



Efecto inhibitorio de un extracto acuoso de *Hibiscus sabdariffa* Linn, en la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL)

Franklin Pacheco-Coello ¹.

Franco De Jesús-Fernández ².

Corymar Orosco-Vargas ³.

Doralys Ramirez-Azuaje ⁴.

Pinto Catari ⁵.

María Peraza-Marrero ⁶.

¹Docente Investigador. Laboratorio de Metales Pesados y Solventes y Orgánicos, Instituto de Investigaciones Biomédicas "Dr. Francisco J. Triana Alonso" (BIOMED-UC), Universidad de Carabobo

²Laboratorio de Biotecnología y Toxicológico "Saber Cell". Caracas, Venezuela

³Asistente de Investigación. Laboratorio de Metales Pesados y Solventes y Orgánicos, Universidad de Carabobo

⁴Asistente de Investigación. Laboratorio de Metales Pesados y Solventes y Orgánicos, Universidad de Carabobo

⁵Asistente de Investigación. Laboratorio de Metales Pesados y Solventes y Orgánicos, Universidad de Carabobo

⁶Asistente de Investigación. Laboratorio de Metales Pesados y Solventes y Orgánicos, Universidad de Carabobo

RESUMEN

Introducción: A nivel mundial el consumo *Hibiscus sabdariffa*, ha venido creciendo gracias a su alto contenido rico en compuestos bioactivos como flavonoides y antocianinas. Por medio de sus cálices ha sido utilizada para prevenir y tratar enfermedades degenerativas como el cáncer, anomalías cardiovasculares e hiperlipidemia. **Objetivo:** Evaluar el efecto antioxidante de un extracto de *H. sabdariffa*, por medio del ensayo de oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL). **Métodos:** Se emplearon cálices deshidratados obtenidos de un cultivo propio, obteniendo un extracto acuoso bajo condiciones similares a la forma de consumo habitual. Se determinó el contenido de fenoles totales empleando el método de Folin-Ciocalteu. Caracterizado el extracto se evaluó su actividad antioxidante por el ensayo de oxidación de LDL, obtenida de una muestra sanguínea de tres pacientes sin hiperlipidemia. **Resultados:** Se evidenció una inhibición de la oxidación de LDL estadísticamente significativa del extracto y su respectivo al control en cada una de las muestras (p

PALABRAS CLAVE: *Hibiscus sabdariffa*, antioxidante, fenoles, LDL

SUMMARY

Introduction: Worldwide consumption *Hibiscus sabdariffa*, has been growing thanks to its high content rich in bioactive compounds such as flavonoids and anthocyanins. Through its calyces it has been used to prevent and treat degenerative diseases such as cancer, cardiovascular abnormalities, and hyperlipidemia. **Objective:** To evaluate the antioxidant effect of an extract of *H. sabdariffa*, by means of the low-density lipoprotein oxidation (LDL) assay. **Methods:** Dehydrated calyces obtained from an own culture were used, obtaining an aqueous extract under conditions similar to the usual consumption. The total phenol content was determined using the Folin-Ciocalteu method. Characterized the extract, its antioxidant activity was evaluated by the LDL oxidation test, obtained from a blood sample from three patients without hyperlipidemia. **Results:** A statistically significant inhibition of LDL oxidation of the extract and its respective control was evidenced in each of the samples (p

KEY WORDS: *Hibiscus sabdariffa*, antioxidant, phenols, LDL

EFFECTO INHIBITORIO DE UN EXTRACTO ACUOSO DE *HIBISCUS SABDARIFFA* LINN, EN LA OXIDACIÓN DE LIPOPROTEÍNAS DE BAJA DENSIDAD (LDL)

INTRODUCCIÓN

Una de las plantas más atractivas y populares en el mundo es *Hibiscus sabdariffa*, perteneciente a la familia de las Malváceas y conocida en varias partes del mundo como rosa abisinia, roselle o flor de jamaica¹. Los cálices son la parte principal de consumo y

comercialización con un alto contenido de compuestos bioactivos (polifenoles) con amplia actividad biológica entre los que destacan los flavonoides y antocianinas ²⁻⁴. Los compuestos polifenólicos son un grupo cercano a 8.000 sustancias que pueden ser clasificados de acuerdo con su estructura. Entre los más importantes están los flavonoides, que poseen una estructura básica C6-C3-C6, las antocianinas, catequinas y epicatequinas ⁵⁻⁷.

