# OBTENÇÃO E PURIFICAÇÃO DE EXTRATOS DE *Hypericum perforatum* COM DIFERENTES SOLVENTES COM POTENCIAL PARA A OBTENÇÃO DE NANOSSISTEMAS APLICADOS EM TERAPIA FOTODINÂMICA

**Tábata Caroline Gonçalves Mendes, Andrea Santos Liu, Carolina Ramos Hurtado Guimarães.**

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo - Campus São José dos Campos, Rod. Pres. Dutra, km 145 - s/n - Jardim Diamante - 12223-201 - São José dos Campos - SP, Brasil, tabata.caroline@aluno.ifsp.edu.br, aliu@ifsp.edu.br, carolina.hurtado@ifsp.edu.br,

**Resumo**

No extrato de *Hypericum perforatum* – ou popularmente conhecida como Erva de São João – é possível encontrar uma série de metabólitos biologicamente ativos que podem ser isolados, na qual estão incluídas as antraquinonas, como a hipericina faz parte. Ela possui um desempenho significativo na terapia fotodinâmica (TFD), por ser um fotossensibilizador natural (FS) que proporciona morte celular tumoral e bacteriana, ativado por irradiação luminosa na presença de oxigênio, gerando espécies reativas (ROS) que atravessam membranas celulares, causando danos oxidativos às células alvo. No entanto, os fotossensibilizadores podem apresentar seu efeito fotocatalítico diminuído na presença de meio biológico, o que pode ser contornado por meio do uso de nanopartículas que permitem a desagregação do FS, aumentando o tempo de circulação do FS além de proteção contra reações de desativação. Para a extração desta antraquinona é necessário a utilização de solventes. O pico de máxima absorção da hipericina ocorre entre 590 nm a 600 nm e apenas a acetona e etanol possuíram um pico significativo nesta faixa. Dessa forma, foi possível relacionar os dados obtidos com a possível influência da polaridade dos solventes.

**Palavras-chave**: Erva de São João, Hipericina, Terapia fotodinâmica, Extração.

**Área do Conhecimento:** Ciências Exatas e da Terra - Química.

## Introdução

O Instituto Nacional de Câncer (INCA) evidenciou que na última década houve o aumento de 20% dos casos de câncer no Brasil e estimou que até 2030 haverá a incidência de 25 milhões de novos casos mundialmente (Santos et al.,2023). Há um aumento sucessivo do uso de plantas medicinais na área da saúde para o tratamento de muitas doenças, como o câncer. Tanto para os profissionais da área da saúde, quanto para a população geral há necessidade de mais informações estes tratamentos alternativos (Zardeto-Sabec *et. al*,2019).

Os produtos naturais com propriedades terapêuticas são utilizados desde a antiguidade, mas ao longo do tempo começaram a ser usados produtos de origem mineral, animal e vegetal (Alves *et. al*, 2014). Porém, nos últimos anos têm-se optado novamente pelo uso de terapêuticos naturais, principalmente aqueles derivados de plantas, como *Hypericum perforatum* (Alves *et. al*, 2014). A Erva de São João (*Hypericum perforatum*) está sendo utilizada para a terapia fotodinâmica, que consiste em uma modalidade alternativa de tratamento que realiza a combinação de uma fotossensibilizador, luz e oxigênio (Ma, 2016) para o tratamento de doenças, como o câncer (ALAHMAD *et. al*,2022).

No extrato de *Hypericum perforatum* é possível encontrar uma série de metabólitos biologicamente ativos que podem ser isolados, tais como, antraquinonas (hipericina e pseudohipericina), flavonoides (quercetina e hiperosídeo), compostos fenólicos (ácido clorogênico), isoflavonas, óleos voláteis e xantonas (Alves *et. al*,2014). Esses podem ser extraídos utilizando diferentes solventes.

