

<sup>1</sup>Francisco Hernández-Pérez,

<sup>2</sup>Armando Herrera-Arellano

<sup>1</sup>Departamento de Educación e Investigación en Salud, Hospital General de Zona 1-A Venados, Distrito Federal, México

<sup>2</sup>Centro de Investigación Biomédica del Sur, Xochitepec, Morelos

Instituto Mexicano del Seguro Social

# Tratamiento de la hipercolesterolemia con *Hibiscus sabdariffa*

## Ensayo clínico aleatorizado controlado

Comunicación con: Francisco Hernández-Pérez

Tel: (55) 5614 1662.

Correo electrónico: turco168@hotmail.com

### Resumen

Objetivo: comparar la efectividad, seguridad y tolerabilidad de *Hibiscus sabdariffa* con pravastatina en hipercolesterolemia.

Métodos: ensayo clínico, doble ciego y controlado, sujetos con hipercolesterolemia  $\geq 220$  mg/dL, mayores de 30 años, sin tratamiento previo. Tratamientos: experimental I, extracto de *H. sabdariffa* estandarizado en 10 mg de antocianinas; control, 20 mg de pravastatina; experimental II, extracto de *H. sabdariffa*, estandarizado en 20 mg de antocianinas, durante 12 semanas. Desenlaces: efectividad, tolerabilidad y seguridad. Análisis con Anova y  $\chi^2$ .

Resultados: no hubo diferencias en edad, peso, índice de masa corporal, colesterol total, HDL, LDL, VLDL y triglicéridos. El tratamiento experimental I redujo los triglicéridos ( $p \leq 0.0001$ ); el tratamiento control redujo triglicéridos, colesterol total y sus fracciones ( $p = 0.02$ ); finalmente, el tratamiento experimental II redujo HDL, VLDL y triglicéridos ( $p = 0.0001$ ). Al efectuar las comparaciones intergrupales se encontraron reducciones significativas a favor del tratamiento control. Los tres tratamientos mostraron altos porcentajes ( $> 96\%$ ) de seguridad y tolerabilidad, sin diferencias significativas ( $p \geq 0.57$ ).

Conclusiones: los tratamientos con 10 y 20 mg de antocianinas no redujeron el CT, pero sí los triglicéridos. El tratamiento control mostró mayor efecto reductor sobre CT.

### Palabras clave

Hibiscus  
phytotherapy  
hipercolesterolemia

### Summary

Objective: to compare the effectiveness, safety and tolerability of *Hibiscus sabdariffa* extract (SHE) versus pravastatin in hypercholesterolemia.

Methods: double blind and controlled clinical trial. Men and women with hypercholesterolemia  $\geq 220$  mg/dL, over 30 years without previous treatment were included. Treatments: Experimental I, SHE standardized 10 mg of anthocyanins, control, 20 mg of pravastatin, Experimental II, extract of *H. sabdariffa*, standardized to 20 mg of anthocyanins along 12 weeks. SHE Data analysis with Anova and  $\chi^2$  tests were used.

Results: we included 104 patients, at baseline there were no significant differences in age, weight, BMI, total cholesterol, HDL, LDL, VLDL and triglycerides. At the end of the study, the experimental I reduced triglycerides ( $p \leq 0.0001$ ), the control treatment reduced triglycerides, cholesterol total and its fractions ( $p = 0.02$ ), and finally, the experimental treatment II reduced triglycerides ( $p = 0.0001$ ). The three treatments showed high percentages ( $> 96\%$ ) of safety and tolerability, without showing significant differences ( $p \geq 0.57$ ).

Conclusions: the treatments, with 10 and 20 mg of anthocyanins reduce triglycerides. The control treatment showed the greatest effect on lowering total cholesterol and fractions to experimental treatments.

### Key words

Hibiscus  
fitoterapia  
hypercolesterolemia

### Introducción

La hipercolesterolemia es uno de los factores de riesgo más estudiados en relación con enfermedad coronaria.<sup>1</sup> En los estudios epidemiológicos más importantes realizados hasta la fecha se encuentra una correlación significativa entre la concentración de colesterol y el riesgo de enfermedad coronaria.<sup>2</sup> En Estados Unidos la frecuencia anual de muertes por enfermedad cardio-

vascular se incrementó de 150 por 100 000 en 1900 a 350 por 100 000 en 1960.<sup>3</sup> Actualmente se estima que hay 1.5 millones de hospitalizaciones cada año debido a un síndrome coronario agudo, donde la hipercolesterolemia se ha encontrado hasta en 47 % de los pacientes hospitalizados.<sup>4</sup>

En México, las enfermedades cardiovasculares constituyen la primera causa de muerte, con una tasa de 65.23 por cada 100 000 habitantes, de las cuales 56 % corresponde a



**Figura 1 | Espécimen de vivero de la especie vegetal *Hibiscus sabdariffa***

cardiopatía isquémica, con una correlación muy estrecha con hipercolesterolemia ( $r = 0.60$ ), que junto con la diabetes mellitus mostró ser los factores de riesgo más relevantes, por arriba del tabaquismo y de la hipertensión arterial: Así, la hipercolesterolemia es un excelente predictor de mortalidad temprana y tardía por cardiopatía isquémica, con 9 % de incremento en el riesgo de morir por enfermedad cardiovascular por cada incremento de 10 % en los valores séricos de colesterol; los individuos con colesterol mayor a 240 mg/dL tienen ocho veces más posibilidades de desarrollar cardiopatía isquémica (RM = 8.1, IC 95 % = 3.8-17.1).<sup>5</sup> Como regla general se considera que existe hiperlipoproteinemia cuando el colesterol plasmático es  $> 5.2$  mmol/L (200 mg/dL) o el nivel de triglicéridos supera 2.2 mmol/L (200 mg/dL).<sup>6</sup>

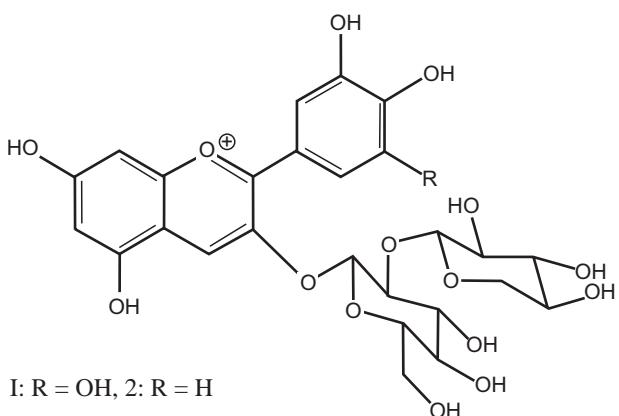
La mortalidad promedio en el ámbito nacional por cardiopatía isquémica se estima en 29.9 por cada 100 000 habitantes. Aparentemente existe una mayor exposición a los factores de riesgo señalados, de los cuales la hipercolesterolemia y el tabaquismo están ligados al estilo de vida, susceptible de ser modificado.<sup>7</sup> En condiciones normales, a partir de los 20 años en adelante, en ambos sexos, se observaron aumentos progresivos de los niveles plasmáticos de colesterol; los promedios más altos se alcanzan entre los 40 y 59

años en los hombres y entre los 50 y 54 años en mujeres; en la Ciudad de México, el colesterol promedio se sitúa en  $177 \pm 39$  mg/dL en hombres mayores de 30 años y  $170 \pm 36$  mg/dL en mujeres de la misma edad.<sup>8</sup>

