



ARTIGO

Inibição de enzimas digestivas por extratos de pó comercial de *Hoodia gordonii* utilizado no tratamento da obesidade

Chrystian Araújo Pereira^{1*}, Luciana Lopes Silva Pereira², Angelita Duarte Corrêa³, Pricila M. Batista Chagas⁴, Stefânia Pricilla de Souza⁵ e Custódio Donizete dos Santos³

Recebido: 16 de junho de 2010 Recebido após revisão: 12 de novembro de 2010 Aceito: 13 de abril de 2011
Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1621>

RESUMO: (Inibição de enzimas digestivas por extratos de pó comercial de *Hoodia gordonii* utilizado no tratamento da obesidade). Evidências etnofarmacológicas sustentam o efeito inibidor do apetite e emagrecedor da *Hoodia gordonii* (Apocynaceae) nativa do continente africano e comercializada no mundo todo para o tratamento da obesidade. Porém, tais efeitos foram demonstrados apenas pelo seu princípio ativo, o glicosídeo P57. Não há estudos relacionados à presença de inibidores enzimáticos em amostras comerciais da planta, que podem participar ou mesmo serem responsáveis pelos efeitos propostos. O objetivo deste trabalho foi realizar ensaios de inibição de enzimas digestivas com amostras comerciais do pó de *H. gordonii* (PHG). Foram realizadas análises de inibição das enzimas α -amilase, α e β -glicosidases, lipase e tripsina na presença e ausência de um fluido gástrico simulado. Foram detectadas inibições (expressas em unidades de enzima inibida, UEI) apenas das α e β glicosidases, com diferenças entre as amostras. Para α -glicosidase, a inibição foi maior na presença (50,5 e 29,8) que na ausência (10,4 e 16,7) do fluido gástrico para as amostras HA e HB, respectivamente. Já para β -glicosidase, a inibição só foi detectada (25,5 e 12,9) na ausência do fluido gástrico, para ambas as amostras. Os resultados indicam que as amostras de PHG são capazes de inibir somente as enzimas digestivas α e β -glicosidases, em níveis considerados satisfatórios segundo a literatura, especialmente para a primeira. A presença dessa atividade inibitória pode explicar, portanto, parte do efeito emagrecedor dos PHG, até então atribuído somente à ação do glicosídeo ativo P57. Apesar dos ensaios de inibição terem mostrado qualitativamente as mesmas respostas para as duas amostras, quantitativamente diferenças são encontradas, levantando questionamentos quanto à padronização dos extratos comerciais.

Palavras-chave: obesidade, inibição enzimática, glicosidase.

ABSTRACT: (Inhibition of digestive enzymes by commercial powder extracts of *Hoodia gordonii*). Ethnopharmacological evidence supporting the inhibitory effect of appetite and weight loss *Hoodia gordonii* (Apocynaceae) native to Africa and sold worldwide for the treatment of obesity. However, such effects have been demonstrated only by its active ingredient, the glycoside P57. There are no studies related to the presence of compounds such as enzyme inhibitors, in commercial samples of the plant, which may participate or even be responsible for the proposed effects. The objective of this study was to test the inhibition of digestive enzymes with commercial samples of *H. gordonii* powder (PHG). Analysis was performed, inhibition of the enzymes α -amylase, α and β -glycosidases, lipase and trypsin in the presence and absence of a simulated gastric fluid. Inhibitions were detected (expressed in units of enzyme inhibited, UEI) only the α and β glucosidases, with differences between samples. For α -glycosidase inhibition was greater in the presence (50.5 and 29.8) in the absence (10.4 and 16.7) of gastric fluid samples for HA and HB, respectively. As for β -glycosidase inhibition was not detected (25.5 and 12.9) in the absence of gastric fluid, for both samples. The results indicate that the samples PHG are only able to inhibit the digestive enzymes α and β glycosides in satisfactory levels according to the literature, especially for the first one. The presence of this inhibitory activity may therefore explain part of the slimming effect of the PHG, attributed so far only the action of the active glycoside P57. Despite the inhibition assays have shown the same answers qualitatively for the two samples, quantitative differences are found, raising questions about the standardization of commercial extracts.

