

POTENCIAL ANTIVIRAL DA *Punica granatum* L. (ROMÃ) NO TRATAMENTO DA HERPES SIMPLES

¹ Antonia Ana Clara do Nascimento Lima; ² Laisa Graziely Araújo Magalhães ; ³ Ana Júlia Lopes de Brito; ⁴ Lorennna Maria Neves Freitas; ⁵ Maria Ester Rodrigues Lima; ⁶ Mary Anne Medeiros Bandeira .

¹ Graduanda em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Ceará – UFC; ^{2,3} Graduanda em Farmácia pela Universidade Federal do Ceará – UFC; ^{4,5} Graduanda em Biotecnologia pela Universidade Federal do Ceará – UFC ⁶ Doutora em Química Orgânica pela Universidade Federal do Ceará – UFC.

Área temática: Temas transversais

Modalidade: Comunicação Oral Presencial

E-mail dos autores: anaclaral@alu.ufc.br¹; laisagaraujo@gmail.com²; julialopesb@alu.ufc.br³; lorennafreitas@alu.ufc.br⁴; esterrlima@alu.ufc.br⁵; mambandeira@yahoo.com.br⁶

RESUMO

INTRODUÇÃO: A herpes simples (HVS) é uma patologia humana que gera uma infecção, comumente localizada na região labial e genital. O uso prolongado do Aciclovir pode levar ao desenvolvimento na resistência ao efeito do medicamento e, por isso, a busca de outras alternativas para o tratamento de herpes simples são desejáveis. **OBJETIVO:** Analisar a ação farmacológica de *Punica granatum* e o seu potencial uso para o tratamento de herpes simples. **MÉTODOS:** Trata-se de uma revisão integrativa em que utilizou-se os descritores: “*Punica granatum*” e “Herpes Simplex”, na BVS e nas bases de dados: ScienceDirect, Cochrane Library e WOS, excluindo-se artigos repetidos, que tangenciassem o tema e fossem revisões. **RESULTADOS:** Foram selecionados quatro artigos, nos quais em dois deles foram realizados estudos *in vitro*, em que observou-se uma inibição significativa do HVS a partir do extrato da casca da romã. Outro estudo *in vivo* verificou que o extrato etanólico reduziu a replicação viral do HSV a partir da diminuição do acúmulo de DNA viral. Um estudo *ex vivo* constatou a redução de carga viral a partir do extrato da casca da romã. **CONCLUSÃO:** Foi observado que a *P. granatum* possui um potencial efeito antiviral para o tratamento da herpes simples. Entretanto, dado aos poucos estudos, faz-se necessário mais pesquisas que analisem o efeito *in vivo* da Romã que garanta sua aplicabilidade efetiva nos pacientes acometidos com essa doença.

Palavras-chave: *Punica Granatum*; Herpes Simples; Fitoterapia.

1 INTRODUÇÃO

A herpes simples (HVS) é uma patologia humana que afeta a parte cutânea, mucosa e/ou ocular do organismo, gerando infecção, comumente localizada na região labial e/ou genital, sendo

uma patologia espalhada globalmente. Essa pode chegar até a perdurar no corpo do hospedeiro alterando a resposta imune a fim de aumentar a replicação viral (El-Aguel *et al.*, 2022; Arunkumar *et al.*, 2018).

Muitos medicamentos são indicados para o tratamento dessa infecção, como o Aciclovir, contudo, já foi relatado que esse tratamento não controla completamente o vírus, e seu uso prolongado pode acarretar na resistência ao efeito do medicamento. Assim, a busca por novas substâncias terapêuticas para o tratamento de herpes simples são desejáveis (Arunkumar *et al.*, 2018). Logo, o uso da etnofarmacologia pode ser uma alternativa promissora a ser investigada para esse fim.

Desse modo, a *Punica granatum* L., popularmente conhecida por Romã, é uma planta utilizada para o tratamento caseiro de sintomas como febre, gripe e pneumonia, e apresenta grande potencial terapêutico dadas as propriedades de seu extrato, principalmente de sua casca, rica em metabólitos secundários, dentre eles, compostos fenólicos como a punicalagina, tanino hidrolisável presente no exocarpo do fruto, com propriedades antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória (Machado *et al.*, 2023; Alrashidi *et al.*, 2021).