El control de los niveles séricos de lípidos ha mostrado que estabiliza la placa, induce regresión de la lesión y disminuye la velocidad en el desarrollo de la obstrucción vascular, con consecuencias benéficas en la reducción de la mortalidad relacionada, aunque la persistencia de lesiones vasculares coincide con elevación sostenida de triglicéridos.<sup>9-11</sup>

Ahora bien, es necesario saber que existen tres vías interconectadas del metabolismo de las lipoproteínas, uno es el transporte de la dieta o grasa exógena; dos, el transporte hepático o grasa endógena; y tres, el transporte de colesterol. Estas vías son independientes pero la alteración de una de ellas afecta la función de las otras. Una dieta baja en grasas totales y en grasa saturadas en pacientes con enfermedad coronaria disminuye la cantidad de lipoproteínas exógenas y las partículas de quilomicrones, pero pueden estar alterados tanto el metabolismo hepático como su transporte, el cual requerirá algo más que la dieta para modificar la mortalidad.<sup>12</sup>

El tratamiento de la hipercolesterolemia puede dividirse en no farmacológico y farmacológico. Del no farmacológico se refiere al control de peso, dieta específica, ingesta controlada en dosis mínima de alcohol y cesación del tabaquismo, que se describen en el Programa Nacional de Educación para el Colesterol (NCEP, por sus siglas en inglés) y que representa el mejor método inicial frente al paciente con dislipidemia.<sup>13,14</sup> En cuanto al tratamiento farmacológico se incluye al uso de secuestradores de ácido biliar, fibratos, las estatinas y la niacina, las cuales no están libres de reacciones adversas.<sup>15</sup> Destacan los inhibidores de la 3-hidroxi-3-metilglutaryl coenzima A reductasa (HMG CoA), mejor conocidos como esta-



**Figura 2 | Estructura química de las dos antocianinas mayoritarias presentes en el extracto acuoso de *H. Sabdariffa*: delphindin-3-O-sambubioside (1) y cyanidin-3-O-sambubioside (2)**

tinas que actúan mediante la interferencia de la síntesis del ácido mevalónico a partir de la HMG-CoA, lo que limita la síntesis de colesterol. Las estatinas son poderosas drogas hipolipemiantes, que a la vez son generalmente bien toleradas. Actúan inhibiendo parcial y temporalmente a la reductasa de la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A y con ello disminuyen la síntesis *de novo* del colesterol en el hepatocito.<sup>16</sup> De las estatinas disponibles en México, la de mayor uso y efectividad es la pravastatina, ampliamente estudiada, que en grandes ensayos clínicos controlados ha demostrado su efectividad para disminuir los niveles séricos de colesterol, así como la disminución de nuevos eventos de síndrome coronario agudo y muerte secundaria a cardiopatía isquémica. Además, reduce la placa ateromatosa, disminuye hasta 16 % el colesterol total y 22 % los LDL después de ocho semanas de tratamiento con 10 mg/día. La pravastatina es segura y efectiva, absorbiéndose rápidamente y alcanzando niveles plasmáticos máximos a las 1 a 1.5 horas posterior a su ingestión, se metaboliza en hígado y se excreta por orina (20 %) y heces (70 %). Está contraindicada en falla hepática y reacciones adversas, así como en embarazo y lactancia. La dosis usual es de 10 o 20 mg al día.<sup>17</sup>

#### *Hibiscus sabdariffa*

La planta es nativa de la India y Malasia, donde tiene uso medicinal y alimentario desde épocas remotas, algunas investigaciones reportan su uso medicinal en el antiguo Egipto y en diversas culturas antiguas de Arabia. Actualmente, debido a su gran importancia comercial, *Hibiscus sabdariffa* es cultivada en diversos países del mundo como la India, Nigeria, Filipinas y en algunas partes de la América tropical (figura 1).<sup>18,19</sup>

La planta pertenece a la familia de las malváceas, desde el punto de vista fitoquímico entre 15 y 30 % está compuesta de ácidos orgánicos, contiene diversos ácidos polisacáridos heterogéneos (mucílagos y pectinas constituidos por ácido urónico y compuestos fenólicos, principalmente) y el color roso se lo dan los antocianóidos.<sup>20</sup> Aparentemente estos antocianóidos actúan como angioprotectores y junto a las flavonas inhiben a la enzima convertidora de angiotensina.<sup>21</sup> Así mismo, en ratas se ha comprobado que las flavonas, principalmente el ácido protocatechuico (forma simple fenólica), tienen un efecto antioxidante e inhibidor de radicales libres mediante la inhibición de la xantina oxidasa.<sup>22</sup> El pigmento rojo característico de la infusión se debe a las antocianinas: delphinidina, 3-monoglucósido, cianidina, 3-monoglucósido y delphinidina (figura 2), los cálices secos contienen, además, riboflavina, tiamina, niacina, betacaroteno y ácidos ascórbico y oxálico. Sin embargo, las propiedades farmacológicas de estos productos no han sido plenamente exploradas. Las flores contienen los flavonoides crisantemín, cianidín-3-sambibósido, gossipetín, hibiscín, malvín, mirtiyín y sabdaretín; el compuesto fenólico ácido protocatecuico, y el esterol betasitosterol.

