

## ARTICULO ORIGINAL/ORIGINAL ARTICLE

# Potencial terapéutico del género *Hibiscus*: Un análisis *in vitro* de la actividad biológica de extractos acuosos de cinco especies

## Therapeutic potential of the genus *Hibiscus*: An *in vitro* analysis of the biological activity of aqueous extracts of five species

Haydimar Páez y Franklin Jesús Pacheco Coello\*

Universidad de Carabobo, Departamento de Ciencias Básicas, Instituto de Investigaciones Biomédicas “Dr. Francisco Triana Alonso” (Biomed), Sección de Bioquímica Farmacológica, Laboratorio de Metales Pesados y Solventes Orgánicos, Centro de Estudio en salud de los Trabajadores (CEST-UC), Calle Ruiz Pineda, La Morita II, Sector Santa Rita, estado Aragua, Código Postal 2103, Venezuela .

### Article history:

Received September 10, 2023

Received in revised form

September 13, 2023

Accepted September 13, 2023

Available online October 31, 2023

### \* Corresponding author:

Franklin Jesús Pacheco Coello

Electronic mail address:

[fpacheco2@uc.edu.ve](mailto:fpacheco2@uc.edu.ve)

Número telefónico:

(0241)6004000

[http://orcid.org/0000-0002-2765-](http://orcid.org/0000-0002-2765-4069)

4069

## RESUMEN

**Introducción:** Entre los géneros de plantas que han sido estudiados por su uso medicinal se encuentra el género *Hibiscus* spp., perteneciente a la familia de las *Malvaceae*, los cuales son arbustos o árboles, y en menor frecuencia hierbas. De este género la especie más representativa y estudiada es *Hibiscus sabdariffa*, también conocida en diversas partes del mundo como rosa de Jamaica, rosa de Abisinia o flor de Jamaica. **Objetivo:** considerando la importancia de este género en la medicina tradicional, se tuvo objetivo caracterizar y evaluar el potencial antioxidante por un método químico y otro biológico, de extractos acuosos de cinco especies del género *Hibiscus*. **Materiales y métodos:** Los extractos se prepararon empleando cálices de *H. sabdariffa* y pétalos deshidratados de las especies, *H. rosa-sinensis*, *H. arnottianus*, *H. cannabinus* y *H. mutabilis*. Se realizó la caracterización por UV/Visible y la actividad antioxidante se determinó por el método del DPPH y por la Inhibición del efecto hemolítico de dos xenobióticos (peróxido de hidrogeno y carbonato de calcio). **Resultados:** Los ensayos de la evaluación de la actividad antihemolítica de los extractos arrojaron que las especies *H. sabdariffa* y *H. cannabinus* presentaron una mayor protección al emplearse diluidos 1/4 y 1/8, con diferencia estadística (\*\* $p < 0,05$ ) respecto al control de hemólisis constituido por el  $H_2O_2$ . En relación al efecto antihemolítico en presencia de  $CaCO_3$ , se observó un comportamiento semejante para las especies de *H. sabdariffa* y *H. cannabinus*. Para *H. rosa-sinensis* hubo disminución de la hemólisis en las dos últimas diluciones del extracto. **Conclusión:** si bien las plantas aportan e inspiran a la ciencia, es vital dar conocimiento a la población en general de los posibles efectos tóxicos de estas plantas y de su correcto uso.

*Palabras claves:* flavonoides, planta medicinal, antioxidante, actividad biológica

## ABSTRACT

**Introduction:** Among the plant genera that have been studied for their medicinal use is the genus *Hibiscus* spp., belonging to the *Malvaceae* family, which are shrubs or trees, and less frequently herbs. Of this genus, the most representative and studied species is *Hibiscus sabdariffa*, also known in various parts of the world as Jamaica rose, Abyssinian rose or Jamaica flower. **Objective:** considering the importance of this genus in traditional medicine, the objective was to characterize and evaluate the antioxidant potential by a chemical and a biological method, of aqueous extracts of five species of the *Hibiscus* genus. **Materials and methods:** The extracts were prepared using calyxes of *H. sabdariffa* and dehydrated petals of the species, *H. rosa-sinensis*, *H. arnottianus*, *H. cannabinus* and *H. mutabilis*. UV/Visible characterization was carried out and the antioxidant activity was determined by the DPPH method and by the Inhibition of the hemolytic effect of two xenobiotics

(hydrogen peroxide and calcium carbonate). **Results:** The tests evaluating the antihemolytic activity of the extracts showed that the species *H. sabdariffa* and *H. cannabinus* presented greater protection when used diluted 1/4 and 1/8, with a statistical difference (\*\* $p < 0.05$ ) with respect to the hemolysis control constituted by  $H_2O_2$ . In relation to the antihemolytic effect in the presence of  $CaCO_3$ , a similar behavior was observed for the *H. sabdariffa* and *H. cannabinus* species. For *H. rosa-sinensis* there was a decrease in hemolysis in the last two dilutions of the extract. **Conclusion:** although plants contribute and inspire science, it is vital to inform the general population of the possible toxic effects of these plants and their correct use.

**Keywords:** flavonoids, medicinal plant, antioxidant, biological activity

## INTRODUCCIÓN

El uso de prácticas complementarias para la preservación de la salud, es tan antiguo como la aparición de la especie humana, ya que, desde el principio de la civilización, se han constituido como parte fundamental de las prácticas de atención familiar y comunitaria. Entre las distintas prácticas complementarias utilizadas, destaca el uso de plantas medicinales que siempre ha ocupado un lugar destacado para la preservación de la salud (1).

