

FASEOLAMINA, MOLÉCULA DE INTERÉS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA Y FARMACÉUTICA, UNA REVISIÓN.

Phaseolamine, a molecule of interest in the food and pharmaceutical industry, a review.

| | |
|----|-------------------------------------|
| iD | ¹ Byron Díaz* |
| iD | ¹ María-Fernanda Baquero |
| iD | ² Sebastian Rubio |
| iD | ³ Ronald Díaz |

¹Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Grupo de investigación GINNAN, Riobamba, Ecuador.

²Italimentos Cía.Ltda., Cuenca, Ecuador.

³Universidad Estatal de Milagro, Ecuador.

*bdiaz@espoch.edu.ec

RESUMEN

Esta investigación se propuso revisar el estado del arte alrededor de la Faseolamina, molécula extraída de *Phaseolus vulgaris*, de interés para la industria alimentaria y farmacéutica, por su efecto inhibitorio sobre las enzimas α -amilasas. La información se rastreó con estas palabras clave: "Faseolamina", "Inhibidores de α -amilasa", "*Phaseolus vulgaris*", "Reducción de peso", "Diabetes" en plataformas digitales de las editoriales Wiley Online Library, Springer Nature, MDPI, Taylor Francis, Sage y Google Académico. Se definieron tres ejes de interés, los métodos de extracción de la Faseolamina, las condiciones óptimas de inhibición y la estructura de la molécula. Se determinó mayor pureza molecular con el método de extracción con presión de vacío con dióxido de carbono supercrítico, sin toxicidad ni cambios en el sabor. La inhibición promedio sobre α -amilasas es 91,10% en estudios In vitro e In vivo a nivel gastrointestinal, a un pH de 5,5 y una temperatura de 37° C. Químicamente la Faseolamina es una glicoproteína tetramérica, rica en ácido aspártico, ácido glutámico, serina, treonina y valina, contiene los tres compuestos de lectinas del fréjol: Fito-hemaglutininas (PHA), Arcelinas y los tres inhibidores de α -amilasa. Presenta alta inhibición de α -amilasa intraluminal y duodenal, podría usarse en productos alimenticios y farmacéuticos.

Palabras claves: Fréjol (*Phaseolus vulgaris*), α -amilasa, faseolamina, inhibidor.

ABSTRACT

This research aimed to review the state of the art around Phaseolamine, a molecule extracted from *Phaseolus vulgaris*, of interest to the food and pharmaceutical industry, due to its inhibitory effect on α -amylase enzymes. Data was tracked with the following keywords: "Phaseolamine", " α -amylase inhibitors", "*Phaseolus vulgaris*", "Weight reduction", "Diabetes" in digital platforms of Wiley Online Library, Springer Nature, MDPI, Taylor Francis, Sage and Google Scholar publishers. Three axes of interest were defined, the extraction methods of Phaseolamine, the optimal conditions of inhibition and the structure of the molecule. Higher molecular purity was determined with the vacuum pressure extraction method with supercritical carbon dioxide, without toxicity or changes in flavor. The average inhibition on α -amylases is 91.10% in In vitro and In vivo studies at the gastrointestinal level, at a pH of 5.5 and a temperature of 37° C. Chemically, Phaseolamine is a tetrameric glycoprotein, rich in aspartic acid, glutamic acid, serine, threonine and valine, it contains the three bean lectin compounds: Phyto-hemagglutinins (PHA), Arcelins and the three α -amylase inhibitors. It presents high inhibition of intraluminal and duodenal α -amylase. It could be used in food and pharmaceutical products.

Keywords: Bean (*Phaseolus vulgaris*), α -amylase, phaseolamine, inhibitor.

Fecha de recepción: 14-02-2022

Fecha de aceptación: 04-06-2022

Fecha de publicación: 15-08-2022

I. INTRODUCCIÓN

El almidón, un carbohidrato complejo presente en vegetales, es importante porque proporciona energía para los procesos vitales y es de fácil absorción. Su digestión inicia en el tubo digestivo y finaliza en la pared del intestino delgado, donde enzimas específicas rompen los disacáridos para separarlos en unidades elementales, que pueden entrar en las células y pasar a la sangre (1). Una de estas enzimas es la α -amilasa, encargada de “romper” el almidón en glucosa (2). Algunos alimentos ricos en almidón no presentan un índice glucémico tan elevado como cabría esperar, y ello es debido a que aquél no es digerido por las enzimas intestinales, por lo que recibe el nombre de almidón resistente (3, 4). Posteriormente, es convertido en ácidos grasos de cadena media por parte de la flora intestinal (5).

El consumo excesivo de alimentos almidonados provoca enfermedades de tipo cardiovascular, denominadas enfermedades crónicas no transmisibles, que según la Organización Mundial de la Salud “OMS” (6), son consideradas una epidemia por ocasionar varias muertes en todo el mundo. Se reporta que cada año mueren 2,8 millones de personas a causa de obesidad (7), según un estudio realizado en 2015, fallecieron 1,6 millones de personas como consecuencia directa de la diabetes (8). En Ecuador, el INEC (9), revela que 6 de cada 10 ecuatorianos tienen sobrepeso y según la Organización Panamericana de Salud “OPS” (10), 1 de cada 10 ecuatorianos tienen diabetes, esto es debido al excesivo consumo de alimentos altos en grasa, sal y carbohidratos.

Según Castro (11), los inhibidores enzimáticos son moléculas proteicas que reducen la velocidad de la catálisis, muchos alimentos contienen sustancias inhibidoras de enzimas. Luengo, et al (12), manifiestan que en las legumbres se identifican inhibidores de las α -amilasas, que evitan la digestión del almidón normal, que se comporta como si fuera resistente. Desde 1945, los inhibidores de amilasa comenzaron a mencionarse en la literatura científica, un estudio de revisión informa que la Faseolamina, una proteína presente en los frijoles blancos es un potente inhibidor de la amilasa salival, siendo comercializado en forma de suplemento, para el tratamiento adyuvante de la diabetes (13). Nanok y Sansenya (14), sostienen que la enzima α -glucosidasa hace que la glucosa esté disponible en el cuerpo al descomponerla en oligo y disacáridos, convirtiéndolos en monosacáridos absorbibles, por lo tanto, para poder reducir los niveles de glucosa sérica y controlar las enfermedades relacionadas, se ha

propuesto la inhibición de la α -glucosidasa como un enfoque adecuado. En este contexto, la Faseolamina es una proteína proveniente de la planta *Phaseolus vulgaris* (fréjol) (Figura 1), la función principal es provocar la mal absorción del almidón consumido, exenta de efectos secundarios (15).

Creemos que la Faseolamina se une a la α -amilasa y la neutraliza, cuando la Faseolamina bloquea la absorción de carbohidratos hace que las células no encuentren el sustrato (glucosa) para generar ATP, de modo que, son obligadas a recurrir al almacén de grasas para fabricar dicho combustible, de esta manera al acceder al almacén de grasas supone una reducción del tejido adiposo y, como consecuencia, una disminución del volumen y del peso corporal de la persona (16, 17). Pereira (18) y Lamby (19) en sus publicaciones mencionan que la α -amilasa es una endoamilasa que hidroliza el almidón en las regiones internas hasta formar azúcares simples como maltosa, malotriosa y glucosa, dicha enzima actúa sobre las uniones glucosídicas alfa-1,4.



Figura 1. Frejol blanco (*Phaseolus vulgaris*). Según Knabben y Costa (96).

En base a lo anteriormente expuesto, el objetivo de este trabajo de revisión bibliográfica es auscultar y presentar el estado del arte de la Faseolamina y las investigaciones contemporáneas realizadas alrededor de ella.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Criterios de búsqueda y selección

1980 en adelante, por tratarse de un tema que tiene datos desde esa época, pero se dio mayor énfasis a literatura actual hasta el año 2022, en idioma español, portugués e inglés y evitando consultar literatura gris. De tal forma que la información fue obtenida desde un centenar de artículos científicos de libre acceso y tesis de grado y post grado de repositorios universitarios, cuyo contenido fue seleccionado tanto por su relación con el tema central como por la actualidad de la publicación.

Método para sistematizar la información

Para cumplir con el objetivo de esta revisión y brindar un fácil entendimiento a los lectores, la información recopilada se organizó considerando

los tres ejes de investigación: métodos de extracción de la Faseolamina, condiciones óptimas de inhibición y la estructura de la molécula, se realizó la comparación crítica entre los criterios y resultados de los distintos autores consultados, citando semejanzas y diferencias detectadas en la escala del tiempo, los resultados se resumen y presentan en tablas comparativas para una mejor visualización y comprensión.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

a. Extracción y purificación de Faseolamina.

