



UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Faculdade de Ciências e Tecnologia

Fitoterapia associada ao vírus do Herpes simplex

Sara Domingues Abrantes

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação da
Professora Doutora Maria da Graça Costa Miguel

Faro

2021



UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Faculdade de Ciências e Tecnologia

Fitoterapia associada ao vírus do Herpes simplex

Sara Domingues Abrantes

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação da
Professora Doutora Maria da Graça Costa Miguel

Faro

2021

Declaração de autoria de trabalho

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

© 2021 Sara Domingues Abrantes

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

“Para ser grande, sê inteiro: nada
Teu exagera ou exclui.
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és
No mínimo que fazes.
Assim em cada lago a lua toda
Brilha, porque alta vive.”

Ricardo Reis,
heterónimo de Fernando Pessoa

Agradecimentos

Neste fechar de ciclo, a Universidade do Algarve, foi como uma segunda casa, onde aprendi que com esforço e dedicação é possível alcançar os objetivos e sonhos.

É com muita alegria e satisfação que finalizo uma das etapas mais importantes dos meus estudos. Queria agradecer a todas as pessoas que direta ou indiretamente me ajudaram a superar os meus obstáculos, proporcionaram um período de ensino e aprendizagem e contribuíram para a minha formação quer profissional quer pessoal.

Começo por agradecer a todos os professores do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Universidade do Algarve, por serem excelentes profissionais, e por estarem sempre disponíveis para ajudar os alunos, pela dedicação e por todos os ensinamentos transmitidos ao longo deste percurso.

Em especial à professora Doutora Maria da Graça Costa Miguel, quero deixar o sincero agradecimento pela prontidão com que me aceitou a coorientar nesta caminhada, pela dedicação, disponibilidade e apoio constante, que fez com que esta dissertação fosse possível.

Aos meus amigos e colegas de curso que me acompanharam nesta aventura e que enriqueceram de alguma forma, o meu percurso académico. Foi gratificante partilhar esta viragem, que embora árdua, estávamos juntos para a “combater”. Aos meus amigos de longa data, que aguentaram todo o meu desaparecimento em certos eventos especiais, de modo a conseguir terminar esta crucial etapa e por me darem força para a concluir.

Gostava de deixar o meu sincero agradecimento, às minhas colegas de trabalho, em especial aos meus patrões. Desde o primeiro dia, se aprontaram ajudar, pela compreensão, paciência e desafio. Pela demonstração de afeto e por toda a disponibilidade.

Ao meu namorado, Luís Pedro Sarmiento, quero deixar um agradecimento especial, por ter sido o meu maior apoio nos bons e maus momentos, pela paciência, pela compreensão, pelo esforço e dedicação permanente. Mesmo longe, esteve presente com os melhores conselhos e nunca me deixou desistir. Um obrigado por todo o amor e amizade, que me dedica todos os dias!

Por último, queria agradecer à minha família, que é o meu alicerce. Por estarem sempre presentes e serem um modelo, por me apoiarem incondicionalmente em toda esta viagem, pela paciência, carinho, amor, incentivo e por me tornarem a pessoa que sou hoje.

Um obrigada, só nunca será suficiente! Espero nunca vos desiludir!

A todos, um grande obrigada!

Dedico a realização desta dissertação aos meus pais.

Resumo

Os vírus *Herpes simplex* tipo 1 e tipo 2 são agentes infecciosos comuns, amplamente disseminados na população e geralmente persistem ao longo da vida. São responsáveis por várias enfermidades, nomeadamente doenças de pele e das mucosas e, em algumas situações levam à cegueira, trazendo encargos significativos para o Sistema Nacional de Saúde.

As infeções virais são difíceis de tratar, devido à constante alteração no processo metabólico da célula hospedeira e ao estado de latência, incapacitando a erradicação do vírus. Atualmente, procuram-se novas alternativas terapêuticas que atuem seletivamente no vírus sem causar toxicidade à célula hospedeira e que combatam as estirpes já resistentes aos fármacos convencionais.

Deste modo, é importante encontrar e desenvolver metodologias para a obtenção de novas moléculas de origem natural ou obtidas por semi-síntese com capacidade para eliminar a atividade viral e que apresentem uma boa biodisponibilidade e praticamente sem toxicidade.

Esta dissertação, foca-se no estudo das espécies da família Lamiaceae, como: *Melissa officinalis*, *Mentha x piperita*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* e *Thymus vulgaris*, cujos compostos bioativos apresentam atividade anti-herpética. No final é, ainda, dado um exemplo de um produto disponível no mercado em que extratos de algumas destas espécies estão presentes juntamente com mais duas (*Rheum palmatum* e *Hamamelis virginiana*).

Palavras-chave: vírus *Herpes simplex*; atividade antiviral; fitoterapia; Lamiaceae.

Abstract

Herpes simplex type 1 and type 2 viruses are common infectious agents, widely disseminated in the population and generally persist throughout life. They are responsible for several illnesses, namely skin and mucosal diseases and, in some situations, lead to blindness, bringing significant load to the National Health System.

Viral infections are difficult to treat, due to the constant change in the host cell's metabolic process and latency state, making it impossible to eradicate the virus. Currently, we are looking for new therapeutic alternatives that act selectively on the virus without causing toxicity to the host cell and that fight strains already resistant to conventional drugs.

Thus, it is important to find and develop methodologies for obtaining new molecules of natural origin or displaced by semi-synthesis with the capacity to eliminate viral activity and which have good bioavailability and practically no toxicity.

This dissertation focuses on the study of species from the Lamiaceae family, such as: *Melissa officinalis*, *Mentha x piperita*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* and *Thymus vulgaris*, whose bioactive compounds have anti-herpetic activity. In the end, an example of a product available on the market is given, in which extracts of some of these species are present together with two more (*Rheum palmatum* and *Hamamelis virginiana*).

Keywords: *Herpes simplex* virus; antiviral activity; phytotherapy; Lamiaceae

Índice:

Índice de figuras.....	vii
Índice de quadros.....	ix
Lista de Abreviaturas.....	x
1.Introdução.....	1
2. Metodologia.....	2
3. Objetivos.....	2
4. Vírus Herpes Humano – Família Herpesviridae.....	3
4.1 História e subfamília.....	3
5. Vírus <i>Herpes simplex</i>	5
5.1. Morfologia e Genoma	5
5.2. Tipos <i>Herpes simplex</i>	6
5.2.1. Vírus <i>Herpes simplex</i> tipo 1	6
5.2.2. Vírus <i>Herpes simplex</i> tipo 2	7
5.3. Processo infeccioso do vírus <i>Herpes simplex</i>	7
5.3.1. Infecções latentes.....	9
5.3.1.1. Fatores para uma nova infecção depois da latência.....	10
5.4. Epidemiologia.....	11
5.5. Patogênese e Manifestações clínicas.....	12
5.5.1. Gengivoestomatite herpética	14
5.5.2. Herpes orolabial	15
5.5.3. Herpes ocular	16
5.5.4. Herpes genital.....	17
5.5.5. Herpes neonatal	18
5.5.6. Eczema herpeticum	18
5.5.7. Herpes gladiatorum.....	19
5.5.8. Panarício herpético	20
5.5.9. Encefalite e meningite herpética.....	20
5.6. Diagnóstico.....	21
5.6.1. <i>SWAB</i> – Método Tzanck.....	21
5.6.2. Sorologia.....	22
5.6.3. Reação em cadeia da polimerase – PCR.....	22
5.7. Prevenção e tratamento.....	23

5.7.1 Aciclovir.....	24
5.7.2. Valaciclovir.....	27
5.7.3. Fanciclovir e penciclovir	29
6. Fitoterapia como matéria medicinal.....	30
6.1. Fitoterapia: do passado e presente	30
6.2. Fitoterapia no mundo.....	32
6.3. Legislação em Portugal.....	33
7. Fitoquímicos com poder antiviral no tratamento do <i>Herpes simplex</i>.....	35
7.1. Família Lamiaceae.....	36
7.1.1. Compostos fenólicos.....	37
7.1.2. Metodologia utilizada para determinar a atividade anti-herpética em extratos da família Lamiaceae.....	39
7.1.3. <i>Melissa officinalis</i>	39
7.1.4 <i>Mentha x piperita</i>	41
7.1.5. <i>Rosmarinus officinalis</i>	42
7.1.6. <i>Salvia officinalis</i>	43
7.1.7. <i>Thymus vulgaris</i>	45
7.2. Erpecalm®	46
8. Papel do farmacêutico em fitoterapia.....	48
9. Conclusão	49
10. Referências Bibliográficas.....	50

Índice de figuras

Figura 5.1. Estrutura do vírus do HSV, adaptado (22).....	5
Figura 5.2. Ciclo de replicação do vírus, adaptado (22)	7
Figura 5.3. Latência e reativação do HSV, adaptado (34). LAT = <i>Latency-Associated Transcripts</i>	9
Figura 5.4. Localização das principais doenças do HSV-1 e HSV-2, adaptado (29)	13
Figura 5.5. HSV na mucosa gengival (53)	14
Figura 5.6. HSV intrabucal na língua (51)	14
Figura 5.7. HOL, com vesículas e bolhas (53)	15
Figura 5.8. Períodos clínicos da manifestação do HSV na pele - HOL - (A) período prodromico; (B) Período clínico ativo; (C) Período reparatório (53).....	16
Figura 5.9. Conjuntivite viral (60)	17
Figura 5.10. Uveíte (61)	17
Figura 5.11. (A) Lesões Vesiculares – herpes genital, (B) Lesões vesiculares – herpes peniano, (C) Lesões vesiculares – herpes perianal (63,64).....	17
Figura 5.12. EH com vesícula-pustular no (A) pescoço e no (B) braço (66)	19
Figura 5.13. Lesões típicas de HG na cabeça e pescoço (68)	19
Figura 5.14. Lesões típicas de PH na falange (69)	20
Figura 5.15. Estrutura molecular do aciclovir, C ₈ H ₁₁ N ₅ O ₃ (76)	24
Figura 5.16. Mecanismo de ação do aciclovir (84)	25
Figura 5.17. Estrutura molecular do Valaciclovir, C ₁₃ H ₂₀ N ₆ O ₄ (76)	28

Figura 5.18. Estrutura molecular do (A) Famciclovir, C ₁₄ H ₁₉ N ₅ O ₄ , e (B) Penciclovir, C ₁₀ H ₁₅ N ₅ O ₃ (76)	29
Figura 7.1. Estrutura química dos (1) ácidos benzóicos e dos (2) ácidos cinâmicos (109)....	37
Figura 7.2. <i>Melissa officinalis</i> (116)	40
Figura 7.3. <i>Mentha x piperita</i> (126)	41
Figura 7.4. <i>Rosmarinus officinalis</i> (135)	43
Figura 7.5. <i>Salvia officinalis</i> (140)	44
Figura 7.6. <i>Thymus vulgaris</i> (147)	45
Figura 7.7. <i>Hamamelis virginiana</i> (154).....	46
Figura 7.8. <i>Rheum palmatum</i> (159).....	47

Índice de quadros

Quadro 4.1. HHVs: Subdivisão da família Herpesviridae, adaptado (16).....	4
Quadro 5.1. A prevalência mundial pode ser influenciada por vários fatores, adaptado (39,40).....	12
Quadro 7.1. Metabolitos secundários com atividade anti-herpética (105,111)	38

Lista de Abreviaturas

ACV	Aciclovir
BDO	Biodisponibilidade oral
bp	Pares de bases (do inglês <i>base pair</i>)
CMV	Citomegalovírus
DGS	Direção Geral de Saúde
DNA	Ácido Desoxiribonucleico (do inglês <i>Desoxyribonucleic Acid</i>)
dsDNA	DNA cadeia dupla linear
E	Iniciais (“early”)
EBV	vírus Epstein-Barr
EH	Eczema herpeticum
EMA	Agência europeia do medicamento (do inglês <i>European Medicines Agency</i>)
FCV	Famciclovir
FDA	Food and drugs administration
GEH	Gengivostomatite herpética
GMP	Guanosina 5'-monofosfato
HG	Herpes gladiatorum
HHV...	Vírus Herpes humano ...
HOL	Herpes orolabial
HO	Herpes ocular
HSV	Vírus <i>Herpes simplex</i> ou simples (do inglês <i>Herpes simplex Virus</i>)
HSV- 1	Vírus <i>Herpes simplex</i> ou simples tipo 1
HSV- 2	Vírus <i>Herpes simplex</i> ou simples tipo 2
HVs	Vírus Herpes
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês <i>high performace liquid chromatography</i>)
ICTV	Comité Internacional de Taxonomia dos Vírus (do inglês <i>International Committee on Taxonomy of Viruses</i>)
IE	Iniciais imediatas (do inglês <i>immediaty early</i>)
IM	Intramuscular
INFARMED	Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde
IV	Intravenosa

kbp	Kilo pares de bases (do inglês <i>kilobase pair</i>)
L	Tardias (do inglês <i>late</i>)
LATs	Transcrições associadas à latência (do inglês <i>Latency-Associated Transcripts</i>)
NDP	Nucleósido difosfato
Nm	Nanómetro (10^{-9} m)
OH	Grupo hidróxido
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Reação em cadeia da polimerase (do inglês <i>Polymerase Chain Reaction</i>)
PCV	Penciclovir
pH	Potencial de hidrogénio
PH	Panarício herpético
RCM	Resumo das características do medicamento
RNAm	Ácido Ribonucleico mensageiro (do inglês <i>Messenger Ribonucleic Acid</i>)
SAR	Relação estrutura-atividade (do inglês <i>Structure-Activity Relationships</i>)
SNC	Sistema nervoso central
TK	Timidina cinase
VACV	Valaciclovir
VHS	Desligamento do virão hospedeiro (do inglês <i>virion host shutoff</i>)
VP...	Proteína viral...
VZV	Vírus da Varicela-Zóster (do inglês <i>Varicella Zoster Virus</i>)

1. Introdução

As infecções provocadas por vírus em humanos, sempre existiram, e muitos deles causando uma grande variedade de doenças. O vírus *Herpes simplex* (HSV) não é exceção. O HSV é um agente infeccioso de dimensões microscópicas, altamente difundido na natureza e facilmente transmissível (1).

Os vírus replicam-se dentro das células hospedeiras, causando diferentes manifestações clínicas. Atualmente, não existe uma cura definitiva nem terapêutica que erradique a infecção provocada pelo HSV, mas existem medidas para diminuir a frequência, a duração das recorrências e a transmissão entre os hospedeiros (2,3).

Atualmente, existem antivirais que promovem a terapêutica das doenças virais associadas ao vírus do herpes, nomeadamente: aciclovir, valaciclovir, famciclovir e penciclovir. No entanto, a maioria dos fármacos antivirais disponíveis, muitas vezes, têm espectro de atividade estreito, levando ao desenvolvimento de resistências virais, juntamente com o problema dos efeitos colaterais/toxicidade (4,5).

Ultimamente, a área da fitoterapia tem vindo a crescer, levando à procura de novos medicamentos à base de plantas e/ou suplementos alimentares para tratamento de doenças infecciosas humanas. Têm sido realizadas pesquisas de potenciais terapêuticas com produtos naturais e seus compostos químicos, como por exemplo com algumas espécies das plantas da família Lamiaceae, nomeadamente: *Melissa officinalis*, *Mentha x piperita*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* e *Thymus vulgaris* (6,7,8). Esta é uma das áreas de investigação que pode ser promissora para os profissionais de farmácia (9).

2. Metodologia

Esta dissertação de mestrado é de índole teórica, consistindo numa revisão bibliográfica sobre a fitoterapia associada ao vírus *Herpes simplex*. Estando isenta de trabalho prático, a metodologia baseou-se na seleção de várias fontes com informação precisa e atual sobre o tema em questão.

Tendo em conta os objetivos delineados, procedeu-se à pesquisa online de artigos científicos, utilizando as seguintes bases de dados: PubMed, Web of Knowledge, Google Scholar e Science Direct. A pesquisa bibliográfica teve como base a utilização de termos como: “phytotherapy”, “*Herpes simplex*”, “medicinal plants”, “Lamiaceae”, utilizando o marcador booleano “and” e “or”, de modo a restringir informação ao tema em estudo. A informação recolhida incluiu documentação redigida em Português (do Brasil), Francês, Castelhana e Inglês, publicados desde 1991 até 2021.

Ainda foi possível englobar, consulta de livros com relevância na área da saúde e ainda a Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde (INFARMED), Agência Europeia de Medicamento (EMA) e a Direção Geral de Saúde (DGS).

Para organizar toda a informação científica referenciada ao longo de todo o trabalho, foi utilizado o programa Mendeley, um gestor bibliográfico.

3. Objetivos

Esta dissertação visa:

- Ampliar os conhecimentos sobre o vírus *Herpes simplex* e a infeção provocada por este vírus;
- Aprofundar conhecimentos de fitoterapia e explorar o seu potencial contra as infeções por HSV;
- Desenvolver competências na área das plantas medicinais e fitoterapia como alternativa ao tratamento antiviral clássico.

4. Vírus herpes humano – Família Herpesviridae

4.1. História e subfamília

As infecções causadas pelos vírus do herpes humano (HHVs) já são referidas na Grécia antiga (10). O termo “herpes”, foi utilizado por Hipócrates, médico grego (460/377 a.C), para descrever lesões cutâneas de etiologia variada. Considerou-se, a partir do século XIX, que essas lesões vesiculadas como sendo uma entidade clínica, mas só em 1893 foi reconhecida a transmissão da infecção por HSV, de indivíduo para indivíduo (10,11).

Em 1930 surge o conceito de latência vírica, reconhecido por estudos realizados por Andrews e Carnichael, em doentes que após uma primoinfecção “curada”, e com anticorpos neutralizantes para HSV, verificaram a recorrência de novas lesões (11).

Com o desenvolvimento e avanços da biologia molecular, o conceito de herpes foi deixando de passar despercebido, porque originava doenças humanas que tinham efeitos devastadores com o passar do tempo (12).

Nos anos 60 do século XX, o Comité Internacional de Taxonomia dos Vírus (ICTV), integrou a taxonomia da família Herpesviridae, com mais de 130 espécies de vírus do herpes (HVs), responsáveis por infetar mamíferos, aves, répteis, peixes e outros seres vivos (13). Da família Herpesviridae, destacavam-se 9 vírus que infetam o ser humano, e que podem ser agrupados em 3 subfamílias, nomeadamente: Alphaherpesvirinae, Betaherpesvirinae e Gammaherpesvirinae (α, β, γ), Quadro 4.1 (4,13-16).

Quadro 4.1. HHVs: subdivisão da família Herpesviridae, adaptado (16).