Al respecto del uso de las plantas medicinales como alternativa terapéutica, la Organización Mundial de la Salud (OMS), las define como toda especie vegetal en la que el todo o una parte, está dotada de actividad farmacológica. Sin embargo, se hace necesario transmitir la idea a la sociedad, de que todo fitopreparado empleado con fines terapéuticos (preventivo, curativo, sintomático) puede ser un medicamento, pero es imperativo exigir el cumplimiento de los parámetros propios de los mismos tales como calidad, seguridad y eficacia (2).

En el uso cotidiano de las plantas medicinales, se pueden presentar situaciones en las cuales se emplean de manera descontrolada debido al bajo costo y a la creencia popular de que los productos naturales no pueden producir efectos tóxicos adversos. Tal es el auge en el uso de plantas con fines terapéuticos, que actualmente existen aproximadamente 20.000 productos de hierbas medicinales en el mercado a nivel mundial. En la mayoría de los países, las hierbas son introducidas al mercado sin la evaluación toxicológica y de seguridad correspondiente (3).

Este uso indiscriminado de las plantas medicinales se ha visto incrementado con el advenimiento de la

pandemia por SARS-CoV-2, donde se evidenció un aumento en el consumo de las infusiones de plantas durante el primer trimestre de la misma (4). Entre los géneros de plantas que han sido estudiados por su uso medicinal se encuentra el género *Hibiscus* spp., perteneciente a la familia de las Malvaceae, los cuales son arbustos o árboles, y en menor frecuencia hierbas. De este género la especie más representativa y estudiada es *Hibiscus sabdariffa*, también conocida en diversas partes del mundo como rosa de Jamaica, rosa de Abisinia o flor de Jamaica. Las plantas de este género, presentan alto contenido de fibra dietética, proteínas, minerales, vitaminas y una elevada capacidad antioxidante atribuido a los compuestos fenólicos (flavonoides y antocianinas), cuyas concentraciones varían, debido probablemente, a las diferentes variedades de plantas, condiciones genéticas, ambientales, ecológicas y de cosecha (4,5).

En tal sentido es imprescindible realizar el estudio de otras especies de las cuales se desconocen o se tiene poca información de su potencial efecto sobre la salud de la población. Considerando que actualmente se emplean como medicina alternativa otras especies del género *Hibiscus*, surge la necesidad de evaluar la concentración de compuestos bioactivos, la presencia de actividades antioxidante, hemolítica y antihemolítica de los extractos acuosos de cinco especies del género *Hibiscus* (*Hibiscus sabdariffa*, *Hibiscus rosa-sinensis*, *Hibiscus arnottianus*, *Hibiscus cannabinus* y *Hibiscus mutabilis*). Con todo ello, se pretende aportar más datos sobre las actividades de otras especies del género que podrían tener potencial utilidad para beneficio de la salud.

## MÉTODOLÓGÍA

### **Tipo de investigación**

La presente investigación fue llevada a cabo bajo la modalidad descriptiva-experimental. En primer lugar, se determinó la concentración de compuestos fenólicos totales (CFT), flavonoides totales (FT) y antocianinas que posee el material vegetal de las cinco especies en estudio, *H. sabdariffa*, *H. rosasinensis*, *H. arnottianus*, *H. cannabinus* y *H. mutabilis*. Partiendo de la concentración de CFT obtenida, se procedió a preparar cinco concentraciones (diluciones seriadas) de los extractos acuosos de las cinco especies del género *Hibiscus* antes señaladas (variable independiente) para proceder a determinar su efecto sobre una suspensión de glóbulos rojos (variable dependiente), a fin de evaluar la actividad antioxidante por métodos químicos y biológicos, y por otro lado determinar la actividad hemolítica y antihemolítica que ejercen los extractos sobre la suspensión.

### **Material vegetal**

El material vegetal estuvo constituido por los pétalos de cuatro especies del género *Hibiscus* en estudio y los cálices de *H. sabdariffa*. La recolección se realizó a partir de los arbustos de las especies *H. sabdariffa*, *H. rosa-sinensis*, *H. arnottianus*, *H. cannabinus* y *H. mutabilis*, y también de cálices deshidratados de *H. sabdariffa*, los cuales fueron secados y almacenados a temperatura ambiente, con escasa aireación y bajo sombra, para evitar la acción del oxígeno, la luz, la temperatura y microorganismos; factores que podrían transformar los compuestos originales en artefactos (6). Posteriormente, fueron procesados en el Laboratorio de Metales Pesados de la Universidad de Carabobo sede Aragua.

### **Procedimiento experimental**

#### **Preparación de extractos acuosos**

Una vez obtenidos los pétalos totalmente deshidratados de las especies de *Hibiscus* en estudio, se procedió a triturarlos manualmente usando una bola molino, hasta obtener un tamaño

de partícula menor a 1 mm. Posteriormente, se pesaron 2,5 g del material vegetal, se colocaron en un vaso de precipitado con 250 mL de agua destilada y se llevaron a una plancha de calentamiento a 150 °C hasta su ebullición. Luego, se dejó enfriar a temperatura ambiente, y se procedió a filtrar utilizando papel de filtro Whatman número 4 (7).

#### **Preparación de suspensión de eritrocitos**

Para llevar a cabo la separación de células sanguíneas humanas, se procedió a la extracción de 5 mL de sangre de la vena del antebrazo de un donante. La muestra fue colocada en un tubo con el anticoagulante etilendiaminotetraacético (EDTA). El proceso para la separación de los eritrocitos comenzó con la centrifugación de la sangre por 5 minutos a 1500 rpm (rotor Beckman® JA-20), a temperatura ambiente; se recogieron con sumo cuidado, para evitar riesgo de hemólisis. Se descartó el plasma y luego se tomó 1 mL del paquete celular, se dividió en dos alícuotas de 500 µL (A y B) que se lavaron con 600 µL de solución salina tamponada con fosfato (PBS) para descartar el resto del plasma. Se resuspendieron en PBS glucosilado para luego ser centrifugados a 1500 rpm por 12 minutos (8). La suspensión final de eritrocitos fue destinada para los ensayos de evaluación de actividad hemolítica y antihemolítica.

