



Boletín Latinoamericano y del Caribe de
Plantas Medicinales y Aromáticas

ISSN: 0717-7917

editor.blacpma@usach.cl

Universidad de Santiago de Chile
Chile

TOLOZA-ZAMBRANO, Pamela; AVELLO, Marcia; FERNÁNDEZ, Pola
Determinación de rutina y trigonelina en extractos de hojas de *Bauhinia forficata* subsp. *pruinosa* y
evaluación del efecto hipoglicemiante en humanos
Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, vol. 14, núm. 1, 2015, pp.
21-32
Universidad de Santiago de Chile
Santiago, Chile

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85632845003>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica
Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Artículo Original | Original Article

Determinación de rutina y trigonelina en extractos de hojas de *Bauhinia forficata* subsp. *pruinosa* y evaluación del efecto hipoglicemiante en humanos

[Determination of rutin and trigonelline in extracts of *Bauhinia forficata* subsp. *pruinosa* and hypoglycemic effect on diabetic and prediabetic patients humans]

Pamela TOLOZA-ZAMBRANO¹, Marcia AVELLO² & Pola FERNÁNDEZ³

¹Departamento de Farmacia, ²Departamento de Farmacognosia & ³Departamento de Farmacia Clínica, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción, Chile.

Contactos / Contacts: Pamela TOLOZA-ZAMBRANO - E-mail address: pametoloza@udec.cl

Abstract: Diabetes mellitus type 2 is a metabolic disorder characterized by chronic hyperglycemia, and an important cardiovascular risk factor with a high morbidity and mortality worldwide. Phytotherapy can be an useful complement in the treatment of chronic diseases, so the hypoglycemic effect of *Bauhinia forficata* (L) subsp. *pruinosa* (Fabaceae) was evaluated, as used in Chilean traditional medicine. The content of rutin (R) and trigonelline (T) in aqueous extracts (0.15 and 1.0% infusions) and lyophilized extract from leaves of *B. forficata* were determined by HPLC. It was obtained 2.80 µgR/mL and 2.87 µgT/mL for 0.15% infusion, 12.48 µgR/mL and 16.24 µgT/mL for 1.0% infusion, and 5.70 µgR/mL and 8.14 µgT/mL for the lyophilized extract (0.1%). Subsequently, a pilot clinical study in diabetic and prediabetic volunteers (n = 15) was performed, taking one dose of the 0.15% infusion, three times a day after meals, for 3 months. The results showed a significant statistically reduction in % of HbA_{1c} of 0.57 ± 0.83 (p = 0.0179), suggesting that the 0.15% infusion of *B. forficata* could be useful in the prevention or complementary treatment of diabetes.

Keywords: *Bauhinia forficata*, Diabetes mellitus, rutin, trigonelline, ethnomedicine

Resumen: La diabetes mellitus tipo 2 es una alteración metabólica caracterizada por hiperglicemia crónica, y un importante factor de riesgo cardiovascular con elevada morbimortalidad a nivel mundial. La Fitoterapia puede ser un complemento útil en el tratamiento de enfermedades crónicas, por lo que se evaluó el efecto hipoglicemiante de *Bauhinia forficata* (L) subsp. *pruinosa* (Fabaceae), según su uso en medicina tradicional Chilena. Se determinó mediante HPLC el contenido de rutina (R) y trigonelina (T) en infusiones (0.15% y 1.0%) y extracto acuoso liofilizado de las hojas de *B. forficata*. Se obtuvo para el infuso 0.15% = 2.80 µgR/mL y 2.87 µgT/mL, infuso 1.0% = 12.48 µgR/mL y 16.24 µgT/mL, y en el extracto liofilizado 0.1% = 5.70 µgR/mL y 8.14 µgT/mL. Posteriormente, se realizó un estudio clínico piloto en voluntarios diabéticos y prediabéticos (n = 15), tomando una dosis del infuso al 0.15%, tres veces al día después de las comidas, durante 3 meses. Los resultados mostraron una reducción estadísticamente significativa del % de HbA_{1c} de 0.57 ± 0.83 (p = 0.0179), sugiriendo que el infuso de hojas de *B. forficata* (0.15%) podría ser útil en la prevención o tratamiento complementario de la diabetes.

Palabras clave: *Bauhinia forficata*, Diabetes mellitus, rutina, trigonelina, etnomedicina

Recibido | Received: 20 de Noviembre de 2013.

Aceptado | Accepted: 20 de Marzo de 2014

Aceptado en versión corregida | Accepted in revised form: 6 de Noviembre de 2014

Publicado en línea | Published online: 30 de Enero de 2015

Declaración de intereses | Declaration of interests: P. Toloza-Zambrano agradece a CONICYT, Beca 22101346 y Proyecto FONIS SA1212257.

Este artículo puede ser citado como / This article must be cited as: P Toloza-Zambrano, M Avello, P Fernández. 2015. Determinación de rutina y trigonelina en extractos de hojas de *Bauhinia forficata* subsp. *pruinosa* y evaluación del efecto hipoglicemiante en humanos *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat* 14(1): 21 – 32.

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es una alteración metabólica caracterizada por hiperglicemia crónica, con una elevada morbilidad a nivel mundial. La prediabetes en cambio, se define como el estado que precede al diagnóstico de DM2, caracterizado por elevación de la glicemia, sin alcanzar los valores diagnósticos de diabetes, y constituye un factor de alto riesgo en el desarrollo de DM2, aumentando de 3 a 10 veces el riesgo absoluto de padecer esta enfermedad, y es probablemente la etapa donde se produce el mayor daño a nivel cardiovascular (ADA, 2013; Garber *et al.*, 2008).

El control metabólico de la DM2 se entiende como valores de hemoglobina glicosilada (HbA_{1c}) inferiores al 7.0%, equivalente a un promedio de glicemias de 154 mg/dL por un periodo de 3 meses, tiempo de vida media de un glóbulo rojo (ADA, 2013). En Chile, las cifras muestran una tendencia ascendente en las tasas de prevalencia de DM2, mientras que el control metabólico en el año 2007 alcanzaba un 36% en atención primaria, evidenciando la necesidad de intervención para ayudar a mejorar el control glicémico de los pacientes (MINSAL, 2010).

