

Actividad inhibitoria alfa-amilasa y fenoles totales en extractos etanólicos de hojas de *Smallanthus sonchifolius* (yacón)

Inhibitory activity of alpha-amylase and total phenols in *Smallanthus sonchifolius* (yacon) ethanolic leaf extracts

MSc. Dary Luz Mendoza Meza, Qco. Sergio Armando Loza Rosas

Grupo de Investigación en Productos Naturales y Bioquímica de Macromoléculas.
Universidad del Atlántico. Barranquilla, Colombia.

RESUMEN

Introducción: *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson (yacón) es una planta cultivada en Colombia por sus propiedades prebióticas y anti-diabéticas. **Objetivos:** evaluar la actividad inhibitoria alfa-amilasa y el contenido de fenoles totales de un extracto etanólico de hojas de Yacón, cultivado en Boyacá, Colombia. **Métodos:** el extracto etanólico se obtuvo por maceración y percolación de hojas secas pulverizadas de yacón, luego se caracterizó mediante pruebas fitoquímicas. El contenido total de fenoles fue evaluado por el método de Folin-Ciocalteu, los resultados fueron expresados como mg de ácido gálico equivalentes por peso seco de extracto (mg GAE/ g ES) y Kg de peso seco de hojas (mg GAE/ Kg HS). La actividad inhibitoria alfa-amilasa fue determinada por método colorimétrico usando acarbossa como inhibidor de referencia, los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición (% I) y concentración inhibitoria 50 (CI₅₀, µg/mL). Los datos se analizaron mediante una prueba t de student. **Resultados:** la caracterización fitoquímica del extracto etanólico de hojas de Yacón sugiere la presencia de fenoles, flavonoides, leucoantocianidinas, taninos, triterpenoides, cumarinas, lactonas, sesquiterpenos y aminoácidos. El contenido de fenoles totales fue de 7,8 ± 0,4 mg GAE/g ES y 798,6 ± 45 mg GAE/Kg HS. Se observó una alta actividad inhibitoria de la alfa-amilasa *in vitro* (CI₅₀ = 5,77 ± 0,14 µg/mL). Los resultados indican que no hay diferencia estadística significativa entre los porcentos de inhibición observados con el extracto de yacón y la acarbossa (p= 0,054).

Conclusión: se demostró la actividad inhibitoria alfa-amilasa de extractos etanólicos de hojas de yacón; esta actividad podría estar asociada a su alto contenido de compuestos fenólicos.

Palabras clave: *Smallanthus sonchifolius*, yacón, extracto etanólico, alfa-amilasa, fenoles.

ABSTRACT

Introduction: *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson (yacon) is a plant grown in Colombia for its prebiotic and antidiabetic properties.

Objectives: evaluate the alpha-amylase inhibitory activity and the total phenolic content of an ethanolic extract from leaves of yacon grown in Boyacá, Colombia.

Methods: the ethanolic extract was obtained by maceration and percolation of dry pulverized yacon leaves, and was then characterized by phytochemical testing. Total phenolic content was determined by the Folin-Ciocalteu method and results were expressed as mg gallic acid equivalent per dry weight of extract (mg GAE/g DWE) and kg of dry weight of leaves (mg GAE/kg DWL). Alpha-amylase inhibitory activity was determined by the colorimetric method using acarbose as reference inhibitor. Results were expressed as inhibition percentage (I %) and inhibitory concentration 50 (IC₅₀ µg/mL). Data were analyzed with Student's t test.

Results: phytochemical characterization of ethanolic yacon leaf extract points to the presence of phenols, flavonoids, leucoanthocyanidins, tannins, triterpenes, coumarins, lactones, sesquiterpenes and amino acids. Total phenolic content was 7.8 ± 0.4 mg GAE/g DWE and 798.6 ± 45 mg GAE/kg DWL. High inhibitory alpha-amylase activity *in vitro* (IC₅₀ = 5.77 ± 0.14 µg/mL) was observed. Results indicate that there is not a significant statistical difference between inhibition percentages for yacon extract and acarbose ($p = 0.054$).

Conclusion: alpha-amylase inhibitory activity was demonstrated in ethanolic yacon leaf extracts. Such activity could be associated with their high content of phenolic compounds.

