

## Avaliação da atividade antioxidante do extrato de *Hibiscus Sabdariffa* *in vitro* para a formulação de sérum antiaging

### Evaluation of the antioxidant activity of *Hibiscus Sabdariffa* extract *in vitro* for the formulation of antiaging sérum

Recebido: 24/09/2022 | Revisado: 25/10/2022 | Aceitado: 26/10/2022 | Publicado: 29/10/2022

#### Camila Maria Dassie de Gois

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1770-2784>

Universidade Ingá, Brasil

E-mail: [camiladassie21@gmail.com](mailto:camiladassie21@gmail.com)

#### Clara Beatriz De Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0566-0799>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: [limacb21@gmail.com](mailto:limacb21@gmail.com)

#### Daniela Araujo Medeiros

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8602-035X>

Universidade Ingá, Brasil

E-mail: [prof.danielaaraujo@uninga.edu.br](mailto:prof.danielaaraujo@uninga.edu.br)

#### Jacqueline Godinho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8362-1106>

Universidade Ingá, Brasil

E-mail: [prof.jacquelinegodinho@uninga.edu.br](mailto:prof.jacquelinegodinho@uninga.edu.br)

#### Resumo

Denham Harmann propôs a teoria da ligação de radicais livres com o envelhecimento, relacionando como resultado do acúmulo de danos teciduais causados por reações de radicais livres, seu aumento no organismo é denominado de estresse oxidativo. Os antioxidantes apresentam benefícios no corpo humano, sendo proteção contra os radicais livres, fornecendo elétrons diminuindo a velocidade de iniciação ou propagação do processo oxidativo. Ativos vegetais têm se destacado como fontes de antioxidantes em potencial. Entre as plantas ricas em compostos antioxidantes destaca-se o *Hibiscus sabdariffa*. O estudo teve como objetivo realizar um screening fitoquímico do extrato hidroalcoólico de *Hibiscus sabdariffa* e avaliar sua atividade antioxidante por meio do teste de DPPH. Utilizadas metodologias da Farmacopéia Brasileira 6<sup>o</sup> edição para realização dos testes de matéria estranha, determinação de índice de espuma, perda por dessecação, teste de determinação de cinzas totais, produção do extrato bruto, teste de flavonóides, produção do sérum, realização do teste de dpph no extrato e sérum.. Para a planta obtivemos na análise de matéria estranha valor de 1,90% no índice de espumas de 111,11 e cinzas de 9,97% valores aprovados de acordo com a Farmacopeia Brasileira, na análise de umidade foi observado valores de 12,98% flavonoides valor de 7,98% respectivamente que foram comparados com outros estudos. A análise da atividade antioxidante do extrato de *H. sabdariffa* apresentou IC<sub>50</sub>= 255,9 mcg/mL, exercendo a capacidade de reduzir 50% do radical livre de DPPH e no sérum houve redução desta atividade onde apresentou IC<sub>50</sub>= 369,10%.

**Palavras-chave:** Antioxidante; Extrato; *Hibiscus Sabdariffa*; Envelhecimento; Sérum.

#### Abstract

Denham Harmann proposed the theory of the link between free radicals and aging, relating as a result of the accumulation of tissue damage caused by free radical reactions, its increase in the body is called oxidative stress. Antioxidants have benefits in the human body, being protection against free radicals, providing electrons reducing the speed of initiation or propagation of the oxidative process. Plant actives have been highlighted as potential sources of antioxidants. Among the plants rich in antioxidant compounds, *Hibiscus sabdariffa* stands out. The objective of this study was to carry out a phytochemical screening of the hydroalcoholic extract of *Hibiscus sabdariffa* and to evaluate its antioxidant activity using the DPPH test. Methodologies of the Brazilian Pharmacopoeia 6th edition were used to carry out the tests of foreign matter, determination of foam index, loss by desiccation, test for determination of total ash, production of crude extract, test of flavonoids, production of the serum, performance of the test of dpph in the extract and serum. For the plant we obtained in the analysis of foreign matter a value of 1.90% in the foam index of 111.11 and ash of 9.97% approved values according to the Brazilian Pharmacopoeia, in the moisture analysis values of 12.98% flavonoids and 7.98% respectively were observed, which were compared with other studies. The analysis of the

antioxidant activity of the extract of *H. sabdariffa* showed IC<sub>50</sub>= 255.9 mcg/mL, exerting the ability to reduce 50% of the DPPH free radical and in the sérum there was a reduction of this activity where it presented IC<sub>50</sub>= 369.10%.

**Keywords:** Antioxidants; Extract; Hibiscus Sabdariffa; Aging; Sérum.

---

## 1. Introdução

O envelhecimento é um processo de degradação progressiva e diferencial que ocorre em todos os órgãos incluindo a pele. À medida que o indivíduo envelhece, a pele perde uma de suas propriedades importantes: a elasticidade e se torna mais seca. (NARDINO, 2010). Entre as reações que cooperam para este dano, as reações de radicais livres e outras espécies reativas de oxigênio são vistas como a principal razão (SIMAS *et al.*, 2019).

Denham Harmann em 1956 propôs pela primeira vez a teoria da ligação de radicais livres com o envelhecimento, expondo o fenômeno do envelhecimento como resultado do acúmulo de danos teciduais causados por reações de radicais livres. (TESTON; NARDINO; PIVATO, 2010).

Radicais livres, são átomos ou moléculas altamente reativas, que contêm número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica. (COTINGUIBA *et al.*, 2013). Como exemplo de radicais livres pode-se mencionar: radical superóxido, radical hidroperoxila, radical hidroxila, etc. Os radicais livres podem ser formados em processos rotineiros como respiração e na digestão dos alimentos. (MAGALHÃES, 2007).