Subfamília	Nome	Acrónimo	Nome Comum
<i>Alpha-herpesvirinae</i>	Herpes vírus humano 1	HSV1	Vírus <i>Herpes simplex</i> 1
	Herpes vírus humano 2	HSV2	Vírus <i>Herpes simplex</i> 2
	Herpes vírus humano 3	VZV	Vírus Varicela-zóster
<i>Beta-herpesvirinae</i>	Herpes vírus humano 5	CMV ou HHV5	Citomegalovírus humano
	Herpes vírus humano 6A	HHV6A	Herpes vírus humano 6A
	Herpes vírus humano 6B	HHV6B	Herpes vírus humano 6B
	Herpes vírus humano 7	HHV7	Herpes vírus humano 7
<i>Gamma-herpesvirinae</i>	Herpes vírus humano 4	EBV ou HHV-4	Epstein-Barr vírus
	Herpes vírus humano 8	HHV8	Herpes vírus associado ao sarcoma-Kaposi

Estas subfamílias diferenciam-se pelas características virais (estrutura genómica, citopatologia, tropismo celular e localização da infeção latente), poder patogénico e seus quadros clínicos (17). O modo de atuação dos vírus não é uniforme, uns HHV destacam-se por ter uma ampla gama de células onde se instalam e se multiplicam acabando por destruir as células, como é o caso da subfamília α (14,17-19). Outros, possuem um ciclo de replicação mais prolongado e um crescimento lento, como é o caso da subfamília β (13,17). E outros, ainda mais específicos, que afetam um leque estreito de células e integram-se na subfamília γ (14,17).

Os HHV destacam-se de todos os outros vírus pelo facto de se manterem latentes em células e provocarem infeções recorrentes (18,19).

5. Vírus *Herpes simplex*

5.1. Morfologia e Genoma

Os HSV foram os primeiros HHV a ser descobertos (19). O interesse da sua investigação relaciona-se com o conhecimento da sua biologia, como: a tradução das proteínas, as conexões sinápticas do sistema nervoso, a estrutura de membranas e a regulação dos genes (14,20).

O HSV é um vírus que pertence à classe I de Baltimore, ou seja, possui uma cadeia dupla linear DNA (dsDNA), com 50 a 250 genes, de 125 a 290 kbp, codificando mais de 80 proteínas (12,17,21,22).

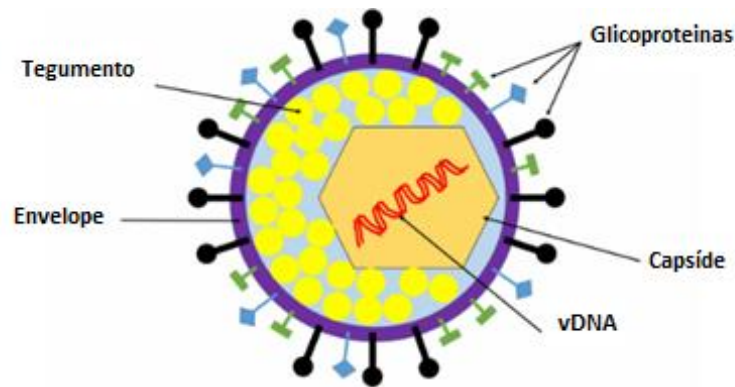


Figura 5.1. Estrutura do vírus do HSV, adaptado (22). O vírus é composto por um genoma viral com um DNA de dupla cadeia linear dsDNA; um capsídeo; tegumento com proteínas e enzimas; e envelope com glicoproteínas importante no processo infeccioso. (22)

No caso de HSV (Figura 5.1), a estrutura do virião apresenta um capsídeo de morfologia icosaédrica (T=16), que incorpora 162 capsómeros. O capsídeo está rodeado por cerca de 15 tipos diferentes de proteínas codificadas por vírus coletivamente chamado de tegumento. Um tegumento, que ocupa o espaço entre o nucleocapsídeo e o envelope, que contém uma mistura de proteínas e enzimas. O envelope lipídico de diâmetro de 150-200nm, incorpora glicoproteínas, com espículas ou peplômeros (18,20,22).

É importante realçar o vírus *Herpes simplex* tipo 1 (HSV-1) e o vírus *Herpes simplex* tipo 2 (HSV-2), pois a percentagem de guanina e citosina, para os diferentes serotipos de HSV, são para o HSV-1 de 68,3% e para HSV-2 de 69,0% (20,23). Relativamente às respetivas regiões codificadoras de proteínas, HSV-1 e HSV-2, partilham de 83% da identidade dos nucleótidos (20,22,24).

5.2. Tipos *Herpes simplex*

Dos vírus *Herpes simplex*, integra dois serotipos distintos, o HSV-1 e o HSV-2, que pertencem à subfamília Alphaherpesvirinae. (14,20). Estes desenvolvem sintomas semelhantes e apresentam características comuns, nomeadamente: homologia do DNA, determinantes genéticos, tropismo celular, contudo, são antígenicamente distintos, nos respetivos invólucros e as suas proteínas (17,23,24). Patogenicamente, HSV-1 e HSV-2, provocam diversas lesões mucocutâneas, incluindo: herpes orolabial, herpes ocular, herpes genital e, em situações limite, causam deformações neurológicas e neonatais podendo ser fatais (24).

O HSV-1 utiliza vários recetores da célula para entrar, sendo, por isso, considerado de ampla gama de infecciosidade. O HSV-2 é mais restritivo quanto a possibilidade de se ligar eficazmente aos recetores da superfície celular (25).

5.2.1. Vírus *Herpes simplex* Tipo 1

As infeções originadas por HSV-1 situam-se, geralmente, acima da cintura, a mais conhecida é o herpes orolabial (26). O local de replicação é na zona orofaríngea, sendo os gânglios trigeminal invariavelmente atingidos (17). A manifestação traduz-se na formação de vesículas na boca, lábios e nariz, sendo vulgarmente designadas “bolhas frias de febre” (26-28).

5.2.2. Vírus *Herpes simplex* Tipo 2

O HSV-2 apresenta menos frequência do que o vírus do tipo I. Estando associado, frequentemente ao herpes genital, no entanto, ocasionalmente pode ocorrer nos olhos, lábios ou outras áreas do corpo (17). Ou seja, normalmente o HSV-2 ocorre abaixo da cintura, sendo o local de replicação deste vírus na região genital e o local de latências nos gânglios linfáticos (sagrados) (17,28,29). Da infecção por HSV-2 resulta a formação de vesículas no pênis, na vagina, no ânus e na zona cervical, normalmente ocorre 2 a 20 dias após o contacto com a pessoa infetada e permanece visível durante aproximadamente 10 dias. O modo de contágio mais frequente é a relação sexual (29).

5.3. Processo infeccioso do vírus *Herpes simplex*

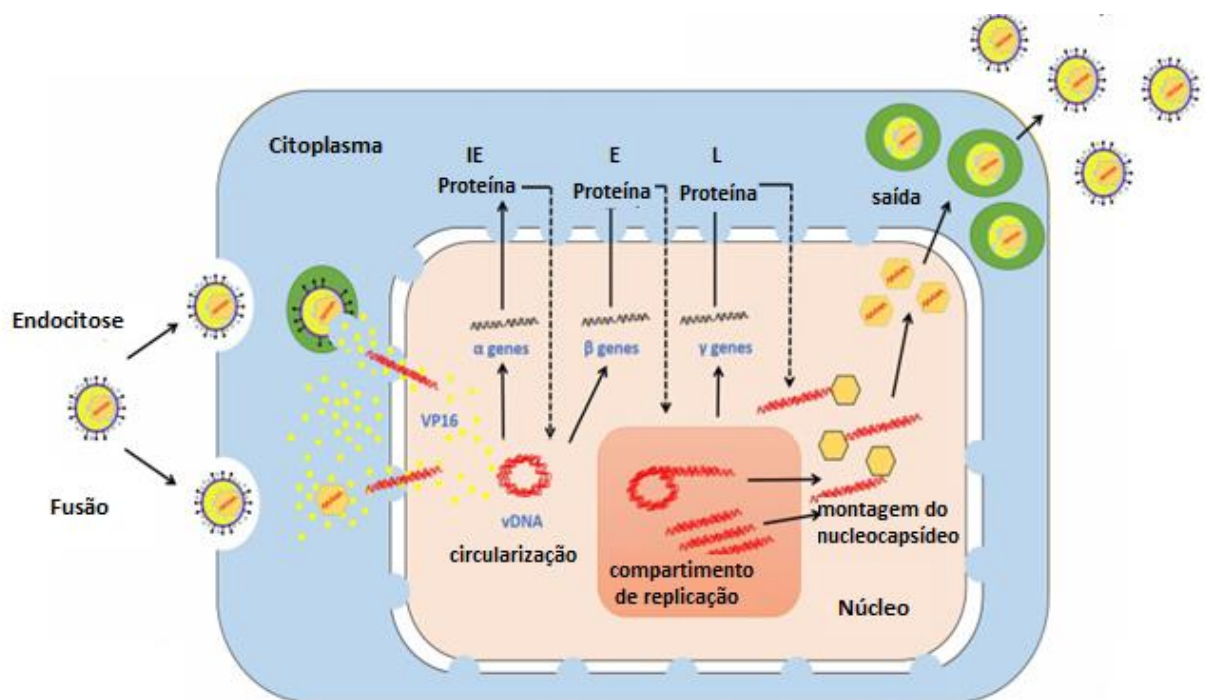


Figura 5.2. Ciclo de replicação do vírus, adaptado (22). O vírus liga-se por meio glicoproteínas aos recetores celulares, entra na célula por fusão do envelope viral com membrana plasmática. O nucleocapsídeo sem envelope é transportado para os poros nucleares e o vDNA é ejetado para o núcleo. Os genes virais são transcritos numa cascata temporal: proteínas IE, E e L. Durante esta jornada é formado vários genes e proteínas necessárias para a replicação do DNA do vírus e sua montagem. Após o capsídeo montado envolvendo o vDNA, à a libertação do vírus, formando novas moléculas viricas e o ciclo continua constantemente até tratamento ou latência (22).

O ciclo de replicação (Figura 5.2), também designado pelo estágio da patologia da doença viral, apresenta as seguintes fases: a entrada do vírus na célula hospedeira, a replicação viral e a montagem seguida da saída do vírus da célula hospedeira (20-22).

O vírus do herpes liga-se a várias moléculas recetoras da membrana celular hospedeira. Seguidamente, o envelope do vírus funde-se com membrana hospedeira, libertando o capsídeo no citoplasma. O capsídeo viaja por uma estrutura de microtúbulos até à membrana nuclear, ao mesmo tempo, uma molécula designada *virion host shutoff* (VHS) degrada a molécula de mRNA da célula hospedeira, e assim, elimina a competição por ribossomas e outras estruturas celulares (20,30-32).

A proteína VP16, protege mRNA virais e também atua como um ativador transcricional da expressão génica no genoma viral. No poro nuclear o cromossoma do herpes entra no núcleo, o DNA fica circular, semelhante a um plasmídeo. Como o VP16 funciona em conjunto com os fatores do hospedeiro para ativar um conjunto de genes virais chamados genes precoces imediatos (IE), esses primeiros mRNAs, deixam o núcleo para o citoplasma, onde os ribossomas os traduzem em proteínas. Na expressão desses genes, o vírus entrou numa via designada de “ciclo lítico”, na qual uma cascata de eventos culmina na produção de novos exemplares (32,33). Porém, o vírus poderia ter entrado num caminho chamado “infeção latente”, em que os genes chamados de latência ou os 180 genes, são transcritos e impedem a célula de cometer o suicídio e produzir novos exemplares. Numa infeção latente, o DNA circular pode persistir dentro da célula por décadas antes de mudar para uma infeção latente litigante. Esta ocorre mais comumente em células nervosas (30,32).

Na infeção do ciclo lítico, as proteínas traduzidas do gene IE retornam ao núcleo onde ativam a expressão de outro conjunto de genes, chamados gene iniciais (E), os mRNAs viajam para o citoplasma onde os ribossomas os traduzem em proteínas. Essas proteínas iniciais incluem uma DNA viral polimerase, DNA polimerase e outras proteínas replicam o vírus de DNA circular. A produção de novos genomas para a progénese dos vírus ocorre pelo método do círculo-rolante, que gera concatâmeros de muitas cópias do DNA viral (30-34).

O DNA recém-sintetizado expressa o mRNA de estágio final, que sai do núcleo para tradução. Alguns dos mRNA codificam proteínas do capsídeo e são traduzidos em

ribossomas livres no citoplasma. Alguns dos mRNAs tardios (L) codificam proteínas do envelope que são traduzidos em ribossomas no retículo endoplasmático com estágios muito avançados. Proteínas entram novamente no núcleo para formar capsídeo e esse capsídeo capturam o genoma do DNA. O capsídeo com o DNA, passa através da membrana internuclear sendo envolvido por uma única membrana. O virião em desenvolvimento move-se através do retículo endoplasmático, seguidamente, funde-se com o aparelho de Golgi, e por fim, funde com a membrana plasmática (20, 30-33).

O virião sai da célula por exocitose, a infecção primária ocorre em células epiteliais, seguida por infecção latente dentro de gânglios neuronais, próximos do local original da infecção. Como uma infecção latente ocorre em vez da infecção lítica, o modo de ocorrência em neurónio não está ainda bem compreendido. Contudo, sabe-se que a infecção latente do gânglio, mais tarde leva a novos surtos de vírus, muitas vezes são desencadeados pelo stress, menstruação, exposição solar, sistema imunitário debilitado, depressão, entre outros fatores, fazendo com que volte novamente a causar uma infecção lítica (32,33).

5.3.1. Infecções latentes

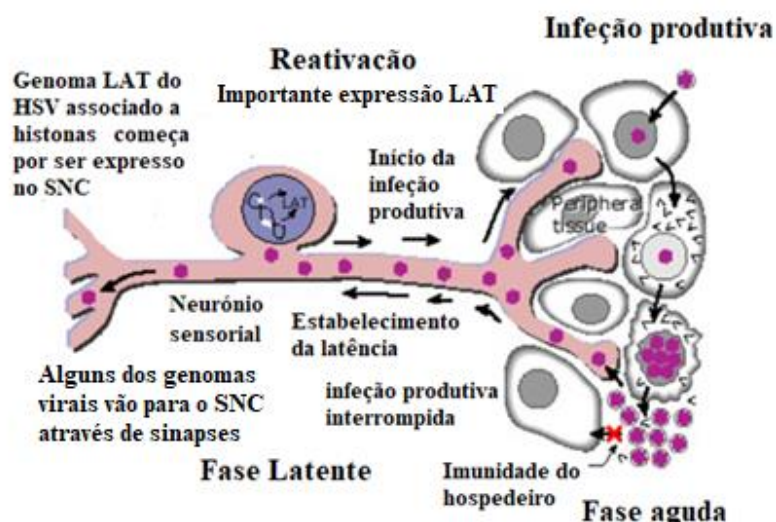


Figura 5.3. Latência e reativação do HSV, adaptado (34). Numa infecção latente, o genoma é mantido nos neuronios sensoriais específicos, mas a cascata do ciclo lítico, não ocorre. LAT= *Latency-Associated Transcripts*; SNC = *Sistema nervosa central*.

O HSV é um vírus que tem a especificidade de se manter em latência nas células. Após uma primeira infecção, o genoma do vírus permanece intacto em neurónios sensoriais específicos, no entanto, este pode ser reativado. Durante uma reativação, poderá ocorrer uma infecção aguda inicial (Figura 5.3), o vírus viaja pelo axónio para o gânglio do nervo sensorial, enervando o local da infecção (17,35).

O HSV tem capacidade de latência e posteriormente reativação. As células com HSV latente não se dividem, por isso não há produção de proteínas virais, o genoma do vírus comporta-se como se estivesse “desligado” (35). Contudo, são sintetizados mRNAs virais conhecidos como LATs (*Latency-Associated Transcripts*). Os LATs sofrem *splicing* e, pelo menos um deles, tem um papel de inibição e morte da célula hospedeira (35,36).

O estado de latência do HSV estabelece-se no núcleo de neurónios. As partículas virais são deslocadas desde o local da infecção, até ao núcleo destes neurónios, por um transporte contrário ao axonal (36).

Este período de latência ainda é muito controverso, contudo constata-se que a entrada em fase de latência nas células neuronais deve-se à perda da proteína do tegumento VP16, crucial para a iniciação da transcrição dos genes IE. Como apenas o promotor LAT funciona, mantendo a latência do vírus, sendo importante para uma reativação do vírus, sem este promotor não sofre reativação (36).

É difícil avaliar a forma como as defesas do hospedeiro interagem com o vírus, muitas podem agir prevenindo o seu crescimento, outros podem estimular a resposta imunológica no tecido afetado (36).

Concluindo, o HSV é um vírus neurotrópico, ou seja, infeta células neuronais, não é eliminado, não há forma de o erradicar, persistindo genomas virais não replicantes em algumas células (17,23,34).

5.3.1.1. Fatores para uma nova infecção depois da latência

A comunidade científica não é unânime sobre os possíveis fatores para o aparecimento de uma nova infecção, quando o vírus se encontra em latência, atribui o reaparecimento a fatores externos ou internos (23,37).

Nos fatores externos incluem-se: a exposição solar, a exposição a ambientes quentes ou frios, a alimentação e a cirurgia por laser. No caso de fatores internos, consideram-se: o período menstrual, a fadiga, a administração de medicamentos (corticoides, hormonas, entre outros), a imunodepressão, as reações alérgicas e a nível emocional, o stress e a depressão (23,37).

5.4. Epidemiologia

As infeções pelo HSV propagam-se entre os humanos em todo o mundo, são conhecidas pelo facto de ocorrer reativações periódicas no local da infeção (23,29).

Nem todos os indivíduos infetados por HSV-1 e HSV-2, têm sintomas, permitindo que esses vírus sejam transmitidos sem saber, fator que contribui para a grande prevalência global de infeção pelo HSV (29,38-40).

A Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2016, fez estimativas globais e regionais de prevalência e incidência de infeção oral por HSV-1 e infeção genital por HSV – 2 e verificou que para indivíduos infetados com HSV-1, de idade compreendidas entre 0-49 anos, atinge aproximadamente 67% da população mundial e o HSV-2, cerca de 13% de pessoas entre os 15 e os 49 anos (29,40). A tendência atual é o HSV-1 ultrapassar a prevalência do HSV-2, o que pode significar que há um vasto reservatório viral (40).

Estima-se que as recidivas herpéticas decorrentes do HSV ocorrem dentro de uma ampla gama de frequências que varia entre os 20-50% para infeções por HSV-1 e os 80-90% para infeções por HSV-2. Isso significa que 50-80% dos indivíduos com infeção por HSV-1 e 10-20% por infeção de HSV-2, não apresentaram sintomas clínicos de infeção (40-42).

No geral, estima-se atualmente que 10-25% dos infetados com HSV manifestam sintomas da doença, em particular lesões cutâneas em várias formas, herpes labial, herpes genital, eczema *herpeticum*, herpes *zosteriforme*, etc (43).

Quadro 5.1. A prevalência mundial pode ser influenciada por vários fatores, adaptado (39,40).

Vírus	Fatores que influenciam a prevalência à doença
HSV-1	idade, grupo racial, localização geográfica e com o status socioeconómico (39).
HSV-2	idade, sexo (feminino), situação socioeconómica, doença sexual transmitidas, idade de início das relações sexuais e número de parceiros sexuais (39).

Além dos fatores supracitados (Quadro 5.1), os indivíduos com alta antigenicidade reativada cruzada entre o HSV-1 e HSV-2, ou seja, pessoas com passado já de infecção primária por HSV-1, provavelmente tem um menor risco de adquirir o HSV-2 e vice-versa (43,44).

