

Avaliação da atividade antioxidante do extrato da *Hibiscus sabdariffa* L. para desenvolvimento de formulação cosmética

Evaluation of the antioxidant activity of *Hibiscus sabdariffa* L. extract for the development of a cosmetic formulation

<https://doi.org/10.32712/2446-4775.2021.1110>

Sousa, José Maria Aguiar¹; Caldas, Jeanne Marques¹; Brito, Maria Cristiane Aranha¹.

¹Faculdade Maurício de Nassau, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Rua Zoé Cerveira, 120, Alemanha, CEP 65040-840, São Luís, MA, Brasil.

*Correspondência: jmaria_aguiar@hotmail.com.

Resumo

Hibiscus sabdariffa L., pertence à família Malvaceae, possuindo caracteres antioxidantes de interesse da indústria farmacêutica. Este trabalho teve como objetivo desenvolver uma formulação cosmética a base do extrato de *Hibiscus sabdariffa* L., com destaque para sua atividade antioxidante. A metodologia deste material baseia-se na análise fitoquímica do extrato, avaliação da toxicidade frente à *Artemia salina* L. e, por fim, testes de estabilidade das formulações. Dentro dos principais resultados, os testes fitoquímicos demonstraram a presença de alcaloides, flavonoides e taninos, já no que diz respeito ao teor de polifenóis totais a média com maior teor foi a do hidromódulo 1:8 com 0,875 (mgGA)/g. O extrato encontrado com menor toxicidade foi o do hidromódulo 1:10 com o valor da CL₅₀ encontrado de $\pm 29270,3$ $\mu\text{L/mL}$. A formulação mais estável foi a que possui uma concentração de creme aniônico tipo *Ianette*[®] a 14% p/p em uma análise de 15 dias. Portanto, o hidromódulo 1:10 possui uma vantagem no que diz respeito a escolha para a produção da formulação farmacêutica contendo o extrato de *Hibiscus sabdariffa*, a julgar por sua menor toxicidade e sua capacidade como antioxidante.

Palavras-chave: Antioxidante. Fitocosmético. Metabólitos secundários. Plantas medicinais. Toxicidade.

Abstract

Hibiscus sabdariffa L., belongs to the Malvaceae family, having antioxidant characters of interest to the pharmaceutical industry. This work aimed to develop a cosmetic formulation based on the extract of *Hibiscus sabdariffa* L., highlighting its antioxidant activity. The methodology of this material is based on the phytochemical analysis of the extract, evaluation of toxicity against *Artemia salina* and, finally, stability tests of the formulations. Within the main results, phytochemical tests demonstrated the presence of alkaloids, flavonoids and tannins, whereas with regard to the total polyphenol content, the average with the highest

content was that of the hydromodule 1: 8 with 0.875 (mgGA) / g. The extract found with the least toxicity was the 1:10 hydromodule with the LC50 value found of $\pm 29270.3 \mu\text{L} / \text{mL}$. The most stable formulation was that with a 14% lanette concentration in a 15-day analysis. Therefore, the 1:10 hydromodule has an advantage with regard to the choice for the production of the pharmaceutical formulation containing the extract of *Hibiscus sabdariffa*, judging by its lower toxicity and its capacity as an antioxidant.

Keywords: Antioxidant. Medicinal plant. Phytocosmetics. Secondary metabolites. Toxicity.

Introdução

Muitos medicamentos comercializados no mundo são formulados a partir de plantas e têm usos desde a antiguidade, a exemplo o ácido salicílico. Na década de 1890, um químico alemão conseguiu isolar o ácido salicílico da árvore salgueiro e identificá-lo como princípio ativo capaz de aliviar a dor. Pouco tempo depois, um derivado dessa substância, o ácido acetilsalicílico, passou a ser comercializado largamente nas farmácias da América e Europa na forma de comprimidos. Portanto, conhecer as substâncias das plantas que possuem atividade medicinal é um fator indispensável, mesmo quando já se tenha usos empíricos^[1].

No século XXI vive-se um paradoxo da abundância na área de saúde. O conhecimento da ciência e da tecnologia crescente, oferecendo infinitas possibilidades tecnológicas para tratar diversas formas de enfermidades. Entretanto, nem sempre essas possibilidades têm sido aproveitadas para melhorar o acesso das populações aos medicamentos que continuam com seus preços exorbitantes e incompatíveis com os orçamentos de saúde dos países em desenvolvimento^[2].

A expansão acelerada das tecnologias, as exigências do mercado e os avanços na pesquisa explicam em parte esse paradoxo, os avanços ocorridos nestas áreas científicas permitiram o desenvolvimento de medicamentos para diversas enfermidades, porém esse desenvolvimento não chega a todos, sendo assim, alternativas precisam ser apontadas e os medicamentos fitoterápicos com reconhecida eficácia e segurança, é a opção mais assertiva com fator culturalmente relevante para a adesão às terapias alternativas^[3].