La Fitoterapia es considerada una medicina complementaria útil en el tratamiento de diversas patologías, entre ellas la DM2. Nuestro país, debido a su localización geográfica y diversidad climática, posee una enorme variedad de recursos naturales los que han sido aprovechados desde tiempos remotos para el tratamiento de ciertas enfermedades, conocimientos que se han masificado y perpetuado hasta la actualidad contribuyendo a que este tipo de terapia sea ampliamente utilizada en la población.

Bauhinia forficata Link (*Fabaceae*), conocida popularmente como "Pata de Vaca", pertenece a la familia de las Leguminosas y se distribuye ampliamente en diversos países de Sudamérica, donde sus hojas se emplean como infusión en medicina popular para el tratamiento de la diabetes (Lemus *et al.*, 1999). Se han descrito dos subespecies: *forficata* y *pruinosa*, las cuales difieren no sólo en sus características morfológicas (Fortunato, 1986), sino además en su composición fitoquímica. En la subespecie *pruinosa* se ha identificado la presencia de esteroides, alcaloides, alcoholes y polialcoholes en las hojas y flores (Iribarren y Pomilio, 1983), siendo una rica fuente de compuestos fenólicos, particularmente flavonoides glicosilados, en su mayoría derivados de canferol y

quercetina). Ferreres *et al.*, 2012, estudió el perfil fenólico de ambas subespecies (subsp.), obteniendo un 72% y 61% de flavonoides en el perfil fenólico de las subsp. *forficata* y *pruinosa* respectivamente. Diversos estudios han destacado la presencia de canferitrina (canferol 3,7-diramnósido) en la subsp. *forficata* (de Sousa *et al.*, 2004; Ferreres *et al.*, 2012) y su ausencia en la subsp. *pruinosa*, mientras que en esta última se destaca la presencia de rutina (quercetina-3-*O*-rutinósido), ambos flavonoles glicosilados con propiedades hipoglicemiantes, siendo la subsp. *pruinosa* de gran interés en la Medicina Tradicional Chilena debido su distribución geográfica.

Los principales compuestos identificados en las hojas de *B. forficata* subsp. *pruinosa* a los cuales se les atribuye propiedades hipoglicemiantes corresponden al alcaloide trigonelina y el flavonoide rutina (quercetina-3-*O*-rutinósido). Estudios en animales (ratas, conejos) mostraron un efecto hipoglicemiante tras la exposición aguda a extractos acuosos, hidroalcohólicos y etéreos de hojas de *B. forficata*, con una disminución de los niveles de glicemia entre un 39-41% (Lemus *et al.*, 1999; Silva *et al.*, 2002; Fuentes *et al.*, 2004). Un estudio *in vitro* evidenció que diferentes fracciones de un extracto metanólico de *B. forficata* producen una estimulación de la captación de glucosa en las células de glándulas gástricas aisladas de conejos normales y diabéticos, sugiriendo que el extracto ejercería un efecto similar al de la insulina, al favorecer la utilización de glucosa en tejidos periféricos (Fuentes y Alarcón, 2006).

El objetivo de este estudio fue determinar el contenido de rutina y trigonelina en infusos y extractos acuosos de hojas de *B. forficata* subsp. *pruinosa* y posteriormente evaluar el efecto del infuso 0.15% recomendado por la medicina popular sobre los niveles de glicemia en ayunas y %HbA_{1c} tras su administración diaria, por un período de 3 meses, en voluntarios diabéticos y prediabéticos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Hojas de *B. forficata* subsp. *pruinosa* (*Fabaceae*) adquiridas en el Supermercado de la Yerba, Santiago, Chile. La identificación botánica fue confirmada por el taxónomo Dr. Roberto Rodríguez del Departamento de Botánica, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Chile, bajo el código CONC N° 131396.

Elaboración de infusos y extracto

Se elaboraron dos infusos de concentración 0.15% y 1.0% de la siguiente manera: Se molieron parcialmente las hojas secas de *B. forficata* en procesadora, durante 10 segundos. Se pesó por duplicado 1.5 g y 1.0 g de hojas picadas y se les agregó 1 L y 100 mL respectivamente de agua a punto de hervir. Luego de reposar 15 min. se filtró cada infuso con papel filtro y se almacenó en material de vidrio bajo refrigeración hasta su uso.

El extracto acuoso liofilizado se obtuvo empleando un aparato Soxhlet mediante extracción por reflujo de 8.21 g de hojas molidas de *B. forficata* en 500 mL de agua, durante 10 horas continuas. El extracto obtenido fue sometido posteriormente a un baño de congelación con etanol a -35° C, y liofilizado en un equipo Syclon-10N durante 14 h., tras lo cual fue recolectado, pesado y envasado. Para las determinaciones posteriores, el extracto seco fue redisuelto en agua bidestilada a una concentración de 1.0 mg/ml (0.1%).

Análisis de rutina por HPLC-EC

Los infusos y el extracto acuoso liofilizado fueron filtrados por membrana de 0.22 μ m y analizados según procedimiento descrito por (Pastene *et al.*, 2009) empleando un sistema HPLC equipado con una bomba Hitachi LaChrom L-2130, detector electroquímico LC Epsilon CC-5E, Basi y una columna Supelcosil™ ABZ+plus, (250 x 4.6 mm; 5 μ m). Se empleó como fase móvil un sistema compuesto por el solvente A (agua bidestilada + 0.1 % ácido trifluoroacético (TFA) v/v) y el solvente B (acetonitrilo + 0.1 % TFA v/v), en el siguiente gradiente de elución: 0-25 min: 10-30% de B; 25-30 min: 30-75% de B; 30-35 min: 75-10% de B. La velocidad de flujo fue de 1.0 mL/min y el volumen de inyección de 20 μ L. La detección de la señal electroquímica se realizó a un potencial redox de 700 mV, graficando el área de señal (mAu) versus tiempo.