Em particular, a hipericina é um fotossensibilizador (FS) em potencial (Alves et. al,2014), com aplicação farmacológica, utilizada como antidepressivo; agente antimicrobiano; anti-inflamatório; cicatrizante e anticancerígeno (Souza, 2021).

A Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (TFD) é utilizada com eficácia como tratamento alternativo de infecções bacterianas, recebendo destaque por não fazer uso de antibióticos, limitando o desenvolvimento de resistência microbiana a esses medicamentos (Hamblin et al., 2016; Wainwright et al., 2017). O mecanismo pelo qual a PDT atua no tratamento de doenças que causam problemas de saúde pública, baseia-se na foto-oxidação de compostos biológicos no tecido alvo que é promovida pela administração de um fotossensibilizador (FS), que pode ser de origem natural ou sintética, capaz de gerar espécies reativas de oxigênio (ROS) após irradiado por fonte de luz de determinado comprimento de onda. O benefício de um FS como molécula fotoativa para PDT depende de sua interação com a parede celular bacteriana; captação celular e também do rendimento quântico de geração de ROS após irradiação, tendo em vista que essas são as espécies tóxicas responsáveis por levar à morte microrganismos e células tumorais. Contudo, embora vários FS mostrem alta atividade antimicrobiana e/ou antitumoral in vitro, a desativação do FS no meio biológico e sua agregação são constatados como fatores críticos que comprometem sua fotoatividade in vivo (Konan et al., 2002; Tada et al., 2015).

Diante dessa problemática necessitando de terapias alternativas e também visando superar as dificuldades de agregação e desativação do FS aplicados em PDT, a nanotecnologia surge como uma ferramenta valiosa (Tada et al., 2015). O avanço da nanotecnologia nas últimas décadas permitiu a geração de novas ferramentas úteis para a área da saúde. Na medicina, houve o desenvolvimento de novos medicamentos baseados em nanopartículas (NPs), sendo que a associação de FS às NPs, resulta em NPs fotossensibilizadoras como uma estratégia de sucesso, melhorando a solubilidade do FS, aumentando o tempo de circulação do FS além de proteção contra reações de desativação (Hurtado et al., 2021; Hurtado, 2021).

Assim, o presente trabalho tem como objetivo realizar a extração, purificação e caracterização de hipericina da Erva de São João, para que posteriormente seja possível utilizar das melhores características dos NDs aliadas às melhores características do FS hipericina, para atuar em TFD antimicrobiana com eficácia.

**Metodologia**

Trata-se de um procedimento experimental com análise espectrofotométrica que possui a finalidade de analisar qual solvente apresenta maior pico de absorbância na região da hipericina (Ma,2016). Os solventes estão disponíveis no almoxarifado do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo - Campus São José dos Campos (IFSP-SJC). Para a realização de tal extração foi utilizado uma adaptação da metodologia de Alahmad *et al.* A adaptação realizada foi em relação a quantidade dos reagentes utilizados e o local que os experimentos foram realizados. Alahmad *et al.* fizeram a extração na Síria (desde a coleta até a obtenção dos resultados) e com volumes de solventes foram aproximadamente 27 vezes maiores que os utilizados para a presente procedimento experimental.

A coleta da Erva de São João e a maceração das folhas (pó hipérico) foram realizadas na cidade de São José dos Campos - SP. Os solventes utilizados para a extração da hipericina foram água destilada, etanol 99,8%, acetona e hexano. Para a preparação do material de análise foram utilizados quatro frascos (volume de 50 mL) de vidro âmbar, por conta da hipericina ser fotossensibilizante (Alves *et. al*,2014).

Para a preparação das amostras, foi utilizada uma massa de 0,1 g de pó hipérico em um frasco âmbar de 50 mL, visando a minimização da perda de reagente. Posteriormente, foi adicionado 7,5 mL de cada solvente em frascos âmbar de 50 mL e as misturas foram submetidas à agitação magnética

em frasco fechado. O sistema permaneceu sob agitação ininterrupta por sete dias em um agitador magnético a 1000/min.