Durante o envelhecimento cronológico cutâneo, ocorre a modificação do material genético e a proliferação celular decresce resultando na perda de elasticidade, da capacidade de regular o metabolismo e a replicação do tecido se torna menos eficiente. Oxidações químicas e enzimáticas envolvendo a formação de radicais livres aceleram esse fenômeno. (HIRATA *et al.*, 2004). O aumento de radicais livres no organismo é designado stress oxidativo. (MAGALHÃES, 2007) que é especificado por um desequilíbrio entre a geração de compostos oxidantes e a atuação dos sistemas de defesa antioxidante (BARBOSA *et al.*, 2010).

Neste contexto, os antioxidantes têm uma função muito benéfica no corpo humano de proteção contra os radicais livres, sua principal função é fornecer elétrons para reduzir a velocidade de iniciação e/ou propagação do processo oxidativo, minimizando assim os danos às estruturas moleculares e celulares (FERREIRA, 2021). Eles dificultam a produção dessas substâncias nocivas, principalmente impossibilitando as reações em cadeia com ferro, cobre e zinco. Também interceptam os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou exogenamente, prevenindo ataques aos lípidos, aminoácidos nas proteínas, ácidos graxos poliinsaturados e ligações duplas nas bases do DNA, reparando danos e prevenindo a formação de mais danos. Antioxidantes dietéticos como vitaminas C, E e A, flavonóides e carotenóides são extremamente importantes para combater radicais livres (TESTON; NARDINO; PIVATO, 2010).

Comumente, menciona-se sobre as flores e os seus efeitos medicinais, um exemplo é o *Hibiscus sabdariffa* pertence à classe das Dicotyledonae, família das malváceas e gênero Hibiscus. Nativo do continente africano, encontra-se vastamente distribuído nas regiões tropicais e subtropicais do globo terrestre, sendo conhecido popularmente como hibisco, hibiscus, rosela, groselha, azedinha, quiabo azedo, caruru-azedo, caruru-da-guiné e quiabo-de-angola (VIZOTTO, CASTILHO *et al.*, 2009). Este possui propriedades antiinflamatória e anticarcinogênico (JOVEN *et al.*, 2014), hepatoprotetora e antibacteriana (GUARDIOLA; MACH, 2014), hipocolesterolêmica e anti-hipertensiva (FARAJI; TARKHANI, 2009), cardioprotetora (AYERD *et al.*, 2007), imuno-modulação, e antileucêmica (CHANG *et al.*, 2005), melhora a resistência tecidual à insulina (HAINIDA *et al.*, 2008). Mais recentemente, há indicativos de que o *Hibiscus sabdariffa* age como antimutagênico, antitumoral e como um potente antioxidante (FORMAGIO *et al.*, 2015). Em relação ao seu efeito antioxidante as principais substâncias presentes no *Hibiscus sabdariffa* são: as vitaminas E, C, ácidos polifenólicos, flavonóides, ácido araquídico, ácido cítrico, ácido esteárico, ácido málico, além de pectinas, fitoesteróis e antocianina (RODRIGUES *et al.*, 2011; ROCHA *et al.*, 2014)

Neste contexto, o presente estudo teve por objetivo realizar um screening fitoquímico do extrato hidroalcoólico de *Hibiscus sabdariffa* e avaliar sua atividade antioxidante por meio do teste de dpph.

## 2. Metodologia

### Obtenção da droga vegetal e preparo da droga vegetal para os testes

As flores de *Hibiscus sabdariffa*, foram obtidas em um celeiro já secas, localizado na cidade de Maringá-PR.

Em seguida, as flores foram acondicionadas em estufa de ar circulante a 36° C por apresentar umidade por 72h. Por fim, as flores foram pulverizadas em moinho de facas.

### Testes físico-químico da droga

#### Determinação de matéria estranha

Colocou-se toda a amostra totalmente seca com peso aproximado de 800g em uma superfície plana e separada em quatro partes para melhor visualização, uma parte escolhida das 4 com peso de 283 g foi separada para a determinação de matéria estranha. A matéria estranha, ou seja, qualquer material que não conste na descrição farmacopeica da espécie vegetal, foi manualmente removida a olho nu. O restante foi pesado novamente e descontado a diferença para determinação da porcentagem de matéria estranha. (ANVISA, 2019).

#### Determinação do índice de espumas

Em triplicata, iniciou-se com pesagem de aproximadamente 1g da amostra pulverizada, posteriormente a mesma foi transferida para Erlenmeyer contendo 50 mL de água em fervura. A amostra foi mantida em fervura por 30 minutos. Em seguida foi resfriada, filtrada e completada com água o volume em balão volumétrico de 100 mL. Após, a amostra foi dividida em 10 tubos de ensaio com tampa, em séries sucessivas de 1 a 10 mL. Por fim, cada tubo foi completado com água até alcançar a medida de 10 mL, sendo tampados e agitados, em movimentos verticais por 15s. O resultado foi expresso de acordo com a altura que se encontrava a espuma (ANVISA, 2019).

#### Perda por dessecação

Para determinar a perda por dessecação utilizou-se o método de dessecação por balança com infravermelho. Pesou-se 1g da amostra, a qual foi distribuída uniformemente no coletor do aparelho. Logo depois, a amostra foi sujeita à temperatura de 105 °C pelo período de 45 minutos. Essa ação foi realizada em triplicata e, por meio da média, o resultado foi expresso em perda de substâncias voláteis e/ou água residual (ANVISA, 2019).

#### Determinação das cinzas totais

Foram utilizados cerca de 3 g da droga vegetal pulverizada, e transferidos para cadinhos antecedentemente tarados. Em seguida foram incinerados em mufla, utilizando gradiente de temperatura (30 min a 200 °C, 60 min a 400 °C, e 90 min 817 a 600 °C), até toda parte orgânica ser anulada. Aguardou-se o resfriamento em dessecador e realizou-se a pesagem. A análise foi realizada em quintuplicada e a porcentagem de cinzas totais foi calculada em relação à droga seca (ANVISA, 2019).