La tabla 1, presenta la información de los métodos de extracción utilizados por diferentes autores, el primero se refiere al uso de solución salina utilizada en las primeras investigaciones realizadas con Faseolamina, en donde se buscaba comprobar su poder antiamilásico, con este método los autores mencionan que se obtiene aproximadamente del 60 al 70 % de pureza del inhibidor y se logra una inhibición promedio de 97% con NaCl al 1%. Gracias a la última diálisis con tampón de citrato/fosfato, pH 8,0 se obtiene una mayor concentración de proteínas, aproximadamente del 9 a 11%, y un rendimiento de 3,82 g de inhibidor por 500 g de fréjol molido; ambos autores realizaron la purificación mediante cromatografía de intercambio iónico posterior a la extracción; finalmente concuerdan en que el polvo de fréjol crudo contiene cantidades similares de Fito-hemaglutininas, y que el citado procedimiento de purificación parcial elimina en parte la actividad aglutinante que se podría ocasionar en la sangre (20, 21).

| Método Autor | Extracción en solución salina | Extracción en solución ácida | Extracción sin solventes |
|-----------------------|---|---|--|
| (Marshall, 1975) (20) | <ul style="list-style-type: none"> NaCl 1% Diálisis y Liofilización | | |
| (Layer, 1985) (21) | <ul style="list-style-type: none"> Cromatografía de intercambio iónico | | |
| (Tormo, 2004) (22) | | <ul style="list-style-type: none"> Ácido ascórbico en ácido acético (20 mmol.L⁻¹) | |
| (Rodríguez, 2012)(17) | | <ul style="list-style-type: none"> Cromatografía de intercambio iónico | |
| (Skop, 2006) (23) | | | <ul style="list-style-type: none"> CO₂ supercrítico Liofilización |

Tabla 1. Métodos de extracción de Faseolamina según varios autores.

En el segundo método, correspondiente a la extracción en solución ácida, evidenciamos que el proceso inicia con una acidificación con ácido ascórbico en ácido acético (20 mmol.L⁻¹), además hacen mayor énfasis en los reposos a temperaturas frías y se centran en ajustar el pH con el fin de generar mayor estabilidad del inhibidor. En la evaluación *in vivo* los dos mencionan que el inhibidor interviene en la pérdida del apetito y el aumento del consumo de agua, además de la disminución de la actividad del páncreas. Aseguran que con este método se obtiene un rendimiento de aproximadamente 1,5 – 2,4 g de inhibidor.kg⁻¹ de harina de fréjol, además de generar el 84,25% de inhibición en promedio, ambos autores realizaron la purificación mediante cromatografía de intercambio iónico, y aseguran que se obtiene una elevada concentración de Faseolamina debido al juego de pH ácidos que manejan (pH 5), finalmente mencionan que la actividad de hemaglutinación no mostró ninguna evidencia de contaminación de Faseolamina con la lectina del fréjol (17, 22).

Finalmente, el autor del último método asegura que no se necesita soluciones ácidas ni básicas para realizar la extracción, menciona que las distintas soluciones que se usan en los métodos convencionales son causantes de generar toxicidad al momento del consumo, además de formar parte de las impurezas que no pueden ser eliminadas del producto final. Su método consiste en la extracción bajo presión de vacío a 63°C con dióxido de carbono supercrítico, lo cual también elimina completamente las impurezas y logra alta estabilidad a temperaturas elevadas y valores de pH extremos como los del estómago humano. Estas características resultan interesantes debido a que dicha estabilidad térmica permite que el inhibidor de α-amilasa se pueda implementar en productos alimenticios con procesos de calor, sin perder el potencial bloqueador sobre el desdoblamiento del almidón, además se evita el efecto negativo dado por las impurezas sobre el sabor en la Faseolamina obtenida. Este método genera un rendimiento de aproximadamente 120 g de Faseolamina purificada por 1000 g de fréjol (23).

Recientemente, Ashu, et al (24) desarrollaron un método simple usando agar para estimar la actividad del inhibidor de la α-amilasa, mediante el tamizaje cualitativo del frijol común (*Phaseolus vulgaris L.*) y verificado mediante la cuantificación del azúcar reductor (equivalente de maltosa), este método del agar implica utilizar productos químicos más baratos sin requerir equipos sofisticados para procesar un gran número de muestras que contengan un inhibidor de α-amilasa como factor antidiabético.

Así mismo, Yifeng, et al (25), reportan un proceso novedoso y escalable basado en hidrólisis enzimática

para la preparación del inhibidor de α -amilasa (α -AI) en semillas de frijol blanco (*Phaseolus vulgaris*), para la hidrólisis enzimática se usó Flavourzyme 500MG, obteniendo el hidrolizado final a los 180 minutos, seguido de la precipitación isoeléctrica a pH 3,6. Así, la pérdida de proteínas misceláneas y el pliegue de purificación fueron relativamente bajos (85,84 y 4,74 %, respectivamente), mientras que el rendimiento de la actividad de α -AI (67,12%) fue muy superior a los valores obtenidos por cromatografía.

b. Características óptimas de inhibición enzimática.

La tabla 2 muestra el valor promedio de varios indicadores específicos para el trabajo con Faseolamina como inhibidor de alfa amilasa según varios autores, es importante observar la correspondencia de ciertos datos que no han variado significativamente a lo largo del tiempo, es decir son reproducibles y pueden ser utilizados en trabajos experimentales con Faseolamina. En cuanto al perfil de la cadena polipeptídica que forma la proteína, la mayor cantidad se encuentra dentro del eje embrionario del grano de fréjol, corresponde a una globulina y se encuentra dentro del 9 al 11% de la proteína total y 46 kDa de peso molecular (17, 28). En cuanto al pH promedio de acción, establecido por varios autores (Tabla 2), tenemos un valor de 5,23, determinado en experimentación simulando condiciones muy parecidas a las del tracto gastrointestinal, con un rango de actividad entre 4,5 y 5,5 para obtener una inhibición aproximadamente del 89% (26), datos semejantes obtuvieron en la experimentación Rodríguez (17) y Marshall (20), este parámetro influye de manera significativa en la estabilidad del inhibidor.

| Características de trabajo de Faseolamina | (Layer, 1985) (21) | (Tormo, 2004) (22) | (Jiang, 2008) (26) | (Rodríguez, 2012) (17) | (Moura, 2014) (27) | PRO-ME-DIO |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|------------------------|--------------------|------------|
| Peso molecular de la cadena polipeptídica (kDa) | 49 | 23,5 | 57 | 58 | 42,5 | 46 |
| pH de acción | 4,25 | 4,5 | 4,5 | 6,9 | 6 | 5,23 |
| Temperatura de acción (°C) | 37 | 30 | 30 | 37 | 37 | 34,20 |
| Temperatura de inactivación (°C) | 100 | - | 95 | 100 | - | 98,33 |
| Tiempo de inicio de acción del inhibidor frente a la enzima (min) | 30 | 60 | 50 | 60 | - | 50 |
| Cantidad del inhibidor in vitro (mg.ml ⁻¹) | 3 | 1,5 | 1,5 | 0,7 | 1,5 | 1,64 |
| Cantidad del inhibidor in vivo (mg.kg ⁻¹) | 50 | 50 | - | 25 | 700 | 206,25 |
| Porcentaje de inhibición (%) | 99 | 94 | 89 | 74,5 | 99 | 91,10 |

Tabla 2. Características de trabajo para la inhibición enzimática con Faseolamina.

Con respecto a la temperatura de acción, los datos no se alejan mucho en comparación con investigaciones citadas anteriormente, oscila en un rango de 30 a 37°C, con un promedio de 34,20°C, temperatura óptima en la que actúa de manera efectiva. El factor temperatura es uno de los parámetros que más se ha investigado, al utilizar α -amilasa pancreática porcina se identificó su acción es efectiva a partir de 30°C y se inactiva rápidamente cuando sobrepasa los 90°C (17, 21, 22, 24), la temperatura promedio de inactivación es de 98,33°C. Este dato resulta de interés ya que puede influir directamente en el almacenamiento de la molécula y también en procesos en donde se la usa como ingrediente en la elaboración de algún producto alimenticio.

El tiempo de inicio de la inhibición enzimática ha sido de vital importancia en estudios in vitro (27), gracias a ello, al momento de realizar experimentación *in vivo* se suministra en primera instancia el inhibidor previamente purificado y diluido en soluciones de NaCl (pH 9), con anterioridad de modo que la inhibición llegue a su máximo potencial, el valor promedio es de 50 minutos para alcanzar el máximo porcentaje de inhibición (17, 21, 26). El factor tiempo es indispensable conocer para personas que usan medicamentos concentrados de Faseolamina para tratar Diabetes y obesidad. La concentración de inhibidor a utilizar es 1,64 mg.ml⁻¹, observándose que a mayor concentración se genera una sobre saturación de la enzima, causando un desperdicio del inhibidor (27). En la Tabla 2, Layer (21), reporta un valor elevado de 3 mg.ml⁻¹, puesto que en su investigación utilizó Faseolamina con poca pureza debido al proceso de extracción. Frente a lo mencionado anteriormente, otros autores sugieren que el rango óptimo oscila entre 0,8 y 1,5 mg.ml⁻¹ para estudios in vitro (17, 22, 26).