Análisis de trigonelina por HPLC-UV

Se realizó según procedimiento descrito por (Zheng & Ashihara, 2004), empleando un sistema HPLC YL 9300, con una bomba cuaternaria YL9110 y detector UV-VIS. Se empleó una columna Perkin Elmer C-18 (250 mm x 4.6 mm; 5 μ m) y una fase móvil compuesta por el solvente A (acetato de sodio 50 mM ajustado a pH 5.0) y el solvente B (metanol) en el siguiente gradiente de elución: 0-10 min: 0% de B; 10-20 min: 0-10% de B; 20-35 min: 10-70% de B;

35-45 min: 70-0% de B; 45-50 min: 0% de B. La velocidad de flujo y volumen de inyección fueron 1.0 mL/min y 20 μ L, respectivamente. Todos los cromatogramas fueron registrados a 270 nm, graficando el área de pico (mVs) versus tiempo.

Diseño del estudio

Se realizó un estudio piloto cuasi-experimental (antes-después) en un grupo de voluntarios con prediabetes y DM2. La captación de pacientes se realizó mediante difusión radial, charlas convocatorias y afiches. Los pacientes fueron informados sobre los beneficios y posibles riesgos del estudio, del cual podrían retirarse libremente en cualquier momento. Posteriormente se obtuvo el consentimiento informado, firmado por cada paciente. El comité de ética de la Universidad de Concepción autorizó este estudio, con fecha Agosto 2012.

Criterios de inclusión y exclusión

Se incluyó a pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 y/o prediabetes, de ambos sexos y adultos \geq a 30 años. Se excluyó a pacientes en tratamiento con insulina o tratamiento anticoagulante y con algún grado de insuficiencia hepática o renal. También se excluyeron mujeres embarazadas o con pretensión de embarazo inminente, y personas con desórdenes mentales.

Determinación de parámetros clínicos y seguimiento

Un total de 21 pacientes fueron reclutados, de los cuales 15 completaron el estudio. Antes de iniciar el tratamiento se determinó el peso, altura, presión arterial, glicemia en ayunas y % de HbA_{1c}. Todas las determinaciones bioquímicas se realizaron en equipos portátiles certificados marca Bayer®, mediante la obtención de una gota de sangre por punción capilar. Los pacientes fueron citados cada 15 días para medición de peso, glicemia en ayunas y presión arterial hasta completar los 3 meses de estudio consumiendo el infuso, mientras que el % de HbA_{1c} se determinó sólo al inicio y final del estudio. La toma de muestras se realizó siempre en ayunas, previo a la ingesta de medicamentos o infuso. Se consideró clínicamente significativa una reducción del % de HbA_{1c} de 0.5 puntos, correspondiente al efecto de la acarbosa, el hipoglicemiante oral más débil que se utiliza actualmente en la medicina convencional (Goguen, 2005; Crawford, 2009).

Preparación y pauta de administración del infuso 0.15%

Se entregó a cada paciente hojas secas molidas de *B. forficata* en un envase plástico sellado y una medida (cuchara de té) para la preparación del infuso. Se indicó a los pacientes preparar diariamente el infuso de la siguiente manera: 1 cucharada de té de hoja molida para 1 litro de agua hervida, dejando reposar por 15 minutos, filtrar y reservar. Tomar una taza (250 mL) 3 veces al día, después de las comidas, durante 3 meses.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante estadística descriptiva, t-student para muestras relacionadas y prueba ANOVA de medidas repetidas con procedimiento MIXED, considerando un nivel de significancia de 5 %. Se utilizó el software estadístico SAS Online Doc. versión 9.2.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron 2 infusos (0.15% y 1.0%) de acuerdo al modo de preparación empleado en medicina tradicional, además de un extracto acuoso liofilizado con un rendimiento de extracción, calculado en base seca, de un 36.5%.

Análisis de marcadores fitoquímicos por HPLC

Se logró determinar el contenido de rutina y trigonelina en los infusos y extracto acuoso liofilizado reconstituido con adecuada precisión, mostrando buena repetibilidad de acuerdo a los criterios definidos por la FDA (RSD < 15%) (FDA, 2001). Se evaluó además linealidad, límite de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) e intervalo lineal de ambos métodos, resultados que se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1
Características del método y revalidación de parámetros para la cuantificación de rutina y trigonelina por HPLC.

