافته‌ها

نود و سه مورد مبتلا به کووید-۱۹ واجد شرایط مطالعه بین ۱ اوت تا ۳۰ سپتامبر ۲۰۲۱ مورد ارزیابی قرار گرفتند. نمودار شماره ۱ دلایل حذف ۱۳ مورد از مطالعه را نشان می‌دهد. در مجموع ۸۰ بیمار در گروه‌های کپسول عصاره هسته انگور (۴۰ نفر) و دارونما (۴۰ نفر) قرار گرفتند. با این حال، طبق نمودار شماره ۱، یک بیمار در گروه دریافت کننده کپسول عصاره هسته انگور، به دلیل بستری شدن در بخش مراقبت

انجام شد. همچنین از منحنی کاپلان مایر برای نشان دادن مدت بستری دو گروه و تفاوت احتمالی مدت زمان بستری در دو گروه استفاده شد. از آزمون ANOVA نیز برای ارزیابی نتایج ثانویه استفاده شد. برای کنترل اندازه گیری‌های پایه، آزمون ANCOVA انجام شد. تعداد تنفس، اشباع O_2 (SO_2)، فشار خون، هموگلوبین، هماتوکریت، زمان پروترومبین، زمان ترومبوپلاستین جزئی، سرعت رسوب گلبول قرمز، سطح اوره خون، آلانین آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز و آسپاراتات آمینوترانسفراز، شمارش گلبول‌های سفید، شمارش گلبول‌های قرمز و دما مورد سنجش قرار گرفتند. آنالیز



نمودار ۱- تصادفی سازی و تخصیص درمان

جدول ۱- ویژگی‌های پایه شرکت کنندگان در گروه‌های دریافت کننده عصاره هسته انگور (مداخله) و دارونما (کنترل)

متغیر	گروه کنترل (N=40)	گروه مداخله (N=40)
سن (به سال)	۴۵/۵ (۳۸-۵۴/۵)	۴۰/۵ (۳۱-۵۲/۵)
زن	۱۴ (۳۵٪)	۲۵ (۶۳٪)
مرد	۲۶ (۶۵٪)	۱۵ (۳۷٪)
فشار خون بالا	۷ (۱۸٪)	۱۱ (۲۸٪)
دیابت	۱۱ (۲۸٪)	۱۱ (۲۸٪)
آسم	۲ (۵٪)	۱ (۳٪)
تیروئید	۲ (۵٪)	۳ (۸٪)
چربی خون بالا	۱ (۳٪)	۲ (۵٪)

داده‌ها به صورت میانگین (SD) یا تعداد (درصد) نشان داده شده‌اند.

نمودار شماره ۲ منحنی کاپلان مایر می باشد که نتایج رگرسیون کاکس و تی تست را تایید می کند. **نتایج ثانویه:** طبق پروتکل های ما، نتایج ثانویه با استفاده از آزمون t مقایسه شد (جدول شماره ۲). بر اساس نتایج این جدول، تفاوت معنی داری بین نتایج ثانویه به جز در تعداد گلبول های قرمز (RBC) و سطح هموگلوبین مشاهده نشد. پس از تعدیل مقادیر پایه RBC و هموگلوبین بر اساس تجزیه و تحلیل کوواریانس (ANCOVA)، تفاوت معنی داری بین دو گروه در این دو متغیر مشاهده نشد

(Mean difference for RBC= ۰,۱۱; ۹۵% CI: -۰,۳۲, ۰,۰۸; P=۰,۲۶;

Mean difference for Hb= -۱/۷۸, ۹۵% CI: -۳/۶۴, -.۰/۰۸, P= ۰/۰۶)

پاور آنالیز: تجزیه و تحلیل توان آزمون های تعقیبی (HR = 0.85؛ توان = ۸۰٪) نشان داد که ۱۲۷۳ شرکت

های ویژه برای پیگیری از دسترس مطالعه خارج شد. اطلاعات پایه بیماران در گروه دارونما و کپسول عصاره هسته انگور در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. علاوه بر این، ما ابتدا به تجزیه و تحلیل قصد درمان در همه بیماران انتخاب شده تصادفی پرداختیم. همه بیماران از بین بیماران بستری در بیمارستان انتخاب شدند. به دلیل کوتاه بودن دوره مطالعه، داده های همه بیماران برای تجزیه و تحلیل در دسترس بود.