Los estudios *In vivo* muestran efectividad del inhibidor mediante la determinación de glucosa en sangre, almidón en heces fecales, peso de las unidades experimentales, entre otras. El valor promedio para suministro de Faseolamina *In vivo* es de 206,25 mg.kg⁻¹ de peso vivo, valor que resulta muy diferente y por encima de resultados previos que reportaban un rango de 25 a 50 mg.kg⁻¹ de peso vivo (17, 20, 22), este promedio está siendo afectado por un valor atípico muy alto reportado por Moura (27), de 700 mg.kg⁻¹, quien en su investigación utiliza comprimidos de Faseolamina comercial, aparentemente sin una buena concentración de la molécula y no un extracto purificado de *Phaseolus vulgaris*, por lo

que para alcanzar un alto porcentaje de inhibición debe incrementar la cantidad del comprimido, a pesar de esto, se demuestra la eficacia del inhibidor.

El porcentaje de inhibición promedio de Faseolamina sobre α -amilasa obtenido con el análisis de datos de la tabla 2, es de 91.10 %, lo cual resulta interesante para proyectar su uso alimentario y farmacéutico, este valor al parecer está directamente relacionado con el grado de pureza obtenido en la extracción. Marshall (20) menciona que con un adecuado proceso de purificación se logra obtener aproximadamente un 60 a 70% de pureza; además de eliminar la toxicidad debido a la presencia de fitohemaglutinina (lectina que aglutina la sangre) (17).

Es conocido que el primer paso para la digestión de los polisacáridos es la escisión del almidón en sus componentes mediado por las α -amilasas (29). Esta digestión comienza en la boca con α -amilasa salival (30), convirtiéndolo en oligómeros cortos (31), que se detienen en el estómago por su bajo pH, al pasar al intestino delgado, se neutraliza y la α -amilasa ahí secretada por el páncreas completa la digestión del almidón (30). Actualmente se investiga la inhibición de esta enzima durante el citado proceso con el objetivo de obtener fármacos para reducir la hiperglucemia posprandial, lo que representaría un posible tratamiento para la diabetes y la obesidad (32, 33), con una disminución de absorción de glucosa en el intestino (34). Se han realizado varios estudios para evaluar la inhibición de la alfa-amilasa en presencia de inhibidores sintéticos y vegetales de importancia biotecnológica para la agricultura, la medicina y la industria alimentaria y farmacéutica (30, 32, 33, 35, 36, 37, 38, 39, 40).

Por otro lado, resulta interesante estudiar la inhibición de la alfa-amilasa para el control de las caries dentales, puesto que *Streptococcus viridans*, una bacteria bucal, se alimenta hidrolizando el almidón con alfa-amilasa, la maltosa resultante termina produciendo ácido láctico gracias a la fermentación de otras bacterias de la boca, éste podría disolver el esmalte dental, ayudando a la formación de placa y dando origen a las caries (37). El estudio de inhibidores también es importante en la agricultura, mediante la obtención de plantas transgénicas resistentes al ataque de plagas, puesto que los insectos se alimentan de almidón (30), aunque estas plantas transgénicas con genes inhibidores de la α -amilasa demuestran tener poco efecto sobre la

digestión en los mamíferos (41).

La investigación sobre inhibidores de alfa-amilasa, así como extractos de plantas con potencial hipoglucemiante in vitro y en modelos animales se ha incrementado (32, 33, 35, 37, 39, 40, 42). Se intenta demostrar el potencial de plantas popularmente consideradas como antidiabéticas para obtener la aprobación científica y sistemática para su uso como hipoglucemiantes (32, 33, 43). Grover et al (44), indican que más de 1123 especies de plantas han sido evaluadas de forma etnofarmacológica o experimental para tratar la diabetes y, se han identificado más de 200 compuestos de plantas que reducen glucosa en sangre (45). En países en desarrollo, donde las personas tienen acceso limitado a medicamentos y tratamientos modernos para la diabetes, las plantas juegan un rol de gran importancia (32). En general, las plantas contienen un gran número de inhibidores frente a amilasas y proteinasas, están presentes en semillas y otros órganos, y son responsables de la resistencia contra el ataque por insectos (34). Estos inhibidores presentes en las plantas se clasifican en proteicos y no proteicos (46). Existen siete tipos de inhibidores de alfa-amilasa identificados por similitudes en la secuencia y la estructura tridimensional (47, 48). De estos, seis se obtienen de plantas superiores (tipo lectina, tipo knottin, tipo cereal, tipo kunitz, tipo γ -puotionina y tipo taumatina) (49), y uno de *Streptomyces sp* (50, 51). Varias investigaciones sobre inhibidores de amilasa citan a compuestos obtenidos desde cereales (34, 52, 53, 54), como el trigo (*Triticum aestivum*) (55), la cebada (*Hordeum vulgareum*) (56), el centeno (*Secale cereale*) (36), así como en legumbres como el frijol (*Phaseolus vulgaris*) (53).

A continuación, se citan varios trabajos realizados en relación a los inhibidores enzimáticos como la Faseolamina:

Obiro, et al (57) indica que algunos suplementos dietéticos utilizados para controlar la obesidad se basan en concentrados de proteína de frijol (*Phaseolus vulgaris*), por su contenido significativo de inhibidor de α -amilasa también conocido como faseolamina (α -AI), útil en la prevención de la hiperglucemia posprandial bloqueando el acceso al sitio activo de la enzima digestiva del almidón. Shah, et al (58), citan que las semillas de *Cajanus cajan* L. una planta de la familia Fabaceae, tratadas con agua buferada, alcanzan el 100% de inhibición sobre α -amilasa, y las flores de *Hibiscus sabdariffa* L. de la familia Malvaceae tratadas con metanol, lo hacen en un 50%. Jay,

et al (59), citan que al realizar un metaanálisis sobre investigaciones que evaluaron el efecto de la suplementación con un inhibidor patentado (Phase2®) de α -amilasa extraído de *Phaseolus vulgaris* sobre la pérdida de peso en 573 sujetos (11 estudios) y reducción de la grasa corporal en 110 individuos (3 estudios), se obtuvo que esta suplementación mostró un efecto promedio de 1,08 kg de disminución del peso (0,42 kg a 1,16 kg) y un efecto promedio de 3,26 kg de reducción de grasa corporal (2,35 kg a 4,163 kg). Este metaanálisis encontró efectos estadísticamente significativos de la suplementación con *Phaseolus vulgaris* sobre el peso y la grasa corporales.

Bhawna, et al (60), mencionan que al analizar muestras de *Cassia tora*, *Cassia occidentalis*, *Cassia floribunda* y *Crotalaria albida* se encontró un inhibidor de α -amilasa, con un 94% de efectividad, siendo estable al calor (70°C), se purificó hasta la homogeneidad con 752,79 veces de purificación y 22,77% de recuperación, consiste en subunidades de menos de 200 KDa. Fatemeh, et al (61), indican que al evaluar in vitro la actividad inhibidora sobre α -amilasa pancreática, la estabilidad térmica y la hemaglutinación del extracto de cuatro variedades de *Phaseolus vulgaris* (Frijoles rojos, pintos, blancos y caupí) se encontró que todos los extractos de frijol mostraron actividad de inhibición, la cual fue mayor en las variedades blanco, rojo y pinto, en el estudio *In vivo* en ratas Wistar machos durante 21 días de suplementación, se evidenció disminución del nivel de glucosa en sangre al suplementar con extracto de frejol blanco, en comparación con el control, por lo que este extracto puede ser usado en la preparación farmacéutica de inhibidores de α -amilasa para controlar los niveles de glucemia. Guangqiu, et al (62), evaluaron la toxicidad de un extracto de frijol blanco (*Phaseolus vulgaris*) mediante una dosis repetida de 90 días en 80 ratas Sprague-Dawley, dosificadas con 4, 2 y 1 g/kg de peso corporal al día, vía oral, los resultados mostraron que el extracto de frijol blanco en dosis de hasta 4 g/kg/día no indujo cambios significativos en el peso corporal, peso de los órganos, consumo de alimentos, hematología, constantes bioquímicas e histopatología en las ratas, en comparación con el control.

De Andrade, et al (63), al estudiar el contenido y actividad de los compuestos bioactivos fenólicos responsables de la actividad anti hiperglucémica de 5 genotipos de frijol común (*Phaseolus vulgaris*), demostraron que estos dependen del genotipo de la planta, y deben investigarse

los genotipos más promisorios para encontrar estrategias de intervención dietética saludable y terapéutica.