No Brasil, entre as principais políticas e programas nacionais relacionados à fitoterapia, inseridas por meio do Sistema Único de Saúde (SUS) temos a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPICs), a Política Nacional de Plantas Medicinal e Fitoterápico (PNPMF) e a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (Rennisus)^[4].

Nos últimos anos têm-se observado um crescimento na busca por fitoterápicos, esse consumo excessivo fez crescer a pesquisa, valorizar a farmácia e incentivar o comércio de produtos de origem natural. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da Portaria nº 519, de 1998, considera que as flores do hibisco podem ser consumidas como chá, preparadas por meio de infusão ou decocção^[5]. Sendo assim, necessariamente, saber suas propriedades medicinais como função antioxidante em chás bem como outras formulações preconizadas pela ANVISA é imprescindível para a exigência do mercado atual^[5].

Ademais, para a fabricação do fitoterápico com terapêutica antioxidante se faz necessário o uso de métodos e testes físicos para a determinação de sua atividade. Esses métodos devem ser preconizados pela ANVISA de acordo a formulação para que se destine. Existem diversos métodos para avaliar a atividade antioxidante *in vitro* de substâncias biologicamente ativas, envolvendo desde ensaios químicos com

substratos lipídicos a ensaios mais complexos utilizando as mais diversas técnicas instrumentais. Esses testes fomentam os pesquisadores na seleção de substâncias com propriedades farmacológicas e facilitam a isolar os princípios ativos^[6].

Hibiscus sabdariffa L. é uma importante planta pertence à classe das Dicotiledôneas, família das Malváceas e gênero *Hibiscus*, oriunda da África Oriental, foi inserida no Brasil por meio do comércio negreiro, possuindo caracteres antioxidantes de interesse da indústria farmacêutica, podendo ser identificada hoje em dia em praticamente todas as regiões do território brasileiro. A contar desta disposição, é reconhecida popularmente por diversas nomenclaturas, desde vinagreira, caruru-azedo, quiabo-roxo, azedinha, caruru-da-guiné, rosélia, quiabo-róseo, quiabo-de-angola, até groselha^[7].

Este vegetal *Hibiscus sabdariffa* possui caráter antioxidante encontrado na sua composição, auxiliando então na prevenção do envelhecimento cutâneo^[8]. Assim, desenvolver um creme com propriedades antioxidantes contendo extrato de *Hibiscus sabdariffa* é de grande importância para o aprendizado, pois desenvolver um cosmético a base de produtos vegetais exige muito estudo, para obtenção de um produto de qualidade e principalmente dentro dos padrões de qualidade^[9].

Dessa forma, a partir dos estudos com plantas medicinais e a ação antioxidante de compostos orgânicos, sente-se a necessidade de desenvolver uma formulação cosmética a partir da folha da *Hibiscus sabdariffa*. Para tanto, inicialmente visa-se preparar o extrato, logo após incorporar a base com a formulação mais apropriada para planta e finalizar com os testes para avaliação da qualidade. Portanto, é importante a realização de pesquisas científicas para garantir a eficácia e segurança desses produtos fitoterápicos, visto que existem poucos estudos fitoquímicos perante a imensa biodiversidade existente^[9]. Logo, este trabalho teve como objetivo verificar a atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico das folhas de *Hibiscus sabdariffa* L. por meio de testes dos metabólitos secundários de origem fenólica e incorporar em uma preparação cosmética facial, com a finalidade de retardar o envelhecimento da pele.

Materiais e Métodos

Coleta do material botânico

As folhas da espécie vegetal *Hibiscus sabdariffa* foram coletadas entre os meses de agosto e setembro de 2019, no bairro Caracoeira, zona rural do Maranhão (localização GPS: -2.6696406; -44.1844834), bem como ramos finos coletados com a finalidade de confirmar a identificação botânica. Exsicatas foram preparadas, segundo a metodologia proposta por Oliveira e Akisue^[10], e enviadas ao herbário da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, para verificação do número de catalogação, que se encontra depositadas sob n° 1020.