نتایج اولیه: بر اساس آزمون t، مدت اقامت در بیمارستان در گروه دارونما نیم روز بیشتر از گروه کپسول عصاره هسته انگور بود. با این حال، این تفاوت معنی دار نبود.

(Mean difference= ۰/۵; ۹۵% CI: -۱/۰۹-۲/۰۹;

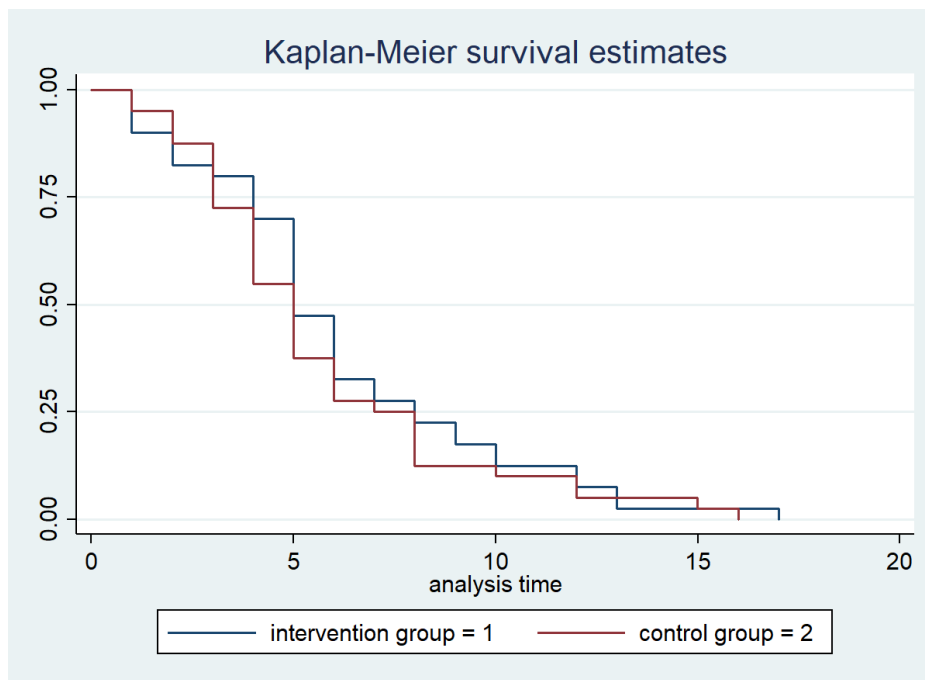
P=۰/۵۳)

این نتیجه توسط تحلیل رگرسیون خطرات متناسب کاکس تایید شد.

(HR=۰/۸۵; ۹۵% CI: ۰/۵۴-۱/۳; P=۰/۴۷)