Key words: obesity, enzyme inhibition, glycosidase.

INTRODUÇÃO

A obesidade vem crescendo acentuadamente ao redor do mundo nos últimos anos e os potenciais riscos de sua prevalência e progressão envolvem as dislipidemias, hipertensão, doenças coronarianas, diabetes, entre outras (Mosca *et al.*, 2008, OPAS/OMS, 2003, SBEM, 2009). Uma das formas de combater essa epidemia é com tratamento medicamentoso. Atualmente, estão disponíveis diversos produtos para o controle do peso, in-

cluindo preparações farmacológicas e suplementos dietéticos que objetivam restringir a absorção de energia e promover a perda de peso, sendo a maioria constituída de extratos vegetais (Boniglia *et al.* 2008).

A prospecção de alternativas terapêuticas, principalmente de origem vegetal, apresenta-se como opção promissora para a descoberta de novos fitoterápicos e fitomedicamentos, visto que a grande diversidade de espécies vegetais ainda sem estudos representa um vasto

1. Doutorando e Bolsista CAPES. Departamento de Química, Laboratório de Bioquímica, Universidade Federal de Lavras (UFLA). Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, MG, Brasil.

2. Doutoranda. Departamento de Química, UFLA. MG, Brasil.

3. Prof. Dr. do Departamento de Química, UFLA. MG, Brasil.

4. Discente de Graduação em Química e Bolsista Iniciação Científica FAPEMIG. Departamento de Química, UFLA, MG, Brasil.

5. Doutoranda. IME. RJ, Brasil.

* Autor para contato. E-mail: capfarma@yahoo.com.br.

campo de moléculas a serem descobertas (Foglio *et al.* 2006). Os produtos naturais vêm recuperando espaço e importância na indústria farmacêutica, seja *per-se*, seja como fonte inspiradora de novos padrões moleculares bioativos (Viegas Jr. *et al.* 2006). Nesse contexto, alvos moleculares como enzimas e receptores tem sido estudados para a busca de medicamentos baseados no mecanismo de inibição enzimática que ocasiona alterações benéficas no metabolismo e o uso no tratamento de doenças (Montanari & Bonzani 2001, Viegas Jr. *et al.* 2006, Yunes *et al.* 2001).

As enzimas amilase e glicosidases são responsáveis pelo processamento de carboidratos provenientes da dieta, atuando na quebra do amido e na absorção de monossacarídeos pelos enterócitos (Guyton & Hall 2002). Dessa forma, inibidores dessas enzimas, presentes em plantas, oferecem uma estratégia promissora para o controle da hiperglicemia associada ao diabetes tipo 2, obesidade e hipertensão através da redução da quebra do amido e da absorção da glicose no intestino (Kwon *et al.* 2006).

Adicionalmente, a lipase envolvida no metabolismo de lipídios apresenta-se também como interessante alvo de inibidores, uma vez que sua inibição promove redução na absorção de triglicerídeos da dieta, ocasionando diminuição do aproveitamento calórico e perda de peso. Por outro lado, a inibição de tripsina envolvida na digestão de proteínas, ao contrário das demais inibições, configura-se como efeito maléfico (Friedman & Brandon 2001) pois impede a completa absorção de aminoácidos presentes nos alimentos e de fundamental importância para o organismo.

Diversos estudos demonstram a eficácia, a importância e o potencial de uso de inibidores de amilases (Boniglia *et al.* 2008, Tormo *et al.* 2004, Obiro *et al.* 2008, Udani *et al.* 2009), glicosidases (Melo & Carvalho 2006, Kwon *et al.* 2006) e lipases (Mancini & Halpern 2002, Souza 2009) no tratamento da obesidade e comorbidades associadas e reforçam a necessidade da busca por novas fontes desses inibidores.