Los frutos contienen los flavonoides gossipetín querctén, el compuesto fenólico ácido gálico y el esterol betasitosterol. Compuestos similares se han detectado en las hojas, y en el aceite obtenido de la semilla se ha identificado los esteroles campesterol, colesterol, ergosterol, alfaespinasterol, estigmasterol.<sup>23-25</sup>

En la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas y con evidencia del uso de antioxidantes para disminuir la formación de placa aterosclerosa, en México se están realizando estudios con el extracto acuoso de los cálices secos de la especie vegetal *Hibiscus sabdariffa* (agua de jamaica) para el manejo de la hipercolesterolemia. Así, un estudio clínico exploró el efecto de una infusión de 10 g de cálices en 1 L de agua/día, administrada durante un año en pacientes con hipercolesterolemia; se observó que redujo 20 % los niveles séricos de colesterol y 18.9 % los triglicéridos, con incremento de los HDL. Los resultados obtenidos mostraron que el producto es efectivo para reducir los niveles de colesterol total y de triglicéridos, con incremento en las lipoproteínas de alta densidad. Los autores concluyen que la infusión podría ser utilizada como recurso natural alimentario coadyuvante en el tratamiento médico de la hiperlipidemia.<sup>26</sup>



Figura 3 | Fitofármaco elaborado con el extracto de *Hibiscus sabdariffa* (CIAN-3G-03 que contiene 10 mg de antocianinas y CIAN-3G-06 que contiene 20 mg de antocianinas) y pravastatina (CIAN-3G-05, con 20 mg)

También en estudios farmacológicos en ratas con hipercolesterolemia inducida, a las que se les administró por nueve semanas el extracto de *Hibiscus sabdariffa* a 5 y 10 %, se detectó disminución de colesterol total, triglicéridos y fosfolípidos. La seguridad y tolerabilidad del extracto acuoso de *H. sabdariffa* han sido demostradas. Las actividades antihipercolesterolémica, antihiperlipémica y antihipertrigliceridémica de extracto de *H. sabdariffa* fueron demostradas en ratas cuando se adicionó a 5 % en la dieta.<sup>27-30</sup>

### Desarrollo del fitofármaco

Producción a escala piloto de un fitofármaco estandarizado de *Hibiscus sabdariffa*. Se elaboró, en colaboración con Laboratorios MIXIM, S.A. de C.V, un extracto pulverizado a partir de 50 kg de cálices de *Hibiscus sabdariffa* por extracción con etanol (alcohol de caña), concentración del extracto

por destilación mezclado con excipiente (maltodextrina) y un proceso de secado por aspersión; el pulverizado pesó 29.5 kg con una concentración de antocianinas de 3.6 mg/g, determinadas mediante espectroscopia, este producto se envió a empacar en sobres individuales de celoporial en la Compañía Sellados Técnicos de México, S. A. de C. V., en dos presentaciones de 3 g (Hisbiscus-Cian-3G-03, contenido 10.8 mg de antocianinas) y 6 g (Hisbiscus-Cian-3G-06, contenido 21.6 mg de antocianinas). Se obtuvieron aproximadamente 3000 unidades de cada presentación (figura 3).

Resultado del análisis microbiológico del pulverizado de *Hibiscus sabdariffa*: CTFA, flora mesófila = 1 × 102 UFC/g, la norma es 107 UFC/g; CTH y levaduras < 1 × 101 UFC/g, la norma es 104; *Escherichia coli* < 1 × 101 UFC/g, la norma es 102; *Salmonella*, *Pseudomonas* y *Staphylococcus aureus* negativos. Por lo anterior, el producto fue aprobado para su uso en sujetos humanos.

**Cuadro I | Características generales de la población en estudio al ingreso**

Variable	Población total n = 102		10 mg Antoc. n = 34		20 mg Pravast. n = 33		20 mg Antoc. n = 35		$\chi^2$	p
	f	%	f	%	f	%	f	%		
Sexo										0.52
Masculino	33	32.35	9	26.47	13	39.39	11	31.43		
Femenino	69	67.65	25	73.53	20	60.61	24	68.57		
Familiar con hipercolesterolemia										0.39
Sí	32	31.37	9	26.47	9	27.27	14	40.00		
No	70	68.63	25	73.53	24	72.73	21	60.00		
Hipercolesterolemia										0.33
Incidente	37	36.27	9	26.47	13	39.39	15	42.86		
Prevalente	65	63.73	25	73.53	20	60.61	20	57.14		
Diabetes mellitus										0.57
Sí	7	6.86	3	8.82	1	3.03	3	8.57		
No	95	93.14	31	91.18	32	96.97	32	91.43		
Hipertensión arterial sistémica										0.63
Sí	32	31.37	11	32.35	12	36.36	9	25.71		
No	70	68.63	23	67.65	21	63.64	26	74.29		
Tabaquismo										0.23
Sí	40	39.22	14	41.18	16	48.48	10	28.57		
No	62	60.78	20	58.82	17	51.52	25	71.43		

Los valores corresponden a frecuencias absolutas (f) y relativas (%).

Incidente se refiere a caso conocido y prevalente a caso de recién diagnóstico

Cuadro II | Características generales de la población en estudio al ingreso

Variable	Población total <i>n</i> = 102		10 mg Antoc. <i>n</i> = 34		20 mg Pravast <i>n</i> = 33		20 mg Antoc. <i>n</i> = 35		Anova <i>p</i>
	m	DE	m	DE	m	DE	m	DE	
Edad (años)	48.98	7.85	50.20	9.23	47.54	8.43	49.14	5.47	0.38
Peso (kg)	75.08	11.69	73.37	10.61	75.23	12.01	76.60	12.46	0.51
Talla (cm)	158.23	8.37	157.14	8.89	159.12	8.32	158.45	8.02	0.62
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	30.18	3.42	29.36	3.11	30.66	2.91	30.53	4.04	0.22
T. evol. (mes)	16.84	46.52	8.70	22.15	25.05	47.32	17.01	60.95	0.35
TAS (mm Hg)	119.34	15.74	118.52	18.15	119.15	15.91	120.31	13.25	0.89
TAD (mm Hg)	78.14	11.16	78.41	11.76	77.36	10.94	78.62	11.06	0.88
Pulso (latidos/minuto)	74.50	6.50	74.88	7.09	74.36	5.37	74.25	7.02	0.91
Urea	28.95	6.75	28.70	6.66	28.96	7.64	29.17	6.10	0.96
Creatinina	0.87	0.21	0.89	0.26	0.89	0.19	0.84	0.19	0.58
TGO	33.62	18.37	33.67	20.43	36.48	23.72	30.88	7.23	0.45
TGP	32.30	31.47	28.32	22.72	40.39	45.93	28.54	19.01	0.20

Los valores corresponden a medias (m) y desviación estándar (DE). TAS = tensión arterial sistólica, TAD = tensión arterial diastólica, TGO = transaminasa glutámica oxalacética, TGP = transaminasa glutámica pirúvica, T. evol = tiempo de evolución

## Métodos

El estudio se desarrolló en dos sedes, el Hospital General de Zona 47 del Distrito Federal y el Hospital General Regional 1, Cuernavaca, Morelos, ambos del Instituto Mexicano del Seguro Social. Ambas unidades médicas corresponden al segundo nivel de atención médica. Los estudios bioquímicos se efectuaron en un laboratorio externo, con control de calidad certificada.