Extração dos extratos

As folhas de *Hibiscus sabdariffa* foram secas em temperatura ambiente durante uma semana e transformadas em pó grosso em moinho de facas^[11]. Os extratos foram obtidos em diferentes hidromódulos, sendo 1:6, 1:8 e 1:10 (m/v), em etanol a 70%. A maceração foi realizada durante 15 dias, sob agitação e filtração. Após as extrações, estas foram acondicionadas em temperatura ambiente em frascos de vidro^[12]. Para melhor qualidade do produto é necessário que as folhas estejam bem secas para favorecer a

conservação, além de auxiliar na maior concentração dos ativos em menor tamanho de partícula da planta, que potencializa a extração do extrato^[13]. Após tempo razoável de 14 dias finalizou-se com a técnica de separação por filtração. Depois de filtrado, os volumes finais dos hidromódulos foram: hidromódulo 1:6, 30 mL; do hidromódulo 1:8, 48 mL; do hidromódulo 1:10, 82 mL^[14].

Prospecção fitoquímica dos extratos

Os extratos obtidos foram submetidos a testes de prospecção fitoquímica para verificar a presença de metabólitos secundários^[12]. Foi realizada pesquisa de taninos, flavonoides totais, alcaloides e compostos fenólicos^[15].

Preparo das formulações para uso tópico

Para o desenvolvimento de formulações de uso tópico, como creme, foi utilizado como base o Formulário Nacional de Medicamentos^[16], e tiveram sua qualidade avaliada de acordo como o Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (ANVISA)^[17].

Avaliação da toxicidade frente à *Artemia salina* Lesh

Ovos de *Artemia salina* foram utilizados em um aquário, contendo 1 L de solução salina sintética (60 g de sal marinho/litro água destilada), onde foram adicionados aproximadamente 80 mg destes ovos. Foram mantidos em oxigênio e iluminação por 48 h para eclosão das larvas (náuplios). E sendo estas transferidas para um béquer contendo solução salina sintética e mantidas em incubação por mais 24 h, sob as mesmas condições de iluminação e oxigenação, para que as larvas se desenvolvessem para o estágio de metanúplio. Para letalidade, 20 mg das formulações selecionadas foram adicionados a 20 µL de Sulfóxido de Dimetilo (DMSO), completando-se o volume para 2 mL com salina artificial. Essa diluição foi feita para obter solução-mãe de 10.000 µg/mL e com uma concentração de 0,01% de DMSO. Amostras de 5, 50 e 500 µL dessa solução mãe foram transferidas para frascos com 5 mL de solução final, obtendo-se concentrações de 10, 100 e 1000 µg/mL, respectivamente, com 10 larvas em cada frasco. Os controles negativos foram a base utilizada, sem a presença dos produtos vegetais, juntamente com salina sintética e DMSO; o controle positivo foi realizado com DMSO e solução salina. Após 24 horas de incubação foi realizada a contagem das larvas vivas^[18].

Teor de polifenóis

O teor de polifenóis totais foi determinado utilizando reagente Folin-Ciocalteu e carbonato de sódio a 20%, por espectrofotometria (espectrofotômetro UV-Vis Lambda 35, Pekin Elmer) a 760 nm, após 2 h de reação. Os resultados foram expressos como equivalente de ácido gálico (%), calculados a partir de uma curva padrão de ácido gálico (1 a 30 µg/mL)^[18].

Estabilidade preliminar das formulações

A estabilidade preliminar foi realizada visando avaliar a compatibilidade das formulações com os componentes dos produtos vegetais e a qualidade em longo prazo^[17]. Características organolépticas (cor e odor), físico-químicas (pH), bem como variação de estabilidade de acordo com diferentes ambientes, foram avaliadas, tudo em consonância com o Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos (Anvisa)^[17]. Para isso, testes de centrifugação (3.000 rpm por 30 minutos) e análise de aspectos foram realizadas no tempo 0, 24

e 48 horas, 7 e 15 dias. As formulações que não demonstraram separação das fases e modificação de cor e aroma foram submetidas aos testes de estabilidade acelerada. Caso todas demonstrassem incompatibilidades, outras bases de cada forma farmacêutica seriam empregadas^[19].

Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão ou cálculo de CL50 por regressão linear. Foi utilizado o *Student*, para experimentos *in vivo* seguidos pelo teste *Newman-Keuls*, *Boferroni* ou *Teste de Turkey* para ensaios *in vitro* acompanhados de regressão linear. Todas as análises estatísticas foram realizadas no *Graphpad Prism* version 5.0. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

Resultados e Discussão

Análise dos testes fitoquímicos

O presente trabalho demonstra a presença de metabólitos secundários de origem fenólica na espécie *H. sabdariffa*, onde foi possível observar alcaloides, flavonoides, fenóis e taninos (**TABELA 1**), revelando a presença desses compostos fenólicos nos extratos estudados. Os flavonoides (flavonas, xantonas, flavonóis, flavononas) e taninos, chamados também de polifenóis, são de grande importância, pois, têm sido apontados como responsáveis por grande ação antioxidante nos vegetais. Hidroxilas fenólicas e as suas propriedades de oxirredução atuam como fator eficaz de atividade antioxidante nas plantas^[20,21].