Entre las diversas propiedades destacan su efecto antimicrobiano, antiinflamatorio, hipoglicemiante, anticancerígeno y su conocida capacidad de disminuir el perfil de lípidos séricos ^(8,9). Por otra parte lipoproteínas de baja densidad (LDL); es avalada por estudios epidemiológicos y de intervención como mejor predictor de la enfermedad cardiovascular y coronaria que el colesterol total (CT) (10-11) Sobre estas evidencias se han apoyado las guías de práctica clínica, donde se considera el LDL como el objetivo terapéutico principal y se establece en función del nivel de riesgo del paciente, un nivel objetivo definido¹².

Por lo expuesto anteriormente el objetivo del estudio consistió en evidenciar el efecto inhibitorio de un extracto acuoso de *H. sabdariffa*, en la oxidación de LDL, evaluando de esta forma la capacidad antioxidante que tiene los compuestos presentes en los cálices de esta planta.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los cálices de *H. sabdariffa*, fueron obtenidos de plantaciones propias por los investigadores, ubicada específicamente en el sector Coropo, Santa Rita del estado Aragua Venezuela JunioDiciembre de 2019. Estos fueron deshidratados y almacenado libre de humedad, hasta su análisis en el Laboratorio de Metales Pesados y Solventes Orgánicos de la Universidad de Carabobo, sede Aragua (Figuras 1 y 2).



Figuras 1 y 2. Material vegetal empleado en el estudio (cálices de *H. sabdariffa*)

Fuente: Elaboración de los autores

Extracto acuoso y muestra biológica

Los extractos se prepararon con 2,5 g de cálices secos y 100 mL de agua destilada. Se dejó

hervir por 15 min, se separó el líquido de los cálices por decantación y la extracción se repitió en las mismas condiciones por triplicado. Los extractos se filtraron con papel Whatman No. 4 y se aforó a 200 mL con agua destilada ¹³.

Se realizó la extracción sanguínea, previa asepsia y empleando un tubo de tapa morada con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) sellado al vacío con aguja vacutainer. Estas muestras fueron obtenidas de tres pacientes ambulatorios que acudieron al Laboratorio de Metales Pesados y Solventes Orgánicos por exámenes de hematología completa y química sanguínea, a los cuales se les explicó el propósito de la investigación obteniendo así su consentimiento informado aprobado por el Consejo Técnico del Centro de Estudio en Salud de los Trabajadores (CEST-UC), fundamentado bajo los criterios bioéticos. Los tres participantes estaban en ayunas de menos 8 h, y se verificó que no presentaran hipercolesterolemia.

Determinación de fenoles totales

La determinación de fenoles se realizó por el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu. 50 µL de muestra fueron adicionados a 125 µL del reactivo de Folin, y 400 µL de carbonato de sodio 7,1% (p/v), completándose con agua destilada hasta 1 mL. Este procedimiento se realizó por quintuplicado. Seguidamente se prepararon 5 patrones de concentración de 50, 100, 150, 200 y 250 µg/mL, a partir de una solución patrón madre de Ácido Gálico (fenol) de concentración 500 µg/mL. Por último realizó la lectura a 760 nm empleando el equipo de absorción molecular Génesis 20 (Thermo Scientific). Los resultados se expresaron como mg de GAE / g de material vegetal (MV) ¹⁴.