Se trató de un ensayo clínico, aleatorizado, doble ciego y controlado, debido a que se aplicó una maniobra terapéutica experimental, asignada de manera aleatoria, que mantuvo cegada la maniobra para los sujetos en estudio, para quien administró los tratamientos, para quien efectuó las diferentes evaluaciones e incluso para quien efectuó el análisis de datos, además de que se empleó como tratamiento control un fármaco ampliamente utilizado en clínica. El muestreo fue

Cuadro III | Efecto del fitofármaco de *Hibiscus sabdariffa*, estandarizado en 10 mg de antocianinas totales, sobre el perfil de lípidos

Variable	Valor inicial <i>n</i> = 34			Valor final <i>n</i> = 31			Anova <i>p</i>
	m	DE	R	m	DE	R	
Colesterol total	262.85	46.90	217-465	275.74	58.40	209-437	0.00001
Colesterol HDL	54.29	12.28	36-79	45.22	10.30	25-66	0.0001
Colesterol LDL	155.35	26.86	80-201	173.19	41.12	70-258	0.003
Colesterol VLDL	53.20	42.88	19-256	57.00	40.04	16-172	0.00001
Triglicéridos	351.44	374.34	114-1956	333.83	316.38	86-1713	0.00001
Fosfolípidos	280.02	72.59	208-635	286.38	67.63	201-505	0.00001
Lípidos totales	894.32	469.50	542-3056	889.51	426.25	496-2655	0.00001
Índice aterogénico	5.06	1.55	2.9-12.2	6.51	2.65	3.6-17.5	0.00001

Las unidades de medición son mg/dL;  
m = media, DE = desviación estándar, R = rango

no probabilístico de casos consecutivos, es decir, de casos incidentes y prevalentes de hipercolesterolemia, que se detectaron a partir del inicio del trabajo de campo clínico. Se aleatorizaron en tres grupos:

- *Grupo I*: tratado con el fitofármaco de *H. sabdariffa*, estandarizado en 10 mg de antocianinas.
- *Grupo II*: con el fitofármaco de *H. sabdariffa*, estandarizado en 20 mg de antocianinas.
- *Grupo III*, control: tratado con pravastatina 20 mg.

Se incluyó a casos incidentes o prevalentes de hipercolesterolemia (colesterol plasmático  $\geq 220$  mg/dL; mayores de 30 años de edad, ambulatorios, ambos sexos, que durante el mes previo no estuvieran bajo tratamiento farmacológico ni dietético para disminuir los niveles séricos de colesterol directa o indirectamente (estatinas, secuestradores de ácidos biliares, niacina, fibratos, etcétera). Se excluyó a pacientes que previo o durante el estudio presentaran alteración de la función hepática o renal (elevación de transaminasas, urea o creatinina), o alguna reacción adversa catalogada como intensa o severa con el tratamiento asignado, así como pacientes que por cualquier motivo abandonaran el estudio, que no cumplieran con el protocolo, que se embarazaran durante el periodo de tratamiento o que iniciaran cualquier otro tratamiento para el manejo de la hipercolesterolemia, mujeres embarazadas o lactando.

Para el tamaño de muestra se utilizaron los siguientes criterios estadísticos: una hipótesis de equivalencia terapéutica, en el que la principal variable de desenlace es la efectividad terapéutica antihipercolesterolémica, que correspondiera a una variable categórica dicotómica. Se empleó hipótesis estadís-

tica de una cola, con una  $\alpha$  de 0.05 y una  $\beta$  de  $1-0.80 = 0.20$ . La diferencia clínicamente aceptable entre la efectividad terapéutica obtenida con la terapia convencional o control con pravastatina y la experimental con el fitofármaco de *H. sabdariffa* será  $\leq 10\%$  y mediante la fórmula descrita abajo, el tamaño fue de 34 pacientes por cada tratamiento.

Los tres tratamientos tuvieron la misma presentación (polvo para reconstituir), envasado (en sobres individuales de celoporial), forma de preparación (diluir el contenido de un sobre en un vaso de agua) y posología (tomar un sobre diario, por la noche, diario, durante 12 semanas continuas).

Se consideró *efectivo* cualquiera de los tres tratamiento si había una disminución del colesterol total o triglicéridos de por lo menos 20 mg/dL (10 %) en relación con las cifras basales. Era *tolerable* terapéuticamente si había ausencia de efectos secundarios considerados graves o severos, suficientes para suspender el tratamiento asignado y se aceptó como seguro si había ausencia de alteraciones patológicas en los estudios bioquímicos de función hepática y renal, evaluadas por los siguientes parámetros: TGO, TGP, urea y creatinina.

Se determinaron los niveles séricos de colesterol total, triglicéridos, HDL, LDL, VLDL, fosfolípidos, lípidos totales, TGO, TGP, urea y creatinina, mediante el analizador automático de química clínica ILAB 900 de Instrumetation Laboratory<sup>MR</sup> de muestras sanguíneas practicadas por las mañanas, con periodo de ayuno de al menos ocho horas. Se realizaron al ingreso y al final del estudio. Los valores normales del laboratorio de referencia: colesterol total, < 220 mg/dL; triglicéridos, 35-140 mg/dL; HDL, > 50 mg/dL; LDL, < 150 mg/dL; VLDL, 5-30 mg/dL; fosfolípidos, 160-270 mg/dL; lípidos totales, 400-1000 mg/dL; TGO, 12-37 U/L; TGP, 12-31 U/L; urea, 10-50 mg/dL; creatinina, 0.6-1.4 mg/dL; el equipo de química

**Cuadro IV | Efecto de la pravastatina 20 mg, sobre el perfil de lípidos**

Variable	Valor inicial <i>n</i> = 33			Valor final <i>n</i> = 30			Anova <i>p</i>
	m	DE	Rango	m	DE	Rango	
Colesterol total	249.48	22.08	213-310	217.06	31.36	171-300	0.02
Colesterol HDL	55.21	11.68	38-81	43.66	11.09	25-80	0.01
Colesterol LDL	146.33	25.48	100-225	130.36	32.95	71-210	0.004
Colesterol VLDL	48.30	22.31	12-105	43.76	19.98	17-111	0.0001
Triglicéridos	290.96	173.10	88-953	230.76	104.25	98-554	0.0001
Fosfolípidos	265.87	28.27	214-331	236.93	27.57	189-291	0.03
Lípidos totales	799.15	197.47	554-1550	672.30	152.00	283-1057	0.11
Índice aterogénico	4.77	1.18	3.2-8.2	5.27	1.27	3.1-8	0.02

Las unidades de medición son mg/dL

*m* = media, DE = desviación estándar, R = rango

**Cuadro V** Efecto del fitofármaco de *Hibiscus sabdariffa*, estandarizado en 20 mg de antocianinas, sobre el perfil de lípidos