Evidências etnofarmacológicas sustentam o efeito inibidor do apetite e emagrecedor da *Hoodia gordonii* (Masson) Sweet ex Decne., uma planta da ordem Gentianales, família Apocynaceae, sub-família Asclepiadaceae, nativa do continente africano, que é encontrada nos desertos da Namíbia e de Kalahari (Van Heerden 2008, WHO 2003). Há milhares de anos, o povo San, um dos mais antigos habitantes da região sul do continente africano, consome pedaços de *H. gordonii* picados, durante as caçadas. Por vários dias de caça, sem alimento e água eles ingerem apenas a planta para saciar a fome, inibir o apetite e manter a disposição (WHO 2003). Hoje, o grande interesse pelas propriedades inibidoras do apetite da *Hoodia*, proporciona uma intensa demanda por produtos à base da planta. Estima-se que, somente no mercado norte-americano, estejam disponíveis para comercialização mais de 100 produtos em diversas apresentações (tabletes, cápsulas, géis, sucos, pós, chás,

e outros) que contenham a planta em sua composição (Avula *et al.* 2008). Porém, tais efeitos foram demonstrados apenas pelo seu princípio ativo, o glicosídeo purificado P57 (MacLean & Luo 2004, Van Heerden *et al.* 2007). Não há estudos relacionados à presença de outros compostos como inibidores enzimáticos, em amostras comerciais da planta, que eventualmente podem participar ou até mesmo serem responsáveis pelos efeitos propostos.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi realizar ensaios de inibição de enzimas digestivas com amostras comerciais do pó de *H. gordonii* (PHG), visando detectar a atividade de inibidores, aos quais poderia também ser atribuída participação no suposto efeito emagrecedor da planta.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção das amostras do pó comercial de H. gordonii (PHG) e preparo dos extratos

Duas amostras comerciais do pó de *H. gordonii*, (denominadas HA e HB) foram adquiridas em farmácias de manipulação dos municípios de Lavras e Juiz de Fora, ambos em Minas Gerais, acompanhadas de laudos de análises de controle de qualidade realizadas por fornecedores de matérias-primas nacionais, porém de procedência informada da China.

As amostras foram misturadas com água destilada nas proporções 1:5 e 1:10 (p/v) e colocadas em agitador horizontal à temperatura ambiente durante 1 hora. Em seguida, a mistura foi centrifugada por 15 minutos a 2.500 g. O precipitado foi descartado e o sobrenadante obtido foi congelado para a realização das análises.

Obtenção das enzimas

Foram utilizadas nos ensaios a enzima α -amilase pancreática suína do tipo VI (SIGMA) e as enzimas tripsina pancreática suína e lipase suína tipo II (MERCK). As α e β -glicosidases foram obtidas a partir de duodeno suíno fresco cedido pelo Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras. O tecido foi triturado em liquidificador com tampão Tris-HCl 0,5 mol.L⁻¹, pH 8,0 à 4 °C, para extração das enzimas das membranas dos enterócitos e processado em mixer até completa homogeneização. O homogeneizado foi filtrado em malha de nylon e centrifugado por 10 minutos a 2.500 g, a 4 °C. O sobrenadante foi recolhido e utilizado como extrato enzimático.

Atividade de α -amilase

A atividade de α -amilase foi determinada segundo a metodologia proposta por Noelting & Bernfeld (1948). Assim, 50 μ L da amostra e 50 μ L de enzima α -amilase foram pré-incubados por 20 minutos em banho-maria a 37°C. O substrato foi o amido 1%, preparado em tampão Tris 0,05 mol.L⁻¹, pH 7,0 acrescido de NaCl 38

mmol.L⁻¹ e CaCl₂ 0,1 mmol.L⁻¹. Após adição de 100 µL do substrato, a mistura foi incubada por quatro períodos de tempo. A reação foi interrompida adicionando-se 200 µL do reagente ácido 3,5 dinitrosalicílico e o produto lido em espectrofotômetro, a 540 nm.