Ensayo de oxidación de LDL

Para evidenciar la inhibición de la oxidación de LDL se procedió de acuerdo a lo propuesto por Zhang y cols. 2001 y modificada por Ruiz y cols. 2006 (7,8). Los tubos se agitaron con un vórtex y llevados a una temperatura de 2 °C durante 15 min, para luego se nuevamente agitados y centrifugados a 5000 rpm a 4 °C durante 5 min. El sobrenadante que corresponde al plasma se transfirió volumétricamente a un tubo falcon estéril de 15 mL y se adicionó el reactivo precipitante (ácido fosfotúngstico 500 mM y cloruro de magnesio 500 mM) en relación 2:1 v/v con el plasma obtenido. El reactivo precipitante y el plasma se agitaron durante 2 min en vórtex y posteriormente se centrifugaron a 3000 rpm a 4 °C durante 10 min. El sobrenadante obtenido (LDL) este se con buffer de fosfatos 10 mM y 0,16 M de NaCl, pH 7,4 hasta 100 mL. Seguidamente se llevó a cabo la oxidación de las LDL que consistió en tomar 115 µL de solución de LDL, 100 µL de extracto acuoso con buffer de fosfatos, 235 µL de buffer de fosfatos salino y 50 µL de CuSO₄ 100 µM, el cual actúa como oxidante de las LDL (control). La mezcla se agitó en vórtex durante 2 min y luego se incubó a 37 °C en agitación durante 8 h. Para detener la oxidación las muestras fueron transferidas por una columna de Sephadex G-50, tomando 550 µL del eluido y 500 µL de ácido tricloroacético (ATA) 25 % p/v. Posteriormente se adicionaron 500 µL de ácido tiobarbitúrico 1% p/v. Se agitó nuevamente en vórtex durante 1 min y se incubó a 95 °C por 1 h en oscuridad. Posteriormente se dejó enfriar durante 1 h, en oscuridad a temperatura ambiente (25 °C) y se centrifugó a 5000 rpm durante 5 min. Se realizó una curva de calibración del método de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) y se utilizó como estándar 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP) en

concentraciones de 0,5 a 10 μ M. Se midieron las absorbancias de las muestras y patrones y los resultados se expresados como μ g TMP/100 g de MV ^{5,16}.

Análisis estadístico

Todas las determinaciones de las muestras y de los controles se realizaron por triplicado. Para comparar cada efecto del extracto respecto a su control de cada paciente, se aplicó un análisis de varianza de dos vías con interacción (ANOVA), usando el programa Statistix 9.0 para Windows.

RESULTADOS

Previo a la evaluación de la actividad antioxidante, se determinó la concentración de fenoles totales del extracto, obteniendo una media de 9,81 mg de GAE / g de material vegetal (MV), semejante a lo reportado en diversos estudios de caracterización de este tipo de material vegetal. En relación al ensayo de oxidación de LDL, se evidenció que en todos ensayos hubo diferencia significativa cuando se comparó el extracto con su correspondiente control ($p=0,034$: Extracto y Mp1-Control; $p=0,026$: Extracto y Mp2-Control; $p=0,029$: Extracto y Mp3-Control 3).

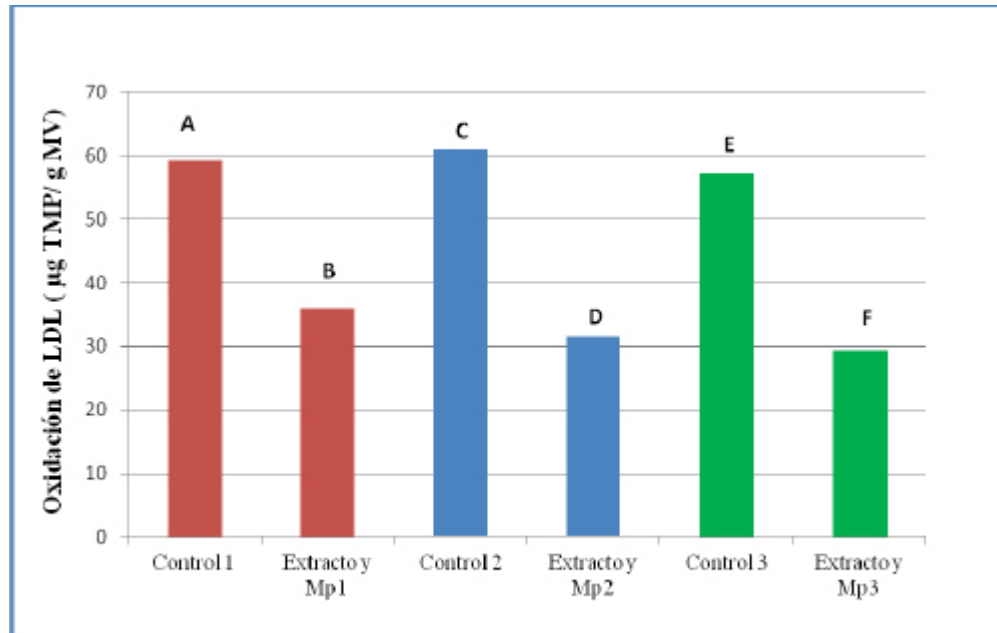


Figura 3. Efecto del extracto acuso de *H. sabdariffa* en la inhibición de la oxidación de LDL.