Variable	Valor inicial n = 35			Valor final n = 28			Anova p
	m	DE	Rango	m	DE	Rango	
	251.08	24.39	214-325	253.89	64.55	113-478	0.0002
Colesterol total	56.42	15.18	29-94	46.32	13.91	19-77	0.00001
Colesterol HDL	144.11	28.04	90-194	161.89	43.10	65-274	0.01
Colesterol LDL	50.57	33.76	20-165	45.67	36.55	15-181	0.00001
Triglicéridos	385.65	537.61	118-416	376.28	577.22	74-2545	0.00001
Fosfolípidos	281.08	64.45	223-524	280.10	109.59	136-734	0.00001
Lípidos totales	920.85	607.54	564-3224	906.53	723.55	339-3757	0.00001
Índice aterogénico	4.78	1.62	2.4-10.5	6.14	3.54	3-20.8	0.00001

Las unidades de medición son mg/dL

m = media, DE = desviación estándar, R = rango

sanguínea fue sometido a control de calidad interno y externo con los estándares prefijados, todos los días por la mañana, en dos niveles: Sarachem control 1 y Sarachem control 2.

### Análisis estadístico

Se utilizó el programa Stata versión 7. En cuanto al análisis inferencial, para variables continuas que cumplieron con los criterios de distribución normal se utilizó análisis de varianza y pospruebas de Bonferroni para diferencias por pares de medias. Ante distribución no normal, pruebas no paramétricas como la de Wilcoxon para muestras pareadas y la de Mann-Whitney para muestras independientes. Para comparar las variables categóricas se empleó  $\chi^2$ . Para determinar el efecto de las variables probablemente confusoras sobre la principal variable de desenlace se empleó el análisis estratificado; valores de  $p \leq 0.05$  fueron considerados útiles para rechazar hipótesis nulas.

### Fases de estudio

Se incluyeron pacientes de la consulta externa y del Servicio de Medicina Preventiva, por medio de tamiz efectuado con tiras reactivas Accutrend Colesterol (Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim Alemania) y equipo de lectura portátil Accutrend GCT (Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim Alemania). Envío de sujetos susceptibles al grupo de investigación para toma de datos clínicos basales: historia clínica y muestras bioquímicas recolectadas en los consultorios de investigación, para ser enviadas al laboratorio correspondiente (empresas integradora de laboratorios clínicos S.A. de C. V Laboratorios Guillén). Se determinaron los niveles séricos de colesterol, triglicéridos, LDL, DHL, VDL, TGO, TGP, urea y creatinina, mediante el analiza-

dor automático de química clínica ILAB 900 de Instrumetation Laboratory (MR). Los parámetros bioquímicos se analizaron al ingreso y al final del estudio.

### Control de calidad

El laboratorio contó con controles de calidad interno y externo con los estándares prefijados en los instrumentos mencionados. Todos los seleccionados firmaron carta de consentimiento informado; posteriormente los pacientes fueron aleatorizados a grupos de tratamiento mediante una lista previamente elaborada con base en una tabla de números aleatorios. Al ingresar al estudio los pacientes recibieron instrucciones verbales y por escrito de la manera de preparar y tomar el tratamiento asignado. Posteriormente fueron citados cada dos semanas, durante tres meses, para evaluar apego al tratamiento (por recambio de envases vacíos por nuevos), tipo de dieta, efectos secundarios, para efectuar redotación del tratamiento asignado y para evaluar los desenlaces. Al concluir su participación en el estudio, todos los pacientes fueron canalizados con el médico tratante con un reporte clínico de su estancia en el ensayo.

Para mantener cegada la maniobra terapéutica, los tratamientos fueron idénticos en presentación y solo se distinguían por una clave impresa en el sobre (códigos CIAN-3G-03, 05 y 06). Para asegurar el apego al tratamiento se implementaron las siguientes estrategias (Haynes y colaboradores, 1985):

1. Información verbal inicial sobre la importancia del estudio y del apego al tratamiento.
2. Instrucción práctica inicial sobre el modo de administración.
3. Instrucciones verbales y por escrito de la forma de administración.

4. Supervisión directa del cumplimiento por un familiar cercano, quien se comprometió a firmar como familiar supervisor la carta de consentimiento informado.
5. Verificación indirecta del cumplimiento al asistir a las citas quincenales.
6. Canjeo quincenal de envases vacíos por otros nuevos.
7. Conteo de las unidades de tratamiento consumidas durante el periodo evaluado: los envases con los tratamientos quincenales contenían cantidades diferentes, pero conocidas, de unidades de tratamiento con la finalidad de cuantificar el número de unidades que el paciente tomó, y que debió corresponder exactamente a la cantidad indicada para una quincena.
8. Reconquista: al día siguiente por vía telefónica o por visita domiciliaria, a los sujetos que no acudieron a su cita programada se les motivó para que no suspendieran el tratamiento y acudieran a las 24 horas a una nueva cita.
9. Además, durante cada cita quincenal se motivó el grupo de investigación y se verificó el apego al tratamiento.

## Resultados

Se incluyeron 102 pacientes, 34 se asignaron al tratamiento con el fitomedicamento de *H. sabdariffa* estandarizado en 10 mg de antocianinas (grupo experimental I), 33 al de pravastatina 20 mg (grupo control) y 35 al tratamiento con el fitomedicamento de *H. sabdariffa* estandarizado en 20 mg de antocianinas (grupo experimental II) (figura 1). En los cuadros I y II se muestran las características generales de la población en estudio, se

observa que ninguna característica mostró diferencias estadísticas significativas en los tres grupos de estudio ( $p \geq 0.20$ ).

Del total de la población, 69 eran mujeres (67.5 %) y 33 (32.35 %) hombres; solo 31.37 % refirió antecedentes familiares de hipercolesterolemia; la mayoría de los pacientes ya se sabía con hipercolesterolemia (casos prevalentes, 63.73 %); se incluyó un pequeño porcentaje de diabéticos controlados (6.86 %); cerca de la tercera parte de la población (31.37 %) padecía hipertensión arterial y 39.22 % refirió tabaquismo activo (cuadro I).

En promedio, la edad de los sujetos en estudio fue de 48.9 años; el peso fue de 75.08 kg; la talla fue de 158.2 cm, el índice de masa muscular fue de 30.18 kg/m<sup>2</sup>, el tiempo de evolución, en promedio fue de 16.8 meses; la presión arterial fue de 119.34/78.14 mm Hg, el pulso fue de 74.5 latidos por minuto; finalmente, los promedios de los exámenes basales de funcionamiento hepático y renal permanecieron dentro de los límites normales. Tampoco se encontró diferencias en ninguna de las características mencionadas (cuadro II).