#### Preparação do extrato bruto (EB)

Inicialmente realizou-se a desengorduração das plantas onde, pesou-se 600g de planta seca e adicionou-se 3 L de hexano, com posterior agitação por 16 horas. Após o período, filtrou-se a solução, para recuperação das flores e a secagem do residual de hexano, para posterior extração (PAULA; KELM; MELLO, 2021).

Para a obtenção do extrato 200g das flores secas foram cominuídas, utilizando etanol 50%, por turbólise, durante 20 minutos com intervalos a cada 5 minutos, na proporção de 10% (p/v) de droga vegetal e líquido extrator. Após, o extrato foi concentrado em evaporador rotatório, sob pressão reduzida e temperatura de 40°C, até a extração completa do solvente orgânico, foi congelado, em nitrogênio líquido em balão de fundo redondo e liofilizado por 24 horas. O extrato bruto foi acondicionado e armazenado em freezer a -20°C.

### Flavonoides totais

O teor de flavonóides foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Woisky e Salatino (1998). Este teste foi realizado em triplicata, pesando cerca de 0,00500 g de extrato de hibisco sabdariffa em eppendorfs e uma vez a mesma quantia de quercetina. Nos eppendorfs que continham o extrato foram adicionados 20 microlitros de DMSO e cerca de 1 ml de metanol. Em tubos de ensaio, foram adicionados 2,0 mL de solução em metanol do extrato/partições (500 µg.mL<sup>-1</sup>), 1,0 mL de solução em metanol de AlCl<sub>3</sub> 5% (m.vl) e 2,0 mL de metanol e, em seguida, a mistura foi deixada em repouso por 30 min à temperatura ambiente e sem contato com a luz e a absorbância foi registrada a 425 nm. Para a obtenção do branco, o mesmo procedimento foi realizado sendo substituindo o extrato por 4 mL de metanol. O conteúdo de flavonoides foi obtido utilizando uma curva analítica construída com padrões de quercetina.

### Manipulação do sêrum:

Para a preparação do sêrum foram utilizados os seguintes componentes descritos no Quadro 1, a seguir.

Quadro 1. Matérias primas utilizadas no sêrum:

Água	2g
Xantana	0,2g
Glicerina	4g
Nipagin	0,06g
Extrato de <i>Hibisco Sabdariffa</i>	0,15g
Água	Quantidade suficiente para (q.s.p.) (20 mL)

Fonte: Disponível em Formulário médico Farmacêutico.

Em um béquer foram pesados o goma guar e a glicerina. Foi homogeneizado até formar uma pasta, posteriormente verteu-se água sobre a mesma até formar uma consistência de gel leve. Na sequência foi adicionado o extrato e 2g de água sobre a primeira fase e observado a solubilização do extrato. Por fim foi adicionado o Nipagin dissolvido em água.

Nesta formulação foram preparadas 3 amostras de sêrum onde o primeiro continha extrato e seria ajustado o pH, segundo com extrato sem ajustar o pH e o último onde seria o branco sem a presença do extrato.

### Avaliação do potencial antioxidante do EB e do sêrum de *Hibiscus sabdariffa* por DPPH

Iniciou-se a realização da avaliação da atividade antioxidante do extrato por meio da metodologia de DPPH adaptada de Rufino et al. (2007) e Sousa et al. (2007). A metodologia de DPPH foi realizada em triplicata onde, foram pesados aproximadamente 1 mg do extrato, diluídos com 1 mL de metanol (1 mg/mL) (Solução mãe, SM). Em eppendorfs foram realizadas diluições seriadas a partir da SM e homogêneas no vortex com as seguintes concentrações ( $\mu\text{g/mL}$ ): 400; 200; 100; 50; 25; 12,5; e 6,25.

Para preparação do DPPH foram pesados aproximadamente 1,7 mg + 1700  $\mu\text{L}$  de metanol. Nos poços das microplacas foram aplicadas 100  $\mu\text{L}$  de cada diluição seriada dos poços em triplicata. Em seguida, foi aplicado 100  $\mu\text{L}$  da solução de DPPH nos mesmos poços. E foram realizados os seguintes controles: Controle negativos: Só metanol e DPPH; branco apenas metanol e controle positivo foi utilizado quercetina com metanol e DPPH.

A placa pronta foi incubada em temperatura ambiente no escuro por 30 minutos. Foi realizada a leitura em 517 nm com ajuda do leitor de Elisa.

### **Avaliação do potencial antioxidante do sêrum por DPPH**

Iniciou-se a realização da avaliação da atividade antioxidante do extrato por meio da metodologia de DPPH adaptada de Rufino et al. (2007) e Sousa et al. (2007). A metodologia de DPPH foi realizada em triplicata, foram medidos em pipeta volumétrica 200  $\mu\text{L}$  do sêrum, diluídos com 800  $\mu\text{L}$  de metanol (1 mg/mL) (Solução mãe, SM). Em eppendorfs foram realizadas diluições seriadas a partir da SM e homogêneas no vortex com as seguintes concentrações ( $\mu\text{g/mL}$ ): 400; 200; 100; 50; 25; 12,5; e 6,25.

Para preparação do DPPH foram pesados aproximadamente 1,7 mg + 1700  $\mu\text{L}$  de metanol. Nos poços das microplacas foram aplicadas 100  $\mu\text{L}$  de cada diluição seriada dos poços em triplicata. Em seguida, foi aplicado 100  $\mu\text{L}$  da solução de DPPH nos mesmos poços. E foram realizados os seguintes controles: Controle negativos: Só metanol e DPPH; branco apenas metanol.