Micheli, et al (64), estudiaron los efectos de la isoforma 1 del inhibidor de la α -amilasa llamada Faseolamina, contra el síndrome metabólico en ratones, en los cuales se obtuvo la reducción del peso corporal, la glucemia, los triglicéridos y el colesterol, llegando a normalizar este síndrome, las deficiencias motoras que produce y las alteraciones del umbral nociceptivo, el análisis de órganos específicos reveló que el extracto de *Phaseolus vulgaris* disminuyó la esteatosis hepática y peroxidación lipídica en el hígado, protegió al corazón de las alteraciones oxidativas del síndrome, aumentando la expresión de las enzimas desintoxicantes catalasa y glutatión reductasa, así como la normalización del nivel de NADH deshidrogenasa, el análisis histológico de la aorta mostró una protección sobre el desarrollo de vetas grasas en las capas musculares, resultados que postulan a este producto vegetal como una posible opción terapéutica contra el síndrome metabólico. Wai, et al (65), reportan que al estudiar cuatro métodos de procesamiento de alimentos (remojo, calentamiento húmedo, esterilización en autoclave y congelación) para evaluar su eficacia en la eliminación de los inhibidores enzimáticos (tripsina, quimotripsina y α -amilasa) presentes en siete leguminosas, se determinó que al esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos redujo el inhibidor de la α -amilasa en todas las leguminosas analizadas, por otro lado el calentamiento húmedo a 50°C durante 60 minutos inactivó con éxito tanto la α -amilasa como la quimotripsina del maní, mientras la congelación a -80°C durante 24 h inactivó la quimotripsina.

Castillo, et al (66), reportan que los extractos de frijol tienen una potente capacidad lipolítica tanto *in vitro* como *ex vivo*, con un efecto antiadipogénico durante la diferenciación de 3T3-preadipocitos L1, así, el frijol podría utilizarse en el desarrollo de ingredientes funcionales para reducir las altas tasas de muerte por enfermedades cardiovasculares asociadas con la obesidad. Shiqi, et al (67), reportan que el producto denominado RCM-107, una fórmula de ocho hierbas chinas que incluye: *Camellia sinensis* (green tea), *Poria*, *Nelumbinis folium* (lotus leaf), *Alismatis rhizoma*, *Plantaginis semen*, *Cassiae semen*, *Sophorae flos* y *Gardeniae fructus*, que es una modificación de RCM-104, produjo la pérdida de peso en ensayos clínicos,

por sus efectos inhibitorios sobre α -amilasa, al poseer biocomponentes activos como: alisol B, (-)-epigallocatequina-3-galato (EGCG) y el plantagósido, que interactúan con los marcadores Glu233, Gln63, His305, Asp300 y Tyr151 de α -amilasa. Ziaul, et al (68), estudiaron tres plantas silvestres de Bangladesh: *Achyranthes aspera* L., *Eclipta alba* L. (*Kalokeshi*), y *Vitex negundo* L., determinando que éstas son ricas en fibra, proteína, minerales, antioxidantes e inhibidores de alfa amilasa, por lo que su mayor ingesta podría proporcionar beneficios para la salud. Uci, et al (69), reportan que *Phaseolus vulgaris* L., posee varios componentes bioactivos asociados con beneficios para la salud, como alcaloides, antocianinas, carbohidratos, catequinas, fibra, flavonoides, ácido fítico, quercetina, saponinas, esteroides, taninos, terpenoides e inhibidores de tripsina, por ello actúa como analgésico, antiinflamatorio, antibacteriano, diurético, antioxidante, hipocolesterolémico, antiobesidad y anti-diabético.

Like, et al (70), al diseñar y evaluar microesferas a base de carbohidratos (maltodextrina) para tener diferentes tasas de digestión desde rápidas hasta lentas, observaron que estas podrían modular el vaciamiento gástrico a través del freno ileal, según un estudio efectuado en ratas, en este tipo de productos podría ser posible el uso de la Faseolamina que al inhibir la acción de alfa amilasa podría generar una digestión lenta y una menor disposición de azúcares para el organismo con efecto sobre las respuestas glucémicas e insulínicas. Kim, et al (71), evaluaron los efectos de una mezcla de extractos de *Phaseolus multiflorus* y *Pleurotus eryngii*, sobre la inhibición de la digestión enzimática con efecto anti obesidad en ratones y citan una reducción del peso corporal, la masa grasa, el hígado, el nivel de triglicéridos y azúcares. Luzardo, et al (72), indica que una dieta combinada de frijoles y maíz, propia de América Latina, proporciona compuestos bioactivos con efectos hipolipidémicos y reductores de glucosa, ya que se ha demostrado su capacidad para mitigar la obesidad y la diabetes tipo II. Hussein, et al (73), sostiene que el rábano (*Raphanus raphanistrum*) puede ser usado como producto terapéutico en pacientes con diabetes tipo II, puesto que gracias a sus componentes fenólicos inhibe un 95,5 % la acción de la enzima α -amilasa, reduciendo el nivel de glucosa en la sangre posprandial. Khadayat, et al (74), reportaron que la evaluación in vitro e in vivo reveló que algunas plantas medicinales de Nepal como *Acacia catechu* y *Swertia chirata*, son una potente fuente

de inhibición de α -amilasa, ya que produjeron una reducción significativa de la concentración de glucosa en sangre hasta 30 min después de la dosis oral de 250 mg/kg y podrían utilizarse en el desarrollo de fármacos para tratar la diabetes sin efectos secundarios adversos. Sultana, et al (75), reportan que el extracto de espinaca india, una planta popular de Bangladesh, alcanza el 100% de inhibición de α -amilasa in vitro, ya que contiene glucósidos polifenólicos, cuyo efecto supera al fármaco comercial Orlistat y se proyecta su uso para controlar la hiperglucemia, hiperlipidemia e hipertensión.

Wang, et al (76), manifiestan que el consumo de 2400 mg.día⁻¹ antes de cada comida, durante 35 días del extracto de *Phaseolus vulgaris* en voluntarios obesos Chinos, produjo una pérdida de peso promedio de 2,24 kg, disminuyó el índice de masa corporal en 0,79 y la grasa corporal decreció en 1,53%, con disminución del espesor de la grasa subcutánea, la circunferencia de la cintura y cadera, en ese periodo, con diferencias significativas con el tratamiento control, sin observarse efectos secundarios adversos. Serna, et al. (77), evaluó el efecto inhibitorio de fibra dietética rica en fenoles (ácidos clorogénico y elálgico) de mezclas de harinas de maíz y frijol común, sobre enzimas involucradas en el metabolismo de glucosa/lípidos in vitro, encontrando un 20% de inhibición para α -glucosidasa y un 25 % para la lipasa pancreática, por lo que se podría considerar un alimento funcional contra la obesidad y la diabetes tipo II. Marikkar, et al (78), determinaron que el mayor efecto inhibitorio (39,57%) contra α -glucosidasa lo exhibió un extracto de frijol rojo y el mayor efecto inhibitorio contra la α -amilasa (96,18%) fue mostrado por un extracto de salvado de arroz, ambos obtenidos mediante extracción química con una solución etanol-agua del 80%, considerando a estos productos como buenos reguladores de la hiperglucemia posprandial. Abdulrahman, et al (79), concluyeron que diferentes extractos de *Phaseolus vulgaris* demostraron actividades anti-diabéticas in vitro bajas, pero muy prometedoras, sin embargo, el extracto de etanol mostró una actividad más alta que los otros, sugiriendo al fréjol como alimento funcional, así como nutraceutico en términos de control de la diabetes tipo 2. Singh, et al (80), manifiestan que al evaluar 15 cultivares de fréjol (*Phaseolus vulgaris*) como inhibidor de alfa-amilasa, encontraron variaciones significativas entre ellos, resaltando la máxima actividad inhibidora ($70,2 \pm 0,84$) con el cultivar Purola,

el cual actúa a temperaturas de 20 a 100°C, formado por dos subunidades de 17 kd y 14 kd, con un peso molecular total purificado en PAGE nativo (electroforesis en gel de poliacrilamida) de 31 kDa. Shi, *et al* (81), indican que el extracto de frijol blanco común, rico en polifenoles, produce efectos inhibitorios sobre la diferenciación de adipocitos 3T3-L1, reduciendo su contenido lipídico en un 79,29% y en un 90,20% en adipocitos maduros, también se evidenció que por efecto del extracto polifenólico del fréjol, se suprimió el nivel de expresión de ARNm y de la proteína del receptor activado por el proliferador de peroxisomas γ (PPAR γ), potenciador de CCAAT, α (C/EBP α), elementos reguladores de esteroides 1c(SREBP-1c), lipoproteína lipasa (LPL) y proteína fijadora de ácidos grasos (ap2).

Sparvoli, *et al* (82), reportan que *Phaseolus vulgaris* L., son una fuente importante de nutrientes para humanos, sin embargo, contienen lectinas, que limitan el uso directo de su harina en alimentos preparados sin tratamiento térmico, y ácido fítico, que reduce la biodisponibilidad de cationes minerales, por ello al proponer la obtención de snacks biofortificados y una crema utilizando harina de frijol desprovista de lectinas activas y con contenido reducido de ácido fítico se obtuvo que estos nuevos productos no retuvieron actividad hemaglutinante residual debido a las lectinas; mostraron una actividad inhibidora de α -amilasa residual más alta (de 2,2 a 135 veces), calculándose *in vitro* una reducción del índice glucémico en aproximadamente 5 unidades y mayor biodisponibilidad de hierro en comparación con los productos con harina original; así como una mejor apreciación organoléptica, lo cual determina ventajas en la preparación de alimentos seguros y nutritivos para el consumidor. Ezzat, *et al* (83), indican que el extracto de vainas de *Phaseolus vulgaris* en ratas experimentalmente diabéticas, disminuyó la glucosa en sangre entre el 57 y 65 %, por otro lado, la fracción no-polar de este extracto estimula el asentamiento de células madre en el páncreas potencializando su actividad antidiabética, habiéndose identificado 26 compuestos de los cuales 4 fueron aislados en forma pura: acetato de calotropocero, fridolina, calotropocero A y el estigmasterol, los cuales demostraron buena actividad inhibitoria sobre lipasa y alfa amilasa pancreáticas, por lo que puede considerarse como un nutriente saludable y podría ser utilizado en terapias futuras con células madre para el tratamiento de diabetes tipo 1.