*Barras de igual color y letra diferente indican diferencia significativa ($p<0,05$).

Mp = muestra paciente

Fuente: Elaboración de los autores

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En este estudio se propuso evaluar la capacidad antioxidante de un extracto acuso de *H. sabdariffa* por medio de la inhibición de la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL). En tal sentido se evidenció que, para cada uno de los ensayos con las muestras obtenidas de pacientes sin hiperlipidemia, el extracto mostró una actividad inhibitoria comparable a lo reportado por otros estudios en los cuales han evaluado extractos como de té verde y de diversas frutas tropicales¹⁷⁻²⁰. A diferencia lo realizado en esta investigación, otros autores han evaluado in vivo el efectos hipolipemiente al suministrar extractos de *H. sabdariffa* cateterizados y proporcionado en dosis controlados, evidenciado una disminución significativa no solo de las LDL, si no también del colesterol total, triglicérido²¹⁻²³.

Un aspecto importante a resaltar es que la capacidad antioxidante de cualquier extracto, sea cual sea su origen está condicionada por diversos factores como internos y externos que afectan la calidad y cantidad de los compuestos fenólicos en las plantas, como la diversidad genética (variedad y origen de la muestra), etapa de madurez, variables ambientales (intensidad de la luz, clima, temperatura, uso de fertilizantes) ^{13,24}.

Por último los reportes a nivel mundial sugieren que los compuestos fenólicos en *H. sabdariffa* proporcionan suficiente evidencia de que este tipo de extracto puede ser un coadyuvante en el tratamiento de la hiperlipidemia en personas con obesidad ²⁵.

CONCLUSIONES

El consumo de bebidas a base de cálices de *H. sabdariffa* o su incorporación como aderezo en las comidas representa una excelente forma de consumir compuestos bioactivos que benefician a la salud. Es evidente que su alto contenido en fenoles totales esta relacionada con su capacidad antioxidante, en este caso en la inhibición de las LDL. Este estudio representa el primero en Venezuela que evalúa un extracto de *H. sabdariffa* a través de este método biológico, lo que impulsa a evaluar otros extractos y comparar así su efecto con lo hallado en esta investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ghazala R, Rajni C. A review on phytochemistry and therapeutic uses of *Hibiscus sabdariffa* L. *Biomedicine Pharmacoth*. 2018; 102(1):575-6.
2. Quideau S, Deffieux D, Douat-Casassus C, Pouységu L. Plant polyphenols: chemical properties biological activities, and synthesis. *Angew Chem Int*. 2011; 50:586-621
3. Ninfali P, Mea G, Giorgini S, Rocchi M, Bacchiocca M. Antioxidant capacity of vegetables, spices and dressings relevant to nutrition. *Br J Nutr*. 2005; 93:257-66.
4. Pacheco-Coello F, Ramirez-Azuaje D, Pinto-Catari I, Peraza-Marrero M, Orosco-Vargas C. propiedades de la flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), rica fuente de polifenoles. *Saber*. 2019; 31:44-55.
5. Gaviria C, Ochoa C, Sánchez N, Medina C, Lobo M, Galeano P. Actividad antioxidante e inhibición de la peroxidación lipídica de extractos de frutos de mortiño (*Vaccinium meridionale* Sw). *Blacpma*. 2005; 8(1):519-28.
6. Choksi RB, Boylston WH, Rabek WR, Widger JP. Oxidatively damaged proteins of heart mitochondrial electron transport complexes. *Biochim Biophys Acta*. 2004; 168: 95-10
7. B. Rojano, K. Zapata, F Cortés, Capacidad atrapadora de radicales libres de *Passiflora mollissima* (Kunth) L.H. Bailey (curuba), *Rev Cubana Plantas Med*. 2012; 17:408-19.
8. Da-Costa-Rocha I, Bonnlaender B, Sievers H, Pischel I, Heinrich M. *Hibiscus sabdariffa* L. A phytochemical and pharmacological review. *Food Chem*. 2014; 165:424-43.
9. Jafarian S, Mortazavi A, Kenari R.S, Rad A. H. E. Total phenolic content & antioxidant activity of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyces extracts. *J. Appl. Microbiol*. 2014; 9(9):165-169.