جدول ۲- تجزیه و تحلیل تعدیل نشده برای نتایج ثانویه

متغیرها	گروه کنترل Mean (SD)	گروه مداخله Mean (SD)	اختلاف میانگین	فاصله اطمینان ۹۵٪	P-value
PT(Sec)	۱۳,۰۳(۱,۲۶)	۱۳,۸۲(۲,۳۶)	۰,۷۹	-۰,۰۶, ۱,۶۳	۰,۰۷
PTT (Sec)	۳۴,۴(۹,۲۱)	۳۷,۵۲(۳۱,۲۱)	۳,۱۳	-۷,۱۲, ۱۳,۳۷	۰,۵۵
INR (%)	۱,۰۶(۰,۰۹)	۱,۰۸(۰,۱۶)	۰,۰۲	-۰,۰۴, ۰,۰۸	۰,۴۴
ESR (mm/h)	۴۹,۴۳(۲۶,۲۹)	۵۶,۶۲(۲۰,۰۸)	۷,۱۹	-۳,۲۳, ۱۷,۶۱	۰,۱۷
Cr (mg/dl)	۰,۸۸(۰,۱۹)	۰,۸۸(۰,۱۹)	۰,۰۰	-۰,۰۸, ۰,۰۹	۰,۹۵
BUN (mg/dl)	۱۲۸,۶۵ (۵,۵۲)	۱۸,۷۵(۸,۶۹)	۰,۱۰	-۳,۱۴, ۳,۳۴	۰,۹۵
ALK (U/L)	۱۶۳,۸۵(۴۵,۸۱)	۱۷۲,۲۵(۶۶,۹۹)	۸,۴۰	-۱۷,۱۵, ۳۳,۹۵	۰,۵۲
ALT(U/L)	۵۴,۴۷(۴۹,۴۴)	۴۶,۲۷(۳۸,۹۳)	۸,۲۰	-۱۱,۶, ۲۸,۰۰	۰,۴۱
AST (U/L)	۳۸,۰۲(۳۲,۹۶)	۳۸,۳۲(۲۰,۱۱)	-۰,۳۰	-۹,۹۱, ۹,۳۱	۰,۹۵
Temp (°C)	۳۶,۵۲(۰,۸۴)	۳۵,۷۲(۵,۳۲)	-۰,۸۰	-۲,۵, ۰,۹۰	۰,۳۵
SBP (mmHg)	۱۲۳,۸(۱۰,۶۹)	۱۲۰,۴(۱۰,۳۴)	-۳,۴۰	-۸,۰۸, ۱,۲۸	۰,۱۵
DBP (mmHg)	۷۶,۷۵(۱۲,۳۳)	۷۵,۹۵(۸,۹۶)	-۰,۸۰	-۵,۶۰, ۴,۰۰	۰,۷۴
sat (%),O	۹۷,۴۵(۱,۶۳)	۹۷,۹۵(۱,۰۸)	۰,۵۰	-۰,۱۲, ۱,۱۲	۰,۱۱
RR (no / min)	۱۹,۹۷(۳,۰۴)	۲۰,۶۷(۱,۰۹)	۰,۷۰	-۰,۳۲, ۱,۷۲	۰,۱۸
/μl)WBC (10	۸,۸۶(۴,۵۲)	۹,۴۲(۵,۱۶)	۰,۵۶	-۱,۶۰, ۲,۷۲	۰,۶۱
/μl)RBC (10	۵,۲۵(۰,۷۳)	۴,۸۳(۰,۵۱)	-۰,۴۱	-۰,۶۹, -۰,۱۳	۰,۰۱
Hb (g/dl)	۱۴,۹۸(۵,۳۹)	۱۲,۹۳(۱,۳۷)	-۲,۰۵	-۳,۸۱, -۰,۳۰	۰,۰۲
HCT (%)	۴۰,۳۶(۷,۵۹)	۴۰,۲۴(۷,۴۲)	-۰,۱۲	-۳,۴۷, ۳,۲۲	۰,۹۴



نمودار ۲- نمودار کاپلان مایر برای مقایسه طول مدت بستری دو گروه

تفاوت در مدت بستری قابل توجه خواهد بود. اخیراً بیش از ۵۰ درصد از ترکیبات گیاهی به عنوان منابع ضروری دارویی مورد استفاده در محیط‌های بالینی برای تولید داروهای جدید مورد بررسی قرار گرفته اند (۲۸). اثرات چندین فرآورده طبیعی دارای خواص درمانی در برابر بسیاری از انواع بیماری‌ها ثابت شده است. به عنوان مثال، عصاره هسته انگور به طور قابل توجهی بر چندین بیماری مانند بیماری‌های عفونی، التهاب، دیابت، کبد چرب، سرطان و بیماری‌های قلبی عروقی موثر بوده است (۱۴، ۱۵). با توجه به شباهت‌های بین ویروس هپاتیت C و ویروس نقص ایمنی انسانی و سندرم حاد تنفسی-کروناویروس ۲، داروهایی که برای درمان هپاتیت C و ایدز استفاده می‌شوند نیز برای درمان کووید-۱۹ پیشنهاد شده‌اند. یکی از شباهت‌های ویروس نقص ایمنی انسانی و کرونا ویروس ۲، این است که هر دو ویروس باعث افزایش تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی می‌شوند. این افزایش در غلظت سایتوکاین‌های التهابی در بروز عوارض ثانویه مرتبط با بار ویروسی SARS-CoV-2 دخیل می‌باشند (۲۹).