Não há dados relevantes relacionados com a prevalência do HSV em Portugal. No entanto, em 2011, em Coimbra, realizou-se um estudo com uma amostra de cerca de 150 indivíduos do sexo masculino, no estabelecimento prisional. Nesta amostra, 82% dos indivíduos apresentavam seropositividade para o HSV-1, e 20% para o HSV-2 (45). Segundo Marques *et al*, a prisão pode ser um dos fatores adicionais de risco, para contrair doenças infecciosas, devido à redução do espaço e de ventilação, assédio sexual, tatuagens e *piercings* executados por não profissionais e ainda o stress psicológico (45).

O estudo da epidemiologia e o impacto de doenças como o herpes é importante a nível da saúde pública, ações de vigilância e intervenções governamentais, de modo a reduzir morbimortalidade da população (41).

5.5. Patogénese e manifestações clínicas

O HSV-1 e o HSV-2 são transmitidos especialmente por contacto direto com lesões ulceradas ou vesiculadas (29,42). Os vírus são adquiridos principalmente por pessoas sintomáticas com infeções recorrentes principalmente nos lábios ou órgão genitais, ou por pessoas assintomáticas espalhando o vírus por meio de gotículas respiratórias, saliva e mucosa genital. Podendo ainda ser transmitido por via direta, da mãe para o filho através do parto (29,46).

A afinidade do vírus para infectar tecidos específicos depende de vários fatores, nomeadamente: a presença de recetores específicos na célula, fatores de transcrição celular, pH do meio, temperatura e presença de enzimas que podem inativar o vírus (46).

Outros fatores que afetam mecanismos de patogénese incluem a maior ou menor facilidade de o vírus invadir o hospedeiro, a replicação viral, a resistência do vírus aos mecanismos de defesa do hospedeiro (47).

Como já foi referido, o HSV-1 afeta predominantemente o corpo acima da cintura, e as infeções por HSV-2, abaixo da cintura, representado na Figura 5.4 (17,29,39,43).

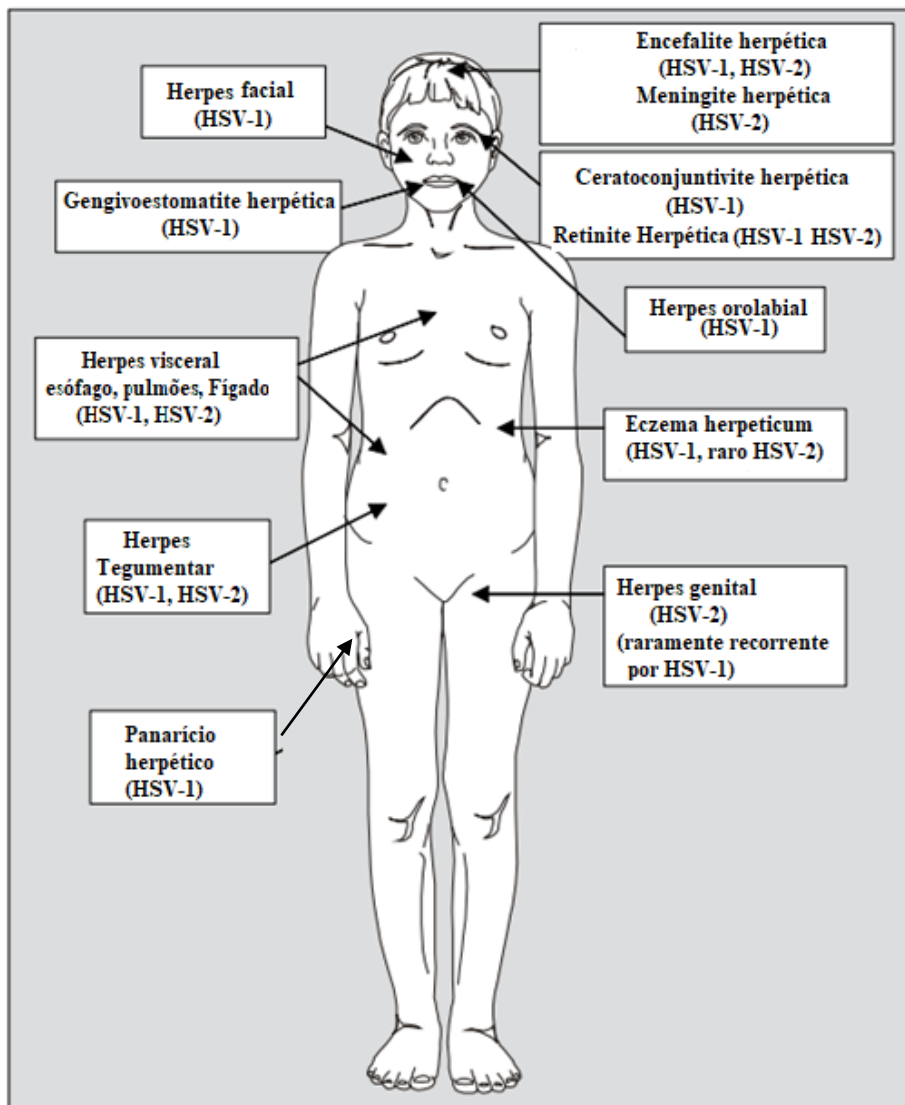


Figura 5.4. Localização das principais doenças do HSV-1 e HSV-2, adaptado (29).

São várias as manifestações clínicas e dependem do método de transmissão, da idade e da sua imunocompetência (48). O quadro de infecção, pode apresentar manifestações mais graves e duradouras, quando a carga viral é mais elevada, no entanto, isto acontece especialmente em doentes imunodeprimidos (49).

Em geral, a reativação do vírus após uma primoinfecção tende a ser menos grave, podendo ser assintomática ou passar despercebida quanto à sua etiologia. Nestes casos, por ausência de manifestações clínicas claras, o indivíduo desconhece que está infectado e assim facilita a sua propagação (43,49).

5.5.1. Gengivoestomatite herpética

A gengivoestomatite herpética (GEH) é causada pelos vírus HSV, quer pelo HSV-1 quer pelo HSV-2, afetando principalmente adultos (50). O contágio ocorre principalmente pelo beijo ou pela saliva que contém o vírus (49).

O período das manifestações clínicas geralmente ocorre entre os 10 e os 14 dias após contágio, observando-se principalmente inúmeras vesículas intrabuciais, assim como na gengiva, na língua, na faringe, dentro dos lábios e até no esófago, por vezes, acompanhadas de febres elevadas, 39/40 °C, mal-estar, dor e dificuldades em deglutir (Figuras 5.5 e 5.6). A última fase é a cicatrização, onde as lesões recuperam sem deixar cicatrizes (49,51,52).



Figura 5.5. HSV na mucosa gengival (53).



Figura 5.6. HSV intrabucal na língua (51).

5.5.2. Herpes orolabial

Herpes orolabial (HOL) (Figura 5.7) é causada pela infecção do HSV, em especial por HSV-1. Esta HOL desenvolve-se pelo menos uma vez na vida, em cerca de 14-42% de indivíduos soropositivos para HSV-1. No entanto, existe potencial para recorrências espontâneas, habitualmente 2 ataques por ano, em 5-10% dos pacientes, podendo ultrapassar os 6 episódios anuais (49,54-56).



A HOL manifesta-se nos lábios e na zona de ligação com a face, embora possa ocorrer em outros locais como a ocular, orelhas e nariz (55,56).

Figura 5.7. HOL, com vesículas e bolhas (53).

São identificados por 3 períodos clínicos da doença: (1) o prodrômico, (2) o clínico ativo e (3) o reparatório (Figura 5.8) (53).

O portador de *Herpes simplex* recorrente labial, consegue prever até 24 horas antes o aparecimento das vesículas e bolhas, verificando um pródrómo de ardor ou prurido e ligeiro edema. Sendo nesta fase prodrômica a terapia antiviral, é crucial e mais eficaz, reduzindo os sintomas e encurtando a duração da doença (Figura 5.8A) (53).

O período clínico ativo dura entre 2 e 4 dias e as lesões recorrentes peri-buciais e labiais predominantes são constituídas por vesículas agrupadas em forma de cachos ou ramalhetes (Figura 5.8B). Nesta fase, pode originar desconforto, incómodo e dor (53). No período reparatório, ocorre a cicatrização, as vesículas encontram-se secas, recobertas por escamas e crostas amareladas e/ ou escuras que duram em média de 2 a 4 dias (Figura 5.8C). Normalmente as lesões não deixam cicatrizes (53).



Figura 5.8. Períodos clínicos da manifestação do HSV na pele - HOL - (A) período prodromico; (B) Período clínico ativo; (C) Período reparatório (53).

5.5.3. Herpes ocular

A herpes ocular (HO) é causada por HSV-1, no entanto, também pode ser originada por HSV-2, principalmente em recém-nascidos (49). Apresenta sintomas, pouco específicos, nomeadamente lacrimejo, vermelhidão, irritação, fotofobia, visão turva, desconforto no globo ocular, inflamação e inchaço da pálpebra, podendo confundir-se com outras doenças oculares, dificultando quer o diagnóstico, quer a terapêutica. Esta patologia é unilateral, no entanto, pode atingir os 2 olhos (57,58).

Como infecção herpética nos olhos, surge a ceratite herpética. Esta pode levar a perda de visão devido ao desenvolvimento da opacidade da córnea severa ou necrose dos tecidos, ainda conjuntivite viral, que embora não coloque em causa a plenitude da visão, os sintomas causam desconforto no globo ocular (Figura 5.9) (49,59,60). Estas 2 patologias podem ocorrer simultaneamente, conhecendo-se por ceratoconjuntivite (59).

A uveíte (Figura 5.10), como o nome indica, é uma inflamação na úvea (íris e corpo ciliar). Pode ser grave, pelo facto de aumentar a pressão ocular e descolar a retina (49,61).

O reconhecimento clínico de cada doença e o início imediato de tratamento apropriado podem diminuir, em muito, a morbidade da doença (60,62).



Figura 5.9. Conjuntivite viral (60).

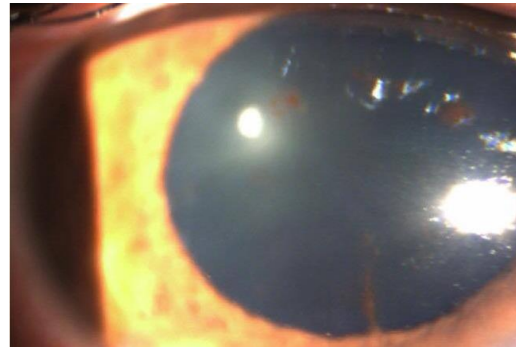


Figura 5.10. Uveíte (61).

5.5.4. Herpes genital

Tanto o HSV-1, como o HSV-2 estão relacionados com esta doença, mas a grande maioria dos casos é da etiologia do HSV-2. Transmitidos sexualmente pelo contacto com secreções genitais infetadas ou superfícies mucocutâneas. A atividade sexual está diretamente relacionada com aquisição do herpes (41,49,63).

A herpes genital primário aparece como máculas e pápulas, seguido de vesículas, pústulas e ulcerações (41,63). Estas lesões provocam disúria e dificuldade em andar afetando psicologicamente o paciente. No entanto, a herpes genital recorrente surge de modo mais branda, lesões ulcerosas vulvares (Figura 5.11A) ou penianas (Figura 5.11B) que se resolvem em aproximadamente 2 semanas. A herpes perianal (Figura 5.11C) não significa necessariamente transmissão anal direta, geralmente a herpes afeta, os nervos sensitivos do complexo lombossacral (41,63,64).

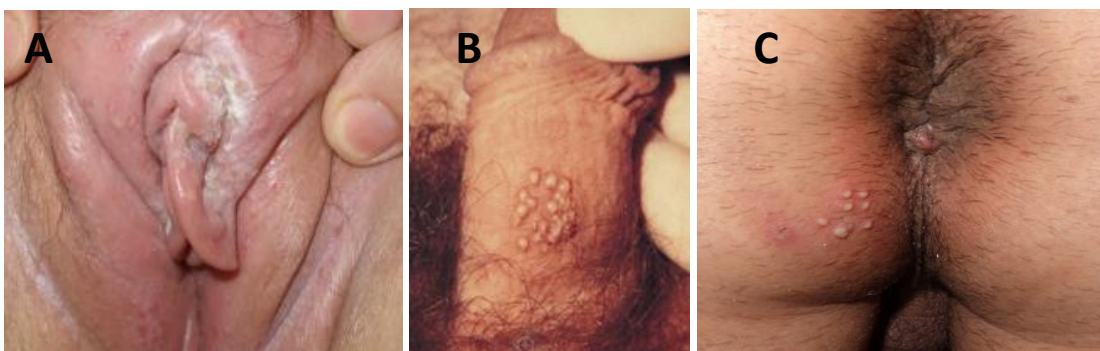


Figura 5.11. (A) Lesões Vesiculares – herpes genital, (B) Lesões vesiculares – herpes peniano, (C) Lesões vesiculares – herpes perianal (63,64).

5.5.5. Herpes neonatal

A infecção da herpes neonatal, provocada pelo HSV, tem altas taxas de morbidade e mortalidade. O risco da transmissão pode ser afetado durante o parto (herpes genital) e terapia supressiva materna. As infecções da herpes neonatal são divididas por três categorias: dermatológico (pele localizada, boca, olhos), neurológico (sistema nervoso central (SNC)) ou infecção disseminada (pulmões, fígado, suprarrenais, baço, rins, coração, estômago). No primeiro caso, nas doenças dermatológicas, o desfecho pode ser menos grave, no entanto, se for inadequadamente tratado pode levar a doença do SNC ou ao alastramento da doença (65).

Os dois últimos casos são os mais graves. Na doença do SNC, cerca de 50% dos recém-nascidos não tratados acabam por morrer, no último caso, na doença disseminada, 30% dos recém-nascidos morrem mesmo com tratamento. Em ambos os casos, os recém-nascidos que sobrevivem, aparentam sequelas neurológicas severas, tais como: atraso motor, na fala e no desenvolvimento (65).

A detecção precoce da infecção e aplicação de uma terapia antiviral na fase inicial, é um dos processos para que haja possibilidades de redução da mortalidade, bem como, a diminuição da gravidade das sequelas (65).

5.5.6. Eczema herpeticum

O eczema herpeticum (EH) é uma infecção viral rara que acontece na pele difusa causada maioritariamente pelo HSV-1. Geralmente ocorre em indivíduos com distúrbios crónicos da pele, como a dermatite atópica. Aparentemente, o EH apresenta-se como vesículo-pustular doloroso com erosão (Figura 5.12) (66). O meio de transmissão pode ser espalhado pelo contacto direto de uma pele suscetível com HSV ou reativado de uma infecção anterior. Uma vez que o HSV quebra a barreira da pele, este pode rapidamente disseminar e potencialmente envolver múltiplos órgãos. Quando isso acontece o EH torna-se mais grave, sendo necessário uma administração de um antiviral (aciclovir), na forma intravenosa. O EH é frequentemente diagnosticado tardiamente porque as erupções são difíceis de diferenciar de outras patologias da pele (66,67).

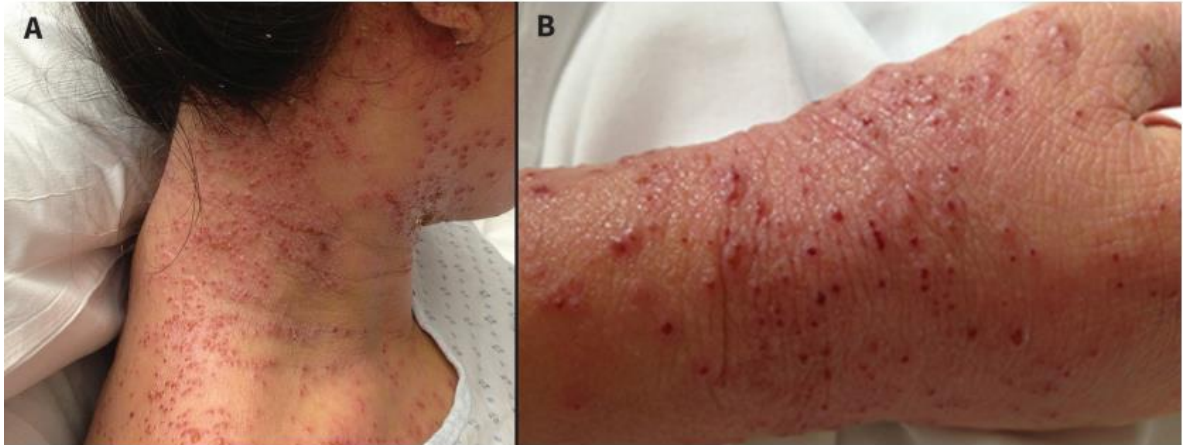


Figura 5.12. EH com vesiculo-pustular no (A) pescoço e no (B) braço (66).

5.5.7. Herpes gladiatorum

A herpes gladiatorum (HG) é uma infecção da pele associada a atletas de luta e outros desportos, causada pelo HSV-1 (49). O meio de transmissão é por contacto intenso, prolongado e direto de pele-a-pele dos atletas, provocam erupções cutâneas na face e pescoço, tronco e membros (Figura 5.13) (68). Relatos dizem que, os pacientes podem sentir sintomas como febre, calafrios, dor de garganta e dor de cabeça. A identificação imediata e a exclusão de jogadores com lesões cutâneas, podem reduzir a transmissão (68).



Figura 5.13. lesões típicas de HG na cabeça e pescoço (68).

5.5.8. Panarício herpético

Panarício herpético (PH) é uma infecção viral que ocorre nas unhas e nos dedos, provocada pelo HSV-1 (23). A infecção caracteriza-se por pequenas bolhas cheias de líquido (vesículas) que aparecem nos dedos, ficando a ponta do dedo inchada (Figura 5.14) (69). Nem sempre é preciso tratamento, porque com o tempo vai desaparecendo, no entanto, pode haver uma nova reinfeção. Para tal, os medicamentos antivirais, essencialmente tópicos, ajudam a diminuir o episódio e os medicamentos orais, podem ser tomados para evitar episódios futuros (23).



Figura 5.14. Lesões típicas de PH na falange (69).

O meio de transmissão é muito importante, pois o contacto direto pode proliferar este vírus. Deste modo, é crucial cobrir as vesículas abertas evitando assim a propagação (49,50,69).

5.5.9. Encefalite e meningite herpética

A encefalite herpética é definida como um processo inflamatório agudo do parênquima encefálico em consequência da infecção pelo HSV-1, é a causa mais comum de encefalite viral mortal por HSV responsável por 90% dos casos. A meningite herpética é uma infecção nas meninges e é causada pelo HSV-1 (49,70-72).

Em ambos os casos, os primeiros sintomas são febre, cefaleia e infecção das vias aéreas superiores, posteriormente alterações de consciência ou de comportamento, défices neurológicos focais ou convulsões, ataxia ou instabilidade emocional e amnésia (49,70).

A encefalite e a meningite herpética são as infecções mais graves e raras provocadas pelo HSV, são uma consequência da transmissão neurogênica do vírus para o cérebro, com evolução rápida e sem tratamento, levando à morte (70-72).

A avaliação clínica e o diagnóstico, são cruciais para tratar precocemente esta doença, começando uma terapia específica com um antiviral (71). O tratamento específico para estes tipos de doença consiste na administração de medicamentos antivirais, como o caso do Aciclovir. Se este for administrado precocemente, reduz significativamente a taxa de mortalidade e a intensidade dos *déficits* neurológicos. Se não for tratado atempadamente, podem ocorrer danos residuais, nomeadamente, paralisias parciais e atraso mental (72).