Posteriormente, cada sistema foi submetido à centrifugação a 4000 rpm durante 5 minutos. Na sequência, foi retirado o sobrenadante e armazenado a 4ºC. Para a análise dos espectros UV-vis de cada extrato, foi realizada uma diluição de 100 $\mu$L do extrato em 1400 $\mu$L de cada um dos solventes. Os espectros foram coletados no intervalo de 200 nm a 800 nm.

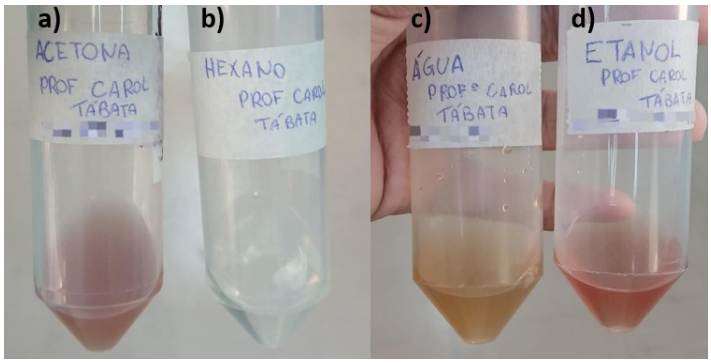
Enfim, para o tratamento dos resultados, os espectros foram gerados utilizando o programa Origin observando o pico de máxima absorção na região entre 590 e 600 nm (Ma,2016).

Por fim, foi realizada a cromatografia em camada delgada utilizando uma placa cromatográfica (Merck-60G-F-254) recoberta de sílica e as amostras foram aplicadas com ajuda de um capilar. A eluição da placa foi realizada com solução metanol:ácido acético glacial, na proporção 50:6 (v:v).

## Resultados

Os extratos obtidos estão apresentados na Figura 1. Foi possível perceber a formação da coloração avermelhada nos solventes etanol e acetona, características de uma grande quantidade de hipericinas. No entanto a utilização de água proporcionou uma solução de coloração amarelada. Em hexano o extrato não teve mudança significativa na tonalidade

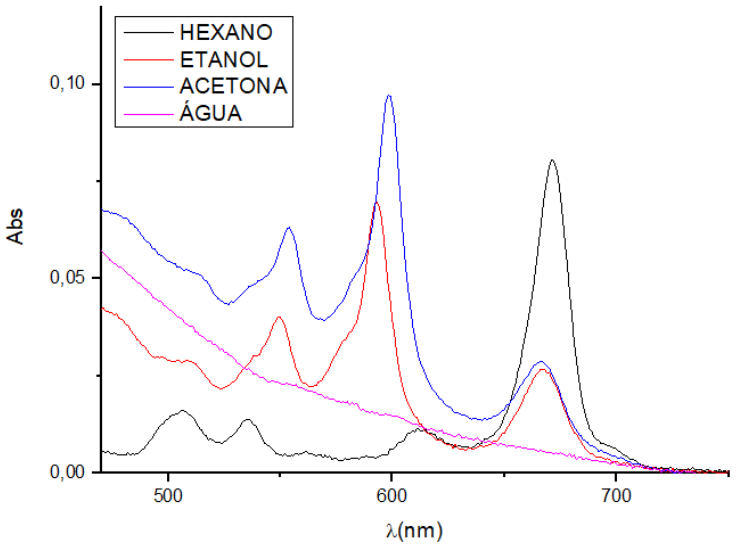
Figura 1 – Extratos de *Hypericum perforatum* obtido a partir de diferentes solventes. a) acetona, b) hexano, c) água e d) etanol.




Fonte: registrado pela própria autora.