کننده برای هر گروه مورد نیاز بود. پس از گسترش داده‌ها به اندازه نمونه با استفاده از یک ماژول توسعه در STATA (نسخه ۱۲)، تفاوت ۱۷ درصدی در میانگین مدت بستری بین گروه عصاره هسته انگور و دارونما معنی دار شد.

(HR= ۰/۸۵; ۹۵ % CI: ۰/۹۳-۰/۳۳; P=۰/۰۰۱)

پس از کنترل سن، جنس و فشار خون، این رابطه معنادار باقی ماند.

(HR=۰/۳۳; ۹۵% CI: ۰/۸۵-۰/۶۹; P≤۰/۰۰۱).

بحث

این مطالعه کارآزمایی بالینی تصادفی دوسوکور حاضر اثر کپسول عصاره هسته انگور را بر کووید-۱۹ ارزیابی کرد. اثر کپسول عصاره هسته انگور در بین ۸۰ بیمار مبتلا به کووید-۱۹ بستری در بیمارستان مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که کپسول عصاره هسته انگور بر علائم بالینی یا نشانگرهای بیوشیمیایی بیماران در این مطالعه تأثیری نداشت. با این حال، پاور آنالیز نشان داد که اگر مطالعه بر روی حجم نمونه بزرگتر، حدود ۱۲۷۳ مورد در هر گروه انجام شود،

ویروس هپاتیت C می شود (۳۴). با این حال، مکانیسم آن به طور کامل شناخته نشده است. تاثیر عصاره هسته انگور بر کاهش بیان بسپیاری از ژن های پیش التهابی مرتبط با ویروس هپاتیت C تا حدی از طریق مهار NF-Kb, Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells انجام می شود. همچنین، خواص آنتی اکسیدانی ناشی از پروآنتوسیانیدین ها میتواند سلول را در برابر التهاب مزمن یا حاد حفاظت کرده و در درمان هپاتیت ویروسی نیز موثر باشد. طبق مطالعه چن و همکاران در سال ۲۰۱۶، درمان با عصاره هسته انگور دارای تاثیرات ضد ویروس هپاتیت C قابل توجهی است و مانع افزایش بیان سیکلواکسیژناز ۲ ناشی از ویروس هپاتیت C می شود (۱۶).

برخی از مطالعات فعالیت ضد ویروسی عصاره هسته انگور را بر روی ویروس نقص سیستم ایمنی ارزیابی کرده اند، که نشان می دهد عصاره هسته انگور می تواند به طور قابل توجهی بیان گیرنده های HIV-1 را کاهش دهد (۲۰، ۳۵). نایر و همکاران در سال ۲۰۰۲، نقش مکانیسم های ضد ویروسی عصاره هسته انگور را در درمان HIV ارزیابی و گزارش کرد که عصاره هسته انگور باعث کاهش چشمگیر بیان هسته گیرنده های ورودی HIV می شود که این امر نیز منجر به تداخل در اتصال ویروس به گیرنده های سلولی و جلوگیری از ورود ویروس نقص سیستم ایمنی به لنفوسیت های طبیعی می شود. علاوه بر این، عصاره هسته انگور از بیان و تکثیر HIV-1 جلوگیری می کند (۲۰).