Un estudio brasileño reporta que son 29 los fitoterapéuticos más requeridos y dispensados a nivel de fito farmacia en el Municipio de Sousa, Paraíba, en los que destaca la faseolamina a partir de *Phaseolus vulgaris* en forma de cápsulas y saches, solicitado como producto para bajar de peso (84). Otro estudio cita que los medicamentos a base de hierbas para adelgazar más dispensados en las farmacias de compuestos botánicos de la ciudad de Ipatinga, estado de Minas Gerais, Brasil, son: té verde (*Carmellia sinensis*), baya de Goji, *Garcinia cambogia*, faseolamina e hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L). Así la Faseolamina, está indicada para generar pérdida de peso por su efecto hipoglucemiante, pero la ingesta prolongada puede provocar cambios en la actividad pancreática, lo que aumenta el riesgo de desarrollar cáncer de páncreas (85). El consumo de esta glicoproteína en presentaciones comerciales disminuye el 33 % de la glucosa en sangre tras las comidas, los ensayos *In vitro* mostraron una inhibición de hasta el 99% de α -amilasa, sin haberse detectado casos de intoxicación por su consumo en ratas alimentadas durante 43 días con dosis de 442 U del inhibidor (86). La dosis evaluada de 1g/70 Kg de peso vivo/día de Faseolamina comercial o harina de frejol blanco no afectó el crecimiento ni causó efectos deletéreos en ratones, con una actividad inhibitoria *in vitro* sobre alfa amilasa de 6,02 UIA/mg MS (87). Por otro lado, se ha observado que el tratamiento térmico de los fréjoles reduce la concentración de Faseolamina (88). Brasil a través de la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria, prohibió mediante Resolución RE No.1992 del 3 de mayo de 2010, la publicidad en todos los medios de productos naturales sin registro que estén expendidos para bajar de peso en cualquier presentación, entre ellas la Faseolamina y otras (89). En la figura 2, se aprecia un ejemplo de presentación comercial de Faseolamina para consumo humano.



Figura 2. Faseolamina de Eladiet, complemento alimenticio a base de Faseolamina, una enzima que bloquea la asimilación de los hidratos de carbono.

Fuente: <https://www.masmusculo.com/es/eladiet/faseolamina-76913.html>

c. Estructura química de la Faseolamina

Las alfa-amilasas son endoglucanasas, que se encuentran en la naturaleza formando parte de bacterias, archaeas y eukaryotas, su función es la hidrólisis y transglicosilación de polisacáridos (90, 91), de tal forma que trabajan en el metabolismo de carbohidratos tanto en microorganismos, como en plantas y animales (47). Henrissat (92), señala que, según su estructura primaria, se clasificaron dentro de la familia 13 de las glicosil hidrolasas.

Le Berre-Anton (93), manifiesta que el investigador Marshall en 1975, purificó la faseolamina a partir *Phaseolus vulgaris* (frijoles blancos), identificándolo como un inhibidor de la alfa-amilasa. Posteriormente se determinó que esta molécula era una glicoproteína tetramérica formada por dos subunidades alfa de 10,8 kDa, dos subunidades beta de 15 kDa con un efecto inhibitorio óptimo a un pH de 5,5 y una temperatura de 37°C. En efecto, la faseolamina inhibe las alfa-amilasas animales, pero no actúa contra las amilasas vegetales, bacterianas y fúngicas (20). Además, Santimone et al. (53), sostienen que *Phaseolus vulgaris* contiene otras proteínas de defensa que incluyen: fitohemaglutininas (PHA), arcelinas e inhibidores de alfa-amilasa (α -AI), esta última con tres isoformas distintas: α -AI1, α -AI2 y α -AI3.

La Faseolamina es una glicoproteína de almacenamiento que corresponde aproximadamente al 80% del total de las proteínas de la semilla, contiene aproximadamente 8,6% de carbohidratos no definidos que probablemente se unen de manera covalente mediante enlace amida a la asparagina, es rico en ácido aspártico, ácido glutámico, serina, treonina y valina, escaso en cisteína y no contiene prolina (94). Se presume que en su estructura están presentes los tres compuestos de lectinas del fréjol común Fito-hemaglutininas (PHA), Arcelinas y α -AI (α -AI1, α -AI2, α -AI3) las 3 se asemejan en la secuencia de aminoácidos aproximadamente de 50-90% (Figura 3). Jiang (26), afirma que corresponde a una estructura típica de tetrámeros de lectina ($\alpha 2 - \beta 2$), las cadenas α y β se forman a través de un procesamiento proteolítico en las vacuolas de almacenamiento de proteínas por medio del cual se genera la forma activa del inhibidor a partir del precursor. Este planteamiento tiene similitud con lo que menciona Gamero (95) en sus resultados, la forma activa del inhibidor está compuesta por dos subunidades, con residuos de alanina y serina

en el extremo N-terminal. Estas subunidades se forman a partir de precursores proteicos, que son degradados por proteasas, lo que permite la unión entre las moléculas precursoras maduras, formando la proteína inhibidora, sin embargo, el mecanismo mediante el cual se forman los inhibidores debe ser investigado con mayor profundidad ya que no existe información específica sobre la estructura química como tal del inhibidor. Sin embargo, la efectividad de la molécula se ve reflejada claramente en los resultados de investigaciones previas donde se ha demostrado eficazmente que la proteína presenta una alta actividad de inhibición frente a la α -amilasa intraluminal y duodenal, de modo que resulta interesante el pensar en implementarla en futuros productos alimenticios para generar un impacto positivo en la industria de alimentos, pensando en ayudar a mantener niveles de glucosa controlados principalmente en personas que sufren enfermedades de sobre peso y Diabetes. En la figura 3 se aprecia la estructura propuesta para la α -amilasa pancreática humana.

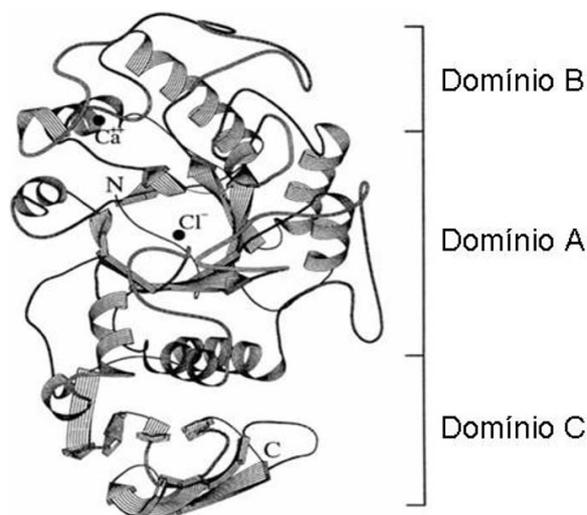


Figura 3. Esquema de la cadena polipeptídica de alfa-amilasa pancreática humana con sus tres dominios estructurales (A, B y C), sitios de unión del cloro y el calcio y los extremos N y C de la cadena. Según Brayer et al (97).

IV. CONCLUSIONES

En cumplimiento de los objetivos de esta revisión bibliográfica y en base a los datos encontrados y analizados, se concluye que:

- La Faseolamina desde el punto de vista químico es una glicoproteína tetramérica extraída del grano de fréjol (*Phaseolus vulgaris*), que ha sido estudiada desde 1975, cuyo peso molecular está alrededor de los 46 kDa, corresponde al 80 % del total de proteínas del grano, contiene un

8,6 % de carbohidratos asociados, rica en ácido aspártico, ácido glutámico, serina, treonina y valina, escasa en cisteína y no contiene prolina, se presume que en su estructura están presentes los tres compuestos de lectinas del fréjol común: Fito-hemaglutininas (PHA), Arcelinas y α -AI (α -AI1, α -AI2, α -AIL), sin embargo, el mecanismo mediante el cual se forman estos tres inhibidores debe ser investigado con mayor profundidad ya que no existe información específica sobre la estructura química como tal del inhibidor.

- Al parecer el mejor método de extracción de Faseolamina es aquel realizado bajo presión de vacío a 63°C con dióxido de carbono supercrítico, éste garantiza alta pureza y estabilidad de la molécula a altas temperatura y pH bajo, lo cual es apropiado para proyectar su uso en la industria alimenticia y farmacéutica.