Atividade de α -glicosidase

A atividade de α -glicosidase foi determinada segundo Kwon *et al.* (2006), utilizando *p*-nitrofenil- α -D-glicopiranosídeo 5 mmol.L⁻¹ em tampão citrato-fosfato 0,1 mol.L⁻¹, pH 7,0 como substrato. No ensaio, 50 µL da amostra e 100 µL de enzima foram incubados em banho-maria a 37 °C por quatro períodos de tempo, após adição de 50 µL do substrato. A reação foi interrompida adicionando-se 1 mL de NaOH 0,05 mol.L⁻¹, e a leitura do produto feita em espectrofotômetro, a 410 nm.

Atividade de β -glicosidase

A atividade de β -glicosidase foi determinada segundo Kwon *et al.* (2006), utilizando *p*-nitrofenil- β -D-glicopiranosídeo 5 mmol.L⁻¹ em tampão citrato-fosfato 0,1 mol.L⁻¹, pH 7,0 como substrato. No ensaio, 50 µL da amostra e 100 µL de enzima foram incubados em banho-maria a 37 °C por quatro períodos de tempo após adição de 50 µL do substrato. A reação foi interrompida adicionando-se 1 mL de NaOH 0,05 mol.L⁻¹, e o produto lido em espectrofotômetro, a 410 nm.

Atividade de lipase

Em cada análise, a mistura de 100 µL de lipase, 50 µL de extrato da amostra e 50 µL de substrato *p*-nitrofenilpalmitato 8 mmol.L⁻¹ em tampão Tris-HCl 0,05 mol.L⁻¹, pH 8,0 contendo 0,1% Triton-X100, foram incubados por quatro períodos de tempo. A reação foi paralisada transferindo os tubos para um banho de gelo e adicionando-se 1.000 µL de tampão Tris-HCl 0,05 mol.L⁻¹ pH 8,0. O *p*-nitrofenol (produto da ação da lipase sobre o *p*-nitrofenilpalmitato), de coloração amarela, foi lido em espectrofotômetro, a 410 nm (Souza 2009).

Atividade de tripsina

A atividade de tripsina foi determinada segundo a metodologia proposta por Erlanger (1961). Assim, 200 µL da amostra e 200 µL de enzima foram incubados em banho-maria a 37°C por quatro períodos de tempo após adição de 800 µL do substrato *p*-benzoil-D-L arginina *p*-nitroanilida (BAPNA), preparado em tampão TRIS (trihidroximetilaminometano) 0,05 mol.L⁻¹, pH 8,2. A reação foi interrompida adicionando-se 200 µL de ácido acético 30% e o produto lido em espectrofotômetro, a 410 nm.

Determinação da inibição

A inibição das enzimas foi obtida a partir da determinação das inclinações das retas (absorbância x tempo) dos ensaios de atividade das enzimas controle (sem

amostra) e enzimas mais inibidor (com amostra). A inclinação da reta é decorrente da velocidade de formação de produto por minuto de reação e a presença do inibidor ocasiona uma diminuição nessa inclinação. A partir dessa inclinação, os valores de absorbância foram convertidos em µmol de produto por meio de uma curva padrão de glicose, para a amilase, e de *p*-nitrofenol, para as glicosidases e para lipase, enquanto para a tripsina foi usado o coeficiente de extinção molar do BAPNA determinado por Erlanger (1961).

Preparo do fluido gástrico simulado

Com o objetivo de simular o processo de digestão no estômago *in vitro*, foram também realizados os ensaios de atividades enzimáticas na presença de um fluido gástrico simulado. Para tal, os extratos foram incubados com o fluido gástrico simulado preparado segundo a USP (1995), por 1 hora em banho-maria a 37 °C. Após esse período, foram neutralizados com o sal bicarbonato de sódio até o pH fisiológico e só então realizados os ensaios de atividade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de inibição enzimática dos extratos de PHG são apresentados na Tabela 1.