Os espectros UV-vis dos extratos diluidos estão representados na Figura 2. É possível observar que nos extratos utilizando como solvente acetona e etanol, os picos de máxima absorção estão localizados em 593nm para o etanol e em 598nm para a acetona, o que mostra a presença da hipericina de acordo com dados descritos na literatura.

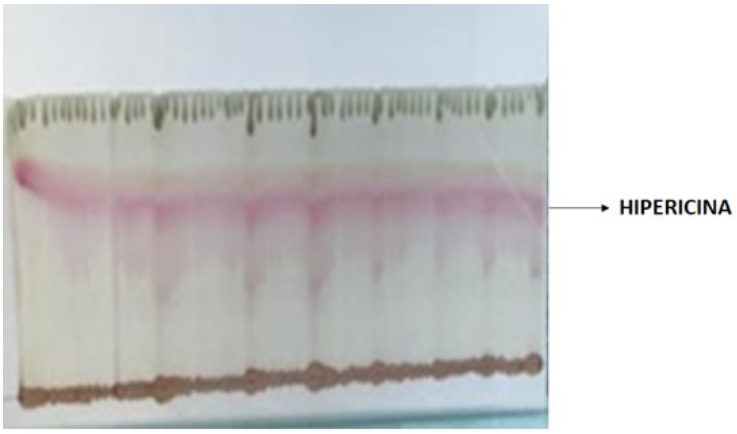
Figura 2 – Espectros UV-vis de *Hypericum perforatum* obtido a partir de diferentes solventes.




Fonte: elaborado pela própria autora.

Diante da observação dos espectros para dos extratos ficou evidente a presença de outras substâncias, assim optou-se pela realização da cromatografia em camada delgada para a separação da fase da hipericina pura para conjugação em outra etapa do projeto, às nanopartículas de diamante, para garantir uma melhor eficácia do FS na aplicação em terapia fotodinâmica. Assim por meio de cromatografia em camada delgada, foi possível separar os pigmentos correspondentes às diferentes substâncias presentes no extrato etanólico (Figura 3).

Figura 3. Cromatografia em camada delgada do extrato etanólico de *Hypericum perforatum.*




Fonte: A autora

De acordo com os resultados obtidos, foi organizada uma tabela (Tabela 1).

Tabela 1 - Dados obtidos.

| Solvente | Pó Hipérico (massa pesada em gramas) | Polaridade dos solventes | Comprimento de onda (em nm) | Pico de absorbância |
|---|---|---|---|---|
| Água destilada | 0,1005 g | Polar | - | - |
| Etanol 99,8% | 0,1015 g | Polar | 593 nm | 1,5675 |
| Acetona | 0,1031 g | Polar | 598 nm | 1,9995 |
| Hexano | 0,1001 g | Apolar | - | - |

Fonte: elaborado pela própria autora.

**Discussão**.

De acordo com a Tabela 1, os picos de absorbância e os comprimentos de onda em que ocorreu a absorção, foi possível verificar que utilizando solventes de polaridade intermediáriaapresentaram os picos de absorção nos comprimentos 598 nm e 593 nm, respectivamente. A hipericina tem o pico principal de absorção entre 590 e 600 nm (Ma,2016), dessa forma esses dados podem indicar maior quantidade de hipericina nos extratos.

É válido ressaltar que segundo Souza (2006), há hipericinas que são compostas por isohipericina, protohipericina e pseudohipericina, assim a fase obtida por cromatografia em camada delgada se refere à hipericinas totais.

Como visto anteriormente, a polaridade do solvente pode ter interferido na extração da hipericina.

**Conclusão**

De acordo com os resultados apresentados, é possível concluir, que durante este período, foi estabelecido um protocolo para a extração, purificação e caracterização do fotossensibilizador natural hipericina a partir da planta Erva de São João, utilizando solventes de diferentes polaridades, sendo que a hipericina foi preferencialmente extraída em solventes com polaridade intermediária. Além disso, a metodologia proposta para obtenção dos resultados foi essencial, o que permite a continuação do trabalho por meio de separação da fase hipericina para que seja conjugada a nanopartículas de diamante (nanodiamantes) para que posteriormente seja avaliado o efeito antimicrobiano em terapia fotodinâmica.