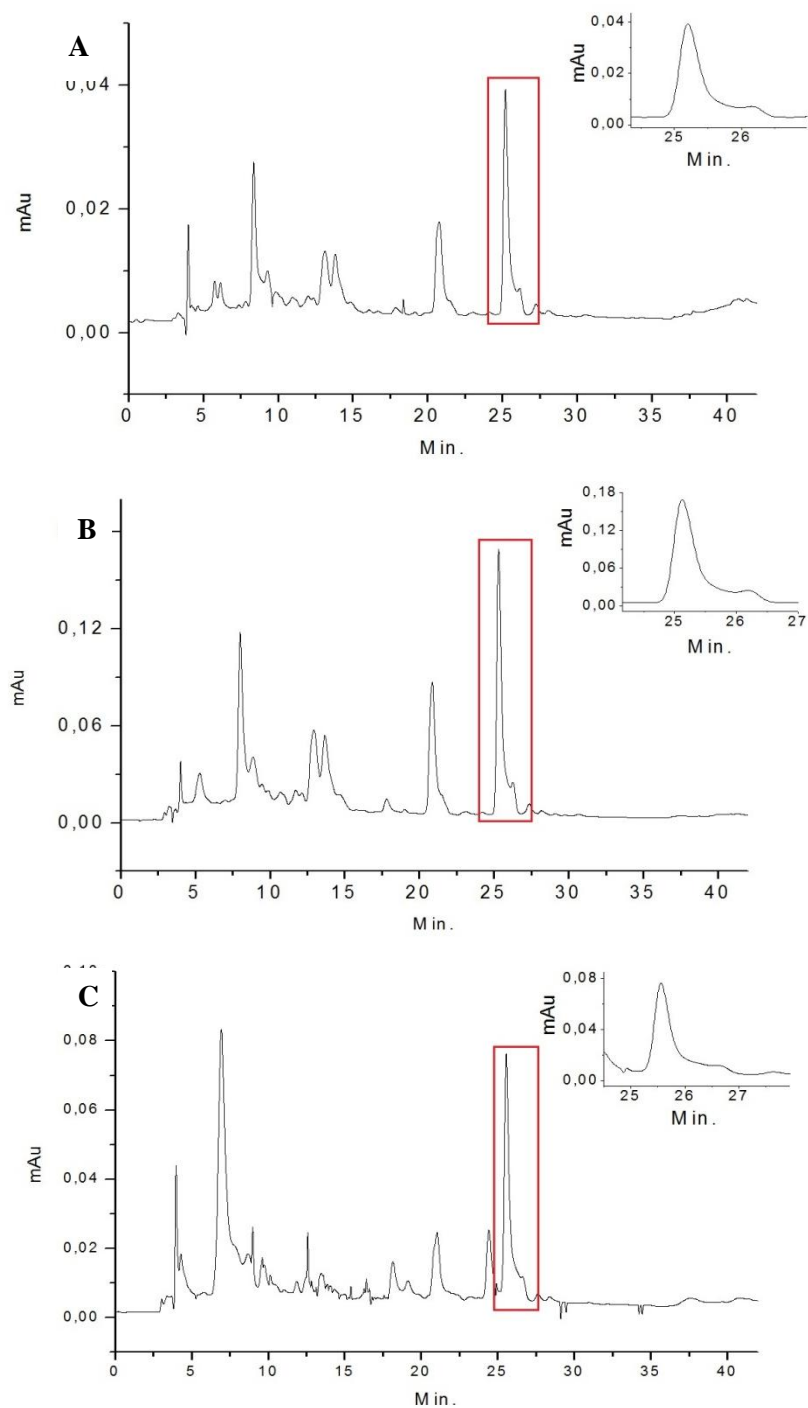
Parámetro	Rutina	Trigonelina
Detección	Electroquímica, 700 mV	Ultravioleta, 270 nm
Precisión intra-día (RSD)	< 4.6 %	< 2.6 %
LOD (µg/mL)	0.42	0.13
LOQ (µg/mL)	1.26	0.38
Ecuación de regresión	$y = 217777x - 37187$	$y = 19.24x - 11.172$
Coefficiente de determinación (r^2)	0.9994	0.9961
Intervalo lineal (µg/mL)	0.5 - 12	2.5 - 15

Determinación de rutina

En la Figura 1 se observa el perfil cromatográfico de los infusos y extracto acuoso liofilizado de *B. forficata* para la determinación del flavonoide rutina, con un tiempo de retención de 25 min. lo cual se verificó por sobrecarga de las muestras con un estándar de rutina.

Los perfiles cromatográficos de las muestras de *B. forficata* proporcionan visualmente información adicional respecto a la presencia de compuestos antioxidantes, mediante las reacciones de óxido-reducción generadas en el detector electroquímico. Se

observa una diversidad de compuestos hidrosolubles con actividad antioxidante, algunos de los cuales se encuentran en concentraciones importantes en comparación al flavonoide rutina. Los picos observados entre los 5-20 minutos podrían corresponder a otros compuestos fenólicos (catequina, epicatequina, ácido gálico), tras realizar una comparación de los perfiles con los cromatogramas individuales de estándares de flavonoides y ácidos fenólicos. El contenido de rutina en las muestras se observa en la Tabla 2.

**Figura 1**

Cromatogramas de infusos y extracto de hojas de *B. forficata* para la detección de rutina por HPLC. (A) Infuso 0.15 %; (B) Infuso 1.0 %; (C) Extracto acuoso liofilizado reconstituido 0.1%.

Tabla 2
Contenido de rutina en infusos y extracto seco de hojas de *B. forficata*

Muestras	Concentración de rutina (mg/gHS) \pm SD	RSD	Concentración de rutina (μ g/mL) \pm SD	RSD	Contenido de rutina (mg/dosis) \pm SD	RSD
Infuso (0.15%)	1.79 \pm 0.04	2.27	2.80 \pm 0.22	7.89	0.70 \pm 0.05	7.89
Infuso (1.0%)	1.23 \pm 0.00	0.33	12.48 \pm 0.02	0.17	3.12 \pm 0.00	0.17
Extracto seco (0.1%)	2.01 / 5.53 \pm 0.14 ^a	- / 2.47	5.70 \pm 0.22	3.84	-	-

gHS: gramos de hoja seca; ^aexpresado como mg rutina/g extracto seco. Los valores representan la media \pm la desviación estándar (SD) de cada muestra (n=3).

De acuerdo a estos resultados, se estima que los pacientes recibieron diariamente alrededor de 2.10 mg de rutina al consumir el infuso 0.15%, y recibirían hipotéticamente 9.36 mg de rutina diariamente ingiriendo un infuso al 1.0% de hojas de *B. forficata*.