A placa pronta foi incubada em temperatura ambiente no escuro por 30 minutos. Foi realizada a leitura em 517 nm com ajuda do leitor de Elisa.

### **Avaliação do pH do sêrum**

Foram preparados três frascos de sêrum sendo, A: sem ajuste de pH e com extrato, amostra B: com ajuste de pH com extrato e amostra C: branco, onde foram verificados o pH no pHmetro. A amostra B que foi ajustada teve seu pH ajustado para o pH aproximado da pele com Hidróxido de sódio.

## **3. Resultados e Discussão**

### **Matéria estranha**

Essas etapas servem para fornecer informações mais exatas quanto à presença de materiais externos à planta (ANVISA, 2019). Matéria estranha é qualquer material não constituinte do produto associado a condições

ou práticas inadequadas na produção, manipulação, armazenamento ou distribuição. Esse tipo de contaminação é proveniente de sujidades como areia, pedra, lasca de madeira, partículas metálicas, plástico, órgãos da própria planta diferente da parte usada, penas e pêlos de animais, partículas carbonizadas do alimento advindas do processamento ou não removidas pelo mesmo, dentre outros elementos especificados na Resolução da Diretoria Colegiada-RDC nº 14/2014 (Brasil, 2014).

Na análise de matéria estranha foram retirados da amostra inicial uma quantidade equivalente a 5,40 g (1,90%) do mesmo. O valor obtido está dentro do limite preconizado pela Farmacopeia Brasileiro que é de no máximo 2% (p/p). A matéria estranha pode ser classificada, de acordo com a Farmacopéia Brasileira em três classes distintas : a) partes do organismo ou organismos dos quais a droga deriva, excetuados aqueles incluídos na definição e descrição da droga, acima do limite de

tolerância especificado na monografia; b) quaisquer organismos, porções ou produtos de organismos não especificados na definição e descrição da droga, em sua respectiva monografia; e c) impurezas de natureza mineral ou outras sujidades, não inerentes à droga (ANVISA, 2019). No trabalho de Sobota (2016) não foi observado nenhum tipo matéria estranha, o que pode ser explicado pela forma que as flores foram adquiridas, em seu trabalho a amostra foi comprada em local diferente do presente trabalho.

### **Determinação do índice de espuma**

Este teste tem como foco analisar a presença de saponinas nas flores de *Hibiscus Sabdariffa*. Saponinas são glicosídeos de esteróides ou de terpenos policíclicos. É uma estrutura com caráter anfifílico, parte da estrutura com característica lipofílica (triterpeno ou esteróide) e outra hidrofílica (açúcares). Essa característica determina a propriedade de redução da tensão superficial da água e suas ações detergentes e emulsificantes (SCHENKEL et al., 2001). A análise de índice de espuma do tubo 9 permaneceu com espuma de 1 cm. De acordo com a Farmacopeia Brasileira se em qualquer um dos tubos, a altura da espuma medida for 1 cm, a diluição do material vegetal nesse tubo e o índice observado a olho e medido com uma régua a espuma persistente após agitação (ANVISA, 2019) sendo obtido valor de IE:111,11. No trabalho de Duarte (2019) foi observado a presença de saponinas em quantidade moderada (+) utilizando a mesma metodologia. As condições climáticas como radiação solar, raios ultravioletas, períodos de seca ou chuva a estação do ano e também o modo de cultivo, tipo de solo e nutrientes, que influenciam diretamente na produção destes compostos pelos tecidos vegetais (TAIZ; ZEIGER, 2013).

### **Teor de cinzas totais**

A determinação de cinzas totais é resultado da incineração do material vegetal que pode ser de origem fisiológica (carbonatos, fosfatos, cloretos, óxidos) ou não fisiológica (areia, pedra, gesso, terra). A droga calcinada à altas temperaturas tem toda a sua matéria orgânica convertida em CO<sub>2</sub>, restando apenas compostos minerais na forma de cinzas. A realização desse processo é importante para ilustrar a qualidade e pureza da droga em bruto, porém, por si só não é suficiente (SILVA et al 2020). O teor de cinzas totais foi de 9,97% estando dentro do limite estabelecido pela Farmacopéia Brasileira que coloca valor de 10,0% (ANVISA, 2019), em comparação ao trabalho do autor Sobota e outros (2016) apresentou valores semelhantes de a 9,27% ± 0,74.

### **Perda por dessecação**

O ensaio de perda por dessecação é realizado para determinar a quantidade de compostos voláteis presentes em uma amostra, disponível na CSA educacional, em 2020.

A determinação do teor de água residual presente nas drogas vegetais constitui um índice da qualidade de sua preparação, isso tem grande importância pois nos tras a garantia de sua conservação (COSTA, 2009). Os valores obtidos de umidade foram de 12,98% no extrato de *Hibisco sabdariffa* que, comparado ao trabalho de Sobota (2016) que apresentou resultado de 12,90% de umidade utilizando a mesma metodologia essa pequena diferença pode ter como resposta o clima que estava no dia da realização do teste a manutenção do aparelho. Sendo assim os dois trabalhos estão adequados para drogas vegetais, de acordo com a Farmacopeia Brasileira, que estipula valores abaixo de 14%.