**Referências**

ALAHMAD, A. *et al.* Identification of major constituents of *Hypericum perforatum* L. extracts in Syria by development of a rapid, simple, and reproducible HPLC-ESI-Q-TOF MS analysis and their antioxidant activities. **ACS Omega**, v. 7, n. 16, p. 13475-13493, 2022. DOI: 10.1021/acsomega.1c06335. Disponível em: https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsomega.1c06335. Acesso em: 26 ago. 2026.

ALVES, A. C. S.; MORAES, D. C.; DE FREITAS, G. B. L.; ALMEIDA, D. J. Aspectos botânicos, químicos, farmacológicos e terapêuticos do *Hypericum perforatum* L. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Campinas, v. 16, n. 3, p. 593-606, 2014.

CRUZ, A. Hexano. **RevSALUS – Revista Científica Internacional da Rede Académica das Ciências da Saúde da Lusofonia**, v. 4, n. supl., p. 117-118, 2022. DOI:

10.51126/revsalus.v4iSup.346.Disponível em: https://doi.org/10.51126/revsalus.v4iSup.346. Acesso em: 27 ago. 2026.

HAMBLIN, M.R. Antimicrobial photodynamic inactivation: A bright new technique to kill resistant microbes. Curr. Opin. Micro-biol., 2016, 33, 67–73.

HURTADO, C.R. *et al.* **Diamond Nanoparticles-Porphyrin mTHPP Conjugate as Photosensitizing Platform: Cytotoxicity and Antibacterial Activity. Nanomaterials.** 2021, (6):1393.

HURTADO, C. R. ***Obtenção e funcionalização de nanodiamantes para aplicação biológica***. 2021. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Materiais) – Universidade Federal de São Paulo, Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2021.

KONAN Y.N., GURNY R., ALLÉMAN E. **STATE of the art in the delivery of photosensitizers for photodynamic therapy.** J. Photochem. Photobiol. B. 2002, 66, 89–106

MA, H. L. **Estudo comparativo da eficiência fotodinâmica da Hipericina e da Curcumina em células tumorais**. 2016. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Área de Concentração: Bioengenharia) – Escola de Engenharia de São Carlos; Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto; Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.

SANTOS, M. C. C. *et al*. Estimativa de incidência de câncer no Brasil, 2023-2025. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro, v. 69, n. 1, e-213700, 2023. Disponível em: https://rbc.inca.gov.br/index.php/revista/article/view/3700. Acesso em: 23 ago. 2026.

SOUZA, A. G. de *et al*. Calagem e adubação fosfatada promovem crescimento inicial e produção de hipericina em erva-de-São-João. **Horticultura Brasileira,** Brasília, v. 24, n. 4, p. 421-425, out./dez. 2006.

SOUZA, M. V. F. de. **Atividade antitumoral in vitro da hipericina encapsulada com o plurônico F127 em células tumorais de mama**. 2021. 71 f. Dissertação (Mestrado em Biociências e Fisiopatologia) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2021.

TADA, D.B.; BAPTISTA, M.S.; ROSSI, L.M. **Photosensitizing nanoparticles and the modulation of ROS generation.** Front Chem. 2015, 27, 3-33.

ZARDETO-SABEC, G. *et al*. Plantas medicinais como alternativa no tratamento do câncer. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 27, n. 3, p. 75-80, 2019. Disponível em:

WAINWRIGH, M. *et al.* **Photo antimicrobials-are we afraid of the light. Lancet Infect**. Dis. 2017, 17, e49–e55.

**Agradecimentos**

O presente trabalho foi realizado com apoio do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo - Campus São José dos Campos.