De los 102 pacientes, 13 no terminaron el estudio, ocho lo abandonaron por causas no médicas; por no haber acudido a sus citas siguientes, cinco lo hicieron durante el primer mes y los restantes tres durante el tercer mes. Cuatro pacientes suspendieron el tratamiento debido a efectos adversos intensos, dos de ellos fueron tratados con el fitofármaco con 20 mg de antocianinas (uno refirió disuria y el otro náusea y dificultad para la micción), uno con pravastatina (reportó hiperfagia intensa) y otro con el fitofármaco con 10 mg de antocianinas (presentó tinnitus, temblor y cefalea). Tres sujetos abandonaron durante la primera evaluación; el otro (co-

Cuadro VI | Comparación del efecto final de los tres tratamientos sobre el perfil de lípidos

Variable	<i>H. sabdariffa</i> 10 mg <i>n</i> = 31		Pravastatina 20 mg <i>n</i> = 30		<i>H. sabdariffa</i> 20 mg <i>n</i> = 28		Anova <i>p</i>
	m	DE	m	DE	m	DE	
Colesterol total	275.74	58.40	217.06	31.36	253.89	64.55	0.0002 *†
Colesterol HDL	45.22	10.30	43.66	11.09	46.32	13.91	0.69
Colesterol LDL	173.19	41.12	130.36	32.95	161.89	43.10	0.0002 *†
Colesterol VLDL	57.00	40.04	43.76	19.98	45.67	36.55	0.25
Triglicéridos	333.83	316.38	230.76	104.25	376.28	577.22	0.32
Fosfolípidos	286.38	67.63	236.93	27.57	280.10	109.59	0.02 *
Lípidos totales	889.51	426.25	672.30	152.00	906.53	723.55	0.12
Índice aterogénico	6.51	2.65	5.27	1.27	6.14	3.54	0.17

Las unidades de medición son mg/dL

m = media, DE = desviación estándar, R = rango

\* Posprueba de Bonferroni  $p < 0.05$  en par 1 (*Hs10* y *Prav20*)

† Posprueba de Bonferroni  $p < 0.05$  en par 2 (*Hs10* y *Hs20*)

‡ Posprueba de Bonferroni  $p < 0.05$  en par 3 (*Prav20* y *Hs20*)

respondiente al grupo tratado con 10 mg de antocianinas), se excluyó durante la segunda.

La figura 2 muestra los resultados del perfil de lípidos de los tres grupos de tratamiento al ingresar al estudio; el promedio de colesterol de los tres grupos fue de 262.85 mg/dL, HDL 54.29 mg/dL, LDL 155.35 mg/dL, VLDL 53.20 mg/dL y de triglicéridos 351.44 mg/dL al ingreso, sin embargo, tampoco se encontró una diferencia significativa entre los tres grupos al ingresar al estudio. Además, 50 % de los sujetos presentó suero de aspecto normal, 38.61 % mostró suero quiloso (+) y el resto ++ o +++.

En el cuadro III se muestra el efecto del fitomedicamento de *H. sabdariffa*, estandarizado en 10 mg de antocianinas, sobre los diferentes parámetros del perfil de lípidos de pacientes con hipercolesterolemia. A pesar de que todos los parámetros muestran diferencias estadísticas significativas, se observa que solamente las HDL, los triglicéridos y los lípidos totales mostraron reducciones clínicas interesantes; es de hacer notar que el colesterol total y las fracciones LDL y VLDL no solo no disminuyeron, sino que se incrementaron levemente. Tampoco hubo mejoría en el aspecto del suero.

En el efecto de pravastatina de 20 mg sobre los diferentes parámetros del perfil de lípidos de pacientes con hipercolesterolemia, se observan reducciones significativas en prácticamente todos los parámetros ( $p < 0.05$ ), excepto en los lípidos totales. El colesterol total pasa de una media de 249.48 a 217.06 mg/dL, de las fracciones, LDL, VLDL, así como los triglicéridos y fosfolípidos; también hubo mejoría en el aspecto del suero, sin embargo, también hubo una disminución significativa de la fracción HDL, que pasó de una media de 55.21 a 43.66 mg/dL (cuadro IV).

En cuanto al efecto de *Hibiscus sabdariffa*, estandarizado en 20 mg de antocianinas, sobre el perfil de lípido, es

diverso, por un lado, no tuvo ningún efecto sobre el colesterol total y la fracción LDL, de hecho éstos se elevan en forma estadísticamente significativa ( $p = 0.0002$ ), pero tiene un efecto significativo ( $p = 0.00001$ ) en la baja de los niveles de triglicéridos (cuadro V).

En el cuadro VI se compara el efecto final de los tres tratamientos sobre el perfil de lípidos. Se observa que las cifras de las HDL, VLDL, triglicéridos y lípidos totales no muestran diferencias significativas; lo anterior implica que el efecto de los tres tratamientos sobre estos parámetros no es diferente. Sin embargo, el efecto de la pravastatina sobre colesterol total y LDL es mejor que los obtenidos con los extractos de *H. sabdariffa*. En cuanto a los fosfolípidos, la pravastatina supera el efecto de *H. sabdariffa* con 10 mg de antocianinas, pero no es diferente al observado con el de 20 mg de antocianinas. Es decir, se observa que la pravastatina alcanza mayores porcentajes que los dos grupos experimentales ( $p \leq 0.02$ ).

El cuadro VII compara las tasas de seguridad y tolerabilidad alcanzadas con cada tratamiento. Se observa que en el grupo tratado con el fitofármaco de *H. sabdariffa* a dosis de 10 mg de antocianinas, todos los sujetos presentaron seguridad y tolerabilidad terapéuticas, mientras que en el grupo tratado con pravastatina se presentó un caso de no seguridad y otro de no tolerabilidad, mientras que con el fitofármaco estandarizado en 20 mg de antocianinas se presentó un caso de no seguridad y dos de no tolerabilidad; sin embargo, el análisis estadístico no muestra diferencias significativas ( $p \leq 0.57$ ).

En el análisis del descenso de los triglicéridos séricos se observa que, aun cuando con el fitomedicamento estandarizado con 20 mg de antocianinas alcanza mayores tasas de efectividad antihipertrigliceridémica y de éxitos terapéuticos, las diferencias no son significativas como con la pravastatina ( $p \geq 0.65$ ).