Tabela 1: Metabólitos secundários presentes nos extratos hidroalcoólicos da espécie *H. sabdariffa*.

Hidromódulo	Metabólitos secundários			
	Alcaloides	Flavonoides	Fenóis	Taninos
1:6	-	+	+	-
1:8	+	+	+	-
1:10	+	+	+	-

Legenda: (+) positivo; (-) negativo.

De acordo com a metodologia proposta, na avaliação de alcaloides, houve formação de precipitado na diluição do extrato hidroalcoólico 1:8 e 1:10, sendo considerados como positivos para alcaloides, outro estudo de Mendes^[22] também indicam positividade para alcaloides nos testes de *Mayer*, *Wagner* e *Dragendorff*. Já o extrato hidroalcoólico 1:6 foi considerado negativo para alcaloides, corroborando com os resultados encontrados por Freitas *et al.*^[23] o que pode ser explicado também pelas variações que podem alterar o conteúdo de seus ativos, como sazonalidade, coleta e cultivo em épocas diferentes^[24].

Com relação aos flavonoides, foi possível observar que de acordo com a metodologia proposta, mostrou-se presente nos diferentes pH (3 e 11), onde foi observado a presença de flavonoides como flavonas, xantonas e flavonóis. A presença de flavonoides é bastante comum não apenas na espécie *H. sabdariffa*, como nas representantes do gênero *Hibiscus*, o que por ser considerado um composto de origem fenólica, reforça a atividade antioxidante da espécie^[23,25].

De acordo com o estudo realizado, foi possível observar que a variação de pH pode interferir diretamente na presença de determinados metabólitos como flavonas, xantonas e flavonóis, que foram revelados em

pH 3 e 11 e; após aquecimento, a presença de leucoantocianidinas, catequinas e flavononas, baseada na tabela do teste de Mattos^[12], corroborando com os estudos de Nunes *et al.*^[25,26].

A presença de fenóis e taninos pode ser observada nos três hidromódulos. A partir da análise das mudanças de cor e de precipitação. A mudança na coloração nesse teste indica a concentração de substâncias redutoras, neste caso, os compostos de natureza fenólica^[25,27].

Teor de polifenóis

Dentre os extratos analisados, foi possível observar que nos hidromódulos de 1:6 e 1:8, houve maior concentração de compostos fenólicos, ressaltando que a concentração pode ser avaliada nessa situação, já que é observado que em outros estudos, como o de Rossatto *et al.*^[28], a razão das variáveis de concentração chá-solvente, ou no caso extrato-solvente é linear, o que não ocorre no estudo presente, como um parâmetro para tal análise, como pode ser observado na **TABELA 2**. O que pode ser explicado, por sua vez, pelas variações que podem alterar o conteúdo de seus ativos, como sazonalidade, coleta e cultivo em épocas diferentes^[24].

TABELA 2: Teor de polifenóis nos hidromódulos 1:6, 1:8 e 1:10 do extrato hidroalcoólico das folhas de *Hibiscus sabdariffa*.

Hidromódulo	Teor de Polifenóis (mgGA)/g
1:6	0,825
1:8	0,875
1:10	0,575

Legenda: (mgGA)/g miligramas de ácido gálico por grama.

De acordo com os resultados dos três hidromódulos a média com maior teor de polifenóis foi a do hidromódulo 1:8. Nesse contexto, como o teor de polifenóis está diretamente relacionado a atividade antioxidante pode-se afirmar que essa função se mostra mais eficaz no extrato de *Hibiscus sabdariffa* no hidromódulo de 1:8, com 0,875 (mgGA)/g de teor de polifenóis, no trabalho de Sobota *et al.*^[29] observa-se que os extratos etanólicos por infusão apresenta os maiores rendimentos de polifenóis, sendo encontrado em seu resultado uma concentração de 71,58 mEqG/g neste extrato. Na literatura, estudos mostram alta eficiência quanto a resultados de análises do potencial antioxidante nas plantas e mostram que tantos nos óleos essenciais^[30] quanto nos extratos vegetais^[31] a origem dessa ação vem dos compostos fenólicos com suas propriedades de oxirredução, neutralizando os radicais livres, responsável para vários benefícios na pele, além da atividade antioxidante^[32].

Determinação de toxicidade do extrato de *Hibiscus sabdariffa* nos hidromódulos estudados

Para determinar a toxicidade utilizou-se a metodologia Meyer^[33] adaptada. A análise da toxicidade da *Hibiscus sabdariffa* foi realizada em diferentes hidromódulos (1:6; 1:8 e 1:10) nas concentrações de 0,005 µL/mL; 0,050 µL/mL; 0,100 µL/mL; 0,500 µL/mL; 1,000 µL/mL em triplicatas (contendo dez organismos por tubo), obtendo-se a curva de toxicidade frente a *Artemia salina* e a concentração letal para 50% dos organismos (CL₅₀).