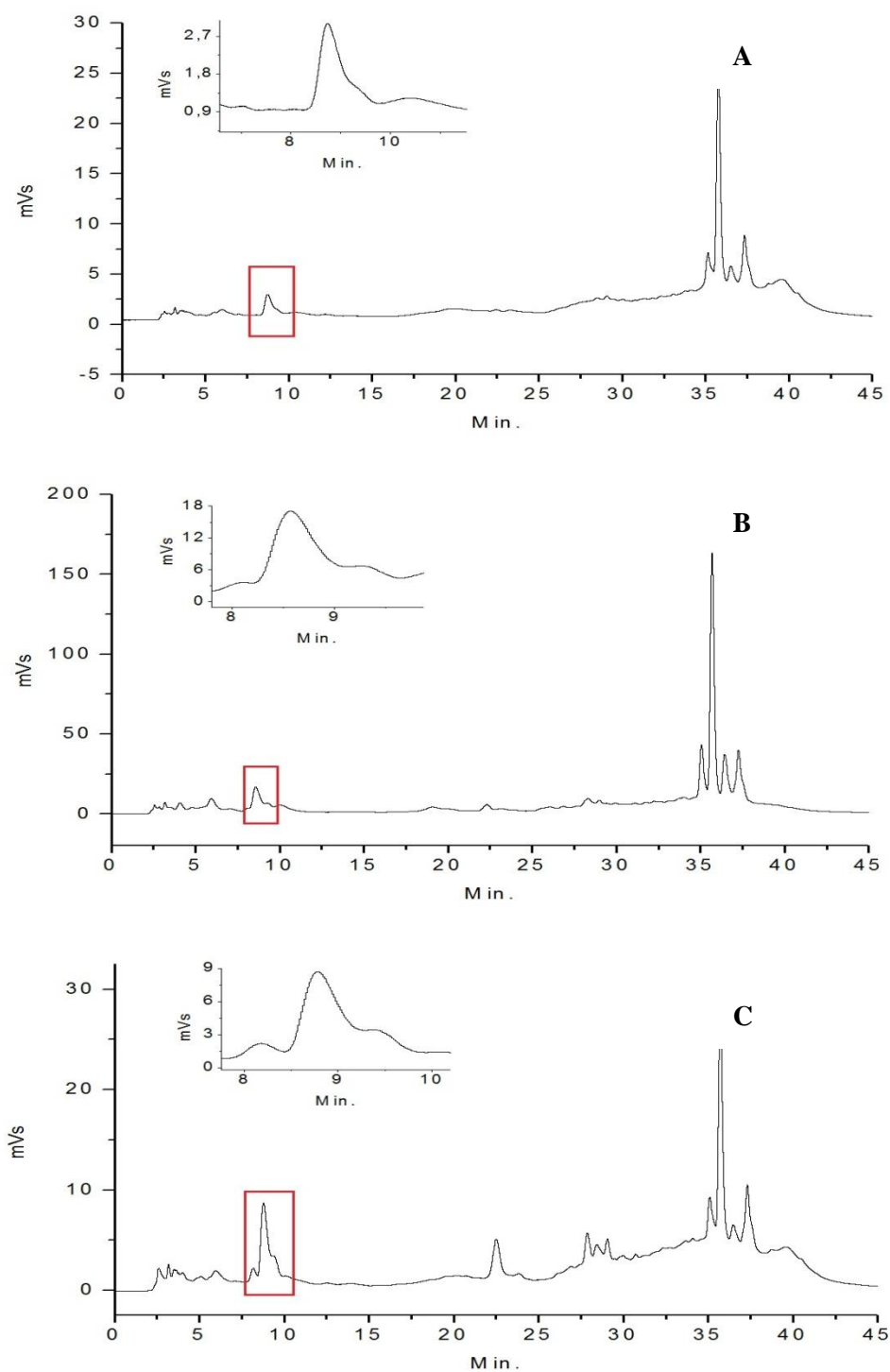
El fitomedicamento disponible comercialmente en Chile es un extracto fluido (EF), y de acuerdo a lo obtenido por (Ordoñez, 2010), aportaría por dosis entre 0.45-0.91 mg de rutina, equivalente a una administración diaria de 1.36-2.73 mg de rutina. Considerando esta información, el infuso al 0.15% aportaría diariamente una cantidad similar de rutina en comparación al fitomedicamento, mientras que el infuso al 1.0% aportaría diariamente entre 2-3 veces el contenido de rutina proporcionado al emplear incluso la dosis mayor de EF diariamente. Es ampliamente conocido que la concentración de constituyentes químicos en el material vegetal es variable debido a las diferencias en el ambiente de crecimiento, temporada de recolección, procesos de secado, almacenamiento y condiciones de extracción (Pinheiro *et al.*, 2006), por lo que no es posible asegurar que el contenido de rutina aportado por los infusos será idéntico en cada preparación debido al gran número de factores que influyen en este proceso.

La hiperglicemia crónica, principal característica de la diabetes, favorece procesos como la glicación no enzimática de proteínas, donde se generan especies reactivas de di carbonilo (RCS) como el glioxal, metilglioxal y malondialdehído entre

otros, intermediarios comunes en el daño de proteínas y que conllevan a la formación de productos finales de glicación avanzada (AGEs), involucrando proteínas estructurales de vida media larga como colágeno, elastina, mielina y proteínas del cristalino, entre otras, y también a proteínas de vida media corta como las lipoproteínas, causando alteración y deterioro de sus funciones normales (Pashikanti *et al.*, 2010). Se ha descrito que los compuestos fenólicos poseen buenas propiedades antioxidantes, por lo cual podrían actuar contrarrestando el estrés oxidativo y formación de radicales libres en patologías crónicas, como la diabetes, previniendo así las complicaciones crónicas como la neuropatía y nefropatía diabética. De esta manera, los flavonoides de *B. forficata* actuarían por diversos mecanismos en el tratamiento de la diabetes y sus complicaciones crónicas, entre ellos la acción antioxidante de rutina y sus metabolitos al intervenir en los procesos de formación de AGEs (Pashikanti *et al.* 2010), inhibición de la actividad de disacaridasas (maltasa) similar al efecto de la acarbosa (Fontana-Pereira *et al.* 2011), aumento de la liberación de insulina y ejerciendo además un efecto protector sobre las células β del páncreas.

Determinación de trigonelina

En la Figura 2 se observa el perfil cromatográfico de las muestras de *B. forficata* para la determinación de trigonelina, con un tiempo de retención de 9 minutos.

**Figura 2**

Cromatogramas de infusos y extracto de hojas de *B. forficata* para la detección de trigonelina por HPLC. (A) Infuso 0.15 %; (B) Infuso 1.0 %; (C) Extracto acuoso liofilizado reconstituido 0.1 %.