Zannella و همکاران در سال ۲۰۲۱، فعالیت ضد ویروسی عصاره برگ انگور *Vitis vinefra* را در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که عصاره برگ مذکور در مراحل اولیه عفونت مانع تکثیر SARS-CoV-2 می شود. آنها پیشنهاد کردند که مسدود سازی مستقیم پروتئین های غنی شده در سطح ویروس ممکن است دلیل این امر باشد (۲۲).

Hajibeigy و همکاران در سال ۲۰۲۲ به بررسی اثربخشی رژیم غذایی طب سنتی ایران در بیماران مبتلا به کووید-۱۹ پرداختند و نشان دادند که این رژیم ها که شامل انجیر، انگور، گلرنگ، زیزیفوس عنب، سوپ

RNA ویروس های HCV و SARS-CoV-2 تک سویه مثبت بوده و از نظر برخی ویژگی ها از جمله واکنش های ایمنی بدن میزبان مشابه هستند، و در نتیجه بینشی از درمان کووید-۱۹ ارائه می دهند. این ویروس ها دارای شباهت های زیادی با یکدیگر هستند که از کانال های یونی تا علائم بیماری را شامل می شود.

موثرترین رویکردهای درمان کووید-۱۹ شامل کاهش بار ویروسی، درمان آسیب های سیستم ریوی و کاهش التهاب است (۳۰). از آنجایی که هیچ داروی ضد ویروسی خاصی برای درمان کووید-۱۹ در دسترس نیست، استفاده از داروهای ضد ویروسی موثر در عفونت های ویروسی نقص سیستم ایمنی و هپاتیت C برای درمان کووید-۱۹ نیز پیشنهاد شده است (۲۹، ۳۰). با توجه به نیاز به درمان فوری کووید-۱۹، داروهای مورد استفاده برای درمان ایدز، مانند لوپیناویر، برای این عفونت نیز مورد بررسی قرار گرفته اند. با این حال، اثربخشی آنها تایید نشده است (۳۱). همچنین، رمدسیویر کمترین اثربخشی را در برابر عفونت ویروسی نقص سیستم ایمنی نشان می دهد (۳، ۳۲). به جز کورتیکواستروئیدها که باعث کاهش طوفان سیتوکینی می شوند (۳۳)، هیچ داروی موثری برای درمان عفونت SARS-CoV-2 در دسترس نیست.

اگرچه اطلاعات کمی درباره SARS-CoV-2 موجود است اما نتایج تحقیقات گسترده در مورد این ویروس می تواند منجر به کشف درمان های موثر کووید-۱۹ شود. در این مطالعه، اثرات کپسول عصاره هسته انگور بر نشانگرهای بیوشیمیایی و علائم بالینی کووید-۱۹ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج برخی مطالعات نشان می دهد که کپسول عصاره هسته انگور در درمان عفونت های ویروسی نقص سیستم ایمنی و هپاتیت C موثر است (۲۰). بنابراین، ما کپسول عصاره هسته انگور را در مطالعه فعلی برای درمان بیماران کووید-۱۹ انتخاب کردیم.

تحقیقات نشان داده که عصاره هسته انگور حاوی سطح بالایی از پروآنتوسیانیدین، که در برگ های بلوبری نیز موجود است، از طریق اتصال به ریبونوکلوپروتئین هسته ای ناهمگن میزبان (hnRNP) A2/B1 مانع تکثیر

جمعیت زیاد انجام شود.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این مطالعه، عصاره‌ی هسته انگور تأثیر قابل توجهی بر نشانگرهای بیوشیمیایی و کاهش علائم کووید-۱۹ نداشت. با این حال، مطالعه حاضر اولین کارآزمایی تصادفی‌سازی و کنترل‌شده است که در آن اثرات عصاره‌ی هسته انگور در بیماران کووید-۱۹ بررسی کرده است. لذا مطالعات بیشتر در جمعیت‌های بزرگتر می‌تواند نتایج جامعتری را ارائه دهد.