É imperativo pontuar a importância dos testes para esse estudo, basta ver que a formulação farmacêutica é um de seus objetivos, sendo assim, será usado como critério de escolha aquele em que se apresenta a

menor toxicidade, ou seja, o mais seguro e que ainda assim consiga alcançar a eficácia desejada, na **TABELA 3** é possível visualizar e comparar as taxas de mortalidades para as diferentes concentrações, já na **TABELA 4** têm os valores da concentração letal.

TABELA 3: Taxa de mortalidade por hidromódulo.

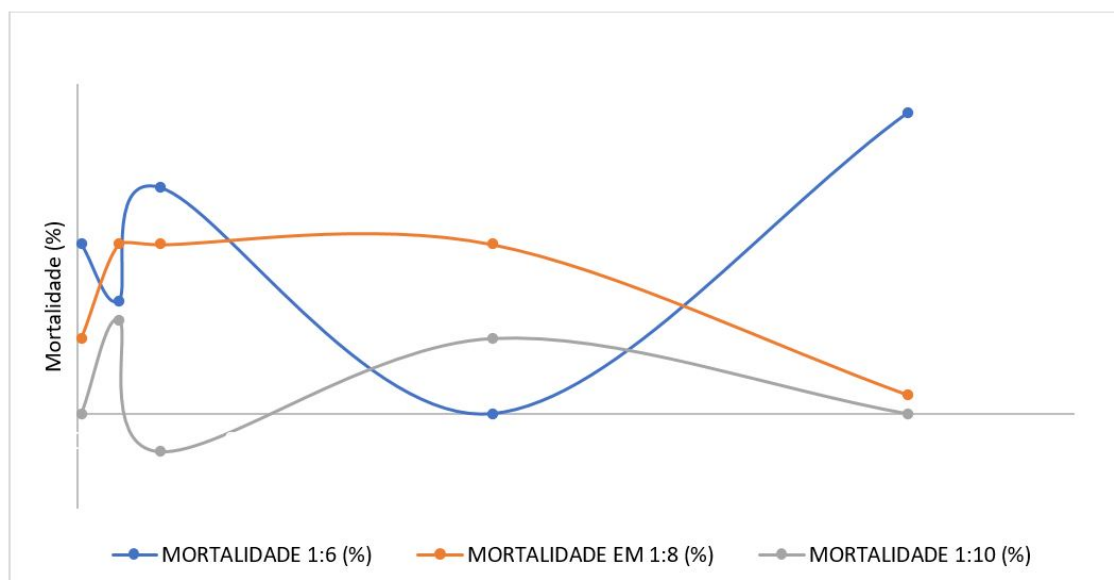
Hidromódulos	Mortalidade
1:6	64%
1:8	36%
1:10	20%

TABELA 4: Concentração letal média por hidromódulo.

Hidromódulos	CL ₅₀
1:06	1174,865
1:08	841,587
1:10	29270,3

Tendo como base o diagnóstico comparativo nos hidromódulos entre a mortalidade e a concentração letal média o hidromódulo de 1:10 apresentou vantagem nos dois aspectos apresentando uma mortalidade de 20% e a CL₅₀ no valor de 29270,3 µL/ML^[34]. Apesar de dois dos três extratos serem considerados atóxicos, o de 1:6 e 1:10, o extrato de 1:10 apresenta menor toxicidade e menor mortalidade, sendo assim escolhido para incorporação na formulação. A seguir tem-se o **GRÁFICO 1** com a compilação das diferentes curvas de concentração em que otimiza a visualização do hidromódulo de menor mortalidade.

GRÁFICO 1: Curvas de toxicidade.



Teste de estabilidade

A análise da estabilidade de um cosmético está relacionada a condições que possam interferir nas propriedades originais do produto até o término da vida útil. Fatores externos e internos como tempo, temperatura, luz e

oxigênio, umidade, material de acondicionamento, microrganismos, vibração e incompatibilidades físicas e químicas, fornecem dados que demonstram o grau de estabilidade relativa do produto^[17].

Nesse estudo foram aplicados os testes de estabilidade acelerada para prever a estabilidade do dermocosmético, validade e a convergência do formulado com a embalagem e posterior o teste de prateleira como forma de verificação da estabilidade do fitocosmético feito a base do extrato de *H. sabdariffa*^[17].