Tabla 3
Contenido de trigonelina en infusos y extracto seco de hojas de *B. forficata*

Muestra	Concentración de trigonelina (mg/gHS) \pm SD	RSD	Concentración de trigonelina (μ g/mL)	RSD	Contenido de trigonelina (mg/dosis) \pm SD	RSD
Infuso (0.15 %)	2.24 \pm 0.09	4.44	2.87 \pm 0.07	2.59	0.72 \pm 0.02	2.59
Infuso (1.0%)	1.58 \pm 0.07	4.42	16.24 \pm 0.59	3.64	4.06 \pm 0.15	3.64
Extracto seco (0.1%)	2.96/8.14 \pm 0.08 ^a	- / 1.07	8.14 \pm 0.08	1.07	-	-

gHS: gramos de hoja seca; ^a expresado como mg trigonelina/ g extracto seco. Los valores representan la media \pm la desviación estándar (SD) de cada muestra (n=2).

En la Tabla 3 se detalla el contenido de trigonelina de las muestras y el contenido aproximado por dosis, considerando el empleo de los infusos en la medicina tradicional.

De acuerdo al consumo diario sugerido a los pacientes, se calcula que los pacientes recibieron diariamente 2.16 mg de trigonelina con el infuso al 0.15%, lo que aumentaría a 12.2 mg de trigonelina diariamente en caso de emplear el infuso al 1.0%. Algunos fitomedicamentos comercializados en España elaborados a partir de Fenogreco (*Trigonellina foenum-graecum*) han sido estandarizados en base al contenido de trigonelina, siendo el principal uso como hipoglicemiante e hipolipemiante. De acuerdo a la posología indicada para estos productos (cápsulas, extracto fluido, extracto seco) (Vanaclocha, 2013), se calcula que los pacientes recibirían en promedio entre 3.4 y 12 mg de trigonelina/día. Al no existir productos fitoterapéuticos de *B. forficata* estandarizados en trigonelina, se realizó una estimación con los datos disponibles provenientes de productos comerciales de fenogreco, estandarizados con este marcador. En base a esto, se obtuvo que el infuso 0.15% proporcionaría diariamente un contenido inferior de trigonelina al aportado por productos en base a fenogreco, utilizando la menor dosis recomendada, mientras que el infuso al 1.0% aportaría una cantidad similar a los preparados comerciales disponibles en otros países, siempre considerando que se trata de especies

vegetales distintas, por lo que la comparación es sólo referencial.

Efecto hipoglicemiante de *B. forficata* en pacientes prediabéticos y diabéticos tipo 2

Caracterización de la muestra

La Tabla 4 muestra las características y parámetros clínicos basales de los 15 pacientes que completaron el estudio.

Un 13.3% de los pacientes tenía un IMC normal; 13.3% presentaban obesidad, y un 73.3% de los participantes se encontraban con sobrepeso. Una baja proporción de individuos eran fumadores y consumidores de alcohol (13.3% y 6.7% respectivamente).

El 73% de los pacientes (n=11) padecía de diabetes diagnosticada y confirmada con mediciones de glicemia en ayunas alterada, mientras que el 27% de los participantes (n = 4) calificaba como prediabético de acuerdo a las mediciones de glicemia en ayunas y tomando además como referencia el valor de hemoglobina glicosilada. El promedio de duración de la diabetes en los casos diagnosticados fue de 7.5 \pm 4.8 años con la enfermedad. Un 93% de los pacientes (n = 14) consumía algún fármaco hipoglicemiante, los que se muestran en detalle en la Figura 3, mientras que sólo un 7% (n = 1) se encontraba sin tratamiento. El principal fármaco utilizado por los pacientes, correspondía a Metformina, sola o asociada con otros hipoglicemiantes orales.

Tabla 4
Características demográficas, antropométricas y mediciones basales del grupo en estudio.

Parámetro	Media \pm SD
Sexo (M/F)	11/4
Edad (años)	58 \pm 8
Peso (Kg)	76.8 \pm 10.2
Altura o Talla (m)	1.67 \pm 0.08
IMC (Kg/m ²)	27.5 \pm 2.1
Glicemia en ayunas (mg/dL)	155 \pm 57
HbA _{1c} (%)	8.0 \pm 1.8
PAS (mmHg)	140 \pm 23
PAD (mmHg)	85 \pm 10

IMC: índice de masa corporal; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica

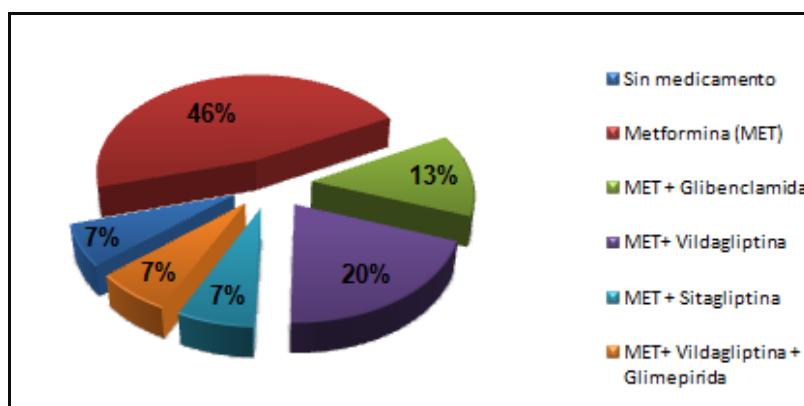


Figura 3
Tratamiento farmacológico habitual de los participantes del estudio

Evaluación del % de HbA_{1c} y glicemia en ayunas

La **Tabla 5** muestra los parámetros bioquímicos evaluados, antes y después del tratamiento con las hojas de *B. forficata*. Se observó una reducción estadísticamente significativa del % de HbA_{1c}, con un valor de significación del 5%, alcanzando una reducción de 0.57 ± 0.83 puntos ($t = 2.680$; $p = 0.0179$). Se calculó además el tamaño del efecto, obteniendo un valor $d = 0.32$, lo que corresponde a un efecto pequeño, sin embargo, clínicamente significativo considerando que el efecto del fármaco

hipoglicemiante más débil alcanza una reducción de 0.5 puntos del % de HbA_{1c}. En cuanto a la glicemia en ayunas, se considera como un efecto clínicamente significativo la reducción de al menos 18 mg/dL en este parámetro (Goguen, 2005), por lo que de acuerdo a estos resultados, no se apreciaron diferencias estadísticamente significativas en el perfil glicémico de los pacientes durante el período de estudio mediante la prueba ANOVA ($p = 0.2919$), y tampoco se encontró evidencia de correlación entre el peso y valores de glicemia para cada paciente.