### **Flavonóides**

A avaliação da presença de flavonóides foi observado o valor de 7,98, e no trabalho de PACHECO-COELHO (2019) foi observado valor de 6,3 com uma metodologia distinta da que foi utilizada neste trabalho, no trabalho em comparação foi realizada seguindo um método colorimétrico. Diversas funções são atribuídas aos flavonóides nas plantas. Entre elas, pode-se

citar a proteção contra a incidência de raios ultravioleta, proteção contra microrganismos patogênicos, ação antioxidante, ação alopática e inibição enzimática (NIJVELDT, 2001). Estudos recentes, evidenciaram que os flavonoides, apresentam antioxidantes de alta e baixa reatividade, devido a habilidade da molécula em sequestrar radicais livres e quelar de íons, promovendo ação antioxidante, pois impedem a formação de radicais livres, com o processo de oxidação (SILVA PONTES, 2016). Podemos citar as Antocianinas, é um subgrupo de flavonóides muito importante que são os principais constituintes de *H. sabdariffa* (STRACK & WRAY, 1986; MAZZA & MINIATI, 1993; TSAI, 2002). Sendo isso de suma importância para este trabalho ter este composto presente na planta em análise.

### Produção do extrato

A produção do extrato a partir da droga vegetal foi realizada pelo método de turbo extração. Este método tem caráter inovador na área de biotecnologia, apresentando como sua principal vantagem: a rápida extração de metabólitos secundários (ORTH et al., 1999). O extrato apresentou uma característica de cristais finos, mas apresentou característica higroscópica onde absorve umidade do ar facilmente assim, indica-se que para correto armazenamento o mesmo esteja bem vedado e refrigerado.

Adicionalmente, o mesmo apresentou rendimento de 52,53%, o que caracteriza-se como bom rendimento o qual parece estar relacionado ao método de extração. Como exemplo, Silva (2020) utilizou o método extrativo ultrassom assistido o qual apresentou rendimento de 41,4%. Vale ressaltar que esta diferença pode ser justificada devido o ultrassom ter a capacidade de reduzir o tamanho da partícula, tal qual haja perda durante o processo de filtração, o que sugere que esse processo em escala, possa não ser viável (VINATORU; MASON; CALINESCU, 2017), então sendo melhor a utilização a metodologia de turbo extração.

### Avaliação da atividade antioxidante

A avaliação do potencial antioxidante por DPPH a partir do extrato de *H. sabdariffa* e o padrão de quercetina.

O teste de 1,1-difenil-2-picrilidrazil (DPPH) determina o potencial antioxidante de compostos fenólicos isolados ou presentes em alimentos e outras amostras biológicas. O teste do DPPH é baseado na capacidade do radical livre estável, 1,1-difenil-2-picrilidrazil, reagir com compostos doadores de H<sup>+</sup>, o que pode interromper as reações oxidativas em cadeia. O DPPH pode reagir com compostos fenólicos, bem como com ácidos aromáticos contendo apenas um grupamento, mas não reage com flavonóides (SANTOS, 2007). Os resultados obtidos neste teste podem ser observados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Avaliação antioxidante do extrato de *H. sabdariffa*.

AMOSTRA	IC <sub>50</sub> ± DP	CV%
Extrato Bruto de <i>H. Sabdariffa</i>	255,94 ± 3,28	1,28
Quercetina	4,26 ± 0,14	3,33

DP: Desvio padrão; CV: Coeficiente de variação Fonte: Autoras (2022).

A partir do experimento acima, pode-se obter a IC<sub>50</sub> do extrato, sendo que o IC<sub>50</sub> corresponde a capacidade do agente antioxidante de sequestrar 50% dos radicais livres DPPH presentes na solução (PUTAN *et al*, 2018). Assim, o extrato hidroalcoólico de *H. sabdariffa* exibiu um valor de IC<sub>50</sub> de 255,94 mcg/ml, sendo quanto menor o valor da DPPH maior será a atividade antioxidante do extrato. Em relação à atividade antioxidante apresentada pelo extrato hidroalcoólico em questão, verificou-se diferença quando comparado a outros estudos, como descrito no trabalho de Sobota (2016) onde, o extrato decocto etanólico do *Hibiscus sabdariffa* apresentou IC<sub>50</sub> de 162,71 demonstrando assim atividade antioxidante superior à encontrada no

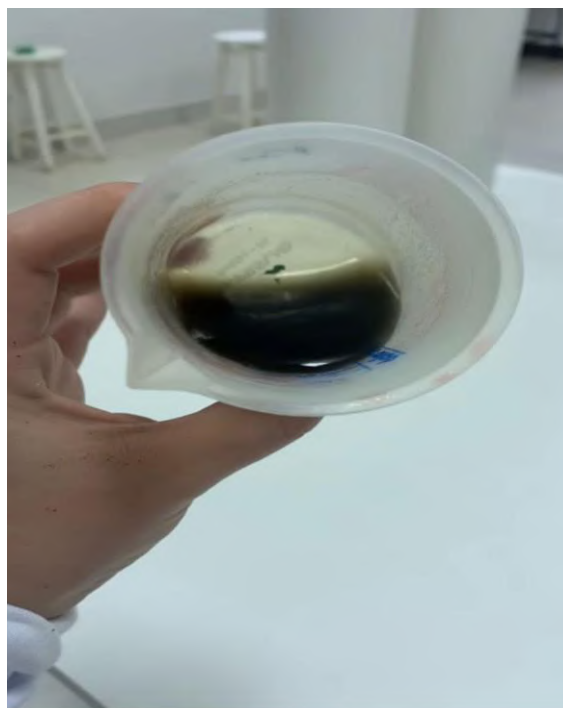
presente estudo. Diversos fatores podem ter influenciado na diferença entre o resultado de Sobota (2016) e este estudo como forma de coleta e acondicionamento da droga vegetal, estação do ano, tipo de solo, solvente utilizado na extração e preparação do extrato que do presente estudo é hidroalcoólico e do autor citado é decocto etanólico ou, ainda, fatores analíticos. Vale ressaltar, que o teste em questão foi realizado com o extrato bruto, onde tem em sua composição inúmeros metabólitos, podendo assim ocorrer interferência no resultado comparada à quercetina que é uma substância isolada por isso sua atividade antioxidante ser mais alta.