Com base nos padrões designados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária^[16] avaliou-se duas formulações (**TABELA 5**), a fórmula 1 (F₁) contendo como base em creme aniônico tipo *lanette*[®] a 14% e vaselina a 7%, e a fórmula 2 (F₂) contendo creme aniônico tipo *lanette*[®] a 17% e vaselina a 4%, durante o tempo de 15 dias, nas temperaturas ambiente, de geladeira ($\pm 5^{\circ}\text{C}$) e de estufa (37°C) envasados em embalagens de plástico, onde foram observadas características organolépticas e físico-químicas como aspecto, cor, odor, valor de pH e viscosidade.

TABELA 5: Composição das formulações F₁ e F₂ para 100 g p/v.

Fórmula 1		Fórmula 2	
Creme aniônico tipo <i>Lanette</i> [®]	14%	Creme aniônico tipo <i>Lanette</i> [®]	17%
Vaselina	7%	Vaselina	4%
Propilparabeno	0,3%	Propilparabeno	0,3%
Sorbitol	7%	Sorbitol	7%
Metilparabeno	0,2%	Metilparabeno	0,2%
Água destilada qsp	71,5 mL	Água destilada qsp	71,5 mL

O tempo foi dividido em T₀, indicando o momento em que a formulação foi produzida, T₁, T₂, T₃, T₄, representando respectivamente, 24 horas, 48 horas, 7 dias e 15 dias. Nesse período foram então analisadas as amostras F₁ e F₂ e observadas as características de estabilidade com finalidade de escolher melhor formulação para consumo, de acordo com a **TABELA 6** e **TABELA 7** abaixo:

TABELA 6: Estabilidade da formulação F₁ com extrato de *Hibiscus sabdariffa*.

Intervalos de tempo	F ₁ Ambiente	F ₁ Geladeira	F ₁ Estufa
T ₀	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.
T ₁	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.
T ₂	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.
T ₃	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.
T ₄	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.

Legenda: Aspecto normal da formulação apresenta-se sem separação de fase, sem granulação e com coloração verde oliva.

TABELA 7: Estabilidade da formulação F₂ com extrato de *Hibiscus sabdariffa*.

Intervalos de tempo	F ₂ Ambiente	F ₂ Geladeira	F ₂ Estufa
T ₀	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.
T ₁	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.
T ₂	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,0.
T ₃	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,0.
T ₄	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,5.	Aspecto normal, cor verde oliva, odor característico, PH 5,0.

Legenda: Aspecto normal da formulação apresenta-se sem separação de fase, sem granulação e com coloração verde oliva.

Como se observa na **TABELA 6 e 7**, no prazo de 15 dias as formulações apresentaram mudanças mínimas. Houve apenas um aspecto precipitado de separação de fases na amostra F₁ a partir do tempo T₂ na estufa, e pequena alteração do pH da F₂ também nesse tempo, que baixou de 5,5 para 5,0 na mesma temperatura, indicando que a formulação não deve ser deixada em altas temperaturas.

Por meio dos resultados concluiu-se, então, que a formulação de escolha de acordo com as melhores condições de usos foi a F₁ de geladeira, por ter uma viscosidade de uma fluidez mais compatível para manuseio na pele e de geladeira por sua conservação na mesma proporciona melhor segurança microbiológica, reduzindo a atividade da água, além de retardar o processo oxidação do produto fitocosmético^[3,35].

Conclusão

Portanto, a partir da análise dos resultados e discussões concluiu-se que há presença de metabólitos secundários como alcaloides, flavonoides (flavonas, xantonas, flavonóis, flavononas) e taninos; tem-se também que o hidromódulo 1:10 foi o menos tóxico apresentando uma mortalidade com o pico em 20% e uma concentração letal média de 29270,3 µL/mL, ou seja, atóxico de acordo com estudos propostos por Meyer^[33]; além disso, determina-se que a formulação mais estável foi a da fórmula F₁ condicionada em geladeira, contendo mudanças imperceptíveis do estado inicial ao final e uma viscosidade maior em relação a formulação F₂.

Agradecimentos

À Faculdade UNINASSAU pelo apoio, juntamente do núcleo de Laboratórios pelo espaço disponibilizado para desenvolvimento do experimento.