5.6. Diagnóstico

Os exames laboratoriais da infecção associadas às características clínicas são essenciais ao diagnóstico. O diagnóstico laboratorial para o HSV é uma informação adicional para as manifestações comuns causadas pelo vírus, destacando-se a sua importância em indivíduos imunocomprometidos, transplantados, gestantes, recém-nascidos e em suspeita de encefalite (29,39,49,73).

Apesar de demorado e árduo, o isolamento viral, é crucial para o diagnóstico do HSV, sendo considerado o método padrão, devido à boa sensibilidade (39).

5.6.1. SWAB – Método de Tzanck

É uma técnica citológica que consiste em coletar o material do interior da lesão vesiculosa da pele, semeado em meio de cultura adequado, corando utilizando o método de Giemsa, para pesquisa de células epiteliais gigantes multinucleadas com inclusões intracelulares (viriões) (34). Ao fim de 24 ou 48 horas de incubação, é possível visualizá-las através de microscopia ótica.

Trata-se de um método com baixa especificidade, sensível para o HSV, não distinguindo o HSV de outras espécies de herpes virais. A recolha de material deve ser realizada com zaragatoas de algodão ou de poliéster (dacron), nunca com alginato de cálcio, porque pode ser letal para o vírus (39,49).

5.6.2. Sorologia

Técnica relacionada com soro sanguíneo e está especialmente indicada quando há queixas de desconforto genital ou labial recorrente, porém sem presença de lesões (39,49).

A técnica de imunofluorescência direta é utilizada para confirmação e sorotipagem do HSV, proveniente do isolamento do vírus em meio de cultura. É também possível realizar biópsia das lesões, seguida do exame histopatológico, observando-se as alterações induzidas pelo vírus (degeneração balonizante) (39,49).

5.6.3. Reação em cadeia da polimerase – PCR

O método de PCR é o mais sensível para a deteção do vírus, quer em pacientes sintomáticos quer para os assintomáticos. Trata-se de uma técnica molecular baseada no conhecimento prévio de uma sequência de DNA de até 1kb (39,49).

Para se iniciar este método é necessário saber a característica da espécie que se pretende detetar e usar um oligonucleotídeo artificial complementar a essa sequência, denominado como *primer* (inciador) (39,49).

O PCR funciona misturando o DNA da amostra em estudo com *primers* de 188 a 330 bp nucleótidos e uma enzima chamada Taq polimerase num aparelho designado de termociclador. Devido ao aumento da temperatura, o DNA da amostra em estudo vai desnaturar e dá-se o pareamento dos *primers* com as suas extremidades. Seguidamente diminui-se a temperatura e a Taq polimerase inicia a integração dos nucleótidos às hastes da cadeia, re-sintetizando a dupla-haste (39,49).

Após o primeiro ciclo, de uma única dupla-haste derivam duas duplas-hastes completas de DNA. No segundo ciclo, o processo é repetido, com ampliação cada vez maior das duplas-hastes sintetizadas, como uma reação em cadeia (39,49).

Ao final de 20 ciclos, no mínimo, haverá muitas cópias de dupla-haste original, seguidamente pode ocorrer reação colorimétrica ou por eletroforese ou por reação com brometo de etídio (39).

Constata-se que os testes de ácidos nucleicos apresentam maior sensibilidade, inclusive quando as lesões já não se apresentam no estágio vesicular, sendo muito menos afetados por formas de armazenamento do material, contaminação bacteriana e outros fatores que reduzem a viabilidade viral (39,73).

Contudo, as culturas ainda são muito utilizadas, pelo baixo custo e pela técnica sistematizada, enquanto a técnica PCR é mais cara e requer um laboratório especializado (39).

5.7. Prevenção e tratamento

Para que o vírus não se dissemine e não deixe sequelas, é necessário ter em conta os seguintes aspetos: a elevada prevalência do vírus, a sua possibilidade de transmissão a partir de hospedeiros assintomáticos, a ausência de diagnóstico exato e atempado, a impossibilidade de cura total devido aos fenómenos de latência e consequentemente reativação e a importância de utilização de fármacos antivíricos (74,75).

Os antivíricos mais estudados e usados na prática clínica, são: o aciclovir, o valaciclovir, o famciclovir e penciclovir, que funcionam como análogos de nucleosídeos acíclicos (76).

O mecanismo farmacológico desses fármacos na atividade antiviral é baseado numa enzima chave, denominada timidina cinase, que converte os compostos antivirais em seus monofosfatos. Os monofosfatos de análogos de nucleosídeos, catalisados por enzimas celulares são posteriormente fosforilados em difosfatos e trifosfatos ativos que inibem e

fixam as DNA polimerases virais (uma enzima essencial para a replicação do HSV-1 e HSV-2) (29,59,77,78).

Os trifosfatos também podem ser incorporados na cadeia de DNA como substrato “falso”, levando a uma inibição da síntese de DNA viral (29).

No caso do aciclovir e do valaciclovir, há ausência do grupo hidroxilo (OH-) na posição 3', essencial para uma ligação posterior. Outros análogos de nucleosídeos, como o famciclovir, podem ser incorporados à cadeia de DNA em crescimento (29,50).

Estes compostos diferem, principalmente pela biodisponibilidade, o tempo de meia-vida do fármaco no organismo e a dosagem (29).

5.7.1. Aciclovir

Em 1974, foi descoberto como agente antiviral seletivo o fármaco aciclovir (ACV), numa triagem de fármacos antivirais em Burroughs Wellcome. No entanto, apenas passado 10 anos, é que se verificou o seu potencial, como um fármaco anti-herpético (24,78).

O Aciclovir (9-(2-hidroxi-etoximetil)guanina), (Aciclovax®, Cicloviral®, Zovirax®), (Figura 5.15), é usado como medicamento antiviral de primeira linha para o tratamento de infecções por HSV, incluindo HSV-1, HSV-2 e VZV. Em 1980, foi aprovado pela FDA (*Food and Drugs Administration*) e pela EMA (*European Medicines Agency*), como análogo acíclico da guanosina (76,78,79).

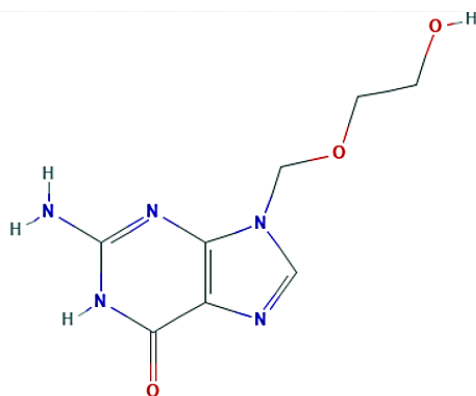


Figura 5.15. Estrutura molecular do aciclovir, C₈H₁₁N₅O₃ (76).

O modo de atuação do Aciclovir (Figura 5.16), obriga à presença de três enzimas cinases na célula infetada.

O aciclovir é transformado em aciclovir monofosfato pela ação da enzima timidina cinase viral (TK). Este, posteriormente, é convertido em difosfato, pela ação da enzima celular GMP cinase e, por fim, o aciclovir passa à sua forma ativa trifosfatada, pela ação do NDP cinase. O aciclovir trifosfatado tem a capacidade de atuar como finalizador da cadeia da síntese do DNA viral ao inibir competitivamente com o DNA polimerase viral (79-83).

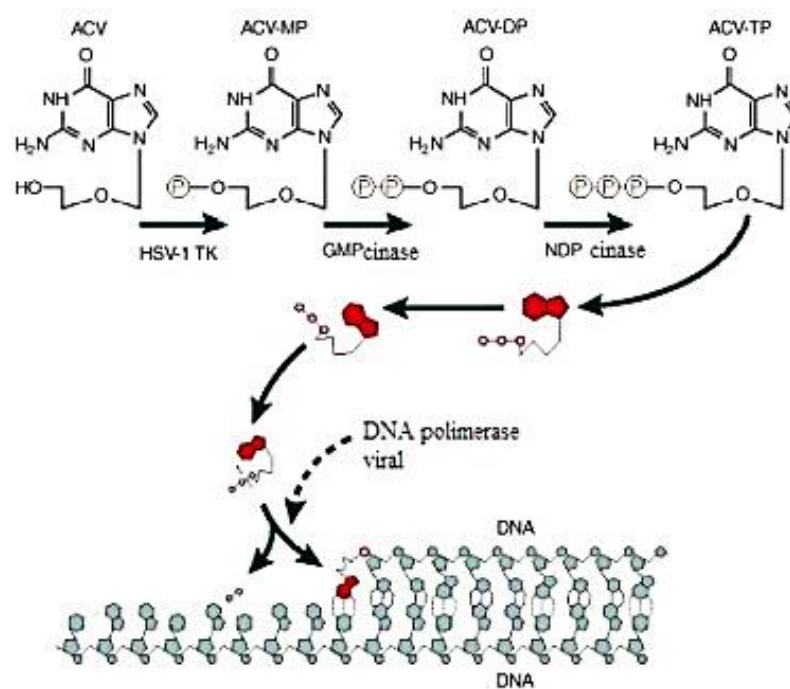


Figura 5.16. Mecanismo de ação do aciclovir (84).

O HSV normalmente fosforila a timidina em timidina monofosfato, se a timidina cinase do *Herpes simplex* é sintetizada numa célula infetada e o aciclovir é adicionado, a célula morre porque o DNA não consegue replicar, sendo a cadeia bloqueada, terminando o seu mecanismo de ação (79,82-84).

O aciclovir encontra-se em formulações orais (xaropes e comprimidos), intravenosas e tópicas ou semissólidas. As formulações orais são usadas principalmente no tratamento de episódios de infecções de HSV na pele, mucosas, incluindo herpes genital inicial ou

recorrente (79). Mas também em infecções muito graves e prolongadas como o caso dos imunodeprimidos (29,50).

A formulação intravenosa (IV) é usada a nível hospitalar, em casos severos de infecção por HSV, incluindo encefalite nos recém-nascidos. Além disso também é usado muitas vezes em pacientes imunocomprometidos. As formas tópicas ou semissólidas são utilizadas principalmente no tratamento do herpes labial ou ceratoconjuntivite herpética e exclusivamente em casos leves de herpes genital (79,85,86).

A absorção oral do ACV é dependente da dose e altamente variável sendo que a sua biodisponibilidade oral (BDO) varia entre aproximadamente 15% - 30%. A penetração percutânea é igualmente fraca, devido à sua fraca solubilidade em água. Administração parentérica está atualmente disponível como infusão sob a forma de uma solução alcalina de sal sódico (80). Além disso, o ACV não pode ser formulado/administrado como colírio ou intramuscular.

As dosagens dependem do estado da infecção, quer sejam pacientes imunocompetentes ou grávidas, assim como o número de recorrências (80-82,86).

No geral, os efeitos colaterais são raros e podem incluir problemas digestivos, erupção cutânea, cefaleias, dispneia, afeções hepatobiliares e toxicidade renal. Na absorção tópica do ACV, os efeitos secundários, são mínimos; por administração IV podem ocorrer efeitos colaterais no SNC, que se manifestam por: desorientação, delírio, convulsões e tremores (79,81,86).

Quando o ACV é administrado por via IV os parâmetros laboratoriais do metabolismo renal e hepático devem ser monitorizados. O aciclovir é eliminado principalmente na urina, qualquer medicamento administrado concomitantemente, que afete o mecanismo do ACV, pode aumentar as concentrações plasmáticas do mesmo (79). Assim, deve-se evitar a combinação deste fármaco com outros fármacos tóxicos para os rins, como por exemplo a administração da ciclosporina ou anfotericina B (81,85).

Em grávidas, o aciclovir não está oficialmente estudado como uma terapia antiviral, no entanto a sua administração deve ser especialmente evitada em mulheres grávidas antes do final da 14ª semana de gestação. Segundo, os resultados dos registos de gravidez

do fabricante Zovirax® (nome comercial do ACV) e um estudo coorte retrospectivo de base populacional dinamarquês não mostraram um aumento na taxa de defeitos congénitos no feto importantes após administração oral e tópica do ACV. No entanto os pacientes devem ser informados sobre os dados limitados, especialmente no início da gravidez e deve haver um consentimento e informação antes do uso do medicamento (65,79,82).

Apesar de não ser muito comum, é descrita resistência destes vírus ao aciclovir, sendo mais prevalente nos pacientes imunodeprimidos do que nos indivíduos imunocompetentes (65,79). A resistência viral ao ACV resulta sobretudo pela perda da capacidade de sintetizar a timidina cinase ou a mutações no gene da DNA polimerase, podendo causar uma doença grave e debilitante (85,86).

5.7.2. Valaciclovir

O Valaciclovir (VACV), (Valavir®) (Figura 5.17), é um pró-fármaco do aciclovir (87-89). Em 1995 foi aprovado pela FDA e pela EMA, de modo a ultrapassar os problemas de solubilidade e aumentar a biodisponibilidade oral do ACV (88). É um fármaco antivírico, em que se introduziu um grupo L-valina no aciclovir, aumentando a absorção intestinal, mostrando-se bastante eficaz e seguro (87-90).

Apenas disponível em comprimidos, é usado para o tratamento e supressão de infeções por HSV-1, HSV-2, manifestações recorrentes de herpes labial, herpes genital, infeções oculares e na redução da incidência da nevralgia pós-herpética. Sendo um pró-fármaco do aciclovir, o seu mecanismo de ação é semelhante, sendo convertido neste pelo metabolismo hepático e intestinal (86,87).

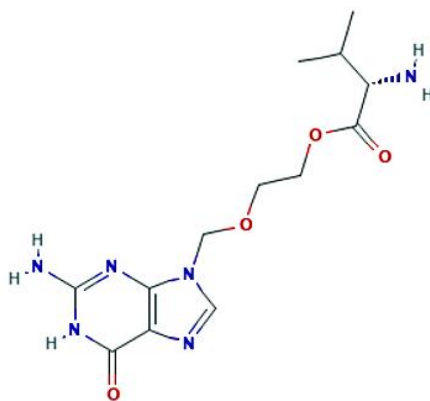


Figura 5.17. Estrutura molecular do valaciclovir, $C_{13}H_{20}N_6O_4$ (76).

A absorção oral é da ordem de 54% sendo por isso melhor do que a de ACV, além disso, resultam em intervalos de dose mais longos do que o ACV (29,89).

Assim como o ACV, o VACV também é eliminado nos rins, devendo a dose ser reduzida nos doentes com comprometimento renal. É importante a monitorização frequente da depuração da creatinina, especialmente durante períodos de rápida alteração renal, transplante renal (87).

O VACV pode ser administrado a partir dos 12 anos de idade para o tratamento de infecções de pele herpética, pode ser usado com doses apropriadas quando a criança é capaz de deglutir comprimidos (50,87,88).

O mecanismo de resistência ao VACV é também semelhante ao do ACV, no entanto, o risco de ocorrer resistências é menor (29,90).

Os efeitos colaterais após o uso do VACV são semelhantes ao da administração oral do ACV (29). Devendo ter especial precaução durante administração concomitante com outros medicamentos que inibem a secreção no túbulo renal (87).

Segundo o resumo das características do medicamento (RCM), os dados clínicos de estudos convencionais de farmacologia, de segurança, de toxicidade de sobredosagem, de genotoxicidade e de potencial carcinogénico, não revelam riscos especiais para os humanos ao VACV (87,88).

5.7.3. Famciclovir e Penciclovir

O famciclovir (FCV) é convertido no organismo numa substância designada por penciclovir (PCV) (Figura 5.18), um agente antivírico altamente ativo. O FCV assim como o PCV têm ação farmacológica, nas infeções víricas causadas pelo HSV, como herpes labial e genital (91,92).

O PCV tem ação de bloqueio da produção do DNA, resultando na incapacidade dos vírus se multiplicarem. O PCV tem uma BDO muito baixa e só pode ser usado para terapia antiviral tópica de infeções locais de HSV (92,93).

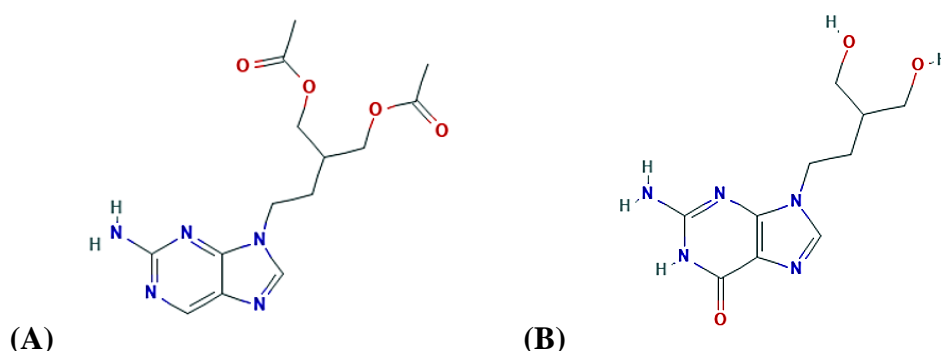


Figura 5.18. Estrutura molecular do (A) Famciclovir, $C_{14}H_{19}N_5O_4$, e (B) Penciclovir, $C_{10}H_{15}N_5O_3$ (76).

A BDO de FCV é calculada em 77%, também foi aceite no tratamento de herpes orolabial, no entanto, como opção de primeira linha para terapia antiviral de herpes genital. A maior estabilidade do trifosfato em PCV em comparação com a de ACV pode resultar em uma eficácia antiviral prolongada (29,93).

Semelhante ao VACV, o FCV não é aplicado em crianças e adolescentes, pacientes imunodeprimidos com menos de 25 anos e em gestantes. Há informações bastante limitadas sobre a segurança da FCV durante a gravidez. Assim, não deve ser considerado o medicamento de escolha para a terapia antiviral de infeções por HSV em gestantes (29,93).

Os efeitos colaterais mais comuns do FCV são cefaleia, náusea e confusão mental (29).

6. Fitoterapia como matéria medicinal

A palavra fitoterapia deriva da palavra grega: *Phytón*, que significa planta ou vegetal e a palavra *therapeial*, que significa terapia ou tratamento. Segundo a OMS define planta medicinal como sendo “*todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semi-sintéticos*” (94).

6.1. Fitoterapia: do passado ao presente

As plantas começaram a ser usadas desde há muito tempo para abrigar as pessoas, para serem utilizadas como roupa, alimentos, fragrância e na cura de patologias. Desde as civilizações mais antigas que se usavam as plantas medicinais, para curar maleitas baseado em conhecimentos empíricos, transmitidos de geração em geração, sem qualquer comprovação científica. Com o tempo ganharam outra importância, apoiada na maior parte dos casos sem evidência científica (94-96).

A mais antiga evidência do uso de plantas medicinais, datada de há aproximadamente 5.000 anos, foi encontrada numa laje de argila Suméria de Nagpur. Em 2.500 a.C, o imperador Shen Nung, escreve um livro sobre raízes e gramíneas, onde aborda o uso de 365 partes secadas de plantas medicinais e suas técnicas de utilização. Em 1.550 a.C, no antigo Egito, no *Ebers papyrus*, são descritas 700 formulações vegetais, compilações de textos médicos, com métodos diagnóstico e terapêutica experimentada (95,96).