Key words: *Smallanthus sonchifolius*, yacon, ethanolic extract, alpha-amylase, phenols.

INTRODUCCIÓN

Diabetes mellitus se considera un problema de salud pública en muchos países debido a su elevada prevalencia y las implicaciones sociales que ocasiona el carácter crónico de la enfermedad.^{1,2} La diabetes se caracteriza por la alteración del metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas, a consecuencia de una completa o relativa insuficiencia en la secreción y/o acción de la insulina; sus síntomas clínicos generan complicaciones crónicas multi-sistémicas que pueden llevar a la muerte del paciente, es por esto que un buen número de las terapias anti-diabéticas están dirigidas a mejorar el control metabólico a través de la normalización de la glicemia y la reducción de la resistencia a la insulina.³ A la fecha, la literatura científica reporta una amplia variedad de sustancias con propiedades anti-diabéticas que han sido aisladas de especies vegetales^{4,5} por ello, desde una perspectiva farmacológica, el tratamiento de la diabetes mellitus se

encuentra en la interface de la medicina convencional y la medicina herbolaria tradicional.

El yacón, *Samallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson (Asteraceae, Heliantheae) es una planta perenne, herbácea, originaria del Perú; crece en gran parte de la región Andina, desde Colombia hasta el noroeste de Argentina, donde es cultivada para el consumo de sus raíces.⁶ Recientemente yacón fue introducido con éxito en el mercado de Nueva Zelanda, Japón, Estados Unidos y Brasil, donde se desarrolla una industria creciente de su cultivo, apuntando a las propiedades dietéticas y medicinales de sus raíces, las cuales son utilizadas como suplementos dietarios y alimentos funcionales.⁷⁻⁹

Estudios etno-farmacológicos atribuyen propiedades anti-diabéticas a las hojas del yacón. Recientemente se reportó que una mezcla de extractos de Maca negra (*Lepidium peruvianum* G. Chacón) y yacón reducen los niveles de glucosa en ratones con diabetes inducida por estreptozotocina;¹⁰ un estudio previo había reportado el efecto hipo-glucemiante de extractos crudos de hojas de yacón en ratas con diabetes inducida sin registrarse efectos toxicológicos adversos en riñones, hígado, músculos y páncreas, sin alteración de los niveles normales de glucosa plasmática en ratas sanas.¹¹

El efecto hipo-glucemiante de las hojas de yacón puede relacionarse con la presencia de metabolitos secundarios con actividad inhibitoria de enzimas gastrointestinales, como la alfa-amilasa pancreática (EC 3.2.1.1); esta enzima cataliza la hidrólisis de enlaces alfa 1-4 del glucógeno y el almidón para formar azúcares simples. La inhibición de alfa-amilasa pancreática es una de las estrategias más importantes para controlar los niveles de glucosa postprandial en individuos con diabetes mellitus insulino resistentes.¹²

En virtud a la propiedad anti-diabética atribuida a las hojas de yacón, resulta pertinente contribuir con el estudio fitoquímico y bioquímico de las variedades cultivadas en Colombia; en este sentido, el propósito del presente trabajo fue evaluar la actividad inhibitoria *in vitro* de la enzima alfa-amilasa y el contenido de fenoles totales de un extracto etanólico de hojas de yacón cultivada en Boyacá-Colombia.

MÉTODOS

Material vegetal

Las hojas de *Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob (yacón) se recolectaron de cultivos establecidos en la vereda Tocogua, aledaña al municipio de Duitama, departamento de Boyacá, Colombia (Latitud 5°49'30.31"N, Longitud 73°2'24.55"O). Fueron seleccionadas hojas maduras en buen estado fitosanitario y de tamaño similar. La especie vegetal fue identificada por el botánico Edgar Linares y un ejemplar del espécimen reposa en el Herbario Nacional Colombiano del Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia bajo el número COL: 000362397, catálogo 547142.

Extractos

El material vegetal seco y molido (250 g de hojas) se sometió a extracción por percolación con etanol del 96 %, el extracto fue concentrado a presión de 50 mbar

y temperatura de 50 °C en un rota-evaporador Laborata 4000 (Heidolph), el extracto seco obtenido fue almacenado a 4 °C.