Referências

1. Lopes S, Rosso S. **Conecte Bio**, 3. 1ª ed. São Paulo: Saraiva S. A. 2011; 3: 480p. ISBN 978-85-02-12426-4.
2. Hasenclever L, Paranhos J, Costa CR, Cunha G, Vieira D. A indústria de fitoterápicos brasileira: desafios e oportunidades. **Ciênc Saúde Col**. 2017; 22(8): 2559-69. ISSN 1413-8123. [[CrossRef](#)].
3. Souza GHB de, Mello JCP de, Lopes NP. (organizadores) **Farmacognosia: coletânea científica**. Ouro Preto: Editora UFOP. 2011. ISBN 978-85-288-0270-2.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde. 2005; 136p. ISBN: 978-85-334-1597-3. [[Link](#)].
5. Brasil. Ministério da Saúde. ANVISA. Secretaria de Vigilância sanitária. **Portaria nº 519**, de 26 de junho de 1998. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de "Chás - Plantas Destinadas à Preparação de Infusões ou Decocções", constante do Anexo desta Portaria. D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 29 de junho de 1998. Disponível em: [[Link](#)]. Acesso em: 25 set. 2019.
6. Alves CQ, David JM, David JP, Bahia MV, Aguiar RM. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Quím Nova**. 2010; 33 (10): 2202-10. ISSN 0100-4042. [[CrossRef](#)].
7. Silva MMA, Okamura LS, Medeiros MGM, Ferreira FES, Medeiros F. *Hibiscus sabdariffa* L. – Atividades biológicas e terapêuticas: Uma revisão. In: I Congresso Nacional de Práticas Integrativas e Complementares em Saúde - PICS, 1., 2017, Campina Grande. **Anais... CONGREPICS**. Campina Grande: Realize - Eventos Científicos e Editora Ltda., 2017. p.1-6. ISSN: 2594-8334. Disponível em: [[Link](#)]. Acesso em: 13 out. 2019.
8. Vasconcelos TC, Guidotti ACF, Bomfim FRC. O uso do *Hibisco sabdariffa* L. na prevenção do envelhecimento cutâneo. **Rev Cient Multidisc Núcleo Conhec**. Ano 3, Ed. 1, Vol. 2, pp. 05-20, jan. 2018. ISSN 2448-0959. Disponível em: [[Link](#)]. Acesso em: 9 ago. 2019.
9. Silva JN *et al.* Desenvolvimento de um creme dermatológico vegetal rejuvenescedor facial contendo extrato de *Hibiscus sabdariffa*. **Braz J Surg Clin Res – BJSCR**. 2019; 25 (2): 11-18. ISSN 2317-4404. [[Link](#)].
10. Oliveira F, Akisue G. **Fundamentos de farmacobotânica e morfologia vegetal**. 3ª ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2009. ISBN: 9788573791884.
11. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA. **Farmacopeia Brasileira**. 5ª ed. volume 2 / Brasília: ANVISA, 2010. 546p. [[Link](#)].
12. Matos FJA. **Introdução a Fitoquímica Experimental**. 3ª ed. Imprensa Universitária/Edições UFC, Fortaleza, 2009. 150p. ISBN: 85-7282-026-4.
13. Córdova KRV, Gama TMMTB, Winter CMG, Kaskantzis Neto G, Freitas RJS de. Características físico-químicas da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa* DEGENER) obtida por secagem. **B. CEPPA**. 2005; 23(2): 221-230. ISSN 19839774. [[CrossRef](#)].
14. Andreo D, Jorge N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **B. CEPPA**. 2006; 24(2): 319-336. ISSN 1983-9774. [[CrossRef](#)].
15. Abreu BVB *et al.* Quantificação de polifenóis de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith coletado no Cerrado maranhense. **Rev Ciênc Saúde**. 2006; 8(1): 18-24. ISSN 1516-7534.