Os extratos do PHG demonstraram inibição apenas das enzimas glicosidases envolvidas no metabolismo de carboidratos, no extrato 1:5. Não foi detectada inibição das enzimas lipase e tripsina, envolvidas nos metabolismos lipídico e proteico, respectivamente.

Para a α -glicosidase, HB foi cerca de 60% mais efetiva que a HA antes da exposição ao fluido gástrico, mas após a exposição, a situação inverteu-se. No entanto, para ambas, a exposição ao fluido gástrico simulado ocasionou aumento da inibição, indicando que o inibidor sofre potencialização após a alteração do pH, provavelmente por ionização de grupos ativos. Expressando a inibição de α -glicosidase em porcentagem, verifica-se para HA, 16,67% e 57,47% e para HB, 26,83% e 33,91%, antes e após a exposição ao fluido gástrico, respectivamente. Tais percentuais, em especial aqueles obtidos para ambas após a exposição ao fluido gástrico, encontram-se dentro da faixa considerada como um bom perfil inibitório de enzimas relacionadas ao metabolismo de carboidratos como a α -glicosidase (Kwon *et al.* 2006).

Já para a β -glicosidase a inibição aparece somente na ausência do fluido gástrico simulado, desaparecendo completamente após a exposição ao mesmo. Porém, HA apresenta o dobro de atividade inibitória em relação a HB, que a exemplo do que ocorreu com a α -glicosidase demonstra diferenças entre as amostras que em tese, deveriam ser próximas.

Na dieta humana normal, existem apenas três fontes principais de carboidratos, representadas pelos dissacarídeos sacarose e lactose e o polissacarídeo amido (Guyton & Hall 2002). Considerando que nos três ca-

Tabela 1. Inibição das enzimas digestivas em unidades de enzima inibida (UEI¹) por extratos do pó comercial de duas amostras de *Hoodia gordonii*, antes e após exposição ao fluido gástrico simulado.

Enzima	Extrato	Amostra ²			
		HA		HB	
		Sem fluido gástrico	Após fluido gástrico	Sem fluido gástrico	Após fluido gástrico
Amilase	1:5	nd ³	nd	nd	nd
	1:10	nd	nd	nd	nd
Alfa-glicosidases	1:5	10,4 ± 1,3	50,5 ± 2,8	16,7 ± 1,4	29,8 ± 2,5
	1:10	nd	nd	nd	nd
Beta-glicosidases	1:5	25,5 ± 1,9	nd	12,9 ± 1,1	nd
	1:10	nd	nd	nd	nd
Lipase	1:5	nd	nd	nd	nd
	1:10	nd	nd	nd	nd
Tripsina	1:5	nd	nd	nd	nd
	1:10	nd	nd	nd	nd

1. Unidades de enzima inibida em $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ amostra; 2. Dados são a média de triplicatas \pm desvio padrão; 3. nd, inibição não detectada.

os o tipo de ligação glicosídica entre os resíduos de monossacarídeos é uma ligação do tipo α , o consumo humano de PHG deverá apresentar maior repercussão na inibição da α -glicosidase, já que a β -glicosidase representa pouca importância no metabolismo energético de carboidratos em humanos.

Os inibidores de enzimas envolvidas no metabolismo glucídico, amplamente distribuídos em plantas (Silano *et al.* 1975), induzem tolerância aos carboidratos, saciedade, perda de peso e retardamento do esvaziamento gástrico, que podem ser úteis no tratamento da obesidade e diabetes mellitus não insulino-dependente (tipo 2) (Boniglia *et al.* 2008, Chen *et al.* 2008, Mosca *et al.* 2008, Udani *et al.* 2009). Inibidores de glicosidases são agentes de grande interesse terapêutico, uma vez que apresentam atividade contra vírus, crescimento tumoral e metástases, diabetes entre outros (Melo & Carvalho 2006). Uma forte inibição de α -glicosidase e pouca ou nenhuma inibição de α -amilase podem ser potencialmente usadas como uma terapia complementar efetiva para hiperglicemia pós-prandial, com a vantagem de apresentar menos efeitos colaterais como aqueles decorrentes da excessiva inibição de α -amilase pancreática, que resulta em fermentação bacteriana anormal de carboidratos não digeridos no cólon (Kwon *et al.* 2006).