Pruebas fitoquímicas preliminares

Se desarrollaron siguiendo el protocolo utilizado por Siddiqui *et al.*, 2009,¹³ que incluye reacciones que producen rápidas alteraciones en la estructura molecular de los compuestos evaluados, lo que genera una manifestación sensible como cambio de coloración o formación de precipitado, dando un indicio de la presencia de un determinado metabolito secundario en los extractos vegetales.

Cuantificación de fenoles totales

Se realizó por el método Folin-Ciocalteu.¹⁴ Se preparó una solución de 0,3 mg/mL de extracto seco de hojas de yacón en etanol al 10 %. Un volumen de 2 mL de esta solución se mezcló con 2,5 mL del reactivo Folin-Ciocalteu (Panreac Química S.L.U., Barcelona, España) diluido al 10 % en agua destilada. La mezcla se incubó a temperatura ambiente por 2 min, luego se agregó 2 mL de carbonato de sodio 7,5 %, seguido de incubación a 50 °C por 15 min. La absorbancia de las muestras se leyó en un espectrofotómetro UV-Visible Spectronic 20, a longitud de onda de 765 nm, los resultados se interpolaron en una curva de calibración estándar de ácido gálico (0,1 a 0,0015 mg/mL) y se expresaron en términos de ácido gálico equivalente (GAE) por gramo de extracto seco (ES) (mg GAE/g ES) y como mg GAE/Kg de hoja seca (HS). El cálculo se realizó usando las ecuaciones 1 y 2:

$$\text{mg GAE/g ES} = \frac{C \times V}{M} \quad \text{Ec. 1}$$

$$\text{mg GAE/Kg HS} = \frac{C \times V}{M'} \quad \text{Ec. 2}$$

Donde, C = concentración determinada por la curva estándar de ácido gálico en unidades de mg/mL; V = Volumen del extracto usado en el ensayo; M = masa del extracto seco usado y M' = masa de hoja seca usada.

Ensayo de inhibición de alfa-amilasa

Se tomó como referencia el método propuesto por Tadera *et al.*, 2006.¹⁵ El sustrato de la enzima fue el polisacárido sintético 4-nitrofenil-maltoheptaósido-etilideno (E-pNP-G7) contenido en el Kit comercial α -AMYLASE-EPS (Biosystems S.A., Barcelona, España). Un volumen de 100 μ L del reactivo α -AMYLASE-EPS se mezcló con 40 μ L del extracto etanólico de hojas de yacón disuelto en metanol (concentraciones de 100 μ g/mL a 3,12 μ g/mL), la mezcla se incubó por 5 min a 37 °C. Seguido se adicionó 60 μ L de la enzima alfa-amilasa pancreática porcina (5,5 U/mL en tampón HEPES 0,1 M, pH 6,9) y se incubó a 37 °C por 10 min. La reacción se detuvo con 3 mL de NaOH 50 mM y el 4-nitrofenol liberado se cuantificó espectrofotométricamente a longitud de onda de 400 nm, usando como blanco una mezcla de 100 μ L de sustrato (α -AMYLASE-EPS), 60 μ L de agua destilada y 3 mL de NaOH 50 mM. Como control positivo del ensayo se usó la acarbosa, un

pseudotetrasacárido producido por la fermentación de *Actinoplanes sp.*, (Acarbosa 50 mg, Bayer Pharma AG). El porcentaje de inhibición se calculó usando la ecuación 3.

$$\frac{A - B}{A} * 100 = \% \text{ Inhibición} \quad \text{Ec. 3}$$

Donde, A es la absorbancia del control negativo (sin inhibidor) y B es la absorbancia de la muestra (con inhibidor).

La concentración que ocasiona inhibición del 50 % de la actividad alfa-amilasa (CI_{50} , $\mu\text{g/mL}$) se calculó según la relación: $CI_{50} = C1 - DC$, donde: $DC = [(C1 - C2) \times (PI1 - 50)] / (PI1 - PI2)$. PI1 y PI2 corresponden a los valores de porcentajes de inhibición inmediatamente superiores e inferiores al 50 % de inhibición y C1 y C2 corresponden a las concentraciones en las que se producen PI1 y PI2, respectivamente.