16. Brasil. Ministério da Saúde. **Resolução - RDC Nº 14**, de 14 de março de 2013. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Insumos Farmacêuticos Ativos de Origem Vegetal. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 14 de Março de 2013. [\[Link\]](#).
17. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA. **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**. 1ª ed. Brasília: ANVISA; 2004. 52p. (Série Qualidade em Cosméticos; v. 1). ISBN 85-88233-15-0. [\[Link\]](#).
18. Brito MCA. **Estudo botânico, químico, avaliação da citotoxicidade e atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas e ramos da espécie *Eugenia Patrisii* Vahl**. 47f. São Luís. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso [Bacharel em Farmácia] –Universidade Federal do Maranhão, UFMA, São Luís. 2013.
19. Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. 2006a. **Decreto nº 5.813**, de 22 de junho de 2006. Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, Seção 1, 22 de junho de 2006. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 22 out. 2019.
20. Fonseca AM *et al.* Constituents and antioxidant activity of two varieties of coconut water (*Cocos nucifera* L.). **Braz J Pharmacog**. 2009; 19(1b): 193-198. ISSN 0102-695X. [\[CrossRef\]](#).
21. Rebelo MM, Silva JKR, Andrade EHA, Maia JGS. Antioxidant capacity and biological activity of essential oil and methanol extract of *Hyptis crenata* Pohl ex Benth. **Braz J Pharmacog**. 2009; 19(1B): 230-235. ISSN 1981-528X. [\[CrossRef\]](#).
22. Mendes OR. **Avaliação da atividade antioxidante da flor de *Hibiscus sabdariffa* L. comercializada no município de Palmas – TO**. 37f. Palmas. 2015. Monografia [Graduação em Farmácia]. Centro Universitário Luterano de Palmas (CEULP/ULBRA). Palmas - TO, 2015. [\[Link\]](#).
23. Freitas NM, Santos AMCM, Moreira LRMO. Avaliação fitoquímica e determinação de minerais em amostras de *Hibiscus sabdariffa* L. (vinagreira). **Cad Pesq**. Universidade Federal do Maranhão, UFMA. 2013; 20(3): 65-72. ISSN 2178-2229. [\[CrossRef\]](#).
24. Gobbo-Neto L, Lopes NP. Plantas Medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quím Nova**. Out. 2007; 30(2): 374-381. ISSN 0100-4042. [\[CrossRef\]](#).
25. Nunes SP, Thomas AB, Lima LCO. **Compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante em chá de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.)**. In: XXIII Congresso de Pós-Graduação da UFLA, 27 de outubro a 01 de novembro de 2014, 23, 2014, Lavras. Artigo. Lavras: Sbe, 2014. p1-6. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 05 nov. 2019.
26. Vizzotto M, Castilho PM, Pereira MC. Compostos Bioativos e Atividade Antioxidante em Cálices de Hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.). **EMBRAPA - Comun Técn**. 2009; 213:1-7. ISSN 1806-9185. [\[Link\]](#).
27. Chaves MH *et al.* Fenóis totais, atividade antioxidante e constituintes químicos de extratos de *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae. **Rev Bras Farmacog**. 2010; 20(1): 106-12. ISSN 0102-695X. [\[CrossRef\]](#).
28. Rossatto GH, Bindes MMM, Cardoso VL, Reis MHM. “Determinação do teor de fenólicos totais do *hibiscus sabdariffa* empregando extração hidroetanólica”. In: **Anais do XII Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica**. Blucher Chemical Engineering Proceedings. São Paulo: Blucher. 2017; 1(4): 1-6. ISSN 2359-1757. [\[CrossRef\]](#).
29. Sobota JF, Pinho MG, Oliveira VB. 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. Jan/Mar 2016; **Rev Fitos**. Fiocruz/Instituto de Tecnologia em Fármacos. Rio de Janeiro. Jan/Mar 2016; 10(1): 33-46. [\[CrossRef\]](#).

30. Souza TJT, Apel MA, Bordignon S, Matzenbacher NI, Zuanazzi JAS, Henriques AT. Composição química e atividade antioxidante do óleo volátil de *Eupatorium polystachyum* DC. **Rev Bras Farmacog.** 2007; 17: 368-372. ISSN 1981-528X. [[CrossRef](#)].
31. Balestrin L, Dias JFG, Miguel OG, Dall'Stella DSG, Miguel MD. Contribuição ao estudo fitoquímico de *Dorstenia multififormis* Miquel (Moraceae) com abordagem em atividade antioxidante. **Rev Bras Farmacog.** 2008; 18: 230-5. ISSN 1981-528X. [[CrossRef](#)].
32. Aquino VVF, Costa JGM, Angélico EC, Medeiros RS, Araújo MF, Rodrigues OG. Metabólitos Secundários e ação antioxidante de *Croton heliotropiifolius* e *Croton blanchetianus*. **Acta Brasilie.** 2017; 1(3): 7-10. ISSN 2526-4338. [[CrossRef](#)].
33. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. *Brine shrimp*: a convenient general bioassay for active plant constituents. **PI Medic.** 1982; 45(5): 31-4. [[CrossRef](#)].
34. Lima MVS, Guedes CM, Abreu MC, Peron AP. Análise da citotoxicidade e genotoxicidade de *Hibiscus sabdariffa* L. *in natura* e industrializado, e comparação da toxicidade entre as formas analisadas da planta. **Multitemas.** Universidade Católica Dom Bosco. 16 out. 2018; 23(55): 121-32. [[CrossRef](#)].
35. Shibata TMM. **Influência da atividade de água nas reações químicas e bioquímicas.** Decagon Devices Latam. 27 jun. 2014; São José dos Campos, SP. Disponível em: [[Link](#)]. Acesso em: 09 dez 2019.

Histórico do artigo | **Submissão:** 20/10/2020 | **Aceite:** 05/10/2021 | **Publicação:** 17/12/2021

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Como citar este artigo: Sousa JMA, Caldas JM, Brito MCA. Avaliação da atividade antioxidante do extrato da *Hibiscus sabdariffa* L. para desenvolvimento de formulação cosmética. **Rev Fitos.** Rio de Janeiro. 2021; 15(4): 432-443. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1110>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.