Na Grécia, a figura mais importante da história da medicina, também conhecido como o “Pai da Medicina”, foi Hipócrates, que lançou trabalhos onde constam 300 plantas medicinais classificadas por ação fisiológica, sendo um exemplo, o alho como diurético e bom para expulsar parasitas intestinais, a romã como adstringente, entre outros (95,96).

Teofrasto (371-287 a.C), o “Pai da Botânica”, desenvolveu conhecimento para classificação e descrição das plantas medicinais. Outro célebre escritor, sobre “drogas vegetais”, autor da obra “De Matéria Médica” e relevante “pai da farmacognosia”,

Dioscórides, estudou plantas medicinais de várias regiões onde quer que viajasse com o exército Romano (96).

Um dos proponentes de medicamentos quimicamente preparados a partir de plantas e substâncias minerais foi o célebre Paracelsus (1493-1541) (95,96).

Entre o Séc. XVI e o XVIII, usavam-se plantas medicinais como formas farmacêuticas simples, nomeadamente infusões e macerações. Em Portugal, a partir do séc. XVI, iniciou-se o ensino farmacêutico na universidade de Coimbra, destinado a profissão de boticário, com uma duração de 6 anos, onde os primeiros 2 anos era exclusivamente para aprendizagem do latim e os outros 4 anos remetia para um ensino prático (97). No séc. XIX, aconteceu o ponto de viragem no conhecimento e uso de plantas medicinais, principalmente com o isolamento de alguns alcaloides, um marco crucial na farmácia científica (96).

Também a época dos descobrimentos foi um marco importante, marca o início da expansão, deslocação e circulação de vários povos indígenas por vários continentes, foi possível a aquisição de novas culturas vindas desses povos, como também a transmissão de conhecimentos, partilha de plantas medicinais, métodos de preparação e formas de rentabilizar as propriedades terapêuticas (95).

No início do séc. XX, as plantas medicinais eram usadas como a única forma de cuidados básicos de saúde, em países em desenvolvimento, devido ao esforço investido no estudo das condições, fabricação e cultivo de plantas medicinais. Inúmeras plantas, foram estudadas, quimicamente, fisiologicamente e farmacologicamente, e extraiu-se o melhor de cada espécie, formando potenciais fármacos para tratamento de várias patologias (95,96).

Os princípios ativos das plantas medicinais, foram extraídos, purificados em laboratórios para fazerem parte de medicamentos. Atualmente, o estudo das plantas, requer informações perceptíveis e minuciosas ao nível da farmacologia, farmacodinâmica e farmacocinética (94).

6.2. Fitoterapia no mundo

Ao longo do tempo, as plantas medicinais têm sido sujeitas a variados processos de transformação para serem utilizados na medicina convencional. Atualmente, grande parte da comercialização é em farmácias, parafarmácias e lojas de produtos naturais, onde os produtos possuem rotulagem industrializada, e são na maior parte suplementos alimentares e muito pouco medicamentos à base de plantas (94-98).

Em países em desenvolvimento, bem como, nos países mais desenvolvidos, o apelo para o consumo destes tipo de produtos é feito pelos *Media*, e tem vindo aumentar nos últimos tempos (94).

Nos Estados Unidos e na Europa há mais controlo no registo, normas, certificação e controlo de qualidade na preparação e na comercialização dos produtos à base de plantas. As plantas mais utilizadas eram usadas para terapêuticas, como gripes, problemas do trato digestivo e intestinal, cefaleias, insónias, úlceras, nervosismo, bronquite, doenças de pele, exaustão e fadiga (94,98).

Contudo, este tipo de produtos começou a ser pedido, em ampla escala, pela população, sendo usada fundamentalmente como auto-medicação. Mais tarde, os médicos passaram a incluir medicamentos à base de plantas nas suas prescrições médicas, sendo o *Gingko biloba*, em 1998, o caso mais vulgar e mais prescrito (94).

No entanto, surgiram várias controvérsias sobre a toxicidade de plantas medicinais, podendo ser um problema sério para a saúde pública, devido aos efeitos adversos, possíveis adulterações e toxicidade, bem como, o sinergismo ou antagonismo que pode ocorrer entre este tipo de suplementos alimentares ou medicamentos à base de plantas e os medicamentos convencionais. Os avanços no conhecimento científico, no que diz respeito à qualidade, segurança e eficácia dos medicamentos à base de plantas, tem colocado a fitoterapia na área da terapêutica com alguma importância (94,99,100).

A OMS estima que 80% das pessoas que vivem em países em desenvolvimento dependem de práticas medicinais tradicionais para os seus cuidados básicos de saúde. As plantas medicinais são assim utilizadas em países onde o sistema de saúde não garante altos níveis de eficiência e em países economicamente mais frágeis (101,102).

6.3. Legislação em Portugal

Em Portugal, a maioria destes produtos à base de plantas, são comercializados como suplemento alimentar, este facto, é caracterizado por ser de fácil acesso e menos dispendioso. Contudo, o consumo destes produtos atendendo aos pilares da legislação alimentar, apresentam um risco para o consumidor, uma vez que podem ser vendidos em qualquer espaço de saúde, sem profissionais qualificados e sem legislação atualizada. Esta legislação alimentar, assenta fundamentalmente na responsabilização dos agentes que colocam este produto no mercado, não havendo qualquer avaliação, controlo rigoroso como acontece com os medicamentos (103).

A fitoterapia no mundo atual surgiu com grande desenvolvimento e posicionou-se com grande destaque. Com a entrada em vigor do **Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de Agosto**. Neste decreto assume-se que o medicamento à base de plantas, entende-se por: *“qualquer medicamento que tenha exclusivamente como substâncias ativas uma ou mais substâncias derivadas de plantas, uma ou mais preparações à base de plantas ou uma ou mais substâncias derivadas de plantas em associação com uma ou mais preparações à base de plantas”* (103).

Este Decreto-Lei, retirado na íntegra do INFARMED, *“procedeu à transposição da legislação comunitária, nomeadamente da diretiva 2004/24/CE do parlamento Europeu e do conselho, de 31 de Março de 2004, que existe a possibilidade de submissão de pedidos de registo de medicamentos tradicionais à base de plantas (artigo 141º a 147º). Estes pedidos podem ser submetidos por um procedimento nacional e/ou por procedimentos de reconhecimento mútuo e descentralizado. Só podem ser objeto deste pedido de registo de utilização tradicional os medicamentos à base de plantas que, cumulativamente:* (103).

- a. Tenham indicações exclusivamente adequadas a medicamentos à base de plantas e, dadas a sua composição e finalidade, se destinem e sejam concebidos para serem utilizados sem vigilância de um médico para fins de diagnóstico, prescrição ou monitorização do tratamento;*
- b. Se destinem a ser administrados exclusivamente de acordo com uma dosagem e posologia especificadas;*

- c. *Possam ser administrados por uma ou mais das seguintes vias: oral, externa ou inalatória;*
- d. *Já sejam objeto de longa utilização terapêutica, de acordo com os dados ou pareceres referidos na alínea m) do n.º 2 do artigo seguinte;*
- e. *Sejam comprovadamente não nocivos quando utilizados nas condições especificadas, de acordo com a informação existente e reputada suficiente;*
- f. *Possam demonstrar, de acordo com informação existente e reputada suficiente, efeitos farmacológicos ou de eficácia plausível, tendo em conta a utilização e a experiência de longa data.” (103).*

Em Portugal, a autorização para o licenciamento de medicamentos, incluindo os medicamentos tradicionais à base de plantas, está a cargo do INFARMED (103).

No entanto, em alguns casos é difícil enquadrar o produto em medicamento à base de planta ou suplemento alimentar. Deste modo, segundo a **diretiva 2002/46/CE**, do artigo 3º do Decreto-Lei nº 118/2015, considera-se suplemento alimentar como “ *Géneros alimentícios que se destinam a complementar e ou suplementar o regime alimentar normal e que constituem fontes concentradas de determinadas substâncias nutrientes ou outras com efeito nutricional ou fisiológico, estemes ou combinadas, comercializadas em forma doseada, tais como cápsulas, pastilhas, comprimidos, pílulas e outras formas semelhantes, saquetas de pó, ampolas de líquido, frascos com conta-gotas e outras formas similares de líquidos ou pós que se destinam a ser tomados em unidades medidas de quantidade reduzida” (104).*

Em Portugal, a maioria dos produtos à base de plantas, deviam preferencialmente ser comercializados como medicamentos, de modo a garantir os parâmetros de segurança, qualidade, eficácia, no entanto, encontram-se comercializados como suplementos alimentares. No suplemento alimentar não existe uma avaliação prévia e um controlo rigoroso pós comercialização como ocorre com os medicamentos à base de plantas (103, 104).

7. Fitoquímicos com poder antiviral no tratamento do *Herpes simplex*

Antigamente, as fontes de inspiração para o desenvolvimento de novos fármacos eram compostos naturais de origem vegetal. A contínua resistência viral aos antivirais convencionais tornou-se um problema crescente para os humanos. Com o evoluir das investigações verificou-se o potencial antiviral de extratos de plantas e óleos essenciais, contra estirpes virais, exemplo HSV. As técnicas recentes de descoberta de produtos à base de plantas, é um motivo para explorar os componentes antivirais naturais das plantas medicinais (101,105). Muitos extratos de plantas, bem como os seus óleos essenciais, têm revelado atividade antiviral sem os efeitos tóxicos dos fármacos sintéticos.

Inúmeros compostos fitoquímicos isolados, purificados e identificados a partir de extratos de plantas como flavonóides, terpenos e alcalóides, apresentam ação antiviral, tanto em ensaios de cultura celular, como em estudos em animais contra HSV-1 e HSV-2 (106,107).

Nesta dissertação, a escolha de espécie vegetais pertencentes à família Lamieaceae deve-se ao facto desta família ter uma ampla distribuição mundial, e uma boa representatividade na Europa e, ainda, ao facto de algumas das plantas desta família serem alvo de estudo no que diz respeito, à inatividade dos vírus que possuem DNA e RNA, com e sem envelope. Segundo Bekut *et al.*, o efeito antiviral é direto, com elevada eficácia contra espécies virais com envelope, como é o caso do HSV (105). No presente trabalho, e dentro da família Lamieaceae, esta pesquisa centrou-se em bancos de dados como a PubMed e a Web of Science cruzando os termos *Herpes simplex*, com as espécies *Melissa officinalis*, *Mentha x piperita*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* e *Thymus vulgaris*. Estas espécies são plantas aromáticas, bastante usadas em Portugal na culinária, quer em especiarias, quer em infusões, também têm fins terapêuticos para algumas doenças virais como é o caso do *Herpes simplex*.

7.1. Família Lamiaceae

A família de plantas Lamiaceae é a sexta maior família de plantas, descrita na botânica, com mais de 200 gêneros e mais de 7.000 espécies. As plantas pertencentes a esta família estão dispersas em todo o mundo, são facilmente cultivadas e apresentam propriedades aromáticas e picantes, que as tornam importantes para as indústrias alimentar, ornamental, farmacêutica e cosmética. São herbáceas e, as partes mais frequentemente utilizadas são as folhas e as partes aéreas da planta, podendo ser usadas frescas ou secadas. A sua aplicação pode ser externa ou interna. Para utilização interna é, tradicionalmente, sob forma de infusões, xaropes, tinturas, colutórios, gotas, comprimidos, entre outros (8,94,98,105-109). Foram realizados numerosos estudos para identificar a estrutura química de compostos bioativos naturais, e para compreender qual o melhor método de extração e as condições adequadas que possibilitem uma alta recuperação de compostos ativos (106-108). Os compostos fitoquímicos são geralmente extraídos utilizando diversos solventes (exemplo: água, etanol, soluções hidroalcolicas de diferentes concentrações) ou extração de óleos essenciais por hidrodestilação ou destilação por arrastamento pelo vapor de água (105,108).

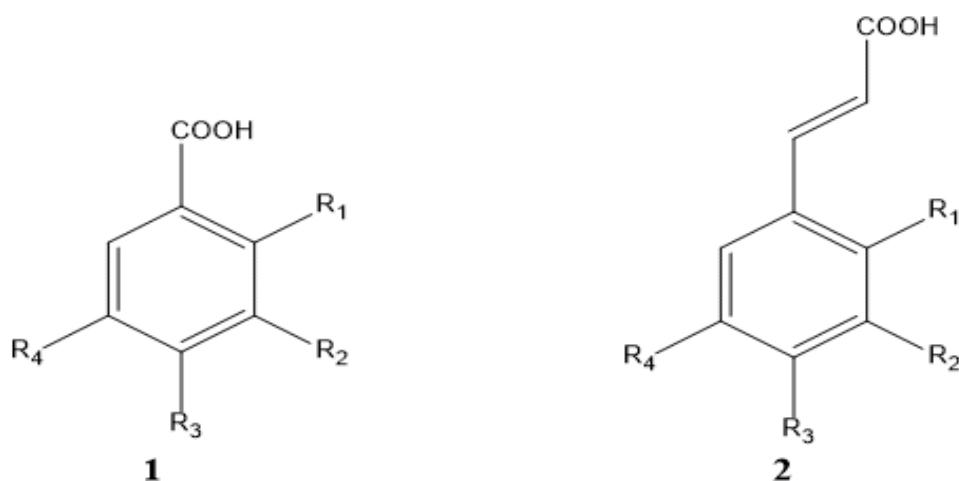
Uma elevada atividade biológica tem sido encontrada para diversos compostos fenólicos, incluindo atividades antivirais, antifúngicos, antidiuréticas, anti-inflamatórias, antioxidantes, antibacterianos, antidiabéticos, adstringentes e calmantes (106,107).

Alguns tratamentos com plantas da família Lamiaceae foram adotados na medicina convencional, nomeadamente: *Melissa officinalis*, *Mentha x piperia*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* e *Thymus vulgaris*, destas espécies, são extraídas as moléculas bioativas com efeitos biológicos, principalmente: os ácidos fenólicos (ácido rosmarínico, ácido cafeico, ácido hidroxicinamico e derivados do ácido hidroxibenzóico, entre outros), flavonóides (cismaritina, genkwanin, entre outros), terpenos (ácido oleonólico, ursólico, entre outros) e alcalóides (107,108).

7.1.1. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos, também conhecidos como polifenóis, são muito estudados em plantas por apresentarem atividades farmacológicas e antinutricionais. Os polifenóis encontram-se presentes em várias partes das plantas, tais como: tecidos germinativos, sementes, raízes, caules, cascas, folhas e frutas. Os polifenóis presentes nas plantas podem ser classificados como fenóis simples, ácidos fenólicos, flavonoides e taninos (109).

Os ácidos fenólicos caracterizam-se por ter um anel benzênico, um grupo carboxílico e um ou mais grupos hidroxilo (Figura 7.1) (109-112). Os ácidos fenólicos podem dividir-se em 2 grupos: os derivados do ácido hidroxibenzoico e os derivados do ácido hidroxicinâmico (109).



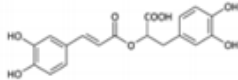
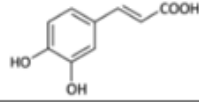
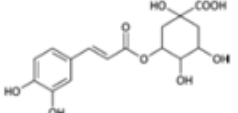
R₁ = R₂ = R₃ = R₄ = H → ácido benzóico; R₁ = OH → Ácido Salicílico; R₁ = R₄ = OH → Ácido Gentísico; R₃ = OH → Ácido p-hidroxibenzoico; R₂ = R₃ = OH → Ácido protocatecuico; R₂ = OCH₃; R₃ = OH → Ácido Vanílico; R₂ = R₃ = R₄ = OH → Ácido Gálico; R₂ = R₄ = OCH₃; R₃ = OH → Ácido Siríngico.

R₁ = R₂ = R₃ = R₄ = H → Ácido Cinâmico; R₁ = OH → Ácido o-cumárico; R₂ = OH → Ácido m-cumárico; R₃ = OH → Ácido p-cumárico; R₂ = R₃ = OH → Ácido cafeico; R₂ = OCH₃; R₃ = OH → Ácido Ferúlico; R₂ = R₄ = OCH₃; R₃ = OH → Ácido Sinápico.

Figura 7.1. Estrutura química dos (1) ácidos benzóicos e dos (2) ácidos cinâmicos (109).

Nas plantas estudadas, destaca-se a *Melissa officinalis* por possuir 3 metabolitos secundários com atividade anti-herpética: o ácido rosmarínico, o ácido cafeico e o ácido clorogénio (Quadro 7.1). O ácido rosmarínico é um éster, derivado do ácido 3,4-dihidroxifenilacético, o ácido cafeico é um derivado do ácido cinâmico e o ácido clorogénico é também designado por éster cafeoilquínico (111).

Quadro 7.1. Metabolitos secundários com atividade anti-herpética (105,111).

Metabolitos Secundários	Estrutura química
Ácido Rosmarínico	
Ácido Cafeico	
Ácido clorogénico	

Os compostos resultantes da oxidação do ácido cafeico (como por exemplo o ácido chicórico), possuem grande importância no combate do HSV. Estes compostos são responsáveis pela inibição do vírus *Herpes simplex* tipo 1 e tipo 2 (109,111,112).

Os flavonóides são compostos fenólicos comuns nas plantas, possuem uma estrutura básica comum, 2-fenilcromano (C₆-C₃-C₆). Neste grupo, dependendo do lugar, do número e da combinação dos grupos ligados aos anéis podem subdividir-se em diversos subgrupos, como: antocianidinas, flavonas, flavonóis, flavanonas e isoflavonas (109).

Os taninos são compostos de alto peso molecular, no qual se inserem os taninos condensados e taninos hidrolisáveis, estes representam um grupo complexo de polifenólicos tornando difícil obter uma definição química rigorosa (109). Estudos acerca da relação estrutura-atividade (SAR) dos taninos com propriedades anti-herpéticas tem sido demonstrada pelo número de unidades de flavano. Além disso, pensa-se que a capacidade dos taninos complexarem fortemente com proteínas e outras macromoléculas da célula do hospedeiro e interagirem com estruturas na superfície e partículas de vírus, resultando num impedimento da ligação e/ou penetração do vírus (110).

7.1.2. Metodologia utilizada para determinar a atividade anti-herpética em extratos da família Lamiaceae

De acordo com algumas referências (113,114), a metodologia utilizada na avaliação inicial da atividade anti-herpética dos extratos aquosos de plantas deve incluir a identificação dos compostos constituintes dos extratos, o efeito da ação dos extratos nos vírus recorrendo a diversos ensaios específicos e, ao mesmo tempo, determinar a toxicidade desses extratos em culturas de células animais. A identificação dos compostos geralmente tem sido feita por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) acoplada a espectrómetro de massa. A avaliação da atividade antiviral é feita algumas vezes usando uma linhagem de células renais do macaco verde Africano (RC-37). Podem ser feitas diversas abordagens na avaliação da atividade antiviral: a) à suspensão viral junta-se o extrato da planta, que se pretende investigar e, finalmente acrescenta-se a cultura de células; b) o extrato da planta em estudo é incubado com uma cultura de células e, posteriormente é adicionada a suspensão viral; c) a suspensão viral é incubada com o extrato da planta durante um intervalo de tempo, seguidamente insere-se na cultura de células; d) ao meio de cultura com as células animais é adicionada a suspensão viral e aguarda-se que o vírus se replique adicionando-se posteriormente o extrato da planta a investigar (104,112-115).