Cuadro VII | Efecto de los tratamientos sobre la seguridad y tolerabilidad terapéuticas

Variable	Hs 10 mg		Prav 20 mg		Hs 20 mg		$\chi^2$
	f	%	f	%	f	%	p
Seguridad	<i>n</i> = 31		<i>n</i> = 30		<i>n</i> = 28		0.57
Sí	31	100.00	29	96.67	27	96.43	
No	0	0.00	1	3.33	1	3.57	
Tolerabilidad	<i>n</i> = 32		<i>n</i> = 31		<i>n</i> = 30		0.74
Sí	31	96.88	30	96.77	28	93.33	
No	1	3.13	1	3.23	2	6.67	

Los valores corresponden a frecuencias absolutas (f) y relativas (%)

En el análisis de los desenlaces seguridad y efectividad terapéuticas se incluyen todos los sujetos que completaron el estudio ( $n = 89$ ); en el de tolerabilidad se agregan dos sujetos que se excluyeron del estudio por efectos indeseables catalogados como intensos o severos

Se realizó análisis estratificado sobre las variables probablemente confusoras (categorizadas) sobre los dos principales desenlaces denominados efectividad terapéutica y antihipertrigliceridémica observadas en el grupo experimental tratado con el fitomedicamento de *H. sabdariffa*, estandarizado en 20 mg de antocianinas, tratamiento experimental que mejor respuesta terapéutica mostró.

Para el efecto de las variables sexo ( $p = 0.33$ ), edad ( $p = 0.70$ ), IMC ( $p = 0.13$ ), así como del colesterol total ( $p = 0.33$ ) y triglicéridos al ingreso ( $p = 0.48$ ) dicotomizadas, sobre la efectividad antihipercolesterolémica observada con el fitomedicamento de *H. sabdariffa*, estandarizado en 20 mg de antocianinas, se observa que en ninguna de las variables analizadas se alcanzaron diferencias significativas. Por lo anterior se descarta su efecto confusor. Lo mismo se observó en el efecto hipotriglyceridémico, en el cual las mismas variables no mostraron diferencia significativa.

Con la administración del fitomedicamento de *H. sabdariffa* estandarizado en 20 mg de antocianinas se observó que el sexo de los sujetos influyó en la disminución de los triglicéridos, ya que mientras los hombres lo redujeron en 206.33 mg/dL, las mujeres los aumentaron 43.78 ( $p = 0.06$ ); lo anterior indica que los hombres respondieron mejor al tratamiento.

Ser menor o mayor de 40 años no mostró efecto confusor, ya que los diferentes parámetros del perfil de lípidos se redujeron de forma similar en ambos grupos ( $p \geq 0.17$ ). El IMC se estratificó en menores y mayores de 30 kg/m<sup>2</sup> (no obesos y obesos), se observó que las VLDL, triglicéridos, fosfolípidos y lípidos totales disminuyeron más en los obesos; es decir, los obesos respondieron mejor al fitomedicamento que los no obesos ( $p \leq 0.06$ ); por lo anterior se puede asegurar que el IMC sí influye en la respuesta al fitomedicamento. Finalmente, las cifras basales de colesterol total y triglicéridos con que ingresaron los sujetos de estudio (menores y mayores de 250 mg/dL) no modificaron la respuesta al fitomedicamento de *H. sabdariffa* estandarizado en 20 mg de antocianinas; por lo anterior se descarta su efecto confusor sobre los parámetros del perfil de lípidos analizados.

## Discusión

A pesar de la buena tolerabilidad y seguridad de los extractos de jamaica, no tuvieron un efecto global significativo en la reducción de los niveles plasmáticos de colesterol y sus fracciones, aunque se encontró diferencia significativa cuando se estratificaron los resultados, donde fue significativa la reducción de triglicéridos en los sujetos hombres y una disminución importante en las fracciones VLDL, triglicéridos, fosfolípidos y lípidos totales en pacientes con obesidad, en los cuales aparentemente son más efectivos.

Consideramos que tales resultados pueden explicarse de varias formas:

- La primera fue la forma de preparar los extractos, a altas temperaturas y esto permitió que parte de las sustancias activas fueran desactivadas, disminuyendo su efecto.
- La segunda, que aún estamos lejos de la dosis adecuada y que sean necesarias mayores concentraciones del extracto.
- Finalmente, que los antacianocidos solo sean parte de las sustancias activas y sea necesario otros compuestos para lograr el efecto esperado.

En el estudio de Aquino y colaboradores se encontró una disminución significativa de colesterol total, triglicéridos y las fracciones del colesterol con 250 mL de “agua de jamaica” cuatro veces al día, y a pesar de que nosotros ocupamos una dosis mayor del extracto de jamaica no pudimos encontrar los mismos resultados, aunque habrá que decir que el estudio al que se hace referencia no fue comparativo, cegado ni aleatorizado.

Existen muy pocos estudios con los que se pueda realizar comparaciones en cuanto a la metodología y sus resultados; los pocos existentes adolecen de poca información sobre dicha metodología y el resto son estudios preclínicos con los cuales es muy poco lo que se puede comparar.

Finalmente, desde nuestro punto de vista es necesario reevaluar tanto las dosis como la forma de preparar los extractos para tener mayor seguridad de su uso ya que el grupo de investigadores continúa sosteniendo que de corroborar el efecto benéfico sobre el perfil de lípidos de la “jamaica”, sería una importante contribución en contra del problema de salud en que se ha convertido la hipercolesterolemia.

## Conclusiones

El fitomedicamento elaborado a partir del extracto acuoso de los cálices de la especie vegetal *Hibiscus sabdariffa*, estandarizado en 10 mg de antocianinas, administrado por 12 semanas a pacientes con hipercolesterolemia, no disminuyó el colesterol total, LDL, VLDL ni fosfolípidos en el porcentaje esperado, pero mostró seguridad y tolerabilidad en 100 % de los casos, además de 41.94 % de efectividad terapéutica antihipertriglyceridémica, no diferente a la obtenida con pravastatina.

El fitomedicamento elaborado a partir del extracto acuoso de los cálices de la especie vegetal *Hibiscus sabdariffa*, estandarizado en 10 mg de antocianinas, durante 12 semanas a pacientes con hipercolesterolemia no disminuyó el colesterol total, LDL ni fosfolípidos, pero disminuyó significativamente HDL, VLDL, triglicéridos y lípidos totales, en magnitud no diferente a la obtenida con pravastatina. Fue seguro y tolerado en más de 96 % de los pacientes, así mismo mostró efectividad antihipercolesterolémica en 32.14 % y efectividad antihipertriglyceridémica en 53.57 % de los casos, no diferente a la obtenida con pravastatina y los pacientes obesos muestran mejor respuesta terapéutica.

Por lo anterior se puede concluir que el fitomedicamento de *Hibiscus sabdariffa*, en dosis de 10 y 20 mg de antocianinas, al igual que pravastatina, muestra amplios márgenes de seguri-

dad y tolerabilidad terapéuticas, con menor efectividad terapéutica antihipercolesterolémica e igual efectividad antihipertrigliceridémica.