Assim, positivamente, os PHG podem apresentar efeito na diminuição da absorção de carboidratos *in vivo* por inibição de enzimas envolvidas na digestão. A presença dessa atividade inibitória pode explicar, portanto, parte do efeito emagrecedor dos PHG, até então atribuído somente à ação do glicosídeo ativo P57. Considerando ainda a necessidade de análises complementares como cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), para detecção da presença do glicosídeo ativo em amostras de PHG, tais inibidores podem eventualmente assumir o papel central como responsáveis pelo suposto efeito emagrecedor desses PHG.

Por outro lado, apesar dos ensaios de inibição terem mostrado qualitativamente as mesmas respostas para as duas amostras, quantitativamente observam-se variações entre as amostras analisadas, levantando questionamentos quanto à padronização, controle de qualidade e

procedência dos extratos comerciais desse fitoterápico.

CONCLUSÃO

As amostras comerciais do pó de *Hoodia gordonii* (PHG) analisadas são capazes de inibir somente as enzimas α e β -glicosidases, em níveis considerados satisfatórios segundo a literatura.

Entre as glicosidases, a inibição de α -glicosidase é considerada mais importante do ponto de vista energético, credenciando dessa forma o PHG como potencial auxiliar na redução de hiperglicemia pós-prandial. Adicionalmente, a inibição de β -glicosidase deve ser considerada para outras possíveis aplicações referidas na literatura.

AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos à CAPES, pela bolsa de doutorado, e à FAPEMIG, pelo apoio financeiro ao projeto.

REFERÊNCIAS

- AVULA, B., WANG, Y., PAWAR, R.S., SHUKLA, Y.J., SMILLIE, T.J., KHAN, I.A. 2008. A rapid method for chemical fingerprint analysis of *Hoodia* species, related genera and dietary supplements using UPLC-UV-MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 48: 722-731.
- BONIGLIA, C., CARRATÙ, B., DI STEFANO, S., GIAMMARIOLI, S., MOSCA, M., SANZINI, E. 2008. Lectins, trypsin and α -amylase inhibitors in dietary supplements containing *Phaseolus vulgaris*. *European Food Research and Technology*, 227: 689-693.
- CHEN, X., XU, G., LI, X., LI, Z., YING, H. 2008. Purification of an α -amylase inhibitor in a polyethylene glycol/fructose-1,6-bisphosphate trisodium salt aqueous two-phase system. *Process Biochemistry*, 43: 765-768.
- ERLANGER, B. F., KOKOWSKY, N., COHEN, W. 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 95: 271-278.
- FERREIRA, D.F. 2000. Análises estatísticas por meio do SISVAR para windows versão 4.0. In: REUNIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA. 45, 2000, São Carlos. Anais do Programa e Resumo... São Carlos: UFSCar.
- FOGLIO, M.A., QUEIROGA, C.L., SOUSA, I.M.O., RODRIGUES, R.A.F. 2006. Plantas medicinais como fonte de recursos terapêuticos: um modelo multidisciplinar construindo a história dos produtos naturais. *MultiCiência*, 7: 1-8.