7.1.3. *Melissa officinalis*

Melissa officinalis L. (Figura 7.2), nativa do sul da Europa, pode ser encontrada noutras zonas do planeta como regiões meridionais da Europa, Ásia e norte de África (116,117). Tem uma distribuição em todo o território de Portugal, com maior concentração a norte e no centro. Comumente conhecida como erva-cidreira, melissa, citronela-pequena, anafa, anafe, chá-de-frança, citronela-menor, capim-cheiroso e capim-cidreira. Arbustiva, que pode atingir até 100 cm de altura. Os caules ramificam-se em folhas verde-intensas na parte superior e verde-claro na parte inferior e flores são brancas ou amareladas. Apresenta um odor particular a limão, sendo muitas vezes reconhecido como bálsamo de limão (111,116,117).

A primeira informação sobre o uso desta planta foi encontrada na Grécia, há 2.000 anos, com diversas finalidades terapêuticas tais como: antioxidante, antiespasmódica, sedativa, antidepressiva, vermífuga, estomáquica, carminativa e possui uma ação antivírica contra o vírus do herpes (HSV) (117-119).

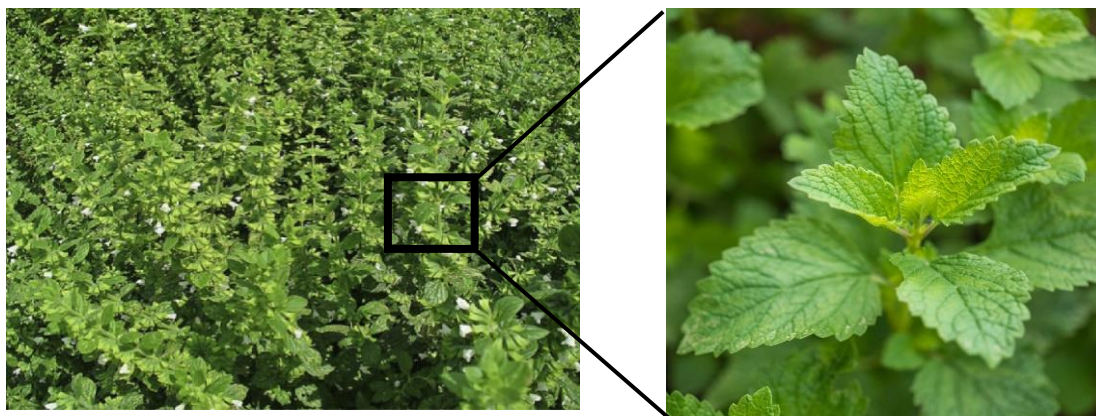


Figura 7.2. *Melissa officinalis* (116).

M. officinalis possui diversos metabolitos secundários, como: polifenóis [ácidos fenólicos (cafeico, clorogénico, rosmarínico e ferúlico); flavonoides (luteolol-7-glucósido, ramnocitrósido e quercitrósido); e taninos], terpenos [monoterpenos (linalol, nerol, geraniol, citronelol, α -terpineol, terpinen-4-ol, 1,8-cineole-4); sesquiterpenos (10-*epi*- α -cadinol, cariofileno, óxido de cariofileno, farnesol, acetatos de geranilo, nerilo e citronelilo)] (111,119,120).

Entre os inúmeros compostos que foram isolados a partir de extratos de *M. officinalis*, após secagem, pulverização e/ou fragmentação, os mais importantes são os ácidos fenólicos, como o ácido rosmarínico, ácido cafeico e ácido clorogénico, os quais agem na inibição da replicação do DNA e RNA viral (111,117,118) Os primeiros estudos da atividade antiviral de *M. officinalis* foram realizados em 1978 (111).

Para além dos compostos polifenólicos como antivirais, também têm sido descritos os óleos com esta propriedade. Segundo vários autores, o óleo essencial obtido de folhas de *M. officinalis in vitro*, é predominantemente constituído por: citronelal (2-40%) e citral (mistura de geranial e neral: 10-30%), seguidos de metil-heptenona, acetato de geranilo, β -cariofileno, germancreno D, ocimeno e citronelol (121-123). Segundo a revisão feita

por Wani *et al.*, a capacidade antiviral do óleo essencial *M. officinalis* parece dever-se a três dos componentes deste óleo: citronelal e citral (são dois isômeros) (124).

Considerando o alto índice de seletividade e a natureza lipofílica do óleo essencial (permite penetrar na pele), foi descrito por alguns autores como adequado para o tratamento tópico de infecções herpéticas (123-125).

7.1.4. *Mentha x piperita*

Mentha x piperita (Figura 7.3) é nativa da Europa e do Oriente Médio e encontra-se amplamente distribuída pela Europa, Ásia e América do Norte por via vegetativa, devido a ser um híbrido estável e infecundo. Esta planta é conhecida vulgarmente como: hortelã, hortelã-apimentada, hortelã-de-água-de-cheiro, hortelã-de-água-de-colônia, hortelã-das-damas e hortelã-pimenta (8). Esta espécie não aparenta apresentar toxicidade e é subglabra ou raramente com pêlos espaçados, os ramos eretos, até aos 40cm, por vezes com pêlos espaçados nas zonas angulares, geralmente de cor púrpura, folhas ovado-lanceoladas, cuneadas a subcordadas na base, serradas, distintamente pecioladas (8,126).

Cultivada desde a época dos antigos egípcios, tem uma bioatividade variada, tal como: analgésica, anti-séptica, antitússica, carminativa, descongestionante, espasmolítica, eupéptica, expetorante, mucolítica, antimicrobianas e antivirais (126,127).



Figura 7.3. *Mentha x piperita* (126).

Em testes laboratoriais verificou-se a existência de compostos biologicamente ativos, destacando não só o dos extratos aquosos, como também os óleos essenciais, na planta *Mentha x piperita*, com efeito anti HSV-1 e HSV-2 (128).

Evidências científicas sugeriram que os principais componentes do óleo essencial da *Mentha x piperita* eram: mentol, 1,8-cineole, mentona, acetato de mentilo, mentofurano, limoneno, β -mircenol, β -cariofileno, pulegona e carvona. Existem também sais minerais nas folhas secas da *Mentha x piperita* incluindo potássio, cálcio, magnésio, sódio, quantidades pequenas de ferro, zinco, manganésio, cobre, traços de crómio, iodo e selénio. Servindo como uma boa fonte nutricional, porque conta com a presença de vitamina como retinol e o ácido ascórbico, vitamina A e C, respetivamente. Os óleos extraídos da planta *Mentha x piperita*, possuem propriedades lipofílicas, tornando-o fundamental no uso como agente tópico em infeções recorrentes do herpes (111, 128-130).

7.1.5. *Rosmarinus officinalis*

Rosmarinus officinalis (Figura 7.4) é um arbusto de origem mediterrânea e amplamente difundido nos países da Europa, América e Ásia. Tem uma distribuição em todo o território de Portugal, com maior concentração no centro e sul. Tipicamente conhecida como alecrim, alecrim-da-terra, alecrinzeiro e alicrizeiro (8,130), é um arbusto até 200 cm de altura, ereto, com cheiro agradável e forte, com ramos cheios de folhas. As folhas são persistentes, coriáceas, lineares, verdes na parte superior e esbranquiçadas na parte inferior. As flores apresentam uma corola azulada, raras vezes rosada ou branca (131,132).

É uma planta perene, vulgarmente usado na indústria alimentar, como tempero. É usado para diversos fins terapêuticos como antiespasmódica, anti-inflamatória, antisséptica, colagogo, colerético, estimulante, antioxidante, hepatoprotetora, antirreumático e antiviral (131,132).



Figura 7.4. *Rosmarinus officinalis* (135).

Além dos extratos de plantas, os óleos essenciais têm demonstrado potencial antivírico. Os óleos essenciais, em geral, são misturas muito complexas de componente lipofílicos não polares e semipolares de baixo peso molecular. Estes óleos por apresentarem vários constituintes [α -pineno (18% a 26%), canfeno (8.0% a 12.0%) e cânfora (13.0% a 21.0%), entre outros] possuem uma diversidade de atividades. As suas propriedades terapêuticas podem explicar-se, em parte, por efeitos de sinergismo entre os vários componentes e não apenas a um dos seus constituintes (133-136).

Segundo Gavanji, *et al.*, o óleo essencial de *R. officinalis* possui uma elevada atividade anti-herpética, com um efeito inibitório mais eficaz contra o HSV-1 em comparação com os extratos (aquosos e etanólicos) (134).

7.1.6. *Salvia officinalis*

Salvia officinalis (Figura 7.5) é nativa da região mediterrânea, distribui-se pelo norte e centro de Espanha, sul de França e oeste da península balcânica, é largamente cultivada no centro-sul da Europa. É mais conhecida por salva, sálvia, salva-dos-jardins, salva-ordinária (8). É uma planta perene, com altura até 100 cm, com folhas aveludadas e um aroma característico e forte. As flores podem apresentar cor azul-violeta claro (137,138).

Na medicina tradicional, a salva é uma das mais antigas plantas, é considerada uma panaceia universal, usada como antiinflamatória, antisudorífera, antibactericida, antimicrobiana, antimalárico, antidiabético, cardiovascular, antitumoral, antioxidante, antirreumática, espasmolítica, adstringente, estimulante, inseticida e antiviral (8,137-139).



Figura 7.5. *Salvia officinalis* (140).

Nos extratos aquosos e etanólicos obtêm-se substâncias como: ácido rosmarínico, ácido cafeico, apigenina, caempferol, luteolina, quercetina, apigenina-7-*O*-glucósido, caempferol 3-*O*-glucósido, luteolina-7-*O*-glucósido, quercetina-3-*O*-glucósido, entre outros (116,138,139).

O cultivo dessa planta tem importância econômica, devido a sua capacidade de armazenar e produzir óleo essencial, cujos constituintes podem ser utilizados em aromaterapia. Os óleos essenciais de *S. officinalis* tem revelado eficácia na atividade antivírica para HSV-1 e HSV-2, destacando-se na sua composição química: os terpenos (tujeno, 1,8-cineole, cânfora, borneol). Já os extratos com atividade anti-HSV apresentam na sua composição ácido ursólico, taninos, heterósidos diterpénicos, flavonóides, ácido rosmarínico, saponinas e substâncias amargas (140-142).

7.1.7. *Thymus vulgaris*

Thymus vulgaris (Figura 7.6) é nativa do sul da Europa e tem uma expressão significativa no arquipélago da Madeira. Conhecido usualmente por tomilho (8,143,144). É uma planta glabrescente perene, com caule até 100 cm de altura, eretos, lenhosos na base, as folhas são ovadas, agudas ou obtusas, inteiras ou serradas, as flores sem hastes em pontas cilíndricas ou ovoides (144).

Tem propriedades terapêuticas como anti-helmíntica, anti-inflamatórias, antissépticas, carminativa, diurética, emenagoga, expetorante, antioxidante, sedativa, tónica, antiespasmódica, infecções respiratórias, eupépticas, antimicrobiana e antivirais (145,146).

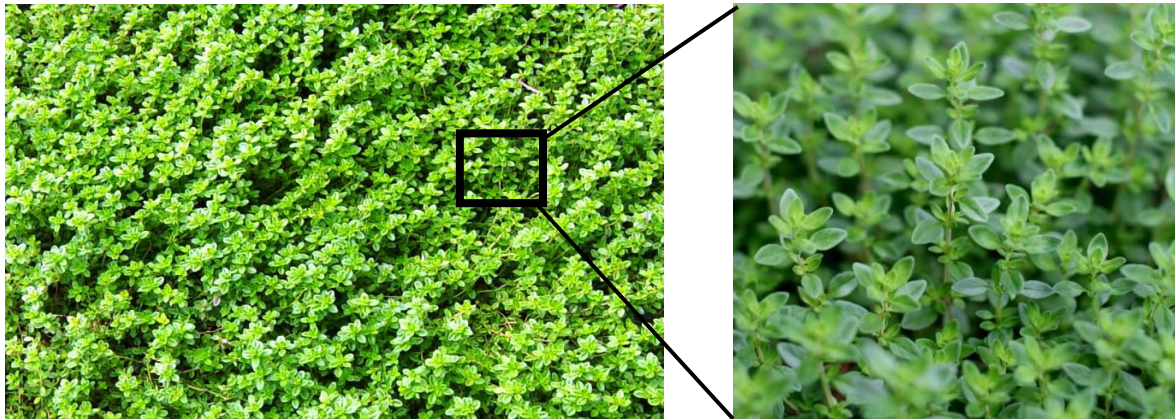


Figura 7.6. *Thymus vulgaris* (147).

Quer os extratos aquosos e etanólicos quer os óleos essenciais de *Thymus vulgaris* apresentam atividade antiviral contra o HSV-1 e o HSV-2. O óleo essencial é rico em: carvacrol, timol, borneol, entre outros componentes bioativos (145,147,148). O extrato de tomilho tem atividade anti-herpética, no entanto, os investigadores não determinam a sua composição química (144).

7.2. Erpecalm®

Atualmente, na área da fitoterapia ainda existem alguns produtos, suplementos alimentares e/ou medicamentos à base de plantas comercializados com propriedades anti-herpéticas. Por exemplo, a nível tópico, existe o Erpecalm®, um bálsamo em *roll-on* cuja composição inclui as espécies *Melissa officinalis*, *Hamamelis virginiana*, *Salvia officinalis*, *Rheum palmatum*, *Mentha piperita*, *Thymus vulgaris*, e ainda própolis. Este bálsamo é usado para aliviar os sintomas associados ao herpes labial (prurido e sensação de picadas) e regeneração dos tecidos, reduzindo o tempo de cura (149). A sua aplicação deve ser diária e repetidamente ao dia, mantendo a área afetada sempre coberta com uma camada do produto (149).

A *Hamamelis virginiana* (Figura 7.7), embora não se inclua na família Lamiaceae, é uma planta medicinal muito usada em problemas dermatológico, sendo fulcral na fase de cicatrização, inflamação, furúnculo, queimadura, ardor, entre outros, das diversas manifestações do HSV-1 (150,151).

Sendo um dos constituintes do Erpecalm®, a *H. virginiana*, da família da Hamamelidaceae, é nativa da América do Norte e é cultivada em pequena escala na Europa. É um arbusto ou uma árvore de folha caduca com 8 a 13 metros de altura, tem troncos tortos e múltiplos, frutos que contém sementes pretas brilhantes e folhas caducas e amareladas no Outono (152, 153).



Figura 7.7. *Hamamelis virginiana* (154).

Na composição bioativa da *H. virginiana* é possível encontrar taninos (catequinas, galhotaninos, cianidina e proantocianidinas do tipo delfinidina), heterósidos flavonóides, outros flavonóides como campferol, quercetina, quercitrina e isoquercitrina. Os taninos (principalmente as proantocianidinas oligoméricas e poliméricas) das folhas e cascas de *H. virginiana* demonstraram atividade antiviral contra o HSV-1 (155,156). Sendo o extrato hidroalcolólico da casca de *H. virginiana* uma alternativa fiável e uma mais-valia para gerir infeções HSV-1 (157).

A espécie *Rheum palmatum* (Figura 7.8), também é uma planta que se encontra na fórmula do Erpecalm[®], é nativa dos países asiáticos, principalmente da China, e cultivada no Reino Unido. Da família Polygonaceae, é uma planta perene que pode ir até 3 metros de altura, com aglomerado de flores amarelas ou brancas, juntamente com pontas que amadurecem em cor vermelha. Possui várias ações farmacológicas, como purgante, laxante, antibacteriano, antitumoral, adstringente, diurético, antimutagenicidade, e exibe, ainda, atividade hepatoprotetora e nefroprotetora (158-160).

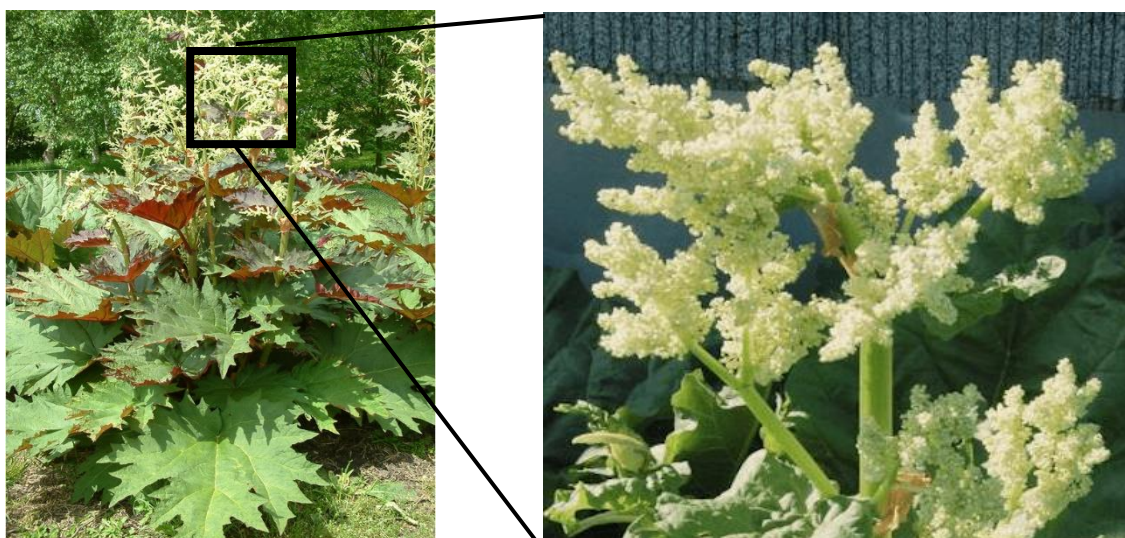


Figura 7.8. *Rheum palmatum* (159).

Os componentes bioativos incluem: antraquinonas (emodina, alo-emodina e rena), diantronas, antocianinas, flavonoides, polifenóis, taninos, ácidos orgânicos, entre outros (158). No que concerne à ação anti-HSV, há autores (161), que descrevem que é a emodina que apresenta esta atividade, quer *in vitro* quer *in vivo* (161).

8. Papel do farmacêutico em fitoterapia

O uso de plantas para curar doenças, são relatados desde a antiguidade, o conceito e as formulações farmacêuticas evoluíram muito nos últimos anos, bem como a sua disseminação. O saber acumulado de vários séculos, articulado com estudos mais aprofundados resultam na descoberta e elaboração de novas formulações farmacêuticas a partir das plantas. O reino das plantas é um recurso com enorme potencial farmacêutico, onde a investigação científica tem um papel importante (162,163).

Na área da investigação o farmacêutico tem um papel crucial na pesquisa dos compostos capazes de fornecer ação terapêutica, metodologias de extração de compostos bioativos e realização de ensaios clínicos dos mesmos (164).

Os medicamentos à base de plantas e suplementos alimentares são de venda livre, que, por norma, estão associados à automedicação, por isso, é importante que o farmacêutico saiba gerir a informação junto do paciente (164).

Os profissionais de saúde com maior sensibilidade para o aconselhamento de medicamentos à base de plantas e suplementos alimentares também têm um papel fundamental na informação sobre os seus benefícios em alternativa aos fármacos convencionais e as possíveis interações entre eles e os alimentos e/ou medicamentos convencionais (162-164).