#### **Determinación de compuestos fenólicos totales (Método colorimétrico de Folin-Ciocalteu)**

La determinación de compuestos fenólicos totales se realizó mediante el Método colorimétrico de Folin-Ciocalteu en el material vegetal de las especies de *Hibiscus* en estudio. Para ello, se procedió a mezclar 50 µL de cada uno de los extractos acuosos con 125 µL del reactivo de Folin y 400 µL de carbonato de sodio al 7,1% (m/v), completándose con agua destilada hasta 1 mL. Este procedimiento se realizó por quintuplicado. Por consiguiente, se prepararon cinco patrones a concentraciones de 50, 100, 150, 200 y 250 µg/mL, a partir de una solución patrón madre de ácido gálico con 500 µg/mL. La lectura se realizó en un

espectrofotómetro a 760 nm, expresándose los resultados como mg de ácido gálico equivalente en 100g de material vegetal (8).

### **Determinación de flavonoides (Método colorimétrico)**

Para la determinación de flavonoides mediante el método colorimétrico, se procedió según lo establecido por Marinova *et. al.* (2005). En primer lugar, se mezclaron 100 µL del extracto acuoso con 30 µL de NaNO<sub>2</sub> al 5% (m/v), 30 µL de AlCl<sub>3</sub> 10% (m/v), 200 µL de NaOH 1 M; ajustando con agua destilada hasta un volumen final de 1 mL. Posteriormente, se realizó la lectura a 510 nm y se comparó con la curva patrón usando como estándar catequina. Los resultados se expresaron como equivalente de catequina en mg/g de material vegetal (9).

### **Determinación de Antocianinas**

1 ml de cada extracto se añadió a 5 ml agua destilada a una temperatura de 50 °C. Una vez alcanzada la temperatura ambiente se le añadió 1 ml y solución de cloruro férrico al 0,1%. De acuerdo al aspecto de color verde pardusco o coloración azul negro confirma la presencia antocianinas reportándose en cruces.

### **Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH**

Para la actividad antioxidante se empleó el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (Sigma Aldrich Co®) con una solución 100 µM de DPPH en metanol al 80%, la cual permite observar una disminución de la absorbancia, debido a la cesión de un átomo de hidrógeno por parte de los compuestos antioxidantes presentes en los extractos. En una cubeta de vidrio se colocó 100 µL de extracto acuoso y 2,9 mL de DPPH. La absorbancia fue monitoreada cada 5 min por 30 min a una longitud de onda de 515 nm. La absorbancia de referencia (A<sub>0</sub>) se obtuvo al sustituir el volumen de extracto por metanol al 80%. El porcentaje de reducción de DPPH se obtuvo de la expresión:  $DPPH (\%) = (A_0 - A_n) 100 / A_0$ , donde A<sub>0</sub> y A<sub>n</sub> serán las

absorbancias de referencia y de la muestra, respectivamente. Se empleó una solución patrón de ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico (TROLOX ≤100% de la actividad antioxidante) (8,10).

### **Evaluación de actividad hemolítica**

Para la evaluación de la actividad hemolítica de los extractos acuosos, se trabajó con el extracto puro y con concentraciones de 5, 10, 15, 20, 25, 30 mg de ácido gálico (fenol)/ml. Se tomó un volumen de 500 µL de suspensión de glóbulos rojos y se incubó con 500 µL de la combinación del extracto puro y de cada concentración por 5 min a 37 °C; después de este tratamiento, se centrifugó 8.000 rpm por 12 minutos y el sobrenadante fue usado para medir la hemoglobina libre a una longitud de onda 540 nm, empleando el equipo de absorción molecular Génesis 20 (Thermo Scientific). Se empleó un control de hemólisis (≈100%) y no hemólisis (≈0%), usando H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 3% y solución salina al 95% (NaCl) (8).

### **Evaluación de actividad antihemolítica en presencia de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**

Para la evaluación de la actividad antihemolítica de los extractos acuosos, se trabajó con el extracto puro y con concentraciones de 5, 10, 15, 20, 25, 30 mg de ácido gálico (fenol)/ml. Del extracto puro y de cada una de las diferentes concentraciones, se tomó 1mL y se combinó con 1mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 3%, incubándose por 5 minutos a 37 °C. Posteriormente, un volumen de 200 µL de suspensión de glóbulos rojos se incubó con 800 µL de la combinación del extracto y el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, por 5 minutos a 37 °C; después de este tratamiento, se centrifugó a 8.000 rpm durante 12 minutos y el sobrenadante fue usado para medir la hemoglobina libre a una longitud de onda 540 nm, empleando el equipo de absorción molecular Génesis 20 (Thermo Scientific). Se empleó un control de hemólisis (≈100%) y no hemólisis (≈0%), usando H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 3% y solución salina al 95% (NaCl) (8).

### Evaluación de actividad antihemolítica en presencia de carbonato de calcio (CaCO<sub>3</sub>)

Se procedió según lo descrito en el punto anterior, pero combinando el extracto puro y las diluciones con 1 mL de CaCO<sub>3</sub> al 5%, incubándose por 5 minutos a 37 °C. Posteriormente, un volumen de 200 µL de suspensión de glóbulos rojos se incubó con 800 µL de la combinación del extracto y el CaCO<sub>3</sub>, por 5 minutos a 37 °C; después de este tratamiento, se centrifugó a 8.000 rpm durante 12 minutos y el sobrenadante fue usado para medir la hemoglobina libre a una longitud de onda 540 nm, empleando el equipo de absorción molecular Génesis 20 (Thermo Scientific). Se empleó un control de hemólisis (≈100%) y no hemólisis (≈0%), usando CaCO<sub>3</sub> al 5% y solución salina al 95% (NaCl) (10).