- FRIEDMAN, M. & BRANDON, D.L. 2001. Nutritional and health benefits of soy proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 1069-1086.
- GUYTON, A.C. & HALL, J.E. 2002. *Tratado de Fisiologia Médica*. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan. 973 p.
- KWON, Y.I., APOSTOLIDIS, E., SHETTY, K. 2006. Inhibitory potential of wine and tea against α -glucosidase for management of hyperglycemia linked to type 2 diabetes. *Journal of Food Biochemistry*, 32: 15-31.
- MACLEAN, D.B. & LUO, L. 2004. Increased ATP content/production in the hypothalamus may be a signal for energy-sensing of satiety: studies of the anorectic mechanism of a plant steroidal glycoside. *Brain Research*, 1020: 1-11.
- MANCINI, M.C. & HALPERN, A. 2002. Tratamento Farmacológico da Obesidade. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*, 46: 497-512.
- MELO, E.B. & CARVALHO, I. 2006. α e β -glucosidases como alvos moleculares para desenvolvimento de fármacos. *Química Nova*, 29: 840-843.
- MONTANARI, C.A. & BOLZANI, V. 2001. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. *Química Nova*, 24: 105-111.
- MOSCA, M., BONIGLIA, C., CARRATÙ, B., GIAMMARIOLI, S., NERA, V., SANZINI, E. 2008. Determination of α -amylase inhibitor activity of phaseolamin from kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) in dietary supplements by HPAEC-PAD. *Analytica Chimica Acta*, 617: 192-195.
- NOELTING, G. & BERNFELD, P. 1948. Sur les enzymes amylolytiques - III. La β -amylase: dosage d'activité et contrôle de l'absence d' α -amylase. *Helvetica Chimica Acta*, 31: 286-290.
- OBIRO, W.C., ZHANG, T., JIANG, B. 2008. The nutraceutical role of the *Phaseolus vulgaris* α -amylase inhibitor. *British Journal of Nutrition*, 100: 1-12.
- ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DE SAÚDE (OPAS)/ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). 2003. Doenças crônico-degenerativas e obesidade: estratégia mundial sobre alimentação saudável, atividade física e saúde. OPAS/OMS, Brasília. 60 p.
- SCOTT, A.J. & KNOTT, M.A. 1974. Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, 30: 507-512.
- SILANO, V., FURIA, M., GIANFREDA, L., MACRI, A., PALESCAN-DOLO, R., RAB, A., SCARDI, V., STELLA, E., VALFRE, F. 1975. Inhibition of amylases from different origins by albumins from the wheat kernel. *Biochimica et Biophysica Acta*, 391: 170-178.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA (SBEM). 2010. *Obesidade*. Disponível em: <http://www.endocrino.org.br/busca/obesidade>. Acesso em: 15 jan. 2010.
- SOUZA, S.P. 2009. *Ação inibitória de extratos de plantas sobre lipase pancreática com ênfase em Baccharis trimera (Less.) DC.* 84f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Departamento de Química. Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.
- TORMO, M.A., GIL-EXOJO, I., TEJADA, R.A., CAMPILLO, J.E. 2004. Hypoglycaemic and anorexigenic activities of an α -amylase inhibitor from white kidney beans (*Phaseolus vulgaris*) in Wistar rats. *British Journal of Nutrition*, 92: 785-790.
- UDANI, J.K., SINGH, B.B., BARRET, M.L., PREUSS, H. G. 2009. Lowering the glycemic index of white bread using a white bean extract. *Nutrition Journal*, 8: 1-5.
- THE UNITED STATES PHARMACOPEIA. 1995. *The national formulary NF 18 (Pharmacopeial Convention Ing)*. Rockville.
- VAN HEERDEN, F.R., HORAK, R.M., MAHARAJ, V.J., VLEGGAAR, R., SENABE, J. V., GUNNING, P.J. 2007. An appetite suppressant from *Hoodia* species. *Phytochemistry*, 68: 2545-2553.
- VAN HEERDEN, F.R. 2008. *Hoodia gordonii*: a natural appetite suppressant. *Journal of Ethnopharmacology*, 119: 434-437.
- VIEGAS JR., C., BOLZANI, V.S., BARREIRO, E.J. 2006. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Química Nova*, 29: 326-337.
- YUNES, R. A., PEDROSA, R. C., CECHINEL FILHO, V. 2001. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. *Química Nova*, 24: 147-152.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 2003. *Bulletin of the World Health Organization*, 81: 382.