9. Conclusão

Os vírus do herpes HSV-1 e HSV-2 são agentes infecciosos com especial relevância na infecção a humanos. A forma mais comum de infecção é através do contacto direto com lesões mucocutâneas, disseminando-se posteriormente por órgãos internos, podendo, em situações mais graves, ser fatal.

O Vírus *herpes simplex* provoca vários tipos de manifestações, nomeadamente: gengivoestomatite herpética, herpes orolabial, herpes ocular, herpes genital, herpes neonatal, eczema herpeticum, herpes gladiatorum, panarício herpético, encefalite herpética e meningite herpética.

A distribuição epidemiológica ocorre a nível global, e afeta todos os grupos etários sem distinção de grupo racial, sexo, localização geográfica ou outros fatores.

Para impedir a disseminação do vírus e evitar possíveis consequências para o ser humano, é necessário haver um diagnóstico e um tratamento precoces.

Os fármacos mais utilizados e comercializados para combater estes vírus são antivirais com os seguintes princípios ativos: aciclovir, valaciclovir, famciclovir e penciclovir. O crescente aparecimento de várias infeções e resistências a estes vírus em todo o mundo e à falta de vacinas e terapias disponíveis para controlar infeções virais, tornou-se necessário e urgente, encontrar novos antivirais eficazes.

Pelo exposto, a fitoterapia pode assumir uma alternativa ao tratamento clínico, com sucesso em termos de eficácia na terapêutica antiviral.

São várias as plantas que apresentam um potencial terapêutico para o tratamento do HSV, nesta dissertação foi dado especial enfoque às espécies: *Melissa officinalis*, *Mentha x piperita*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* e *Thymus vulgaris*. Estas 5 espécies apresentam eficácia comprovada *in vitro*, pois possuem compostos químicos com significativo potencial antivírico. Contudo, são poucos os trabalhos e, portanto, há necessidade de mais estudos para comprovar ou não os dados até agora publicados.

Atualmente, encontra-se disponível comercialmente um bálsamo em *roll-on* ou gel para aliviar os sintomas associados ao herpes labial (prurido e sensação de picadas) e

regeneração dos tecidos, Erpecalm[®], cuja composição inclui as espécies *Melissa officinalis*, *Hamamelis virginiana*, *Salvia officinalis*, *Rheum palmatum*, *Mentha piperita*, *Thymus vulgaris*, e ainda própolis, para o *roll-on*.

Apesar das vantagens da fitoterapia nem tudo o que é natural, é inócuo sendo importante mais investigação para aumentar a qualidade, a segurança e a eficácia dos produtos de origem vegetal.

Neste contexto é atribuído ao farmacêutico um papel importante na divulgação e esclarecimento ao paciente do uso dos suplementos alimentares bem como dos medicamentos à base de plantas e, ainda, na investigação.

10. Referências Bibliográficas

1. Kenneth M. K., *Herpes simplex* Virus (HSV) infections. [internet] MD, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School. 2018. [cited 2020 set 19]. Available from: [Herpes simplex virus \(who.int\)](#)
2. Banerjee A, Kulkarni S. e Mukherjee. *Herpes simplex* vírus: the hostile guest that takes over your home. *Frontiers in Microbiology*. 2020:00733.
3. Roizman, B e Zhou, G. The 3 facets of regulation of *Herpes simplex* vírus gene expression: A critical inquiry. *Virology*. 2015, 479-480: 562–567.
4. Jiang YC, Feng H, Lin YC, Guo XR. New strategies against drug resistance to *Herpes simplex* virus. *International Journal of Oral Science*. 2016, 8:1-6.
5. Santos M, Morais M, Fonseca D, Faria A, Silva I, Carvalho A e Leão J. Herpesvírus humano: tipos, manifestações orais e tratamento. *Odontologia Clínico Científico*. 2012, 11:191-196.

6. Mohan S, Taha M, Makeen H, Alhazmi H, Bratty M, Sultana S, Ahsan W, Najmi A e Kalid A. Bioactive natural antivirals: na updated review of the available plants and isolated molecules. *Molecules*. 2020, 25:4878.
7. Mukhtar M., et al. Antiviral potentials of medicinal plants. *Virus Research*. 2008, 131:111–120.
8. Uritu C, Mihai C, Stanciu GD, Dodi G, Stratulat T, Luca A, Leon-Constantim M, Stefanescu R, Bild V, Melnic S e Tamba B. Medicinal plants of the familiy Lamiaceae in pain therapy. *Pain Research and Management*. 2018, Article ID 7801543.
9. Trindade M, Bezerra N, Starling P, Viana E, Torres S e Gusman G. Atenção Farmacêutica na Fitoterapia. *Revista Científica Univicosa*. 2018, 10:1074-1080.
10. Roizman, B., Whitley, R. J., Kimberlin, D. W. *Herpes simplex* Viruses. *Clinical Infections Disease*. 1998, 26:541-555.
11. Whitley R, Kimberlin e Prober CG. *Herpes Simplex Viruses in: Fields Virology*. Eds. Knipe, D & Howley, P., 4th ed Lippincott Williams & Wilkins. 2001. cap 73.
12. Madavarajau K, Koganti R, Volety I, Yadavalli T e Shukla D. *Herpes simplex* vírus cell entry mechanisms: an update. *Front celular and Infection Microbiology*. 2020, 10:617578.
13. Pozo F, Juste J, Vásquez-Morón S, Aznar-López C, Ibáñez C, Garin I, Aihartza J, Casas I, Tenório A e Echevarría J. Identification of novel betaherpesvirus in iberian bats reveals parallel evolution. *PLoS one*. 2016, 11: e0160153
14. Malkowska M, Kokoszynska K, Dymecka M, Rychlewski L e Wyrwicz L. Alphaherpesvirinae and gmmaherpesvirinae glycoprotein L and CMV UL 130 originate from chemokines. *Virology Journal*, 2013, 10:1.
15. Vaz P, Mahony T, Hartley C, Folwler E, Ficorilli N, Lee S, Gilkerson J, Browning G e Devlin J. The first genome sequence of a metatherian herpesvirus: macropodid herpesvirus 1. *BMC Genomics*. 2016, 17:70.

16. Davison A, Eberle R, Ehlers B, Hayward G, McGeoch D, Minson A, Pellett P, Roizman B, Studdert M e Thiry E. The Order Herpesvirales. *Archives Virology*. 2009, 154:171-7.
17. Ferreira, W. e J. Sousa. *Microbiologia – volume III*. Lidel – edições técnicas, Lda; Lisboa, Portugal, 2002.
18. Howley, P. e Knipe, D. *Fields Virology*, Vol I. 5 th Edition. Lippincott William & Wilkins, Philadelphia, 2007.
19. Norberg, P. Divergence and Genotyping of Human α -herpesviruses: An overview. *Infections Genetics and Evolution*. 2010, 10:14-25.
20. Tognarelli E, Palomino T, Corrales N, Bueno S, Kalergis A e González P. *Herpes simplex* Virus evasion of early host antiviral responses. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2019, 9:127.
21. Bascones-Martínez A, Pousa-Castro X. Herpesvirus. *Avances en Odontostomatología*. 2011, 27:11-24.
22. Alandijany Thamir. Host intrinsic and innate intracellular immunity during *Herpes simplex* virus type 1 (HSV-1) infection. *Frontiers in microbiology*. Vol 10. 2019, 10:2611.
23. Fatahzadeh M. e Schwartz, R.. Human *Herpes simplex* Virus Infections: Epidemiology, Pathogenesis, Symptomatology, Diagnosis and Management. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2007, 57:737-63.
24. Fields, B. et al. *Fields-Virology*. (2 Vol.). Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins. 4th edition., 2001.
25. Xu D, Tiwari V, Xi G, Clement C, Shukla D e Liu J. Characterization of heparan sulphate 3-O-sulphotransferase isoform 6 and its role in assisting the entry of *Herpes simplex* virus type 1. *The Biochemical journal*. 2005, 385:451-9.
26. Crimi S, Fiorillo L, Bianchi A, D'Amico C, Amoro G, Gorassini F, Mastroieni R, Marino S, Scoglio C, Catalano F, Campagna P, Bocchieri S, Stefano R, Fiorillo M

- e Cicciù M. Herpes Virus, Oral Clinical Signs and QoL: Systematic Review of Recent Data. *Viruses*. 2019, 11:463.
27. Azambuja T, Bercini F e Furlanetto T. *Herpes simplex*: revisão de literatura. *Revista da Faculdade de Odontologia de Porto Alegre*. 2004, 45:43-46.
28. Khadr L, Harfouche M, Omori R, Schawarzer G, Chemaitelly H, Ahu-Raddad L. The epidemiology of *Herpes simplex* vírus type 1 in asia: systematic review, meta-analyses and meta-regressions. *Clinical Infectious Diseases*. 2019, 68:757-72.
29. Sauerbrei A. Optimal management of genital herpes: current perspectives. *Infection and Drug Resistance*. 2016, 9:129-141.
30. Danastas K, Miranda-Saksena M e Cunningham A. Herpes simplex vírus type 1 interactions with the interferon system. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020, 21:5150.
31. Xu X, Zhang Ym Li Q. Characteristics of *Herpes simplex* vírus infection and pathogenesis suggest a strategy for vaccine development. *Reviews in Medical Virology*. 2019, 29:e2054.
32. Ibáñez F, Farias M, Gonzalez-troncoso M, Corrales N Duarte L, Retamal-diaz A, González P. Experimental dissection of the lytic replication cycles of *Herpes simplex* víruses in vitro. *Frontiers in Microbiology*. 2018, 9:2406.
33. Kukhanova, M. K.; Korovina, A. N. e Kochetkov, S. N. Human *Herpes simplex* virus: life cycle and development of inhibitors. *Biochemistry. Biokhimiia*. 2014, 79:1635-1652.
34. Wagner EK. (2003) The homepage of Dr.Edward K. Wagner [Internet]. [cited 2021 Jan 22]. Available from: <http://darwin.bio.uci.edu/~faculty/wagner/index.html>
35. Carter, J.B. e Saunders V.A. *Virology: Principles and Applications*. John Wily & Sons Ltd, Chichester. 2007.

36. Zhang Y, Xin Q, Zhang JY, Wang YY, Cheng JT, Cai WQ, Han Z, Zhou Y, Cui S, Peng X, Wang X, Ma Z, Xiang Y, Su XL e Xin HW. Transcriptional regulation of latency-associated transcripts (LATs) of *Herpes simplex* viroses. *Journal of Cancer*. 2020, 11:3387-3399.
37. Esteves, J. et al. *Dermatologia*. 3a Edição. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 2005.
38. Yousuf W, Ibrahim H, Harfouche M, Hijleh F e Abu-Raddad L. *Herpes simplex* vírus type 1 in Europe: systematic review, meta-analyses and meta-regressions. *BMJ Global Health*. 2020, 5:e002388.
39. Geller M, Neto M, Ribeiro M, Oliveira L, Naliato E, Abreu C e Schechtman R. *Herpes simples: Atualização clínica, epidemiológica e terapêutica*. *DST - Jornal Brasileiro Doenças Sexuais Transmissíveis*. 2012, 24:260-266.
40. James C, Harfouche M, Welton N, Turner K, Abu-Raddad L, Gottlieb S e Looker K. *Herpes simplex* vírus: global infection prevalence and incidence estimates, 2016. *Bulletin of the World Health Organization*. 2020, 98:315–329.
41. Penello A, Campos B, Simão M, Gonçalves M, Souza P, Salles R e Pellegrini E. *Herpes Genital*. *DST - Jornal Brasileiro Doenças Sexuais Transmissíveis*. 2010, 22:64-72.
42. Behling, J. Evaluating HIV prevention programs: *Herpes simplex* vírus type 2 antibodies as biomarker for sexual risk behavior in young adults in resource-poor countries. *PLoS ONE*. 2015, 10:e0128370.
43. Manual MSD. Simples (HSV). [internet]. [cited 2020 out 18]. Available from: [Infecções por herpes-vírus simples \(HSV\) - Doenças infecciosas - Manuais MSD edição para profissionais \(msdmanuals.com\)](https://www.msdmanuals.com/pt-br/infeccoes-por-herpes-virus-simples-hsv-doencas-infecciosas-manuais-msd-edicao-para-profissionais)
44. Reward E, Muo S, Orabueze I e Ikea A. Seroprevalence of *Herpes simplex* vírus type 1 and 2 in nigerian: a systematic review and meta-analyses. *Pathogens and Global Health*. 2019, 113(5):229-237.

45. Marques N, Margalho R, Melo M, Cunha J e Silvestre A. Seroepidemiological survey of transmissible infectious diseases in a portuguese prison establishment. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2011, 15(3):272-275.
46. Manjarrez-zavala ME, Rosete-olvera DP, Gutiérrez-gonzález LH, Ocadiz-delgado R, Cabello-gutiérrez C. Pathogenesis of viral respiratory infection. *Intechopen*. 2013,3–32.
47. Ferhadian D, Contrant M, Printz-Schweigert A, Smyth RP, Paillart J-C, Marquet R. Structural and functional motifs in influenza vírus RNAs. *Frontiers in Microbiology*. 2018, 9:559.
48. Rodrigo F, Gomes M e Filipe P. *Dermatologia — Ficheiro Clínico e Terapêutico*. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian. 2020.
49. Muñoz H e Morillo B. Infecciones por vírus *Herpes simple*. Grupo de Patología Infecciosa de AEPap. [Internet]. [cited 2020 dec 20] Novembre 2017. Available from: [infecciones_por_virus_herpes_simple .pdf \(aepap.org\)](http://www.aepap.org/infecciones_por_virus_herpes_simple.pdf)
50. Launay E, Guen C, Pinquier D, Dommergues M, Cohen R, Grimprel E. Antiviraux chez l'enfant en pratique de ville: infections herpétiques, varicelle, grippe. *Perfectionnement en Pédiatrie*. 2020, 3:147–156.
51. Chiarelli M, Rau L e Scortegagna A. Gengivoestomatite herpética aguda. *Revista Odontologia*. 2008, 32:124-129.
52. Lawall M, Almeida J, Bosco J e Bosco A. Gengivoestomatite Herpética Primária em Adulto: Relato de Caso Clínico. *Revista Odontologia Ciência*. 2005, 20:191-194.
53. Consolaro A e Consolaro M. Diagnóstico e tratamento do *Herpes simples* recorrente peribucal e intrabucal na prática ortodôntica. *Revista Dental Press Ortodontia Ortopedia Facial*. 2009, 14(3):16-24.
54. Gfeller C, Wanser R, Mahalingam H, Moore D, Wang X, Lin C, Shanga G, Grove G e Rawlings A. A series of in vitro and human studies of a novel lip cream

formulation for protecting against environmental triggers of recurrent herpes labialis. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*. 2019, 12:193–208.

55. Stona P, Viana E, Pires L, Webere J, Kramer P. Recurrent Labial *Herpes Simplex* in Pediatric Dentistry: Low-level Laser Therapy as a Treatment Option. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. 2014, 7(2):140-143.
56. Santos M, Morais M, Fonseca D, Faria A, Silva I, Carvalho A e Leão J. Herpesvírus humano: tipos, manifestações orais e tratamento. *Odontologia Clínica-Científica*. 2012, 11(3):191-196.
57. Mahboobian M, Mohammadi M e Mansouri Z. Development of thermosensitive in situ gel nanoemulsions for ocular delivery of acyclovir. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2020, 55:101400.
58. Liesegang, T. *Herpes simplex* Virus Epidemiology and Ocular Importance. *Cornea*. 2001, 20(1):1-13.
59. Freitas D, Alvarenga L e Lima A. Ceratite Herpética. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*. 2001, 64:81-6.
60. Amir A e Barney N. Conjunctivitis: A Systematic Review of Diagnosis and Treatment. *Journal of the American Medical Association*. 2013, 310(16):1721-9.
61. Beddouche A, Ouaziz H, Zougaghi S, Alaoui A, Dergamoun H, Sayegh H, Iken A, Benslimane L e Nouini Y. Thrombose de la veine dorsale profonde de la verge revelant une maladie de Behcet. *The Pan African Medical Journal*. 2016, 24:17.
62. Park S, Riccio R, Kopp S, Ifergan I, Miller S e Longnecker R. Herpesvirus Entry Mediator Binding Partners Mediate Immunopathogenesis of Ocular *Herpes simplex* Virus 1 Infection. *American Society For Microbiology*. 2020, 11(3): e00790-20.
63. Magdaleno-Tapial J, Hernández-Bel P, Valenzuela – Onate C, Ortiz-Salvador J, García-Legaz-Martínez M, Martínez-Domenech Á, Pérez-Pastor G, Esteve-Martínez A, Zaragoza-Ninet V, Sánchez-Carazo J, Miquel V e Pérez-Ferriols A. Genital Infection With *Herpes simplex* Virus Type 1 and Type 2 in Valencia, Spain:

- A Retrospective Observational Study. *Actas dermo-sifiliográficas*. 2020, 111(1):53-58.
64. Manual MSD. Simples (HSV). [Internet]. [cited 2021 jan 13]. Available from: [Herpes genital - Doenças infecciosas - Manuais MSD edição para profissionais \(msdmanuals.com\)](https://www.msdmanuals.com/pt-br/temas/doencas-infecciosas/herpes-genital)
65. Harris J e Holmes A. Neonatal *Herpes simplex* Viral Infections and Acyclovir: An Update. *The journal of pediatric pharmacology and therapeutics*. 2017, 22(2):88-93.
66. Eunjung L e Hohmuth B. Eczema herpeticum in early pregnancy. *Canadian Medical Association journal*. 2017, 189(13):E505.
67. Steptoe A, Young-Zvandasara T e Muhtaseb M. A corneal dendritic lesion with a skin eruption: eczema herpeticum, an important differential diagnosis. *BMJ Case Reports*. 2015, bcr-2014208438.
68. Belongia, E, Goodman J, Holland E, Andres C, Homann S, Mahanti R, Mizener M, Erice A e Osterholm M. An outbreak of herpes galdiatorum at a higj-school wrestling camp. *The New England Jornal of Medicine*. 1991, 325:906-910.
69. Manual MSD. Panarício herpético [internet]. [cited 2020 dec 23]. Available from: [Herpetic Whitlow - Distúrbios ósseos, articulares e musculares - Manual MSD Versão Saúde para a Família \(msdmanuals.com\)](https://www.msdmanuals.com/pt-br/temas/doencas-infecciosas/herpetic-whitlow)
70. Pires L e Reis C. Encefalite Herpética por HSV-1 – Relato de caso. *Revista Científica da Faculdade de Medicina de Campos*. 2016, 11(1):18-21.
71. Costa B e Sato D. Viral Encephalitis: a practical review on diagnostic approach and treatment. *Jornal de Pediatria*. 2020, 96:12-19.
72. Rodrigues L. Encefalite herpética em lactente: relato de caso. *Revista Médica de Minas Gerais*. 2007, 17(3/4): 149-15.
73. LeGoff J, Péré H e Bélec L. Diagnosis of genital *Herpes simplex* vírus infection in the clinical laboratory. *Virology Journal*. 2014, 11:83.