### Análisis de datos

Las determinaciones de compuestos fenólicos totales y flavonoides se realizaron por triplicado, expresándose como medias ± desviación estándar. Referente a la actividad antihemolítica, se aplicó un análisis de varianza de dos vías con interacción (ANOVA), usando el programa Statistix 9.0 para Windows.

## RESULTADOS

### Concentración de compuestos fenólicos totales, flavonoides e identificación de antocianinas en los extractos de cinco especies del género *Hibiscus*

La caracterización fitoquímica de los extractos arrojó que las especies *H. cannabinus* y *H. sabdariffa* fueron las que presentaron la mayor concentración de biomoléculas, mientras que la especie *H. arnottianus*, presentó el menor contenido de compuestos fenólicos totales y flavonoides totales, sin detección de antocianinas (Tabla 1).

### Determinación de la actividad antioxidante de los extractos acuosos de cinco especies del género *Hibiscus* por el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

En la Figura 1, se observa que los extractos de *H. sabdariffa* y *H. cannabinus* fueron los que presentaron el menor porcentaje de reducción, con diferencia significativa respecto al control de reducción ≤ al 100 del metanol.

### Determinación de la actividad hemolítica de los extractos acuosos de cinco especies del género *Hibiscus*

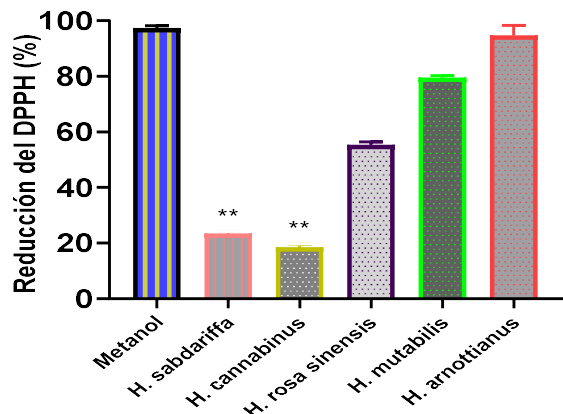
En la Figura 2 se observa como los extractos acuosos de las especies *H. sabdariffa* y *H. cannabinus* fueron los que presentaron un mayor porcentaje de hemólisis significativamente frente a las otras especies en estudio.

**Tabla 1.** Perfil fotoquímico de los extractos acuosos de cinco especies del género *Hibiscus*

**Table 1.** Photochemical profile of the aqueous extracts of five species of the *Hibiscus* genus

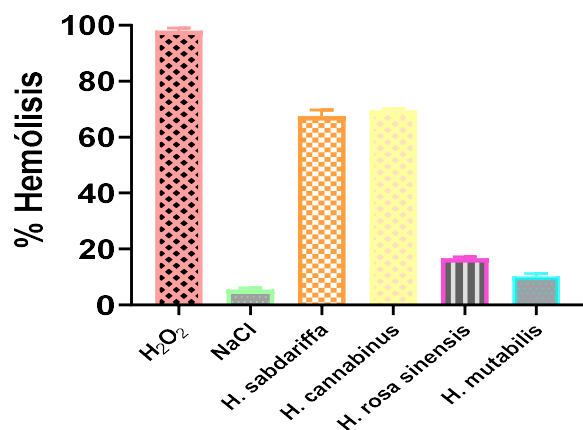
Especie	CFT (mg/ml)	FT (mg/ml)	Antocianinas
<i>H. cannabinus</i>	210,2 ± 0,98	167,8 ± 1,42	++++
<i>H. sabdariffa</i>	160,02 ± 1,43	110,21 ± 1,12	+++
<i>H. rosa-sinensis</i>	98,21 ± 2,43	55,2 ± 0,12	+
<i>H. mutabilis</i>	65,09 ± 1,17	39,43 ± 0,23	+
<i>H. arnottianus</i>	26,21 ± 1,02	10 ± 1,12	nd

Nota: valores expresados como media y desviación estándar



**Figura 1.** Efecto antioxidante de los extractos por el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

**Figure 1.** Antioxidant effect of the extracts by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical method  
 \*\**H. sabdariffa*  $p=0,023$ ; \*\**H. cannabinus*  $p=0,019$