- Un valor superior al 90% de inhibición de la alfa amilasa se logra cuando la Faseolamina es utilizada a un pH alrededor de 5, una temperatura de 34 °C, con una dosis de aproximadamente 1,6 mg.ml⁻¹ *in vitro* y de 25 a 50 mg.Kg⁻¹ *in vivo*, logrando su activación a partir de los 50 minutos post consumo y se inactiva usando temperaturas a partir de los 95 °C.

- La efectividad inhibidora de esta molécula frente a la α -amilasa se ve reflejada claramente en los resultados de las investigaciones consultadas, demostrando una alta actividad de inhibición intraluminal y duodenal, de modo que resulta interesante el diseño de productos alimenticios y/o farmacéuticos para un mercado cautivo no atendido, no solamente de consumidores que padecen enfermedades de sobre peso y diabetes, sino de quienes buscar reducir su peso o simplemente mantenerse en forma sin dietas rigurosas.

V. REFERENCIAS

1. Mollejo V. La importancia del almidón en la dieta y dónde encontrarlo [internet] Revisado: 21 de marzo de 2020. Disponible en: https://www.65ymas.com/salud/alimentacion/importancia-almidon-dieta-donde-encontrarlo_5306_102.html.
2. IMF BUSINESS SCHOOL. Metabolismo del azúcar en el cuerpo humano [internet] Revisado: 20 de diciembre de 2019. Disponible en: <https://blogs.imf-formacion.com/blog/corporativo/industria-alimentaria/metabolismo-del-azucar-en-el-cuerpo-humano/>.
3. Englyst KN, Englyst HN. Carbohydrate bioavailability. Br J Nutr. 2005; 94: 1-11.
4. Higgins JA. Resistant starch: metabolic effects and potential health benefits. J AOAC Int. 2004; 87: 761-768.
5. Hylla S, Gostner A, Dusel G, Anger H, Bartram HP, Christl SU, et al. Effects of resistant starch on the colon in healthy volunteers: possible implications for cancer prevention. Am J Clin Nutr. 1998; 67: 136-142.
6. OMS. Enfermedades no transmisibles [internet] Revisado: 1 de febrero de 2022. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases#>.
7. OMS. Diez datos sobre la obesidad [internet] Revisado: 29 de octubre de 2019. Disponible en: <https://www.who.int/features/factfiles/obesity/es/>.
8. OMS. Diabetes [internet] Revisado: 30 de octubre de 2018. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>.
9. INEC. Diabetes [internet] Revisado: 28 de diciembre de 2017. Disponible en: <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/inforgrafias-inec/2017/diabetes.pdf>.
10. OPS. La diabetes, un problema prioritario de salud pública en el Ecuador y la región de las Américas [internet] Revisado: 30 de noviembre de 2018. Disponible en: https://www.paho.org/ecu/index.php?option=com_content&view=article&id=1400:la-diabetes-un-problema-prioritario-de-salud-publica-en-el-ecuador-y-la-region-de-las-americas&itemid=360.
11. Castro L. Inhibidores de glucosidasas en alimentos [internet] Revisado 26 de noviembre de 2019. Disponible en: <https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/7154/tfg-m-n109.pdf?sequence=1&isallowed=y>
12. Luengo E. et al. Alimentos funcionales y nutraceuticos. Sociedad española de cardiología. ISBN-13: 978-84-690-3758-4. Zaragoza, España. 2007.
13. Colaco P., Degáspari C. Benefits of Phaseolamine (Phaseolus vulgaris L). Review study. Vista

- académica. 2014; 15(1). EISSN: 1518-8361. ISSN: 1518-5192.
14. Nanok, K. y Sansenya, S. α -Glucosidase, α -amylase and tyrosinase inhibitory potential of capsaicin and dihydrocapsaicin. *J. Food Biochem.* 2020, 44, e13099 [CrossRef]
 15. Gonzales N. *Phaseolus vulgaris* [internet] Revisado: 30 de octubre de 2019. Disponible en: <https://www.botica.com.py/prospecto-digital/2016/11/22/phaseolus-vulgaris/>.
 16. Mejías M. Diferencias entre Faseolamina y faseolina [internet] Revisado: 12 de enero de 2018. Disponible: https://books.google.com.ec/s?id=Or7ojuktqw8c&pg=pa42&lpg=pa42&dq=diferencia+entre+faseolamina+y+faseolina&source=bl&ots=cotn0womj1&sig=acfu3u0kukktu9gee_6z6sftrejpbf_90q-s419&sa=x&ved=2ahukewjfv6zb9ozrahwbdd8khaphd1qq6aewbnoecawqaq#v=onepage&q&f.
 17. Rodríguez M. Extracción y purificación del inhibidor de alfa-amilasa de diferentes variedades mejoradas de frijol (*Phaseolus vulgaris*) y su efecto in vivo [Internet] Revisado: 19 de noviembre de 2017. Disponible en: <http://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/466>.
 18. Pereira L, Pereira C, Santos C. et al. Inhibidores de la Alfa-Amilasa para el tratamiento de la diabetes y la obesidad [internet] Revisado: 28 de enero de 2017. Disponible en: <http://www.bago.com.ar/vademecum/bibliografia/inhibidores-de-la-alfa-amilasa-para-el-tratamiento-de-la-diabetes-y-la-obesidad/>.
 19. Lamby C, Gómez O, Jaramillo L. La α -amilasa salival: relación con la caries dental y la salud en general. *Univ Odontol.* 2013; 32(69): 93-101.
 20. Marshall J, Lauda C. Purification and properties of Phaseolamin, an inhibitor of alpha-amylase, from the kidney bean, *Phaseolus vulgaris*. *The Journal of Biological Chemistry.* 1975; 250(20): 8030-8037.
 21. Layer P. Partially purified white bean amylase inhibitor reduces starch digestion in vitro and inactivates intraduodenal amylase in humans [internet] Revisado: 30 de mayo de 1985. Disponible en: [https://www.gastrojournal.org/article/0016-5085\(85\)90016-2/pdf](https://www.gastrojournal.org/article/0016-5085(85)90016-2/pdf).
 22. Tormo M. Hypoglycaemic and anorexigenic activities of an α -amylase inhibitor from white kidney beans (*Phaseolus vulgaris*) in Wistar rats [internet] Revisado: 20 de julio de 2014. Disponible en: <https://www.cambridge.org/core/journals/british-journal-of-nutrition/article/hypoglycaemic-and-anorexigenic-activities-of-an-amylase-inhibitor-from-white-kidney-beans-phaseolus-vulgaris-in-wistar-rats/092d57699446891465431f9dab161e08>.
 23. Skop M. Purified amylase inhibitor and novel process for obtaining the same [internet] Revisado: 06 de julio de 2006. Disponible en: <http://www.freepatentsonline.com/y2006/0147565.html>.
 24. ASHU RANI, SATISH K SHARMA y AMARJIT NATH. A sensitive agar plate assay for screening inhibitors of α -amylase. *The Bioscan.* 2019. 14(2): 155-157.
 25. Yifeng Rang, Wei Zhao. Preparation of α -Amylase Inhibitor from Seeds of White Kidney Bean Using a Novel and Scalable Process Based on Enzymatic Hydrolysis. *International Journal of Nutrition and Food Sciences. Special Issue: Natural Active Ingredients for the Management of Diabetes and Obesity.* Vol. 8, No. 3, 2019, pp. 52-58. doi: 10.11648/j.ijnfs.20190803.12
 26. Jiang B. The nutraceutical role of the *Phaseolus vulgaris* α -amylase inhibitor [internet] Revisado: 1 de julio de 2008. Disponible en: <https://www.cambridge.org/core/journals/british-journal-of-nutrition/article/nutraceutical-role-of-the-phaseolus-vulgaris-amylase-inhibitor/8616ae1ac19b63572bf31bc95295ff78/core-reader>.
 27. Moura, N. An In Vitro and In Vivo Study of the α -Amylase Activity of Phaseolamin [internet] Revisado: 1 de agosto de 2014. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4126268/#b7>.
 28. Ortega K. Identificación de proteínas involucradas en estrés biótico y abiótico en variedades comerciales del fréjol común (*phaseolus vulgaris*) de Ecuador [internet] Revisado: 27 de julio de 2016. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/26688/1/t-ug-posmbm-0081%20ortega%20maldonado.pdf>.
 29. Payan F. Structural basis for the inhibition of mammalian and insect alpha- amylases by plant protein inhibitors. *Biochim Biophys Acta.* 2004; 12: 171-180.
 30. Yoon S, Robyt J. Study of the inhibition of four alpha amylases by acarbose and its 4IV- α -