Apesar do resultado obtido no teste de dpph, o extrato hidroalcoólico de *H. sabidarriffa* demonstrou uma boa atividade antioxidante, mostrando-se uma alternativa vantajosa para compor a formulação de produtos que visem a redução do estresse oxidativo. Neste intuito realizou-se a formulação de um sérum anti-aging a base de EB de *Hibiscus sabidarriffa*, visto a correlação conhecida entre os radicais livres com a promoção do envelhecimento cutâneo.

### **Análise do pH do sérum**

Após a preparação dos três frascos de sérum sendo amostra A: sem ajuste de pH com extrato amostra B: com ajuste com extrato de pH e amostra C: branco, analisou-se o pH, o sérum que não continha extrato (amostra C) apresentou pH de 4,32 em seguida os dois sérum ( amostra A e B) que continham extrato apresentaram pH em média de 2,58, um dos frascos (amostra B) foi ajustado pH com 9 gotas Hidróxido de sódio apresentando novo valor de 7,56. O pH esperado a ser alcançado seria entre 5 e 7 que está próximo ao pH da pele. Adicionalmente, após ajuste do pH observou-se mudança de coloração da formulação de rosa para um azul esverdeado que pode ser observado nas Figuras 1 e 2.

**Figura 1.** Sérum com pH ajustado (amostra B).



Fonte: Autoras (2022).



**Figura 2.** S rum sem ajuste de pH (amostra A).



Fonte: Autoras (2022).

Nesta imagem podem ser observadas a diferena de colorao devido a mudana de pH realizada no s rum para ser utilizado na pele.

Isto se deve a presena de antocianinas no extrato, os quais são os metabólitos secundários responsáveis pela pigmentao do cálice da rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) (DIOS, 2011). As antocianinas apresentam grande importância na dieta humana podendo ser conhecida como uma importante aliada na preveno/retardamento de doenas cardiovasculares, do câncer e doenas neurodegenerativas, devido ao seu poder antioxidante, agindo contra os radicais livres, apresentando propriedades farmacológicas sendo utilizadas para fins terapêuticos (CASTAÑEDA, 2009). Acredita-se que estas substâncias apresentam sensibilidade ao pH, afetando a cor e a estabilidade química, sendo este o principal fator limitante no processamento e utilizao das antocianinas. Em soluo ácida, a antocianina   vermelha, mas com o aumento do pH a intensidade de cor diminui. Em soluo alcalina, a cor azul é obtida, porém   instável (MAZZA & BROUILLARD, 1987). Após este processo de mudana de colorao foi de suma importância a realizao do teste de DPPH para avaliao da atividade antioxidante, a fim de observar se não houve alguma alterao nos valores obtidos no extrato bruto, os quais indicariam uma reduo da atividade antioxidante. Desta forma, os resultados da análise de DPPH do s rum encontram-se na Tabela 2 abaixo:

**Tabela 2.** Avaliao da atividade antioxidante do Serum de *H. sabdariffa*.

AMOSTRAS	IC <sub>50</sub> ± DP	CV
S�rum sem ajuste (amostra A)	275,69±25,70	9,3
S�rum com ajuste (amostra B)	369,10±19,18	5,1
S�rum Branco (amostra C)	SEM ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	SEM ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

DP: Desvio padrão; CV: Coeficiente de variao. Fonte: Autoras (2022).

Podemos observar que houve perda da atividade antioxidante, isto pode ser explicado pela mudança de coloração causada pela mudança de pH, temperatura, componentes utilizados na preparação do sêrum. A redução observada não inviabiliza essa formulação, contudo poderia ser utilizado nano e micromoléculas para conservar a atividade antioxidante. A nanoencapsulação é uma tecnologia que possibilita aprisionar compostos com atividade biofarmacêutica sob a forma de nanopartículas (FREIXO 2013). A incorporação destas entidades bioativas preserva contra a degradação por agentes ambientais como o pH, a temperatura, sais e solventes orgânicos, atenua a estabilidade e a solubilidade, e permite ainda a solubilização de componentes hidrofóbicos em matrizes hidrofílicas mutuamente (JAFARI *et al*, 2008). A nanoencapsulação de ingredientes ativos em cosméticos apresenta muitas vantagens para esses compostos, como: alta estabilidade físico-química, liberação controlada, direcionamento a alvos específicos e maior penetração na pele. Ao mesmo tempo, a integridade da barreira cutânea pode ser mantida, a eficácia e a tolerância de substâncias na superfície da pele podem ser aumentadas e um produto mais atraente pode ser obtido do ponto de vista estético (Mu e Sprando, 2010). Já a microencapsulação é um desenvolvimento no qual agentes biológicos ativos, tais como enzimas, células ou substâncias, como antibióticos ou vitaminas, são aprisionados dentro de uma matriz semipermeável (FREIXO,2013). As aplicações da microencapsulação incluem a libertação ponderada dos componentes ativos, o revestimento de partículas, a dissimulação do sabor, a estabilização física e química, o acréscimo do tempo de vida útil após armazenamento e a prevenção da exposição do material ativo a agentes ambientais (THIES, 2005).