**Figura 2.** Actividad hemolítica de los extractos de cinco especies del género *Hibiscus*

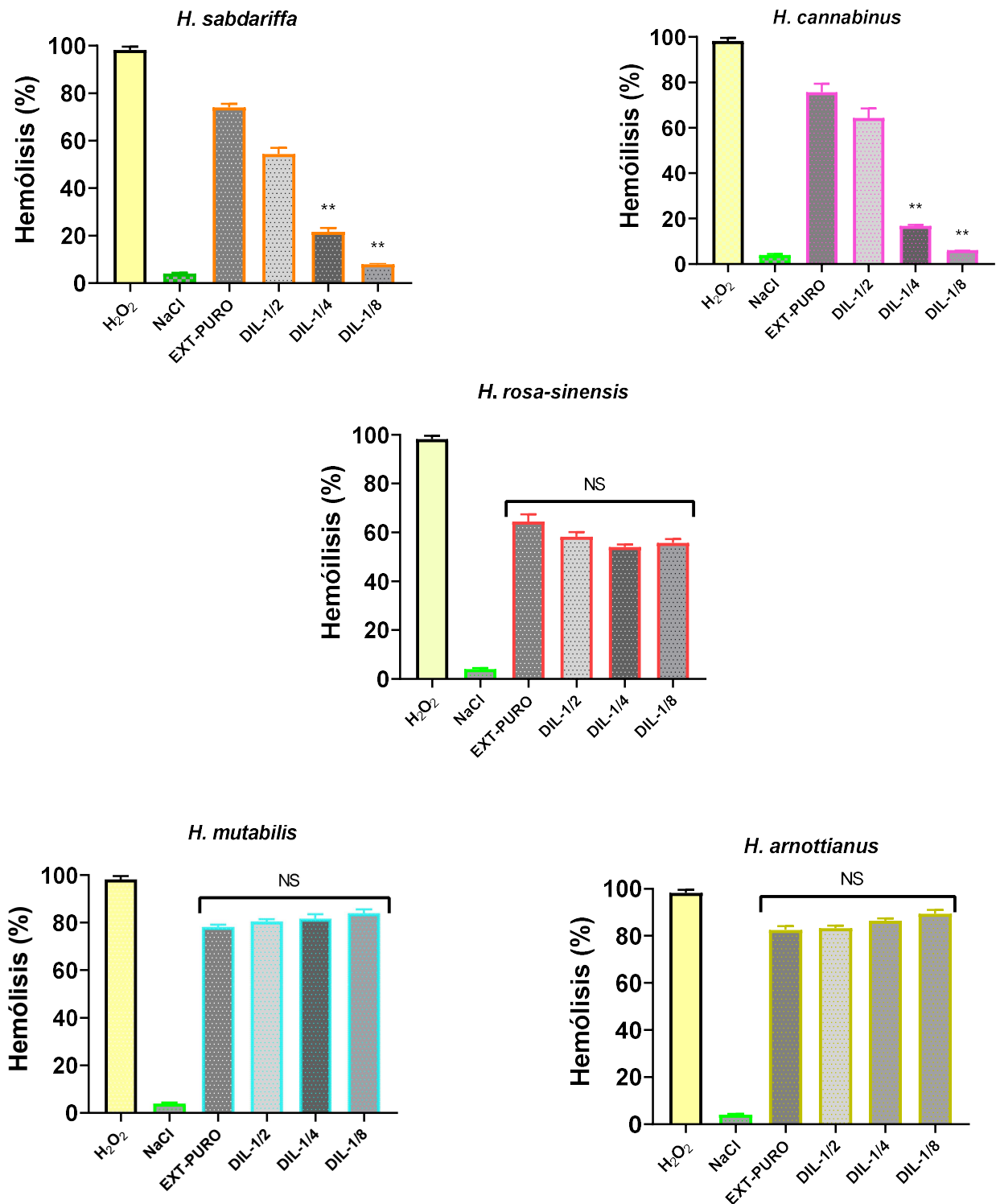
**Figure 2.** Hemolytic activity of extracts from five species of the genus *Hibiscus*

### Evaluación de actividad antihemolítica en presencia de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Los ensayos de la evaluación de la actividad antihemolítica de los extractos arrojaron que las especies *H. sabdariffa* y *H. cannabinus* presentaron una mayor protección al emplearse diluidos 1/4 y 1/8, con diferencia estadística (\*\* $p<0,05$ ) respecto al control de hemólisis constituido por el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Para las especies *H. rosa-sinensis*, el porcentaje de inhibición estuvo alrededor del 60%, sin diferencia significativa ( $p>0,05$ ). Referente a las especies *H. mutabilis* y *H. arnottianus*, no se observó inhibición significativa de la hemólisis ( $p>0,05$ ) (Figura 3).