Tabla 5
Valores de glicemia en ayunas y % de HbA_{1c} antes y después del consumo de un infuso 0.15 % de hojas de *B. forficata*

Parámetro	Antes del tratamiento (Media \pm SD)	Después del tratamiento (Media \pm SD)	Diferencia
% de HbA _{1c}	8.02 \pm 1.83	7.44 \pm 1.76	0.57 \pm 0.83
Glicemia en ayunas (mg/dL)	160.60 \pm 14.40	146.50 \pm 13.60	14.10 \pm 6.90

Los valores representan la media \pm la desviación estándar (SD).

En la **Figura 4** se observa la tendencia del % de HbA_{1c} de cada paciente, considerando una

medición antes y después del estudio, la cual sigue una tendencia descendente en el tiempo.

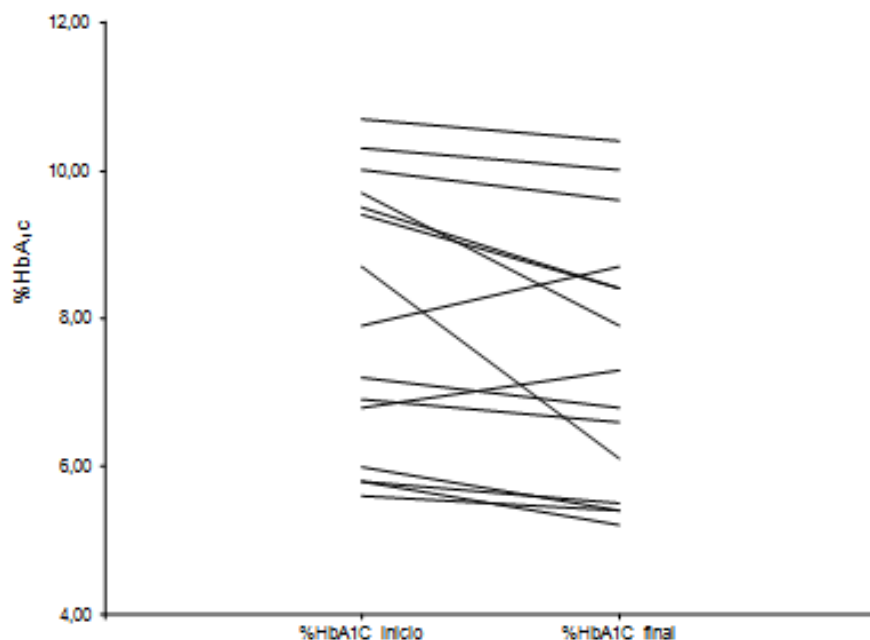


Figura 4
Tendencias individuales del % de HbA_{1c} durante el período de estudio tras consumo del infuso 0.15% de hojas de *B. forficata*. (n = 15)

Se detectó como efecto adverso en un 33.3% de los pacientes (n = 5) un aumento de la diuresis, lo cual no afectó la calidad de vida de los pacientes ni provocó deserción del estudio, siendo bien tolerado. Este efecto fue de carácter leve y de aparición aguda durante el primer mes de tratamiento, situación que posteriormente se normalizó. No se reportaron efectos tóxicos con el uso de esta planta medicinal. Estos resultados concuerdan con lo descrito para *B. forficata*, para la cual se ha reportado acción diurética (MINSAL, 2009), destacando además un buen perfil

de seguridad y ausencia de toxicidad (Gorzalczany *et al.*, 1999).

En el estudio realizado por (Pozzobon *et al.*, 2012), se obtuvo que un preparado fitoterapéutico de *B. forficata* utilizado en pacientes con DM2 en dosis similares a las utilizadas en medicina popular, no produjo una alteración y/o reducción de los niveles de glicemia, ni % de HbA_{1c}. Sin embargo, el autor observó una tendencia descendente de los niveles de glicemia, similar a lo observado durante este estudio y en contraste a lo obtenido por este autor, si se observó una reducción leve y estadísticamente

significativa del % de HbA_{1c}. Los resultados son alentadores respecto al uso dado por la etnomedicina a las hojas de *B. forficata* subsp. *pruinosa* para el tratamiento de la DM2 y posiblemente para estados previos de la enfermedad.

Considerando la variada composición fitoquímica de las hojas de *B. forficata*, es probable que el efecto terapéutico no pueda ser atribuido a un solo componente y más bien, se trate de la acción del fitocomplejo, el que experimentalmente ha demostrado buenos resultados *in vitro* e *in vivo*, destacando entre los principios activos involucrados la presencia de compuestos fenólicos (flavonoides, ácidos fenólicos), esteroides y alcaloides que ejercerían su efecto por múltiples mecanismos, logrando el efecto hipoglicémico.

Se sugiere para futuras investigaciones, considerar la determinación de niveles de insulina en los pacientes, debido a la evidencia acumulativa sobre el aumento de la liberación de insulina provocada por los extractos de hojas de esta especie (Vasconcelos *et al.*, 2004; Zhou *et al.*, 2013). Como nuevos desafíos a partir de este estudio, se plantea la idea de aumentar el tiempo de intervención y el número de pacientes, aumentar la concentración del preparado fitoterapéutico al 1.0 ó 2.0%, concentraciones que también son utilizadas en medicina popular, y por último la evaluación del desarrollo de un fitomedicamento a partir del extracto acuoso liofilizado obtenido.

CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio permitieron la identificación cualitativa y cuantitativa del flavonoide rutina y el alcaloide trigonelina en los infusos de hojas de *B. forficata*. Además se demostró el efecto hipoglicémico leve de una infusión de hojas de *B. forficata* en pacientes con prediabetes y diabetes mellitus tipo 2. Por tanto, *Bauhinia forficata* (L) subsp. *pruinosa* podría ser efectiva en el tratamiento complementario de diabetes tipo 2 y prediabetes, y tiene potencialidades para el desarrollo de un fitomedicamento.