تقدیر و تشکر

مقاله حاضر برگرفته از طرح تحقیقاتی هیات علمی با شماره طرح تحقیقاتی ۸۶۰ در دانشگاه علوم پزشکی آبادان است. دانشگاه علوم پزشکی آبادان حمایت مالی برای انجام این پروژه داشته‌اند و نویسندگان کمال تشکر و سپاسگزاری از کارکنان بیمارستان آیت اله طالقانی آبادان برای همکاری در اجرای پژوهش و جمع‌آوری داده‌ها را دارند.

ملاحظات اخلاقی

این پژوهش توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی آبادان (IR.ABADANUMS.REC.1399.098) تأیید و در سازمان ثبت کارآزمایی‌های بالینی ایران <https://www.irct.ir/trial/51199> و به شماره IRCT20200921048783N1 به ثبت رسید.

درصد مشارکت نویسندگان

نویسنده اول در طراحی، جمع‌آوری داده‌ها، تحلیل نتایج و نگارش مقاله به میزان ۳۰ درصد مشارکت داشته است. نویسنده دوم در طراحی مطالعه و نگارش مقاله به میزان ۲۰ درصد مشارکت داشته است. نویسنده سوم در آنالیز و تحلیل آماری نتایج و نگارش مقاله، به میزان ۱۰ درصد مشارکت داشته است. نویسندگان چهارم تا هفتم در جمع‌آوری داده‌ها و نگارش مقاله، هر کدام به میزان ۱۰ درصد مشارکت داشته‌اند.

مرغ، سوپ جو، گلاب و ادویه‌های زعفران و دارچین هستند می‌توانند باعث کاهش نشانگرهای التهابی و سطح CPR در بیماران مبتلا به کووید-۱۹ شوند (۲۳). بنابراین، مطالعات اخیر تأثیر بخش‌های مختلف گیاه انگور *Vitis vinifera* در کاهش علائم کووید-۱۹ را نشان داده‌اند، اما مطالعه بر روی عصاره‌ی هسته انگور بر درمان کووید-۱۹ برای اولین بار انجام شد که در حجم مورد مطالعه نتایج حاکی از عدم اثر بخشی این ترکیب بود که به همین دلیل، تحقیقات بیشتری با حجم نمونه بزرگتر پیشنهاد می‌شود.

ناکافی بودن دوز عصاره هسته انگور و طول درمان با این ترکیب در مطالعه حاضر می‌تواند از دلایل عدم اثر بخشی این ترکیب بر علائم بیماری کووید-۱۹ باشد. همچنین جدا سازی فراکسیون‌های عصاره هسته انگور به گونه‌ای که ترکیبات فعال زیستی مانند پروآنتوسیانیدین‌ها، فلاونوئیدها و رزوراترول با غلظت‌های موثره بکار رفته باشند، نیز اثر مهمی بر نتایج تأثیر این ترکیب در درمان بیماری دارد که در این مطالعه عصاره تام بکار رفته شد و تفکیک فراکسیون‌ها صورت نگرفته بود و این عامل نیز می‌تواند بر نتیجه‌ی نهایی تأثیر گذار باشد.

همچنین شدت بیماری کووید-۱۹ و وخامت وضعیت بیمار نیز می‌تواند در اثر بخشی و یا عدم اثر بخشی ترکیب بکار رفته موثر باشد که در این مطالعه بیماران بر اساس شدت بیماری تفکیک نشدند و به عنوان محدودیت‌های مطالعه نیز در نظر گرفته شده است.

این کارآزمایی بالینی چندین محدودیت داشت. اول اینکه تحقیق حاضر در بیمارستان اصلی ارجاع بیماران کووید-۱۹ انجام شد. دوم، با توجه به محدودیت اول، حجم نمونه تقریبی ۸۰ شرکت کننده بود، در حالی که بر اساس پاور آنالیز، ۱۲۷۳ نفر تخمین زده شد که انجام آن در یک بیمارستان امکانپذیر نبود. همچنین عدم خالص سازی عصاره هسته انگور و عدم تفکیک بیماران از نظر شدت بیماری نیز از جمله محدودیت‌های این مطالعه می‌باشد. در نهایت، پیشنهاد می‌شود که تحقیقات مشابه و بزرگتر دو سوکور کنترل شده با دارونما در آینده بصورت کارآزمایی چند مرکزی بر روی