Diante disso, o presente estudo busca analisar a ação farmacológica de *P. granatum* e o seu potencial uso para o tratamento de herpes simples.

2 MÉTODOS

Trata-se de uma Revisão Integrativa de Literatura (RIL) (SOUZA *et al.*, 2010), na qual teve como base a pergunta norteadora "A *Punica granatum* L. tem um potencial farmacológico no tratamento da Herpes Simples?". A partir disso, utilizou-se os termos de busca "*Punica granatum*" e "Herpes Simplex", conforme os Descritores em Saúde (DeCS/MeSH), empregando-se o operador booleano AND, formando a seguinte expressão de busca: ("*Punica granatum*" AND "Herpes Simplex"), que foi utilizada na Biblioteca Virtual de Saúde (BVS) e nas bases de dados: Science Direct, Cochrane Library e Web Of Science (WOS). Os critérios de inclusão foram artigos com o texto completo disponível em português ou inglês e que respondessem à questão norteadora, enquanto os de exclusão consistiram em artigos repetidos ou não correlacionados com o tema e revisões de literatura. A partir disso, foi feita uma triagem de 3 etapas: seleção dos estudos pelo título, pelo seus resumos e, por fim, pelo artigo na íntegra.

3 RESULTADOS

Após aplicação dos critérios de exclusão descritos na metodologia, poucos estudos responderam à questão norteadora, sendo quatro artigos selecionados: 1 do BVS e 3 do WOS, em que foram reunidos em um quadro (Quadro 1), adaptado da estratégia PICO (DANTAS *et al.*, 2022).

Quadro 1 - Apresentação dos estudos incluídos nesta revisão. À esquerda temos o título do artigo selecionado, seguido do autor, tipo de estudo, intervenção e resultados obtidos.

TÍTULO	AUTOR	TIPO DE ESTUDO	INTERVENÇÃO	RESULTADOS
<i>Punica granatum</i> Peel and Leaf Extracts as Promising Strategies for HSV-1 Treatment	El-Aguel <i>et al.</i> , 2022	Estudo <i>in vivo</i>	Ensaio de placa com os extratos etanólicos da casca e folhas da romã; testes com os três compostos de cada um.	Ambos diminuíram a replicação viral do HSV, porém o PPE obteve melhores resultados que o PLE. Dentre os três compostos, a punicalagina foi a que mais reduziu a placa viral.
Anti-Inflammatory Activity of <i>Punica granatum</i> L. (Pomegranate) Rind Extracts Applied Topically to <i>ex vivo</i> Skin	Houston <i>et al.</i> , 2017a	Estudo <i>ex vivo</i>	Ensaio <i>ex vivo</i> com aplicação de extratos aquosos da casca da romã (ECR), isolados e combinados com ZnSO ₄ , em marcadores inflamatórios como a COX-2 em amostras de pele suína para avaliação de propriedades anti-inflamatórias para uso tópico.	O ECR reduziu significativamente a COX-2 nas amostras a partir de 6h da aplicação e mantida por 24h, efeito semelhante à combinação com ZnSO ₄ , enquanto o ZnSO ₄ aplicado isoladamente não demonstrou efeitos significativos. O uso de taninos totais causou uma redução de COX-2 inferior à aplicação do ECR, e a punicalagina indicou boa penetrabilidade.
In vitro permeation and biological activity of punicalagin and zinc (II) across skin and mucous membranes prone to <i>Herpes simplex</i> virus infection	Houston <i>et al.</i> , 2017b	Estudo <i>in vitro</i> e <i>ex vivo</i>	Ensaio <i>in vitro</i> com membranas suínas excisadas para determinar a permeação e a atividade anti-HSV de formulações de hidrogel contendo extrato aquoso da casca de romã e zinco (II); ensaio <i>ex vivo</i> para determinar a atividade anti-inflamatória das formulações.	O hidrogel H2, contendo 1,25 mg.mL ⁻¹ do extrato vegetal e 0.25 M de zinco (II), obteve os melhores resultados de permeação em todas as membranas testadas, e atividades virucida e anti-inflamatória.
Study on antiviral	Arunkumar;	Estudo <i>in</i>	Ensaio <i>in vitro</i> com	O estudo demonstrou que os