10. Van Deventer HE, Greg Miller W, Myers GL, Sakurabayashi I, Bachmann LM, Caudill SP et al. El colesterol no-HDL demuestra una mejor exactitud en el score de la clasificación del riesgo cardiovascular comparado con el colesterol LDL, directo o calculado, en una población dislipémica. *Acta Bioquim Clin Latinoam*. 2011; 45(4):773-84.
11. Armas Rojas NB, de la Noval García R, Dueñas Herrera A, Castillo Nuñez JC, Suárez Medina R, Castillo Guzmán A. Estimación del riesgo cardiovascular mediante tablas de la Organización Mundial de la Salud. Área de salud "Héroes del Moncada". *Rev Cubana Cardiol Cir Cardiovasc*. 2014; 20(1):34-55.
12. Argüeso Armesto R, Díaz Díaz JL, Díaz Peromingo JA, Rodríguez González A, Castro Mao M, Diz Lois F. Lípidos, colesterol y lipoproteínas. *Galicia Clin*. 2011; 72 (1):23-65
13. Reyes-Luengas A, Salinas-Moreno Y, Ovando-Cruz M, Arteaga-Garibay R. Análisis de ácidos fenólicos y actividad antioxidante de extractos acuosos de variedades de jamaica (*Hibiscus Sabdariffa* L.) con cálices de colores diversos. *Agrociencia*. 2015;49: 277-90
14. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Viticult*. 1965; 16 (3):144-158.
15. Thaipong K, Boonprakob U, Cisneros L, Hawkins D. Hydrophilic and lipophilic antioxidant activities of guava fruits. *J Food Comp Anal*. 2005; 36(4): 254-257.
16. Ruiz F, Giacomini M, Landaeta M, Bosch V. Susceptibilidad a la oxidación de las lipoproteínas de baja y muy baja densidad de plasma en escolares. *Ana Vene Nutri*. 2006; 19(1): 1-7.
17. Albarrán G, Mendoza E, Beltrán J. M. Influence of concentration on the radiolytic decomposition of thiamine, riboflavin, and pyridoxine in aqueous solution. *Rev Colomb Quim*. 2014; 43(3): 41-48.
18. Bresciani L, Calani L, Cossu M, Mena P, Sayegh M, Ray S. (Poly)phenolic characterization of three food supplements containing 36 different fruits, vegetable and berries. *Pharma Nutrition*. 2015; 3:11-19.
19. Zhao CN, Tang GY, Cao S.Y. Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of 30 Tea Infusions from Green, Black, Oolong, White, Yellow and Dark Teas. *Antioxidants*. 2019; 8(7): 200-15.
20. Peluso I, Serafini M. Antioxidants from black and green tea: from dietary modulation of oxidative stress to pharmacological mechanisms. *BJP*. 2017; 174, 1195-1208.
21. Gosain S, Ircchiya R, Sharma P. Hypolipidemic effect of ethanolic extract from the leaves of *Hibiscus sabdariffa* L. in hyperlipidemic rats. *Acta Pol Pharm*. 2010; 67(2):179-4.
22. Ubani C, Joshua E, Oraeki N. Influence of aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* calyces on lipid profile of phenobarbitone induces wistar albino rats. *J Phar Res*. 2010; 3(2):319-4.
23. Amiot M.J, Riva C, Vinet A. Effects of dietary polyphenols on metabolic syndrome features in humans: A systematic review. *Obes. Rev*. 2016; 17, 573-586.
24. Pacheco-Coello F, Ramirez-Azuaje D, Pinto-Catari C, Peraza-Marrero M, Orosco-Vargas C. Comparación de compuestos fenólicos totales en cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. de Venezuela. *Rev Colomb Cienc Quím Farm*. 2019; 48 (3):1-10.
25. Herranz-López M, Olivares-Vicente M, Encinar J, Barrajón-Catalán E, Segura-Carretero A. Multi-Targeted Molecular Effects of *Hibiscus sabdariffa* Polyphenols: An Opportunity for a Global Approach to Obesity. *Nutrients* 2017; 9(9): 1-26