Análisis de datos

Todos los ensayos se realizaron por triplicado, los datos obtenidos se sometieron a un análisis estadístico uni-variado utilizando medidas de frecuencia, pruebas de tendencia central y de dispersión. También se realizó un análisis de comparación entre las medias de los resultados de inhibición alfa-amilasa con acarbosa y con el extracto etanólico de yacón, usado el test t de Student, con un nivel de confianza del 95 %; un valor de $p < 0,025$ fue considerado estadísticamente significativo. Todas las pruebas estadísticas se llevaron a cabo usando el paquete estadístico SPSS Statistics 19 para Windows de IBM (SPSS Inc., an IBM Company, Chicago, H, IL, USA).

RESULTADOS

Análisis fitoquímico preliminar

Las pruebas cualitativas fitoquímicas sugieren la presencia de fenoles, flavonoides, leucoantocianidinas, taninos, triterpenoides/esteroides, cumarinas, lactonas, sesquiterpenlactonas y aminoácidos en el extracto etanólico de hojas de yacón. La tabla muestra los resultados con signo (+) para aquellos grupos de metabolitos con posible presencia en el extracto.

Cuantificación de fenoles totales

El contenido de fenoles totales en el extracto etanólico de hojas de Yacón fue $7,8 \pm 0,4$ mg de GAE/g ES. En términos de masa de hoja seca el contenido de fenoles totales fue de $798,6 \pm 45$ mg GAE/Kg HS.

Ensayo de inhibición de alfa-amilasa

Se comprobó la actividad inhibitoria alfa-amilasa del extracto etanólico de hojas de yacón. La inhibición fue dosis-dependiente, requiriéndose una concentración de

0,1 mg/mL del extracto para inhibir el $97,6 \pm 0,31$ % de la actividad enzimática, como se observa en la [figura](#). Aunque la concentración del extracto de yacón que causó inhibición del 50 % de la actividad alfa-amilasa ($CI_{50} = 5,77 \pm 0,14$ µg/mL) fue mayor a la observada con la acarbosa ($CI_{50} = 2,76 \pm 0,28$ µg/mL), el análisis estadístico no mostró diferencia significativa entre los tratamientos ($p = 0,054$).

DISCUSIÓN

Los resultados de las pruebas cualitativas fitoquímicas sugieren que los metabolitos secundarios presentes en las hojas de yacón colectadas en Boyacá-Colombia, corresponden a lo reportado para la especie.¹⁶ En cuanto al contenido de fenoles totales éste fue significativamente mayor al reportado en las hojas de genotipos de yacón cultivados en Nueva Zelanda, (NZL blanco = $9,21 \pm 0,43$ mg GAE/Kg HS y NZL amarillo = $12,28 \pm 0,15$ mg GAE/Kg HS), Alemania (DEU = $6,9 \pm 0,01$ mg GAE/Kg HS), Ecuador (ECU = $14,09 \pm 0,76$ mg GAE/Kg HS) y Bolivia (BOL = $18,14 \pm 0,17$ mg GAE/Kg HS);¹⁷ y cercano a los reportados en hojas de yacón cultivados en Cajamarca-Perú, (fenoles totales entre 7,7 y 22,7 mg GAE/g HS).¹⁸ Existen varios factores bióticos que afectan el contenido de compuestos fenólicos en las plantas, entre los cuales se cuentan, el origen botánico, rasgos morfológicos y polimorfismos;¹⁷ también, factores abióticos como la temperatura, exposición a la luz, composición química del suelo y uso de plaguicidas pueden afectar la producción de estos metabolitos. En el caso de las plantas colectadas en Boyacá-Colombia, los factores bióticos y abióticos favorecerían una producción de fenoles similar a la reportada en el estudio de Perú.¹⁸

La actividad inhibitoria alfa-amilasa ($CI_{50} = 5,77 \pm 0,14$ µg/mL) de los extractos etanólicos obtenidos podría atribuirse a los ácidos fenólicos y flavonoides presentes en las hojas de yacón. Estudios previos han reportado la presencia de ácidos fenólicos como el vanílico, clorogénico, caféico, ferúlico e isómeros del ácido dicafeoilquínico en las hojas de yacón;^{19,20} estos compuestos tienen la capacidad de inhibir a las enzimas alfa-amilasa²¹ y alfa-glucosidasa.²² Asimismo, flavonoides como quercetina, kaempferol e isorhamnetina,²³ identificados en las hojas de yacón, son inhibidores de la enzima alfa-amilasa.^{15,24,25} Otros metabolitos secundarios podrían contribuir al efecto anti-diabético de las hojas de yacón; en este sentido, Xiang *et al.*, en 2010 reportaron cuatro ácidos diterpenicos con actividad inhibitoria alfa-glucosidasa.²⁶