activities, drug-likeness and molecular docking of bioactive compounds of <i>Punica granatum</i> L. to Herpes simplex virus - 2 (HSV-2)	Rajarajan, 2018	<i>vitro</i>	aplicação de extratos liofilizados a 10% da casca da romã e dos frutos com arilos em HEp-2; isolamento dos compostos bioativos para comparação da atividade antiviral do composto com o medicamento padrão.	extratos da casca da fruta <i>P. granatum</i> L. apresentaram uma inibição significativa do vírus HSV-2. Os compostos bioativos isolados também apresentaram um potencial antiviral contra o HSV-2.
---	-----------------	--------------	---	---

Fonte: Elaborado pelos autores (2024).

4 DISCUSSÃO

Em um ensaio de redução de placa, El-Alguel *et al.* (2022) mostrou que os extratos etanólicos da casca e da folha da romã (PLE e PPE, respectivamente) diminuíram a replicação viral do HSV, induzida no período de 1 hora, uma vez que o PLE reduziu o acúmulo de DNA viral, ainda que em alta concentração (100ug/ml). O PPE, por sua vez, afetou fortemente a transcrição dos genes representativos do HSV-1 mais que o PLE. Em suma, o PPE inibe a ligação do HSV-1 nas células, em contrapartida ao PLE, induzindo a diminuição da propagação viral.

Aprofundando em quais polifenóis do PPE eram mais relevantes que o PLE, os três compostos de ambos, punicalagina, ácido elágico e ácido gálico, foram testados separadamente. A punicalagina foi a que mais reduziu a placa viral, visto que DNA viral, transcrições e as três proteínas da cascata viral foram detectados após o tratamento com o polifenol. Sendo assim, atribui-se o potencial antiviral do PPE à punicalagina. A composição polifenólica dos extratos do Romã muda entre diferentes partes da planta e por isso cada uma é responsável por uma bioatividade (El-Aguel *et al.*, 2022).

Houston *et al.* (2017), em seu experimento para avaliação da atividade anti-inflamatória do extrato aquoso da casca da Romã, analisaram quali e quantitativamente a expressão da COX-2, enzima indutiva presente no processo inflamatório. O autor também realizou comparações entre o extrato, taninos totais de romã (TTR), que possui alto teor de punicalagina, e ZnSO₄, no que diz respeito às suas penetrabilidades relativas em pele *ex vivo*. A análise quantitativa visual confirmou que a aplicação tópica de ECR (com e sem ZnSO₄) reduziu a COX-2 de forma similar e significativa ($p > 0,01$), $64,5 \pm 5,1\%$ e $66,5 \pm 3,6\%$, respectivamente, indicando a redução da inflamação após 6 horas, efeito intensificado ao longo de 24 horas de observação. A redução de

COX-2 advinda da aplicação de TTR, embora expressiva, foi inferior aos resultados de ECR em 26%, significando que o efeito anti-inflamatório pode não ser exclusivamente devido aos taninos. Além disso, a punicalagina foi encontrada em camadas mais internas da pele, o que sugere que o composto pode ser uma rota viável à epiderme.

Houston e colaboradores (2017b) avaliaram a permeação e atividades virucida e anti-inflamatória de formulações de hidrogel de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) em membranas suínas excisadas. As formulações continham diferentes concentrações de extrato aquoso da casca da Romã (ECR) e de ZnSO₄, nomeadas H1 (0,5 mg.mL⁻¹ de ECR; 0,1M de ZnSO₄) e H2 (1,25 mg.mL⁻¹ de ECR; 0,25M de ZnSO₄), e uma sem nenhum dos compostos. No estudo, utilizam como marcador da presença do ECR as concentrações de punicalagina. Após o experimento de permeação dos hidrogéis, as membranas com os compostos foram recuperadas com 24h e utilizadas para avaliar o potencial virucida em células infectadas por HSV-1. A formulação H2, que mostrou-se mais eficaz na difusão das substâncias, obteve resultados positivos, com uma redução de carga viral de $2,57 \pm 0,36$ log. Quanto à atividade antiinflamatória do extrato, avaliou-se a expressão da enzima COX-2, que é induzida durante o processo inflamatório. A aplicação do H2 obteve uma redução de $67.69 \pm 3.93\%$ da expressão da enzima. Dessa forma, os autores confirmam a presença de punicalagina no local onde ocorre aglomerados vesiculares advindos do vírus, e o potencial anti-HSV e anti-inflamatório da formulação H2.