- maltohexaosyl and 4IV- α -maltododecaosyl analogues. *Carbohydr. Res.* 2003; 338: 1969-1980.
31. Ferey G, Perrier J, Forest E, Marchis G, Puigserver A, Santimone M. The human pancreatic α -amylase isoforms: isolation, structural studies and kinetics of inhibition by acarbose. *BBA.* 1998; 1388: 10-20.
 32. Ali H, Houghton P, Soumyanath A. α -amylase inhibitory activity of some Malaysian plants used to treat diabetes; with particular reference to *Phyllanthus amarus*. *J. Ethnopharmacol.* 2006; 449-455.
 33. Gad M, El-Sawalhi M, Ismail M, El-Tanbouly N. Biochemical study of the anti-diabetic action of the Egyptian plants Fenugreek and Balanites. *Mol Cell Biochem.* 2006; 173-183.
 34. Oneda H, Lee S, Inouye K. Inhibitory effect of 0,19 α -amylase from wheat kernel on the activity of porcine pancreas α -amylase and its thermal stability. *J. Biochem.* 2004; 135: 421-427.
 35. Conforti F, Loizzo M, Statti G, Menichini F. Comparative radical scavenging and antidiabetic activities of methanolic extract and fractions from *Achillea ligustica*. *All Biol Pharm Bull.* 2005; 28:1791-1794.
 36. Iulek J, Franco O, Silva M, Slivinski C, Bloch Jr, Rigden D, Grossi de Sa M. Purification, biochemical characterisation and partial primary structure of a new α -amylase inhibitor from *Secale cereale* (Rye). *Inter. J. Biochem. Cell Physiol.* 2000; 32: 1195-1204.
 37. Kandra L, Zajác Á, Remenyik J, Gyémánt G. Kinetic investigation of a new inhibitor for human salivary α -amylase. *BBRC.* 2005; 334: 824-828.
 38. McDougall G, Shpiro F, Dobson P, Smith P, Blake A, Stewart D. Different Polyphenolic Components of Soft Fruits Inhibit α -Amylase and α -Glicosidase. *J. Agric. Food. Chem.* 2005; 53: 2760-2766.
 39. Kim Y, Jeong Y, Wang M, Lee W, Rhee H. Inhibitory effect of pine extract on α -glucosidase activity and postprandial hyperglycemia. *Nutrition.* 2005; 21: 756-761.
 40. Sasaki K, Ito S, Nakamura Y, Yoshizaki F. Effect of Saiko-ka-rykotsu- borei-to on Amylase Activity in Mice. *Biol. Pharm. Bull.* 2004; 27: 1688-1690.
 41. Pusztai A, Bardocz G, Alonso R, Chrispeels M, Schroeder H, Tabe L, Higgins T. Expression of the insecticidal bean α -amylase inhibitor transgene has minimal detrimental effect on the nutritional value of peas fed to rats at 30% of the diet. *J. Nutrit.* 1999; 129: 1597-1603.
 42. Arambewela L, Arawwawala L, Ratnasooriya W. Antidiabetic activities of aqueous and ethanolic extracts of *Piper betle* leaves in rats. *J Ethnopharmacol.* 2005; 14: 239-245.
 43. Funke I, Melzig M. Traditionally used plants in diabetes therapy – phytotherapeutics as inhibitors of α -amylase activity. *Rev. Bras. Farmacogn.* 2006;16: 1- 5.
 44. Grover J, Yadav S, Vats V. Medicinal plants of India with antidiabetic potential. *J. Ethnopharmacol.* 2002; 81: 81–100.
 45. Marles R, Farnsworth N. Plants as sources of antidiabetic agents. In: Wagner, H., Farnsworth, N.R., (Eds.), *Economic and Medicinal Plant Research.* Academic Press Ltd., UK. 1994; 6: 149–187.
 46. Moura de Gouveia N, Espindola F. Produção de uma fração concentrada em alfa-amilase salivar humana (HSA) como alvo para descoberta de novos inibidores e fracionamento do extrato hidroalcolico da casca de *Pouteria* sp. Pós-graduação em genética e bioquímica. Universidade Federal de Uberlândia. 2008. Brazil.
 47. Franco O, Rigden D, Melo F, Grossi de Sá M. Plant α -amylase inhibitors and their interaction with insect α -amylases. Structure, function and potential for crop protection, *Eur. J. Biochem.* 2002; 269: 397– 412.
 48. Lu S, Deng P, Liu X, Luo J, Han R, Gu X, Liang S, Wang X, Li F, Lozanov V, Patthy A, Pongor, S. Solution structure of the major α - amylase inhibitor of the crop plant amaranth, *J. Biol.Chem.* 1999; 274: 20473– 20478.
 49. He Li, Haochun Zhou, Jian Zhang, Xiaohang Fu, Zhiwei Ying & Xinqi Liu (2021) Proteinaceous α -amylase inhibitors: purification, detection methods, types and mechanisms, *International Journal of Food Properties*, 24:1, 277-290, DOI: 10.1080/10942912.2021.1876087
 50. Murao S, Goto A, Matsui Y, Ohyama K. New proteinous inhibitor (Haim) of animal α -amylase from *Streptomyces griseosporus* YM-25, *Agric. Biol. Chem.* 1980; 44: 1679– 1681.

51. Richardson M. Seed storage proteins: the enzyme inhibitors. In: *Methods in Plant Biochemistry*. Academic Press, London, UK. 1990; 5: 261-307.
52. Fontanini D, Capocchi A, Saviozzi F, Gallechi L. Simplified electrophoretic assay for human salivary α -amylase inhibitor detection in cereal seed flours. *J. Agric. Food Chem.* 2007; 55: 4334-4339.
53. Santimone M, Koukiekolo R, Moreau Y, Berre V, Rougé P, Marchis G, Desseaux V. Porcine pancreatic α -amylase inhibition by the kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) inhibitor (α -AI1) and structural changes in the α -amylase inhibitor complex. *BBA.* 2004;1696: 181-190.
54. Valencia A, Bustillo A, Ossa G, Chrispeels M. α -amylase of the coffee berer (*Hypothenemus hampei*) and their inhibition by two plant amylase inhibitors. *Insect. Biochem. Mol. Biol.* 2000; 30: 207-213.
55. Feng G, Richardson M, Chen M, Karmer, K, Morgan T, Reeck G. α -amilase inhibitors from wheat: a sequences and patterns of inhibition of insect and human α -amilases. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 1996; 26: 419-426.
56. Abe J, Sidenius U, Svensson B. Arginine is essential for the α -amilase inhibitory activity of the α -amilase inhibitory activity of the α -amilase/subtilisin inhibitor (BSAI) from barley seeds. *Biochem. J.* 1993; 293: 151-155.
57. Obiro, W.C.; Zhang, T.; Jiang, B. The nutraceutical role of the *Phaseolus vulgaris* α -amylase inhibitor. *British Journal of Nutrition* 2008, 100, 1–12.
58. Shah SB, Sartaj L, Ali F, et al. Plant extracts are the potential inhibitors of α -amylase: a review. *MOJ Bioequiv Availab.* 2018;5(5):270–273. DOI: 10.15406/mojbb.2018.05.00113
59. Jay Udani, Ollie Tan and Jhanna Molina. Systematic review and meta-analysis of a proprietary alpha-amylase inhibitor from white bean (*Phaseolus vulgaris* L.) on weight and fat loss in humans. *Foods* 2018, 7, 63; doi:10.3390/foods7040063
60. Bhawna Tyagi, Divya Singh, D.P. Mishra & Ashutosh Dubey (2018) α -Amylase Inhibitors from Some Cassia Species and Their Interaction with α -Amylase Potential for Crop Protection, *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 8:1, 64-69, DOI:10.1080/22311866.2018.1445029
61. Fatemeh Ghorbani, Masoud Sadeghi, Abbas Aghaie, Arezou Ghahghaei, Cyrus Jalili, Reza Khodarahmi, Study of α -Amylase Inhibitors among Different Bean Cultivars and Evaluation of their Effectiveness Compared with a Commercial Product using In Vitro/In Vivo Experimental Systems, *J Res Med Dent Sci*, 2018, 6 (1): 381-391, DOI: 10.5455/jrmds.20186162
62. Guangqiu Qin, FangWang, HuiliLiang, SongTang, KamranShekh, YanwuWang, Bin Li, Baiqing Dong and Pingjing Wen. Subchronic study of a white kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) extract with α -Amylase inhibitory activity. *Hindawi BioMed Research International*. Volume 2019, Article ID 9272345, 9 pages <https://doi.org/10.1155/2019/9272345>
63. De Andrade, Felipe Aranha; Dipayan Sarkar; Édison Miglioranza; Leandro Simões Azeredo Gonçalves; Lucia Helena da Silva Miglioranza; and Kalidas Shetty. 2019. Screening of Snap Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotypes for Phenolic Bioactive-Linked Anti-Hyperglycemic Properties Using In Vitro Models. *Journal of Medicinally Active Plants* 8, (3):20-32. DOI: <https://doi.org/10.7275/71qw-g724> <https://scholarworks.umass.edu/jmap/vol8/iss3/2>
64. Micheli Laura, Lucarini Elena, Trallori Elena, Avagliano Carmen, De Caro Carmen, Russo Roberto, Calignano Antonio, Ghelardini Carla, Pacini Alessandra and Di Cesare Lorenzo. *Phaseolus vulgaris* L. extract: Alpha-amylase inhibition against metabolic syndrome in mice. *Nutrients* 2019, 11, 1778; doi:10.3390/nu11081778
65. Wai Chuen Choi, Tim Parr, Yin Sze Lim. The impact of four processing methods on trypsin-, chymotrypsin and alpha-amylase inhibitors present in underutilised legumes. *J Food Sci Technol* (January 2019) 56(1):281–289. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3488-0>
66. Castillo, F; González, D., and Moore-Carrasco, R.. Effects of *Phaseolus vulgaris* extract on lipolytic activity and differentiation of 3T3-L1 preadipocytes into mature adipocytes: A strategy to prevent obesity. *Hindawi, Journal of Nutrition and Metabolism*. Volume 2019, Article ID 5093654, 8 pages. <https://doi.org/10.1155/2019/5093654>
67. Shiqi Luo, George Binh Lenon, Harsharn Gill, Andrew Hung, Daniel A. Dias, Mingdi Li, and Linh