### Evaluación de la actividad antihemolítica de los extractos en presencia de carbonato de calcio (CaCO<sub>3</sub>)

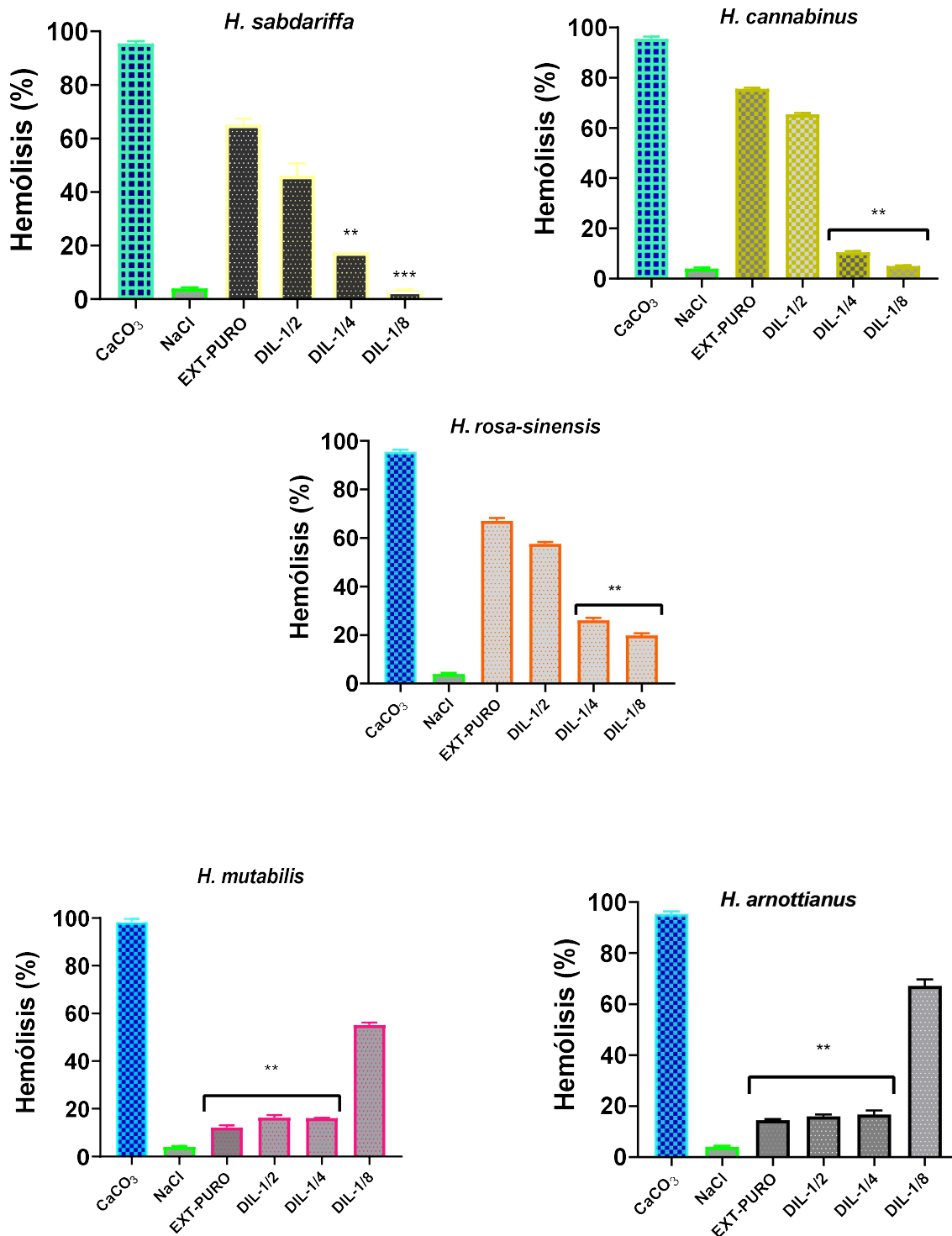
En relación al efecto antihemolítico en presencia de CaCO<sub>3</sub>, se observó un comportamiento semejante para las especies de *H. sabdariffa* y *H. cannabinus*. Para *H. rosa-sinensis* hubo disminución de la hemólisis en las dos últimas diluciones del extracto. Las especies *mutabilis* y *arnottianus* constituyeron las dos especies con el mejor comportamiento frente al CaCO<sub>3</sub>, observándose hemólisis solo en la última dilución (Figura 4).



**Figura 3.** Evaluación de la actividad antihemolítica de los extractos en presencia de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

**Figure 3.** Evaluation of the antihemolytic activity of the extracts in the presence of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

\*\**H. sabdariffa* p=0,018; \*\**H. cannabinus* p=0,015



**Figura 4.** Actividad antihemolítica de los extractos en presencia de carbonato de calcio (CaCO<sub>3</sub>)

**Figure 4.** Antihemolytic activity of the extracts in the presence of calcium carbonate (CaCO<sub>3</sub>)

*H. sabdariffa* dil 1/4 \*\*p=0,017, dil 1/8 \*\*\*p=0,008; *H. cannabinus* \*\*p=0,014-0,013; *H. rosa-sinensis* \*\*p=0,014-0,015; *H. mutabilis* y *H. arnottianus* valore de \*\*p alrededor de 0,010.

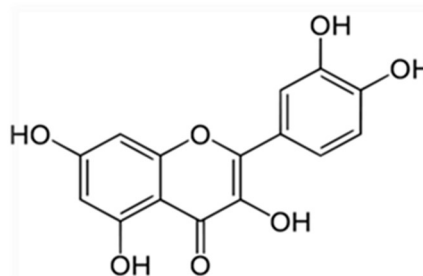
## DISCUSIÓN

El interés de utilizar productos naturales es muy común en la actualidad, ya que la medicina tradicional ha permitido el descubrimiento de una diversidad fármacos, a partir del aislamiento de compuestos bioactivos, que para la creencia popular son menos tóxicos que las sustancias sintéticas. Esa búsqueda de nuevas alternativas nos impulsa a descubrir si materiales de origen natural pueden poseer una actividad biológica importante. Considerando que estas biomoléculas son la inspiración para futuros fármacos y que dentro del género *Hibiscus*, hay especies que han sido muy poco abordadas o estudiadas, el presente estudio tuvo como objetivo la caracterización fitoquímica y evaluación antioxidante por medio de métodos químicos y biológicos de las especies *H. sabdariifa*, *H. rosa-sinensis*, *H. cannabinus*, *H. mutabilis* y *H. arnottianus*.

En relación al perfil fitoquímico, es llamativo que la especie con mayor contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y presencia de antocianinas fué *H. cannabinus*, considerando que los estudios publicados por Riaz y cols., (2018) y Pacheco y cols., (2019) entre las especies de este género, *H. sabdariffa* es la más representativa respecto a la presencia de estas biomoléculas. Esto puede estar atribuido a diversos factores, entre los cuales destacan la calidad del suelo, genética de la planta y variabilidad climática, por tal motivo es imposible que la población en general que usan estas especies con fines medicinales consuma siempre una misma dosis de estos compuestos (11,12). Así mismo Sogo y cols., (2015) reportaron que los compuestos fenólicos como quercetina-3-glucósido, kaempferol-ramnósido, ácido neoclorogénico ácido clorogénico, quercetina-3-galactósido son los compuestos más representativos es las especies del género *Hibiscus* (13).