No estudo feito por Arunkumar *et al.* (2018), avaliou-se a atividade anti-HSV-2 de *P. granatum* em células epiteliais específicas de tecido humano (HEp-2). Para a extração, utilizou-se a liofilização, sendo usado o método aquoso, aquoso-etanólico (1:1) e etanólico a partir da casca da fruta e dos frutos contendo arilos. Na triagem antiviral, era desejada uma atividade inibitória completa até 100 µg/ml dos extratos, visto que valores abaixo não podem ser considerados como um candidato potencial para o isolamento adicional de compostos bioativos. Dessa forma, os extratos aquosos e aquoso-etanólicos da casca apresentaram inibição completa a 125 µg/m. Neste estudo, foi observado atividade contra o vírus da Herpes simplex – 2 (anti-HSV-2) de *P. granatum* com 100% de inibição em concentração menor de 125 µg/ml. Além disso, a atividade anti-HSV-2 relatada no estudo se deve a punicalagina presente na casca, seu composto bioativo que apresentou 100% de inibição em uma concentração de 31,25 µg /ml, na qual descobriu-se ser uma atividade inibitória equivalente ao medicamento padrão aciclovir. Esses resultados demonstram o potencial

desses compostos bioativos da Romã como agentes antivirais contra o HSV-2.

5 CONCLUSÃO

Portanto, esses resultados indicam o potencial antiviral da *P. granatum* para o tratamento da herpes simples. Entretanto, os estudos disponíveis com a planta ainda são insuficientes para atestar a eficácia e a efetividade do uso para o tratamento da herpes simples em humanos. Considera-se que estudos clínicos randomizados controlados por placebo são necessários para um maior aprofundamento desse potencial inexplorado.

REFERÊNCIAS

- ALRASHIDI, Amal et al. A time-kill assay study on the synergistic bactericidal activity of pomegranate rind extract and Zn (II) against Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA), Staphylococcus epidermidis, Escherichia coli, and Pseudomonas aeruginosa. **Biomolecules**, v. 11, n. 12, p. 1889, 2021.
- ARUNKUMAR, Jagadeesan; RAJARAJAN, Swaminathan. Study on antiviral activities, drug-likeness and molecular docking of bioactive compounds of Punica granatum L. to Herpes simplex virus-2 (HSV-2). **Microbial Pathogenesis**, v. 118, p. 301-309, 2018.
- DE LIMA DANTAS, Hallana Laisa et al. Como elaborar uma revisão integrativa: sistematização do método científico. **Revista Recien-Revista Científica de Enfermagem**, v. 12, n. 37, p. 334-345, 2022.
- EL-AGUEL, Asma et al. Punica granatum peel and leaf extracts as promising strategies for HSV-1 treatment. **Viruses**, v. 14, n. 12, p. 2639, 2022.
- HOUSTON, David MJ et al. Anti-inflammatory activity of Punica granatum L.(Pomegranate) rind extracts applied topically to ex vivo skin. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 112, p. 30-37, 2017.
- HOUSTON, David MJ et al. In vitro permeation and biological activity of punicalagin and zinc (II) across skin and mucous membranes prone to Herpes simplex virus infection. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, p. 99-106, 2017.
- MACHADO, Janaína Carla Barbosa; FERREIRA, Magda Rhayanny Assunção; SOARES, Luiz Alberto Lira. Punica granatum leaves as a source of active compounds: A review of biological activities, bioactive compounds, food, and technological application. **Food Bioscience**, v. 51, p. 102220, 2023.
- SOUZA, Marcela Tavares de; SILVA, Michelly Dias da; CARVALHO, Rachel de. Revisão integrativa: o que é e como fazer. **Einstein (São Paulo)**, v. 8, p. 102-106, 2010.