#### 4. Conclusão

Portanto, a partir da análise de resultados adquiridos pelo método utilizado DPPH (2, 2 Defenil-1- pichilhidrazila) em microplacas, conclui-se que o extrato de *Hibiscus sabdariffa*, apresentou atividade antioxidante, a planta também apresentou um bom rendimento de extrato ao utilizar o método de extração hidroalcoólico e boas características organolépticas, em sua composição na análise química estão presentes flavonóides e saponinas em quantidade satisfatória. Vale ressaltar que, o *H. sabdariffa* não está descrito na Farmacopéia Brasileira, por isso na análise de umidade e flavonóides comparou-se os resultados encontrados com outros estudos os quais avaliaram umidade e presença de flavonóides onde apresentou valores aproximada a estudo de outro autor sobre a espécie. Os testes que utilizaram a metodologia preconizada na farmacopeia Brasileira todos estão aprovados indicando boa qualidade da planta. Na análise do sêrum foi observado que com a preparação do sêrum houve perda da atividade antioxidante sendo necessários melhores estudos para uma melhor avaliação, seria indicativo testar novas formulações de sêrum trocando o ajustador pH ou utilizando novas tecnologias como nano e micromoléculas. Em relação a coloração seria interessante manter a cor original sendo necessários experimentos onde usaria novos métodos queria seria necessário estudos para verificar sua estabilidade. Este estudo é de grande relevância para a indústria farmacêutica na área cosmética, onde futuramente poderá ser realizada uma segunda etapa deste estudo analisando o controle de qualidade do sêrum e seu teste clínico.

#### Agradecimentos

Primeiramente a Deus, pela minha vida, e energia proporcionada e por me ajudar a enfrentar todos os obstáculos percorridos ao longo do curso. Aos meus pais, a minha orientadora Jacqueline Godinho e a coorientadora Daniela Medeiro, pelas correções e ensinamentos. Por fim, a Universidade Estadual de Maringá (UEM), que cedeu espaço para realização dos testes e ao apoio de Clara Beatriz de Lima para que todos os testes fossem realizados com sucesso, e a minha universidade de ensino Uningá meu muito obrigado.

## Referências

- ANVISA. Farmacopeia Brasileira. vol. 1 e 2. 6ªed. Agência Nacional de Vigilância Sanitária: Brasília, 2019. Disponível em: . Acesso em: 22 de setembro 2022.
- AYERD, S.G.; VELÁSQUEZ-LOPES, C.; MONTALVO-GONZALES, E.; & GONLI, I.; Dietary Fiber Content and Associated Antioxidant Compounds in Roselle Flower (*Hibiscus sabdariffa* L.) *Beverage. J. Agric. Food Chem. Madrid. Espanha* v.55, p. 7886–7890, 2007.
- BARBOSA, KBF et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Revista de nutrição*, v. 23, p. 629-643, 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. RDC nº 14, de 28 de março de 2014. Dispõe sobre matérias estranhas macroscópicas e microscópicas em alimentos e bebidas, seus limites de tolerância e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 31 mar. 2014a.
- CASTAÑEDA, LMF. Antocianinas: o que são? onde estão? como atuam. *Porto Alegre*, 2009.
- COSTA, R. S. et al. Caracterização física, química e físico-química do extrato seco por nebulização (spray-drying) de *Cynara scolymus* L.(Asteraceae). *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 90, n. 3, p. 169-174, 2009.
- COTINGUIBA, GM et al. Método de avaliação da defesa antioxidante: uma revisão de literatura. *Journal of Health Sciences*, v. 15, n. 3, 2013.
- DA SILVA PONTES, AL. Atividade antioxidante de flavonoides na prevenção do envelhecimento cutâneo. 2016.
- DIOS-LÓPEZ, A et al. Inducción de antocianinas y compuestos fenólicos en cultivos celulares de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) in vitro. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, v. 17, n. 2, p. 77-87, 2011.
- Farmacognosia: da planta ao medicamento* .3 ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS/Ed. UFSC, 2001. cap.27, p.597-619.
- FAJARI, M.H. & TARKHANI, A. H. H.;T he effect of sour tea (*Hibiscus sabdariffa*) on essential hypertension. *Journal of Ethnopharmacology. Iran*,v. 65, p. 231–236, 2009.
- FERREIRA, JC. Vitamina E na prevenção do câncer de pele não melanoma na população idosa: uma revisão sistemática. 2021.
- FREIXO, LCA. Micro e nanoencapsulação como estratégias de estabilização de entidades bioativas: proteínas, enzimas e bacteriófagos. 2013. Tese de Doutorado. [sn].
- FORMAGIO, A.S.N.; RAMOS, D.D.; VIEIRA, M. C.; RAMALHO, S.R.; SILVA, M.M.; ZÁRATE, N.A.H.; FOGGIO, M.A.; & CARVALHO, J.E.; Phenolic compounds of *Hibiscus sabdariffa* and influence of organic residues on its antioxidant and antitumoral properties. *Braz. J. Biol.*, Grande Dourados – MS v. 75, n. 1, p. 69-76, 2015.
- FRIES, A T; & PEREIRA, DC. Teorias do envelhecimento humano. *Revista Contexto & Saúde*, v. 11, n. 20, p. 507-514, 2011.
- GUARDIOLA, S.; & MACH, N.; Potencial terapéutico del *Hibiscus sabdariffa*: una revisión de las evidencias científicas. *Endocrinología y Nutrición. Barcelona, Espanha*, v.61, n.5 p. 274-295, 2014.
- HAINIDA, E.; ISMAIL, A.; HASHIM, N.; MOHD-ESA, N.; & ZUKIAH, A.; Effects of defatted dried roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) seed powder on lipid profiles of hypercholesterolemia rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture. Malaysia*, v 88,p.1043–1050 ,2008.
- HIRATA, L L; SATO, Mayumi EO; & SANTOS, CAM. Radicais livres e o envelhecimento cutâneo. *Acta Farm. Bonaerense*, v. 23, n. 3, p. 418-24, 2004.
- JAFARI, S. M., ASSADPOOR, E., BHANDARI, B. & HE, Y. Nanoparticle encapsulation of fish oil by spray drying. *Food Research International*, 41, pp. 172-183, 2008.
- JI, J. et al. Improvement of leaching process of Geniposide with ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 13, n. 5, p. 455–462, 1 jul. 2006.
- JOVEN, J.; MARCH, I.; ESPINEL, E.; ARROYO, F.S.; GALLEGO, E.R.; ARAGONES, G.; DEBON, R.B.; VILLAVARDE, C.; RIOS, L.; PAREDERO, V.M.; MENENDEZ, J.; MICOL, V.; CARRARETO, A.S.; & CAMPS, J. ; *Hibiscus sabdariffa* extract lowers blood pressure and improves endothelial function. *Mol. Nutr. Food Res. Spain*, v. 58, p.1374–1378, 2014.
- LEITE, P. Benefícios do chá de hibisco – Como preparar e cuidados. *Mundo boa forma*, 2022.
- LOPES, T et al. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. *Current Agricultural Science and Technology*, v. 13, n. 3, 2007.
- MAGALHÃES, RCI. A ação dos radicais livres no organismo humano e suas consequências. 2007.
- MAZZA, G.; & BROUILLARD, R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. *Food Chemistry*, v.25, p. 207-225, 1987.MAZZA, G.; MINIATI, E., Anthocyanins.
- MU, L. & SPRANDO, R. Application of Nanotechnology in Cosmetics. *Pharmaceutical Research*, 27, pp. 1746-1749, 2010
- NIJVELDT, J. R. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 74, p. 418-425, 2001.
- ORTH, H. C. J.; RENTEL, C.; & SCHMIDT, P. C. "Isolation, Purity Analysis and Stability of Hyperforin as a Standard Material from *Hypericum perforatum* L". *J. Pharm. Pharmacol.*, v. 51, 193-200, 1999.
- PACHECO-COELLO, F et al. Comparación de compuestos fenólicos totales en *Hibiscus sabdariffa* L. Venezuela. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, v. 48, n. 3, p. 521-527, 2019.