74. Rompalo A. Preventing sexually transmitted infections: back to basics. *Journal of Clinical Investigation*. 2011, 121(12):4580-4583.
75. Chakravarty M e Vora A. Nanotechnology-based antiviral therapeutics. *Nature Public Health Emergency Collection*. 2020, 3:1–40.
76. Clercq E e Li G. Approved Antiviral Drugs over the Past 50 Years. *Clinical Microbiology Reviews*. 2016, 29(3):695-747.
77. Tagliari N, Kelmann R, Diefenthaler H. Aspectos terapêuticos das infecções causadas pelo vírus Herpes simples tipo 1. *Perspetiva, Erechim*. 2012, 36(133):191-201.
78. De Clercq E. e Field HJ. Antiviral prodrugs - the development of successful prodrug strategies for antiviral chemotherapy. *British Journal of Pharmacology*. 2006,147:1-11.
79. Infarmed. Aciclovir [Internet]. [cited 2021 jan 23]. Available from: [zovirax-200-mg-comps-suspensao-oral.pdf \(gskpro.com\)](http://zovirax-200-mg-comps-suspensao-oral.pdf (gskpro.com))
80. Chaudhary, B. e Verma, S. Preparation and evaluation of novel in situ gels containing acyclovir for the treatment of oral *Herpes simplex* virus infections. *TheScientificWorldJournal*. 2014, 2014:280928.
81. Wechmann Z Framski G, Januszczyk P e Boryski J. Bioactive fused heterocycles: Nucleoside analogs with an additional ring. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015, 97:388-96.
82. James S e Prichard M. Current and future therapies for *Herpes simplex* virus infection: mechanism of action and drug resistance. *Current Opinion in Virology*. 2014, 8:54-61.
83. Piret J e Boivin G. Resistance of *Herpes simplex* Viruses to Nucleoside Analogues: Mechanisms, Prevalence, and Management. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2011, 55(2):459-72.

84. De Clercq E. Anti-HIV drugs: 25 compounds approved within 25 years after the discovery of HIV. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2009, 33(4):307-320.
85. Whitley R J. The use of antiviral drugs during the neonatal period. *Clinics in Perinatology*. 2012, 39(1):69-81.
86. Vadlapudi, A D, Vadlapatla R K e Mitra A K. Update on emerging antiviral for the management of *Herpes simplex* virus infections: a patenting perspective. *Recent Patents on Anti-infective Drug Discovery*. 2013, 8(1):55-67.
87. Infarmed. Valaciclovir [Internet]. [cited 2021 jan 27]. Available from: www.infarmed.com/valaciclovir+-+RCM.doc
88. EMA. Valaciclovir [Internet]. [cited 2021 jan 27]. Available from [EMA-2010-0309-00-00-ENPT \(europa.eu\)](http://EMA-2010-0309-00-00-ENPT (europa.eu))
89. Bomgaars L, Thompson P, Berg S, Serabe B, Aleksic A e Blaney S. Valacyclovir and acyclovir pharmacokinetics in immunocompromised children. *Pediatric Blood & Cancer*. 2008, 51(4):504-8.
90. Álvarez D, Castillo E, Duarte L, Arriagada J, Corrales N, Farías M, Henríquez A, Agurto-Muñoz X e González P. Current Antivirals and novel botanical molecules interfering with *Herpes simplex* virus infection. *Frontiers in Microbiology*. 2020,11:139.
91. Razonable R R. Antiviral drugs for viruses other than human immunodeficiency virus. *Mayo Clinic Proceedings*. 2011, 86(10):1009-26.
92. EMA Famciclovir [Internet]. [cited 2021 jan 30]. Available from: [EMA-2010-0303-00-00-ENPT \(europa.eu\)](http://EMA-2010-0303-00-00-ENPT (europa.eu))
93. Simpson D e Lyseng-Williamson K A. Famciclovir– Review of its use in herpes zoster and genital and orolabial herpes. *Drugs*. 2006, 66(18):2397-416.
94. Junior V, Pinto A e Maciel M. Plantas medicinais: cura segura? *Química Nova*. 2005, 28(3):519-528.

95. Gurib-Fakim A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*. 2006, 27(1):1–93.
96. Bilijana P. Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy Review*. 2012, 6(11):1–5.
97. Pita J e Bell V. O ensino farmacêutico e a química na reforma pombalina da universidade (1772). *Química* 142. 2016, 47-51.
98. Bezerra A, Franco S, Mousinho K, Fonseca S, Matos-Rocha T, Pavão J e Santos A. Situational diagnosis of professionals of family health units on phytotherapy. *Revista Brasileira de Biologia*. 2020, 81(3): 551-556.
99. Silva-Mares D, Torres-lópez E e Rivas-Galindo V. Antiherpetic plants: a review of active extracts, isolated compounds, and biossays. *Natural Product Communications*. 2016, 11(4):557-566.
100. Dhama K, Munjal A e Khandia R. Medicinal and therapeutic potential of herbs and plant metabolites/extracts countering viral pathogens – current knowledge and future prospects. *Current Drug Metabolism*. 2018, 19(3):236-263.
101. Souza C.M.P, Brandão D.O, Silva MSP, Palmeira AC, Simões MOS e Medeiros ACD. Utilização de plantas medicinais com actividade antimicrobiana por usuários do serviço publico de saude em campina grande – Paraíba. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s. 2013, 15(2):188-193.
102. Appiah B, Amponsah I, Poudyal A e Mensah M. Identifying strengths and weaknesses of integration of biomedical and herbal medicine units in Ghana using the WHO health systems framework: a qualitative study. *Complementary and Alternative Medicine*. 2018, 18:286.
103. Ministério da Saúde. Decreto-Lei no 176/2006 de 30 de Agosto [Internet]. *Diário da República*, 1a série - N o 167 - 30 de Agosto de 2006. 2006 [cited 2021 Feb 5]. p. 6297–383. Available from: [Decreto-Lei 176/2006, 2006-08-30 - DRE](#)

104. Ministério da Saúde. Decreto-Lei no 136/2003 de 30 de Agosto [Internet]. Diário da República, 1a série - N o 147 - 28 de junho de 2003. 2003 [cited 2021 April 5]. Available from: [Decreto-Lei n.º 136/2003 \(dre.pt\)](https://dre.pt)
105. Bekut M, Brkić S, Kladar N, Draović G, Gavarić N e Božin B. Potential of selected lamiaceae plants in anti(retro)viral therapy. [Pharmacol Res](#). 2018 Jul; 133: 301–314.
106. Marchioni I, Najar B, Ruffoni B, Copetta A, Pistelli L e Pistelli L. Bioactive compounds and aroma profile of some Lamiaceae edible flowers. *Plants*. 2020, 9(6):691.
107. Lesellier E, Lefebvre T e Destandau E. Recent developments for the analysis and the extraction of bioactive compounds from *Rosmarinus officinalis* and medicinal plants of the Lamiaceae family. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2021, 135:116-158.
108. Zhao F, Chen YP, Salmaki Y, Dreq B, Wilson T, Scheen A, Celep F, Brauchler C, Bendiksby M, Wang Q, Min D, Peng H, Olmstead R, Li B e Xiang C. An updated tribal classification of Lamiaceae based on plastome phylogenomics. *BMC Biology*. 2021, 19:2.
109. Soares S. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista Nutrição*. 2002, 15(1):71-78.
110. Erdelmeier C, Cinatl J, Rabenau H, Doerr H, Biber A e Koch E. Antiviral and antiphlogistic activities of Hamamelis virginiana bark. *Planta Médica*. 1996, 62(3):241–245.
111. Shakeri A, Sahebkar A e Javadi B. *Melissa officinalis* L. – A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*. 2016, 188:204–228.
112. Langland J, Jacobs B, Wagner C, Ruiz G e Cahill T. Antiviral activity of metal chelates of caffeic acid and similar compounds towards herpes simplex, VSV-Ebola pseudotyped and vaccinia viroses. *Antiviral Research*. 2018, 160:143–150.

113. Nolkemper S, Reichling J, Stintzing F, Carle R e Schnitzler P. Antiviral effect of aqueous extracts from species of the lamiaceae family against *Herpes simplex* virus type 1 and type 2 *in vitro*. *Planta Médica*. 2006, 72:1378-1382.
114. Schuhmacher A, Reicling J e Schnitzler P. virucidal effect of peppermint oil on the enveloped virus *Herpes simplex* virus type 1 and type 2 in vitro. *Phytomedicine*. 2003, 10:504-510.
115. Reichling J, Nolkemper S, Stintzing F e Schnitzler P. Impact of Ethanolic Lamiaceae Extracts on Herpesvirus Infectivity in Cell Culture. *Forsch Komplementmed*. 2008, 15:313–320.
116. Świąder K, Startek K e Wijaya C. The therapeutic properties of Lemon balm (*Melissa officinalis* L.): Reviewing novel findings and medical indications. *Journal of Applied Botany and Food Quality*. 2019, 92:327-335.
117. Reis E, Pinto J, Rosado L e Correia R. Teor e composição química do óleo essencial de *Melissa officinalis* L. in vitro sob influencia do meio de cultura. *Acta Scientiarum, Agronomy*. 2009, 31(2):331-335.
118. Jassim S e Naji M. Novel antiviral agents: a medicinal plant perspective. *Journal of applied microbiology*. 2003, 95(3):412-27.
119. Peiró P, Galves J, Lucas M e Tejero S. *Melissa officinalis* L. *Medicina Naturista*. 2011, 5(1):36-38.
120. Astani A, Reichling J e Schnitzler P. *Melissa officinalis* extract inhibits attachment of *Herpes simplex* virus in vitro. *Chemotherapy*. 2012, 58(1):70-7.
121. Denaro M, Smeriglio A, Barreca D, Francesco C, Occhiuto C, Milano G e Trombetta D. Antiviral activity of plants and their isolated bioactive compounds: An update. *Phytotherapy Research*. 2020, 34:742–768.
122. Lopes A, Aguiar M, Negreiros R, Lima T, Bastos D e Jimenez G. Potencial antioxidante e o perfil da atividade espontânea em camundongos decorrentes da administração de *Melissa officinalis*. XII Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão. 2013.

123. Schnitzler P, Schuhmacher A, Astiani A e Reichling J. *Melissa officinalis* oil affects infectivity of enveloped herpesvirus. *Phytomedicine*. 2008, 15(9):734-740.
124. Wani A, Yadav K, Khursheed A e Rather M. An updated and comprehensive review of the antiviral potential of essential oils and their chemical constituents with special focus on their mechanism of action against various influenza and coronaviruses. *Microbial pathogenesis*. 2021, 152:104620.
125. Sharifi-Rad J, Sureda A, Tenore GC, Daglia M, Sharifi-Rad M, Valussi M, Tundis R, Sharifi-Rad M, Loizzo M, Ademiluyi A, Sharifi-Rad R, Ayatollahi S e Iriti M. Biological activities of essential oils: From plant chemoeology to traditional healing systems. *Molecules*. 2017, 22(1):70.
126. Projecto Biopolis [Internet]. [cited 2021 March 23]. Available from: [Plantas\(uma.pt\)](http://Plantas(uma.pt))
127. Omidian J, Sheikhi-Shooshtari F e Fazeli M. Inhibitory Effect of *Mentha Piperita* Extracts against *Herpes simplex* Virus Isolated from Eye Infection. *Iranian Journal of Virology*. 2014, 8(1):35-41.
128. Cheng C e Xu H. Recent Advances in the Discovery of Novel Anti-Herpetic Agents from Chinese Herbal Medicines. *Current Organic Chemistry*. 2010, 14:1714-1726.
129. Al-Garawyl A, Hussein T e Jassim M. Inhibition of Viral Infection by Using of Natural Herbal Remedies as Alternative Treatment. *Systematic Reviews in Pharmacy*. 2020, 11(6):416-419.
130. Souza W.P, Queiroga C.L, Sartoratto A e Honório S L. Avaliação do teor e da composição química do óleo essencial de *Mentha piperita* (L.) Huds durante o período diurno em cultivo hidropônico. *Revista Brasileira Plantas Mediciniais*. 2006, 8(4):108-111.
131. Lamponi S, Baratto M, Miraldi E, Baini G e Biagi M. Chemical profile, antioxidant, antiproliferative, anticoagulant and mutagenic effects of

- hydroalcoholic extract of Tuscan *Rosmarinus officinalis*. *Plants*(basel). 2021, 10(1):97.
132. Oliveira J, Camargo S e Oliveira L. *Rosmarinus officinalis* L. (Rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. *Journal of Biomedical Science*. 2019, 26(1):5.
133. Orhan I, Ozçelik B, Kartal M e Kan Y. Antimicrobial and antiviral effects of essential oils from selected Umbelliferae and Labiatae plants and individual essential oil componentes. *Turkish Journal of Biology*. 2012, 36(3):239-246.
134. Gavanji S, Sayedipour S, Larki B e Bakhtari A. Antiviral activity of some plant oils against *Herpes simplex* virus type 1 in Vero cell culture. *Journal of Acute Medicine*. 2015, 5(3):62-68.
135. Flora.on [Internet]. [cited 2021 March 23]. Available from: [Rosmarinus officinalis | Flora-On \(flora-on.pt\)](#)
136. Al-Megrin W, Aldadhan N, Metwally D, Al-Talhi R, EL-Khadragy M e Abdel-Hafez L. Potential antiviral agents of *Rosmarinus officinalis* extract against herpes viruses 1 and 2. *Bioscience Reports*. 2020, 40(6): BSR20200992.
137. Ghorbani A e MahdiEsmailizadeh B. Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 2017, 7(4):433-440.
138. Schnitzler P, Nolkemper S, Stintzing F e Reichling J. Comparative in vitro study on the anti-herpetic effect of phytochemically characterized aqueous and ethanolic extracts of *Salvia officinalis* grown at two different locations. *Phytomedicine*. 2008, 15 (1-2):62–70.
139. Šmidling D, Mitić-Ćulafić D, Vuković-Gačić B, Simić D e Knežević-Vukčević J. Evaluation of antiviral activity of fractionated extracts of sage *Salvia officinalis* L. (Lamiaceae). *Archives of Biological Sciences*. 2008, 60(3):421-429.
140. Projecto Biopolis [Internet]. [cited 2021 March 23]. Available from: [Plantas \(uma.pt\)](#)

141. Minami M, Kita M, Nakaya T, Yamamoto T, Kuriyama H e Imanishi J. The Inhibitory Effect of Essential Oils on *Herpes simplex* Virus Type-1 Replication In Vitro. *Microbiology Immunology*. 2003, 47(9):681–684.
142. Francik S, Francik R, Sadowska U, Bystrowska B, Zawislak A, Knapczyk A e Nzeyimana A. Identification of phenolic compounds and determination of antioxidante activity in extracts and infusions of salvia leaves. *Materials (basel)* 2020, 13(24):5811.
143. Prasanth V, Kandisa R, Varsha PV e Satyam S. Review on *thymus vulgaris* traditional uses and pharmacological properties. *Medicinal & Aromatic Plants*. 2014,3:3.
144. Akbar S. *Thymus vulagaris* L. (Lamiaceae). *Handbook of 200 Medicinal Plants*. Pp. 1795-1810. 2020.
145. Schnitzler P, Koch C e Reichling J. Susceptibility of Drug-Resistant Clinical *Herpes simplex* Virus Type 1 Strains to Essential Oils of Ginger, Thyme, Hyssop, and Sandalwood. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*. 2007, 51(5):1859–1862.
146. Hosseinzadeh S, Jafarikukhadam A, Hosseini A e Armand R. The application of medicinal plants in traditional and modern medicine: a review of *thymus vulgaris*. *International Journal of Clinical Medicine*. 2015, 6:635-642.
147. Projecto Biopolis [Internet]. [cited 2021 March 23]. Available from: [Plantas\(uma.pt\)](http://Plantas(uma.pt))
148. Borugă O, Jianu C, Mișcă C, Goleț I, Gruia AT e Horhat FG. *Thymus Vulgaris* essential oil: Chemical composition and antimicrobial activity. *Journal of Medicine and Life*. 2014, 7(3):56-60.
149. Erpecalm [Internet]. [cited 2021 mar 9]. p. 6297–383. Available from: ERPECALM DM – ERPECALM DM
150. Rostami-Vartooni A, Nasrollahzadeh M e Alizadeh M. Green synthesis of perlite supported silver nanoparticles using *Hamamelis virginiana* leaf extract and

investigation of its catalytic activity for the reduction of 4-nitrophenol and Congo red. *Journal of Alloys and Compounds*. 2016, 680:309–314.

151. Cunha A. P. *Farmacognosia e fitoquímica*, 2o edição. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2009.
152. Hatmaker EA, Wadl PA, Mantooth K, Scheffler B E, Ownley B H e Trigiano R N. Development of Microsatellites from *Fothergilla ×intermedia* 35 (Hamamelidaceae) and Cross Transfer to Four other Genera within Hamamelidaceae. *Applications in Plant Sciences*. 2015, 3(4):1400123.
153. Anderson G J e Hill J D. Many to flower, few to fruit: the Reproductive biology of hamamelis virginiana (hamamelidaceae). *American Journal of Botany*. 2002, 89(1): 67–78.
154. Weber R. W. Allergen of the month - Witch Hazel. *American College of Allergy Asthma & Immunology*. 2012. 109(5):A17.
155. Svobodová A, Psotová J, e Walterová D. Natural phenolics in the prevention of UV-induced skin damage. A review. *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacký, Olomouc, Czechoslovakia*. 2003, 147(2):137–145.
156. González M, Torres J e Medina I. Impact of thermal processing on the activity of gallotannins and condensed tannins from hamamelis virginiana used as functional ingredients in seafood. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2010, 58(7):4274– 4283.
157. Erdelmeier CAJ, Cinatl JH, Rabenau J, Doerr HW, Biber A, e Koch E. Antiviral and antiphlogistic activities of Hamamelis virginiana bark. *Planta Medica*. 1996, 62(3):241–245.
158. Wang L, Li D, Boa C, Você J, Wnag Z, Shi Y e Zhang H. Ultrasonic extraction and separation of anthraquinones from *Rheum plamatum* L. *Ultrasonics sonochemistry*. 2008, 15(5).738-746.

159. Elliot B. Turkish Rhubarb (*rheum palmatum*) herbal monograph. Herbal medicine. 2019
160. *Rheum palmatum* – L. [internet] [cited 2021 April 07]. Available from: [Rheum palmatum Turkey Rhubarb, Chinese Rhubarb - Da Huang, Chinese rhubarb PFAF Plant Database](#)
161. Xiong H, Hou W, Xiao H e Yang Z. The effect of emodin, an anthraquinone derivative extracted from the roots of *Rheum tanguticum*, against herpes simplex virus *in vitro* and *in vivo*. *Journal Ethnopharmacology*. 2011, 133(2):718–723.
162. Sahoo N, Manchikanti P e Dey S. Herbal drugs: Standards and regulation. *Fitoterapia*. 2010, 81(6):462–71.
163. Rafieian-kopaei M. Medicinal plants and the human needs. *Journal of HerbMed Pharmacology*. 2012, 1(1):1–2.
164. Soares J, Cimbliris-Alkmim A, Ramalho-de-oliveira D, Mendonça S e Rodrigues I. Potencialidades da prática da atenção farmacêutica no uso de fitoterápicos e plantas medicinais. *Journal of Applied Pharmaceutical Sciences*. 2020, (7):10-21.