References

1. Singhal T. A review of coronavirus disease-2019 (COVID-19). *Indian J Pediatr.* 2020;87(4):281-6.
2. Ghebreyesus T. World Health Organization. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19-25 May 2020.
3. Wang Y, Zhang D, Du G, Du R, Zhao J, Jin Y, et al. Remdesivir in adults with severe COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet.* 2020;395(10236):1569-78.
4. Bhatraju PK, Ghassemieh BJ, Nichols M, Kim R, Jerome KR, Nalla AK, et al. Covid-19 in critically ill patients in the Seattle region—case series. *N Engl J Med.* 2020;382(21):2012-22.
5. Jia Z, Song X, Shi J, Wang W, He K. Transcriptome-based drug repositioning for coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Pathog Dis.* 2020;78(4):ftaa036.
6. Asai A, Konno M, Ozaki M, Otsuka C, Vecchione A, Arai T, et al. COVID-19 drug discovery using intensive approaches. *Int J Mol Sci.* 2020;21(8):2839.
7. Zhong LLD, Lam WC, Yang W, Chan KW, Sze SCW, Miao J, et al. Potential targets for treatment of coronavirus disease 2019 (COVID-19): a review of Qing-Fei-Pai-Du-Tang and its major herbs. *Am J Chin Med.* 2020;48(05):1051-71.
8. Zhang L, Liu Y. Potential interventions for novel coronavirus in China: A systematic review. *J Med Virol.* 2020;92(5):479-90.
9. Nugraha RV, Ridwansyah H, Ghazali M, Khairani AF, Atik N. Traditional herbal medicine candidates as complementary treatments for COVID-19: a review of their mechanisms, pros and cons. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2020;2020.
10. Huang F, Li Y, Leung EL-H, Liu X, Liu K, Wang Q, et al. A review of therapeutic agents and Chinese herbal medicines against SARS-COV-2 (COVID-19). *Pharmacol Res.* 2020;158:104929.
11. Hemmati AA, Mojiri-Forushani H. Beneficial Effects of Herbal and Natural Remedies on the Treatment of COVID-19. *JNPP;* 2022;17(2):e121331.
12. Ang L, Song E, Lee HW, Lee MS. Herbal medicine for the treatment of coronavirus disease 2019 (COVID-19): a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Clin Med.* 2020;9(5):1583.
13. Panyod S, Ho C-T, Sheen L-Y. Dietary therapy and herbal medicine for COVID-19 prevention: A review and perspective. *J Tradit Complement Med.* 2020;10(4):420-7.
14. Kwatra B. A review on potential properties and therapeutic applications of grape seed extract. *World J Pharm Res.* 2020;9:2519-40.
15. Mojiri-Forushani H, Hemmati A, Khanzadeh A, Zahedi A. Effectiveness of Grape Seed Extract in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver: A Randomized Double-Blind Clinical Study. *Hepat Mon.* 2022;22(1):e132309.
16. Chen WC, Tseng CK, Chen BH, Lin CK, Lee JC. Grape seed extract attenuates hepatitis C virus replication and virus-induced inflammation. *Front Pharmacol.* 2016;7:490.
17. Cai W, Chen G, Luo Q, Liu J, Guo X, Zhang T, et al. PMP22 Regulates Self-Renewal and Chemoresistance of Gastric Cancer Cells Role of PMP22 in Gastric Cancer. *Mol cancer Ther.* 2017;16(6):1187-98.
18. Joshi SS, Su X, D'Souza DH. Antiviral effects of grape seed extract against feline calicivirus, murine norovirus, and hepatitis A virus in model food systems and under gastric conditions. *Food Microbiol.* 2015;52:1-10.
19. Sharaf M, El-Deeb NM, EL-Adawi HI. The potentiality of grape seed extract as a novel anti-hepatitis C virus agent. *J Med Sci.* 2012;12(4):107.
20. Nair MP, Kandaswami C, Mahajan S, Nair HN, Chawda R, Shanahan T, et al. Grape seed extract proanthocyanidins downregulate HIV-1 entry coreceptors, CCR2b, CCR3 and CCR5 gene expression by normal peripheral blood mononuclear cells. *Biol Res.* 2002;35(3-4):421-31.
21. Su X, D'Souza DH. Grape seed extract for control of human enteric viruses. *Appl Environ Microbiol.* 2011;77(12):3982-7.
22. Zannella C, Giugliano R, Chianese A, Buonocore C, Vitale GA, Sanna G, et al. Antiviral activity of *Vitis vinifera* leaf extract against SARS-CoV-2 and HSV-1. *Viruses.* 2021;13(7):1263.
23. Hajibeygi R, Mirghazanfari SM, Pahlavani N, Jalil AT, Alshahrani SH, Rizaev JA, et al. Effect of a diet based on Iranian traditional medicine on inflammatory markers and clinical outcomes in COVID-19 patients: A double-blind, randomized, controlled trial. *Eur J Integr Med.* 2022;55:102179.
24. Hemmati AA, Nazari Z, Samei M. A comparative study of grape seed extract and vitamin E effects on silica-induced pulmonary fibrosis in rats. *Pulm Pharmacol Ther.* 2008;21(4):668-74.
25. Rees EM, Nightingale ES, Jafari Y, Waterlow NR, Clifford S, B Pearson CA, et al. COVID-19 length of hospital stay: a systematic review and data synthesis. *BMC Med.* 2020;18(1):1-22.
26. Motamed N, Zamani F. Sample size in applied medical research. 2016.
27. Giusti MM, Wrolstad RE. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Curr Protoc.* 2001(1):F1. 2.1-F. 2.13.