PAULA, MN, KELM, M., SYMMA, N. *et al.* Atividade Antiadesiva de *Maytenus ilicifolia* Contra *Helicobacter pylori*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 31, 726-731, 2021.

PERDA POR DESSECAÇÃO E CINZAS SULFATADAS, DISPONÍVEL EM *CSA EDUCACIONAL*, 2020.

PUTON, B. M. S; BERNARDI, J.I; ORO, C.E.D.*et al.* Concentração inibitória mínima e atividade antioxidante do extrato de *Plectranthus ornatus* cood. (Lamiaceae) extraído por diferentes solventes. *Uricer*, 2018.

ROCHA, I.C.; BONNLAENDER, B.; SIEVERS, H.; PISCHEL, I.; & HENRICH, M.; *Hibiscus sabdariffa* L. – A phytochemical and pharmacological review. *Food Chemistry Brunswick Square, London*, v. 165, p. 424–443, 2014.

RODRIGUES, R.M.; BALABAN, A.A; & MARSHAL. M, R.; Physicochemical and phytochemical properties of cold and hot water extraction from *Hibiscus sabdariffa*. *J Food Sci*. v.76, n.3, p.28-35, 2011.

RUFINO M.S.M, ALVES R. E, BRITO E.S, MORAIS S.M, SAMPAIO C.G, JIMENEZ J.P, & CALIXTO F.D.S. Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. *Comunicado Técnico Embrapa*, 127: 1-4, 2007

SANTOS, Marcelo Henrique dos et al. Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante do café (*Coffea arabica*). *Química Nova*, v. 30, p. 604-610, 2007.

SILVA, PP. Tecnologias verdes na obtenção de extrato de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.): parâmetros de processos e atividade antioxidante. 2020. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2020.

SILVA, WA et al. Análise de qualidade e pesquisa de coliformes totais e termotolerantes em amostras de hibiscus rosa sinensis L. Comercializadas em Recife-PE. *Brazilian Journal of Health Review*, v. 3, n. 6, p. 17002-17019, 2020.

SOBOTA, J.F; PINHO, M.G; & OLIVEIRA, V.B. Perfil físico-químico e atividade antioxidante do cálice da espécie *Hibiscus sabdariffa* L. a partir do extrato aquoso e alcoólico obtidos por infusão e decocto. *Revista Fitos*.

SOBOTA, J. de F.; PINHO, M. G.; & OLIVEIRA, V. B. Physicalchemical profile and antioxidant activity of the calyx of the species *Hibiscus sabdariffa* L. from the aqueous and alcoholic extract obtained by infusion and decoction. *Rio de Janeiro*, v.10, n.1, p:1-93, Jan-Mar 2016.

STRACK, D.; & WRAY, V. The anthocyanins. In: HARBORNE, J.B. *The Flavonoids: advance in research since*. London: Chapman & Hall, 1986. 22p.

TAIZ, L.; & ZEIGER, E. Metabólitos Secundários e Defesa Vegetal. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E. (org.) *Fisiologia Vegetal*. 5. ed. Porto Alegre, RS, 2013. p. 403-434.

TESTON, A.P; NARDINO, D; & PIVATO, L. Envelhecimento cutâneo: Teoria dos radicais livres e tratamentos visando a prevenção e rejuvenescimento. Nº1, *UNINGÁ REVIEW*, 2010.

THIES, C. Microencapsulation - Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. 4ª edição. New York, John Wiley, pp. 628-651. 2005.

TREVISAN, NP et al. Controle de qualidade da droga vegetal e preparação do extrato de folhas de *Passiflora edulis*. *Conjecturas*, v. 21, n. 3, p. 813-825, 2021.

VINATORU, M.; MASON, T. J.; & CALINESCU, I. Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, v. 97, p. 159–178, 2017.

WOISKY, Ricardo G.;& SALATINHO, Antonio. Análise de própolis: alguns parâmetros e procedimentos para controle de qualidade química. *Revista de pesquisa apícola*, v. 37, n. 2, pág. 99-105, 1998.