Diversos estudios señalan que para la evaluación de la actividad antioxidante es fundamental la aplicación de dos o más métodos, bien sea químicos o biológicos (14, 15, 16). Referente a la

evaluación de la actividad antioxidante el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), se observó que existe una relación directa con el contenido de compuestos fenólicos, con gran número grupos oxidrilos sustituyentes así como del peso molecular de estos compuestos(**Figura 5**)(13, 17).



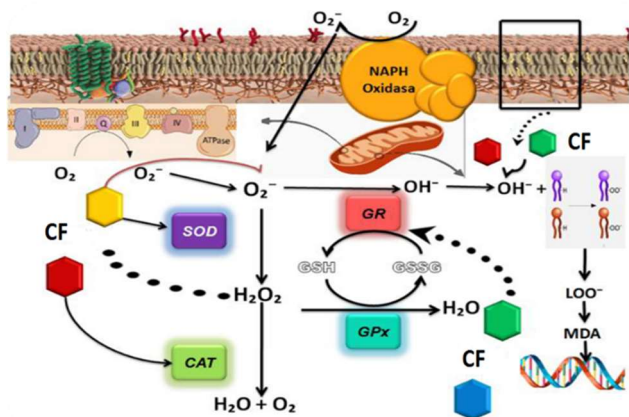
**Figura 5.** Estructura química del flavonoide quercetina con sus grupos oxidrilos

**Figure 5.** Chemical structure of the flavonoid quercetin with its oxydryl groups

Previo a la evaluación del efecto antihemolítico de los extractos en presencia de peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) y carbonato de calcio ( $CaCO_3$ ), se determinó en porcentaje de hemólisis de los extractos puros, en la cual se pudo observar que al exponer la suspensión de globulos rojos a los extractos de *H. sabdariffa* y *H. cannabinus* originaron un porcentaje de hemólisis muy semejante al control de 100% hemólisis. Por otra parte las especies *H. rosa-sinensis*, *H. mutabilis*, *H. arnottianus* presentaron porcentajes de hemolisis inferiores al control con diferencia estadística ( $p < 0,05$ ). Este comportamiento puede ser atribuido al contenido de compuestos biactivos que originan o crean un medio hiperosmótico ocasionando ruptura de la membrana celular, es decir, hemólisis (18,19).

Ahora bien para dar explicación a la actividad antihemolítica de los extractos en presencia de los xenobióticos anteriormente mencionados, es importante destacar el papel que estos tienen a nivel intracelular. En la **Figura 6** se detalla como los compuesto fenólicos presentes en los extractos son capaces de estimular diversas enzimas como la súper oxido dismutasa, catalasa y glutatión

reductasa, es decir, su actividad está más asociada a la estimulación celular para la síntesis de estas enzimas y evitar daños a la membrana por la inhibición de la lipo-oxidación (11,12).



**Figura 6.** Efecto de los compuestos fenólicos (CF), a nivel intracelular

**Figure 6.** Effect of phenolic compounds (CF), at the intracellular level

Súper oxido dismutasa (SDO), catalasa (CAT) y glutatión reductasa (GR).

Tal y como se expresó en los resultados, los extracto de menor contenido en compuestos fenólicos (*H. rosa-sinensis*, *H. mutabilis*, *H. arnottianus*), fueron los que mostraron una mejor actividad antihemolítica en presencia de  $H_2O_2$ , esto se puede atribuir a la concentración de  $H_2O_2$  empleada en el estudio que reacciona en su totalidad y casi de forma equivalente con los compuestos fenólicos, quedando muy pocas biomoléculas sin reaccionar con el  $H_2O_2$ . Además que el contenido de OH en las estructuras de los flavonoides son de importancia en el fenómeno descrito.

Esto nos permite entonces comprender porque los extractos de *H. sabdariffa* y *H. cannabinus* originaron hemólisis, ya que posiblemente este quedando remanentes de biomoléculas sin reaccionar y origina un ambiente poco viable para le glóbulo rojo, conllevado a la hemólisis del mismo. Con respecto al  $CaCO_3$  el efecto observado fue inverso, es decir, la hemólisis se incrementa a medida que se diluye el extracto originando

hemólisis que se puede relacionar con un remanente de  $CaCO_3$ , sin reaccionar.

Comprando con otros estudio se tiene que Duran y col., (2013) evaluaron el efecto citotóxico y antihemolítico de extractos metanólicos de corteza de guayaba verdes y mango, utilizando como modelo el eritrocito; demostrando deformabilidad en su membrana, y a su vez, observando que la Guayaba tuvo mayor inhibición hemolítica inducida por peróxido de hidrógeno, con un porcentaje de muerte celular inferior al 20%, lo que en consecuencia produjo que ambas cortezas presentaron una gran cantidad de polifenoles con propiedades antioxidantes, demostrando inhibir la citotoxicidad(20). Aunado a este estudio, se encuentra el trabajo de Pacheco-Coello y cols., (2021), donde evaluaron la actividad antihemolítica *in vitro* de *Camellia sinensis*, hallaron una inhibición significativa de la hemólisis inferiendo que la actividad antihemolítica, depende la presencia de moléculas capaces de reducir el estrés oxidativo (12).

## CONCLUSIÓN

Era de esperar se una variabilidad de los compuestos bioactivos entre las especies, sin embargo, sorprende como *Hibiscus cannabinus*, constituya la especie mayor concentración de las evaluadas en el estudio. Por otra parte es de resaltar la mejor actividad en lo referente a la actividad antihemolítica de los compuestos fenólicos, que por más capacidad antioxidante posean también pueden originar hemólisis a nivel *in vitro*.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

## REFERENCIAS

1. Botero, M. (2017). *Micropropagación de tres especies del género Hibiscus*. Par optar al título de Licenciada en Biología, Universidad Central de Venezuela, Caracas. <http://hdl.handle.net/10872/15728>
2. Falcón, L. J., Alonso-Geli, M. Y., Alonso-Moreno, M. Y., E., & Lucambio-Miró, E. L.