28. Chopra R, Nayar S, Chopra I. In Glossary of Indian medicinal plants, National Institute of Science Communication, New Delhi, India, 169 Cragg, GM and Newman, DJ (2005). Plants as a source of anticancer agents. *J Ethnopharmacol.* 1996;100(1-2):72-9.

29. Illanes-Álvarez F, Márquez-Ruiz D, Márquez-Coello M, Cuesta-Sancho S, Girón-González JA. Similarities and differences between HIV and SARS-CoV-2. *Int J Med Sci.* 2021;18(3):846.

30. Alotheid H, Aldughaim MS, El Bakkouri K, AlMashhadi S, Al-Qahtani AA. Similarities between the effect of SARS-CoV-2 and HCV on the cellular level, and the possible role of ion channels in COVID19 progression: a review of potential targets for diagnosis and treatment. *Channels.* 2020;14(1):403-12.

31. Cao B, Wang Y, Wen D, Liu W, Wang J, Fan G, et al. A trial of lopinavir–ritonavir in adults hospitalized with severe Covid-19. *N Engl J Med.* 2020.

32. Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, Mehta AK, Zingman BS, Kalil AC, et al. Remdesivir for the treatment of Covid-19—preliminary report. *N Engl J Med.* 2020;383(19):1813-36.

33. Fadel R, Morrison A, Vahia A, Smith Z, Chaudhry Z, Bhargava P, et al. COVID-19 Management Task Force, Early short course corticosteroids in hospitalized patients with COVID-19. *Clin Infect Dis.* 10.

34. Takeshita M, Ishida Y-i, Akamatsu E, Ohmori Y, Sudoh M, Uto H, et al. Proanthocyanidin from blueberry leaves suppresses expression of subgenomic hepatitis C virus RNA. *J Biol Chem.* 2009;284(32):21165-76.

35. Nair M, Mahajan S, Kandaswami C, Schwartz S, editors. Suppression of HIV-1 entry coreceptor gene expression in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) by defined grape seed extract proanthocyanidins. *FASEB J*; 1999: Federation Amer Soc Exp Biol 9650 Rockville Pike, Bethesda, MD 20814-3998 USA.