En conclusión, el presente estudio demostró actividad inhibitoria alfa-amilasa *in vitro* de extractos etanólicos de hojas de yacón cultivado en Boyacá-Colombia, la cual fue comparable con la obtenida con el hipo-glucemiante de referencia, la acarbosa. El contenido de fenoles totales en el extracto obtenido fue alto, $7,8 \pm 0,4$ mg de GAE/g ES. Se sugiere que los compuestos fenólicos en las hojas de yacón podrían participar en la actividad anti-alfa-amilasa pancreática, estudios futuros deberían enfocarse al aislamiento, caracterización y cuantificación de estos metabolitos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract.* 2010;87(1):4-14. [citado 2013.06.29].

Available from: <http://download.journals.elsevierhealth.com/pdfs/journals/0168-8227/PIIS016882270900432X.pdf>

2. Lam DW, Le Roith D. The worldwide diabetes epidemic. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2012;19(2):93-6. [citado 2013.06.29]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22262000>
3. Isla Pera P. Chronic complications of diabetes mellitus. Recommendations from the American Diabetes Association 2011. Prevention and management. *Rev Enferm.* 2012;35(9):46-52. [citado 2013.06.29]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23066569>
4. Qi LW, Liu EH, Chu C, Peng YB, Cai HX, Li P. Anti-diabetic agents from natural products - an update from 2004 to 2009. *Curr Top Med Chem.* 2010;10(4):434-57. [citado 2013.07.05]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20180758>
5. Kumar S, Narwal S, Kumar V, Prakash O. α -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. *Pharmacogn Rev.* 2011;5(9):19-29. [citado 2013.07.05]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3210010/>
6. Valentová K, Ulrichová J. *Smallanthus sonchifolius* and *Lepidium meyenii* - prospective Andean crops for the prevention of chronic diseases. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2003;147(2):119-30. [citado 2013.07.05]. Available from: <http://mefanet.upol.cz/BP/2003/2/119.pdf>
7. Ojansivua I, Ferreira C, Salminen S. Yacon, a new source of prebiotic oligosaccharides with a history of safe use. *Trends Food Sci Tech.* 2011;22(1):40-6. [citado 2013.07.07]. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224410002633>
8. Campos D, Betalleluz-Pallardel I, Chirinos R, Aguilar-Galvez A, Noratto G, Pedreschi R. Prebiotic effects of yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl), a source of fructooligosaccharides and phenolic compounds with antioxidant activity. *Food Chem.* 2012;135(3):1592-9. [citado 2013.06.29]. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814612009375>
9. de Almeida Paula HA, Abranches MV, de Lucas Fortes Ferreira CL. Yacon (*Smallanthus Sonchifolius*): a food with multiple functions. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2013 Jun 14. [Epub ahead of print]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24915403>
10. Gonzales GF, Gonzales-Castañeda C, Gasco M. A mixture of extracts from Peruvian plants (black maca and yacon) improves sperm count and reduced glycemia in mice with streptozotocin-induced diabetes. *Toxicol Mech Methods.* 2013; 23(7):509-18. [citado 2013.07.15]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23489070>
11. Baroni S, Suzuki-Kemmelmeier F, Caparroz-Assef SM, Cuman RKN, Bersani-Amado CA. Effect of crude extracts of leaves of *Smallanthus sonchifolius* on glycemia in diabetic rats. *Braz J Pharm Sci.* 2008;44(3):521-30. [citado 2013.06.27]. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/rbcf/v44n3/a24v44n3>