AGRADECIMIENTOS

P. Tolozza agradece a CONICYT, Beca 22101346 y Proyecto FONIS SA12i2257. Gracias a Felipe Morales, Edgar Pastene, Carlos Peña y Katia Saez por su colaboración y asistencia técnica.

REFERENCIAS

- ADA. 2013. El diagnóstico de la diabetes e información sobre la prediabetes. <http://www.diabetes.org/es/informacion-basica-de-la-diabetes/diagnostico.html> [Citada el 07 Mayo 2014].
- Crawford P. 2009. Effectiveness of cinnamon for lowering hemoglobin A1C in patients with type 2 diabetes: a randomized, controlled trial. **J Am Board Fam Med** 22: 507 - 512.
- De Sousa E, Zanatta L, Seifriz I, Creczynski-Pasa T, Pizzolati M, Szpoganicz B, Silva FR. 2004. Hypoglycemic effect and antioxidant potential of Kaempferol-3,7-O-(r)-dirhamnoside from *Bauhinia forficata* Leaves. **J Nat Prod** 67: 829 – 832.
- FDA. 2001. Guidance for Industry, Bioanalytical method validation. **Editorial, Ciudad, País.**
- Ferreres F, Gil-Izquierdo A, Vinholes, J, Silva S, Valente P, Andrade P. 2012. *Bauhinia forficata* Link authenticity using flavonoids profile: Relation with their biological properties. **Food Chem** 134: 894 - 904.
- Fontana-Pereira D, Cazarolli L, Lavado C, Mengatto V, Reis M, Guedes A, Pizzolatti M, Silva FR. 2011. Effects of flavonoids on α -glucosidase activity: Potential targets for glucose homeostasis. **Nutrition** 27: 1161 - 1167.
- Fortunato R. 1986. Revisión del género *Bauhinia* (Cercideae, Caesalpinioidea, Fabaceae) para la Argentina. **Darwiniana** 27: 527 - 557.
- Fuentes O, Arancibia-Ávila P, Alarcón J. 2004. Hypoglycemic activity of *Bauhinia candicans* in diabetic induced rabbits. **Fitoterapia** 75: 527 - 532.
- Fuentes O, Alarcón J. 2006. *Bauhinia candicans* stimulation of glucose uptake in isolated gastric glands of normal and diabetic rabbits. **Fitoterapia** 77: 271 - 275.
- Garber AJ, Handelsman Y, Einhorn D, Bergman D. 2008. Prediabetes consensus statement. **Endocrine Practice** 14: 935 - 942.
- Goguen J. 2005. Alternative medicine for glycemic control in type 2 diabetes mellitus: What's the evidence?. **Endocrinology Rounds** 5: 1 - 5.
- Gorzalczany S, Rojo A, Rondina R, Debenedetti S, Acevedo M. 1999. Estudio de toxicidad aguda por vía oral de plantas medicinales argentinas. **Acta Farmac Bonaerense** 18: 221 - 224.

- Iribarren AM, Pomilio AB. 1983. Components of *Bauhinia Candicans*. **J Nat Prod** 46: 752 - 753.
- Lemus I, García R, Del Villar E, Knop G. 1999. Hypoglycaemic activity of four plants used in Chilean popular medicine. **Phytother Res** 13: 91 - 94.
- MINSAL. 2009. **Medicamentos Herbarios Tradicionales**, Santiago, Chile.
- MINSAL. 2010. **Diabetes Mellitus tipo 2**. Serie Guías Clínicas MINSAL, Santiago, Chile.
- Ordoñez JL. 2010. **Desarrollo de un producto fitoterapéutico estandarizado en base a extracto de *Bauhinia candicans* Benth y evaluación de su efecto hipoglicemiante en un modelo de ratas diabéticas**. Tesis. Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
- Pashikanti S, de Alba D, Boissonneault G, Cervantes-Laurean D. 2010. Rutin metabolites: Novel inhibitors of nonoxidative advanced glycation end products. **Free Rad Biol Med** 48: 656 - 663.
- Pastene E, Troncoso M, Figueroa G, Alarcón J, Speisky H. 2009. Association between polymerization degree of apple peel polyphenols and inhibition of *Helicobacter pylori* urease. **J Agric Food Chem** 57: 416 - 424.
- Pinheiro T, Johansson L, Pizzolatti M, Biavatti M. 2006. Comparative assessment of kaempferitrin from medicinal extracts of *Bauhinia forficata* Link. **J Pharm Biomed Anal** 41: 431 - 436.
- Pozzobon A, Rempel C, Hoerlle J. 2012. Avaliação do efeito da *Bauhinia forficata* no perfil glicêmico e verificação dos níveis séricos do cortisol de portadores de diabetes mellitus tipo 2, usuários de unidades básicas de saúde no vale do taquari, RS. **Cad Ped Lajeado** 9: 9 - 23.
- Silva FR, Szpoganicz B, Pizzolati MG, Willrich MA, de Sousa E. 2002. Acute effect of *Bauhinia forficata* on serum glucose levels in normal and alloxan-induced diabetic rats. **J Ethnopharmacol** 83: 33 - 37.
- Vanaclocha B. 2013. Fitomedicamentos Fenogreco. http://www.fitoterapia.net/vademecum/presentaciones_simples_ficha.php?remedio=358&orden=laboratorio [Visitado 25 Abril 2014]
- Vasconcelos F, Sampaio S, Garófalo M, Guimaraes L, Giglio J, Arantes E. 2004. Insulin-like effects of *Bauhinia forficata* aqueous extract upon *Tityusserrulatus* scorpion envenoming. **J Ethnopharmacol** 95: 385 - 392.
- Zheng X, Ashihara H. 2004. Distribution, biosynthesis and function of purine and pyridine alkaloids in *Coffea arabica* seedlings. **Plant Science** 166: 807 - 813.
- Zhou J, Zhou S, Zeng S. 2013. Experimental diabetes treated with trigonelline: effect on β cell and pancreatic oxidative parameters. **Fund Clin Pharmacol** 27: 279 - 287.