- (2015). Characterization of osmotic fragility of human erythrocytes in chronic haemolytic anemia. *Revista Cubana De Química*, 27(2), 110–118. Retrieved from <https://cubanaquimica.uo.edu.cu/index.php/cq/article/view/250>
3. Gamboa, J. V. (2019). Contenido de antocianinas y actividad antioxidante *in vitro* de *Hibiscus sabdariffa* L. (Flor de jamaica) procedente de Huaura-Huacho. Repositorio: UCV-Institucional <https://hdl.handle.net/20.500.12692/40383>
  4. González, F., Torres, L., Romero, L., Pogyo, G., Sarmiento, M. y Abad, N. (2020). La medicina Herbaria como prevención y tratamiento frente al Covid 19. *REVISTA AVFT "archivos Venezolanos de farmacología y terapéutica"*, 39(8), 948-953. <http://doi.org/10.5281/zenodo.4543573>.
  5. Navarro, M. (2000). Uso racional de las plantas medicinales. *Revista Pharm Care Esp*, 2(1), 9-19.
  6. Heisler, E., Budó, M., Schimith, M., Badke, M., Ceolin, S. y Heck, R. (2015). Uso de plantas medicinales en el cuidado de la salud: la producción científica de tesis y disertaciones de enfermería brasileña. *Revista electrónica Trimestral de enfermería "Enfermería Global"*, 14(3), 390-403.
  7. Hostettmann, K. (2008). *Manual de estrategias para el aislamiento de productos naturales bioactivos*. Bogotá-Colombia: Convenio Andrés Bello.
  8. Pacheco-Coello, F., Pinto-Catari, I., Ramirez-Azuaje, D., Orosco-Vargas, C. y Peraza-Marrero, M. (2021). Evaluación *in vitro* de la actividad antihemolítica de extractos acuosos (*Camellia sinensis*, *Hibiscus sabdariffa* Linn), bajo un diseño factorial 2x5. *Ciencia y salud*, 5(1), 5–10.
  9. Marinova, D., Ribarova, F. y Atanassova, M. (2005). Fenólicos totales y flavonoides totales en frutas y verduras búlgaras. *Revista de Tecnología Química y Metalurgia*, 40(3), 255-60.
  10. Peluso, I. y Serafini, M. (2017). Antioxidantes del té negro y verde: de la modulación dietética del estrés oxidativo a los mecanismos farmacológicos. *Revista Farmacológica Br J*, 174(11), 1195-208.
  11. Pacheco, F., Pinto, I., Ramirez, D., Peraza, M. y Orosco, C. (2020). Compuestos bioactivos y evaluación de la actividad antioxidante de cálices y hojas de *Hibiscus sabdariffa* Linn. *Bioscientia*, 3(5), 12-18.
  12. Riaz G, Chopra R. A review on phytochemistry and therapeutic uses of *Hibiscus sabdariffa* L. *Biomed Pharmacother*. 2018 Jun;102:575-586. doi: 10.1016/j.biopha.2018.03.023. Epub 2018 Apr 5. PMID: 29597091.
  13. Sogo T., Terahara N., Hisanaga A., Kumamoto T., Yamashiro T., Wu S., Sakao K., Hou D.X. Anti-inflammatory activity and molecular mechanism of delphinidin 3-sambubioside, a *Hibiscus* anthocyanin. *BioFactors*. 2015;41:58–65. doi: 10.1002/biof.1201.
  14. Fu L, Xu Bt, Xu Xr, Gan Ry, Zhang Y, Xia Eq, Li Hb. (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chem*. 129(1):345-350.
  15. Gan Ry, Li Hb, Gunaratne A, Sui Zq, Corke H. (2017). Effects of fermented edible seeds and their products on human health: Bioactive components and bioactivities. *Food Sci*. 16(29):489-531
  16. Raba Dn, Chambre Dr, Copolovici Dm, Moldovan C, Copolovici Lo. (2018). The influence of high-temperature heating on composition and thermo-oxidative stability of the oil extracted from Arabica coffee beans. *PLoS ONE*. 13(17):1-9.
  17. Williamson G., Kay C.D., Crozier A. The Bioavailability, Transport, and Bioactivity of Dietary Flavonoids: A Review from a Historical Perspective. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf*. 2018;17:1054–1112. doi: 10.1111/1541-4337.12351.
  18. Anosike, C.A., Igboegwu, O.N. y Nwodo, O.F.C. (2018). Antioxidant properties and membrane stabilization effects of methanol extract of *Mucuna pruriens* leaves on normal and sickle erythrocytes. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2017.08.002>
  19. Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Esin-Celik, S., Berktasoglu, B., Berker I. y Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12, 1496-1547.

20. Durán, M., Montero, P. y Marrugo, Y. (2013). *Extractos metanólicos de corteza de guayaba (Psidium guajava L.) y mango (Mangifera indica L.): efecto citotóxico, antihemolítico y en la morfología de membrana de eritrocitos*. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, 16(2), 327–334. <https://doi.org/10.31910/rudca.v16.n2.2013.904>



**Mexican Academy of Health Education A.C. Membership:** Our commitment is to keep professionals and students in training updated in this constantly evolving area. If you are interested in being part of our community and accessing exclusive benefits, the first step is to obtain your membership. Join us and stay up to date with advances in health education.

MEMBERSHIP SUBSCRIPTION IS FREE.  
Request your membership to the  
<https://forms.gle/kVYBYRdRnYZff14y9>