## Referencias

1. ACC/AHA. Guidelines for the management of patients with acute myocardial infarction. J Am Coll Cardiol 1996; 28:1328-1428.
2. Gotto A, Farner J. Factores de riesgo de cardiopatía isquémica. En: Faergeman O. The atherosclerosis epidemic: methodology, nosology, and clinical practice. México: Interamericana McGraw-Hill; 1990. p. 1253-1293.
3. Faergeman O. The atherosclerosis epidemic: methodology, nosology, and clinical practice. Am J Cardiol 2001;88(2 Suppl 1):4E-7E.
4. Hochman JS, Tamis JE, Thompson TD, et al. Sex, clinical presentation, and outcome in patients with acute coronary syndromes. N Engl J Med 1999;341(4):226-232. Disponible en <http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJM199907223410402>
5. Camacho HR, Corona MI, Vázquez MJ, Martínez RF, Escobedo de la Peña J. Risk factors for ischemic heart disease in Mexico: a case control study. Arch Inst Cardiol Mex 1995;65(4):315-322.
6. Grupo Cooperativo del Consenso. Primer consenso mexicano sobre los síndromes isquémicos coronarios agudos sin elevación del segmento ST (angina inestable e infarto no Q), Cancún, Quintana Roo 15 y 16 de noviembre, 2001. Arch Cardiol Mex 2002;72(Suppl 2): S5-S44.
7. Isselbacher K, Braunwald E. Hiperlipoproteinemias y otros trastornos del metabolismo lipídico. En: Kasper, DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL Jameson JL, editores. Harrison. Principios de medicina Interna. Décima sexta edición. España: Mc Graw Hill; 2006. p. 2372-2384.
8. Escobedo de la Peña J, Escamilla CJ, Santos BC. Colesterol sérico y diabetes mellitus: principales factores de riesgo independientes en la mortalidad por cardiopatía isquémica en México Arch Inst Cardiol Mex 1994;64 (2):189-194.
9. Posadas RC, Sepúlveda J, Tapia CR, et al. Valores de colesterol sérico en la población mexicana. Salud Pública Mex 1992;34(2):157-167.
10. Verdejo J, Llamas G. Manejo de la ateroesclerosis en la fase crónica. Arch Inst Cardiol Mex 2000;70(1):83-90.
11. Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA, Rouleau JL, et al. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. N Engl J Med 1996;335(14):1001-1009.
12. Brewer HB. Hypertriglyceridemia: Changes in the plasma lipoproteins associated with an increased risk of cardiovascular disease. Am J Cardiol 1999;83(9B):2F-12F.
13. Kwiterovich P. The metabolic pathways of high density lipoprotein, low density lipoprotein, and triglycerides: A current Review. Am J Cardiol 2000;86(14 A suppl):5L-10L.
14. Ginsberg HN. Nonpharmacologic management of low levels of high density lipoprotein cholesterol. Am J Cardiol 2000;86(12 Suppl 1):41L-45L.
15. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Cholesterol in Adults. Summary of the second report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high cholesterol in adults (Adult Treatment Panel II). JAMA 1993;269(23):3015-3023.
16. Piepho R. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of agents proven to rise high-density lipoprotein cholesterol. Am J Cardiol 2000;86(12 A Suppl.):35L-40L.
17. Hardman J, Limbird L, Molinoff P. Fármacos usados en el tratamiento de hiperlipoproteinemias. En: Goodman GA, Rall TW, Nies AS, Taylor P, editores. Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Novena edición. México: Panamericana; 1993. p. 936-959.
18. The Long-term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease (LIPID) Group. Prevention of cardiovascular event and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. N Engl J Med 1998;339(19):1349-1357. Disponible en <http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJM199811053391902>
19. Rao P, Seshadri TR. Pigments of the flowers of *Hibiscus sabdariffa*. Isolation of sabdaretin, a new hydroxiflavone. Proc Indian Acad Sci 1942;16:323-324.
20. Yamamoto R, Osima Y. Red coloring matter of *Hibiscus sabdarifa*. A new glucoside Hibiscin. Sci Pap Inst Phys Chem Res 1932;19:134-136.
21. Chang YC, Huang KX, Huang AC, Ho YC, Wang CJ. Hibiscus anthocyanins-rich extract inhibited LDL oxidation and oxLDL-mediated macrophages apoptosis. Food Chem Toxicol 2006;44(7):1015-1023
22. Jonadet M, Bastide J, Bastide P, Boyer B, Carnat AP, Lamaison J. In vitro enzyme inhibitory and in vivo cardio-protective activities of hibiscus (*Hibiscus sabdariffa* L.) J Pharm Belg 1990;45(2):120-124.
23. Tseng T, Kao E, Chu C, Chou F, Lin Wu H, Wang C. Protective effects of dried flower extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. against oxidative stress in rat primary hepatocytes. Food Chem Toxicol. 1997;35:1159-164.
24. Frank T, Janssen M, Netzel M, Strass G, Kler A, Kriesl E, et al. Pharmacokinetics of anthocyanidin-3-glycosides

- following consumption of *Hibiscus sabdariffa* L. extract. *J Clin Pharmacol* 2005;45(2):203-210.
25. Salama R. Ergosterol in *Hibiscus sabdariffa* seed oil. *Planta Med* 1979; 36:221-223.
26. El-Merzabani M, El-Aaser A, Attia MA, El-Duweini A, Ghazal AM. Screening system for Egyptian plants with potential anti-tumor activity. *Planta Med* 1979;36(2):150-155.
27. Aquino DY, Nesme AJ, Alvarado GR, Gatica VR. Efecto protector de la *Hibiscus sabdariffa* (jamaica) en hiperlipidemias. *Memorias de la VII Reunión Nacional de Investigación Médica*. México: Instituto Mexicano del Seguro Social; 1998. p. 262.
28. El-Saadany SS., Sitohy MZ., Labib SM, El-Massryda L., Biochemical dynamics and hypocholesterolemic action of *Hibiscus sabdariffa* (Karkade). *Nahrung* 1991;35(6): 567-576.
29. Carvajal ZO, Waliszewski SM, Barradas DM, Orta FZ, Hayward JP, Nolasco HC, et al. The consumption of *Hibiscus sabdariffa* dried calyx ethanolic extract reduced lipid profile in rats. *Plant Foods Hum Nutr* 2005;60(4):153-159.
30. Hirunpanich V, Utaipat A, Morales NP, Bunyaphraphatsara N, Sato H, Herunsale A, et al. Hypocholesterolemic and antioxidant effects of aqueous extracts from the dried calyx of *Hibiscus sabdariffa* in hypercholesterolemic rats. *J Ethnopharmacol* 2006; 103(2):252-260.