12. Etxeberria U, de la Garza AL, Campión J, Martínez JA, Milagro FI. Antidiabetic effects of natural plant extracts via inhibition of carbohydrate hydrolysis enzymes with emphasis on pancreatic alpha amylase. *Expert Opin Ther Targets*. 2012;16(3):269-97. [citado 2013.06.27]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22360606>
13. Siddiqui S, Verma A, Rather AA, Jabeen F, Meghvansi K. Preliminary phytochemical analysis of some important aromatic plants. *Adv Biol Res*. 2009;3(5-6):188-95. [citado 2013.06.27]. Available from: <http://www.ijpbs.net/issue-4/Bio-39.pdf>
14. Blainski A, Lopes GC, de Mello JC. Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules*. 2013;18(6):6852-65. [citado 2013.07.15]. Available from: <http://www.mdpi.com/1420-3049/18/6/6852/pdf>
15. Tadera K, Minami Y, Takamatsu K, Matsuoka T. Inhibition of α -glucosidase and α -amylase by flavonoids. *J Nutr Sci Vitaminol*. 2006;52(2):149-53. [citado 2013.07.15]. Available from: https://www.jstage.jst.go.jp/article/jnsv/52/2/52_2_149/pdf
16. Castañeda B, Castro de la Mata R, Manrique R, Ibañez L, Fujita R, Barnett J, et al. Estudio fitoquímico y farmacológico de 4 Plantas con efecto hipoglicemiante. *Horizmed*. 2008;8(1):6-34. [citado 2013.07.15]. Available from: http://www.medicina.usmp.edu.pe/horizonte/2008_I/Art1_Vol8_N1.pdf
17. Lachman J, Fernandez EC, Viehmannová I, Sulc M, Cepková P. Total phenolic content of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) rhizomes, leaves, and roots affected by genotype. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. 2007;35(1):117-23. [citado 2013.06.29]. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/01140670709510175>
18. Arnao I, Seminario J, Cisneros R, Trabucco J. Potencial de 10 accesiones de yacon *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson, procedentes de Cajamarca – Perú. *An Fac Med*. 2011;72(4):239-43. [citado 2013.06.29]. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v72n4/a03v72n4.pdf>
19. Simonovska B, Vovk I, Andrensek S, Valentová K, Ulrichová J. Investigation of phenolic acids in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves and tubers. *J Chromatogr*. 2003;1016(1):89-98. [citado 2013.06.29]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14601830>
20. Xie W, Li J, Li HM. Study on chemical constituents of *Smallanthus sonchifolius*. *Zhong Yao Cai*. 2008;31(10):1510-2. [citado 2013.06.29]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19230402>
21. Michelle de Sales P, Monteiro de Souza P, Simeoni L, Oliveira Magalhaes P, Silveira D. α -Amylase inhibitors: a review of raw material and isolated compounds from plant source. *J Pharm Pharmaceut Sci*. 2012;15(1):141-83. [citado 2013.07.15]. Available from: <http://ejournals.library.ualberta.ca/index.php/JPPS/article/download/12178/13140>
22. Oboh G, Agunloye OM, Adefegha SA, Akinyemi AJ, Ademiluyi AO. Caffeic and chlorogenic acids inhibit key enzymes linked to type 2 diabetes (in vitro): a comparative study. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2014 May 12. [citado 2014.05.20]. Available from: [Epub ahead of print]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24825096>

23. Qiu YK, Kang TG, Dou DQ, Liang L, Dong F. Three novel compounds from the leaves of *Smallanthus sonchifolius*. J Asian Nat Prod Res. 2008;10(11-12):1109-15. [citado 2013.06.29]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19031255>
24. Lo Papiro E, Scheib H, Fre N, Williamson G, Grigorov M, Chou C. Flavonoids for controlling starch digestion: structural requirements for inhibiting human α -amylase. J Med Chem. 2008;51(12):3555-61. [citado 2013.06.29]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18507367>
25. Cao H, Chen X. Structures required of flavonoids for inhibiting digestive enzymes. Anticancer Agents Med Chem. 2012;12(8):929-39. [citado 2013.06.29]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22292767>
26. Xiang Z, He F, Kang TG, Dou DQ, Gai K, Shi YY, et al. Anti-diabetes constituents in leaves of *Smallanthus sonchifolius*. Nat Prod Commun. 2010;5(1):95-8. [citado 2013.06.29]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20184030>

Recibido: 31 de julio de 2013.

Aprobado: 5 de agosto de 2014.

MSc. Dary Luz Mendoza Meza. Correo electrónico: darymendoza@mail.uniatlantico.edu.co