- Toan Nguyen. Inhibition of pancreatic α -amylase activity by a weight-loss herbal formula RCM-107. Preprints (www.preprints.org). 2019. DOI:10.20944/preprints201907.0284.v1
68. Ziaul Hasan Rana, Mohammad Khairul Alam and Mohammad Akhtaruzzaman. Nutritional composition, total phenolic content, antioxidant and α amylase inhibitory activities of diferent fractions of selected wild edible plants. *Antioxidants*. 2019: 8, 203; Doi:10.3390/antiox8070203
 69. Uci Para Ramadhani, Boy Chandra and Harrizul Rivai. Overview of phytochemistry and pharmacology of chickpeas (*Phaseolus vulgaris*). *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. ISSN 2278 – 4357. 2020: 9, 9, 442-461
 70. Like Y. Hasek, Robert J. Phillips, Anna M. R. Hayes, Kimberly Kinzig, Genyi Zhang, Terry L. Powley & Bruce R. Hamaker (2020): Carbohydrates designed with different digestion rates modulate gastric emptying response in rats, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, DOI: 10.1080/09637486.2020.1738355
 71. Kim Do Hoon, Park Yu Hwa, Lee Jung Suk, Jeong Hyun Il, Lee Kye Wan and Kang Tong Ho. Anti-Obesity Effect of DKB-117 through the inhibition of pancreatic lipase and amylase activity. *Nutrients* 2020, 12, 3053; doi:10.3390/nu12103053
 72. Luzardo-Ocampo, I.; Campos-Vega, R.; Gonzalez de Mejia, E.; Loarca-Piña, G. Consumption of a baked corn and bean snack reduced chronic colitis inflammation in CD-1 mice via downregulation of IL-1 receptor, TLR, and TNF- α associated pathways. *Food Res. Int.* 2020, 132, 109097, doi:10.1016/j.foodres.2020.109097.
 73. Hussein, S; Khalaf, A; Ahmed, Y; Ahmed, B. and Iyad, A. Determination of inhibition activity of α -amylase enzyme, antioxidant activity, antibacterial activity and phenolic compounds by using some medical plants. *Iraqi Journal of Agricultural Sciences*. 2020:51(1):411-421
 74. Khadayat, K., Marasini, B., Gautam, H., Ghaju, S. and Parajuli, N. Evaluation of the alpha-amylase inhibitory activity of Nepalese medicinal plants used in the treatment of diabetes mellitus. *Clinical Phytoscience* (2020) 6:34. <https://doi.org/10.1186/s40816-020-00179-8>
 75. Sultana, R., Alashi, A., Islam, K., Saifullah, M., Haque, C., and Aluko, R. Inhibitory activities of polyphenolic extracts of Bangladeshi vegetables against α -amylase, α -glucosidase, pancreatic Lipase, renin, and angiotensin-converting enzyme. *Foods* 2020, 9, 844; DOI: 10.3390/foods9070844
 76. Wang S, Chen L, Yang H, Gu J, Wang J, Ren F. Regular intake of white kidney beans extract (*Phaseolus vulgaris* L.) induces weight loss compared to placebo in obese human subjects. *Food Sci Nutr*. 2020;8:1315–1324. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1299>
 77. Serna-Perez, A.B.; Loarca-Piña, G.; Luzardo-Ocampo, I. Characterization of Dietary Fiber Extracts from corn (*Zea mays* L.) and Cooked Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Flours and Evaluation of Their Inhibitory Potential against Enzymes Associated to Glucose and Lipids Metabolism In Vitro. *Biol. Life Sci. Forum* 2021, 1, x. <https://doi.org/10.3390/xxxxx>
 78. Marikkar, J., Nuurhaffiszulullah, A. and Gunarathne, K. Evaluation of bran extracts of rice (*Oryza sativa*) and selected bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties for their antioxidative and anti-hyperglycemic potentials. *Journal of Dry Zone Agriculture*, 2021, 7(1):36-49
 79. Abdulrahman, B., Bala, M. and Oluwasesan, B. Evaluation of in vitro antioxidant and antidiabetic potential of extracts from *Phaseolus vulgaris* L. seeds (Black turtle beans). *Functional Food Science* 2021; 1(9): 23-39
 80. Singh, R., Dobriyal, A., Singh, R., y De los Rios, P. Evaluation of inhibitory activity, purification and X-Ray crystallography of alpha-amylase inhibitor from *Phaseolus vulgaris* cultivars of Uttarakhand. *Research Square*. (2021). DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-154559/v1>
 81. Shi, Z.; Zhang, X.; Zhu, Y.; Yao, Y.; Ren, G. Natural Extracts from White Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Inhibit 3T3-L1 Adipocytes Differentiation. *Appl. Sci.* 2021, 11, 167. <https://dx.doi.org/10.3390/app11010167>
 82. Sparvoli, F.; Giofré, S.; Cominelli, E.; Avite, E.; Giuberti, G.; Luongo, D.; Gatti, E.; Cianciabella, M.; Daniele, G.M.; Rossi, M.; et al. Sensory characteristics and nutritional quality of food products made with a biofortified and lectin free common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flour. *Nutrients* 2021, 13, 4517. <https://doi.org/10.3390/nu13124517>

83. Ezzat, S. M., Abdel Rahman, M. F., Salama, M. M., Mahrous, E. A., & El Bariary, A. Non-polar metabolites of green beans (*Phaseolus vulgaris* L.) potentiate the antidiabetic activity of mesenchymal stem cells in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Journal of Food Biochemistry*, 2022; e14083. <https://doi.org/10.1111/jfbc.14083>
84. Rosado L. et al. Análisis de los medicamentos a base de hierbas comercializados en una farmacia magistral del sereto de Paraiba. *Research, Society and Development*. 2020; (9):7. ISSN 2525-3409. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i7.4700>
85. Murra M. et al. Presença de inibidores de proteases em amostras comerciais de “faseolaminas” utilizadas como bloqueadores de carboidratos e os riscos à saúde. *Revista do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo*. 2013; 72:3.
86. De Gouveia N. Evaluación del control glicémico sanguíneo y del estrés oxidativo en páncreas de animales diabéticos inducidos y no diabéticos tratados con extracto de *Vochysia rufa* y faseolamina. Tesis de doctorado en genética y bioquímica. Universidad Federal de Uberlandia. 2012. Brasil.
87. Silva L, Donizete C. Estudio comparativo entre faseolamina comercial y harina de fréjol como perspectiva al tratamiento de obesidad y diabetes mellitus tipo 2. Tesis de maestría en agroquímica. Universidad Federal de Lavras. 2008. Minas Gerais, Brasil.
88. Martínez M, Girbés T. Antinutrientes proteicos de las leguminosas: tipos, toxicidad y efectos fisiológicos. Tesis de grado para nutricionista dietista. Universidad de Valladolid. 2016. España.
89. Anvisa. Resolución No. 1992 del 3 de mayo de 2010: Disposición sobre publicidad de productos sin registro. *Diario oficial de União*. 2010. Brasil.
90. Yamamoto T. *Enzyme Chemistry and Molecular Biology of Amylases and Related Enzymes*. CRC Press Inc. ISBN 9780849329043. 1995.
91. Janecek S, Ohnishi M, Hayashi T, Ishima S, Kuriki T. Structural features and evolutionary relationships in the α -amylase family. *Glycoenzymes*. The Japanese Scientific Societies Press. 2000.
92. Henrissat B. A classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities. *Biochem. J*. 1991; 280: 309–316.
93. Le Berre-Anton V, Bompard-Gilles C, Payan F, Rougé P. Characterization and functional properties of the alpha-amylase inhibitor from kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. *BBA*. 1997; 1343: 31.
94. Poderes J. Purification and some physical and chemical properties of red kidney bean (*phaseolus vulgaris*) α -amylase inhibitor [internet] Revisado: 12 de julio de 1998. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1745-4514.1978.tb00183.x>.
95. Gamero M. Toxicidad in vivo y proteómica comparativa para el estudio de la expresión de proteínas con actividad insecticida presentes en semillas de *phaseolus vulgaris* l. [Internet] Revisado: 18 de enero 2021. Disponible en: <http://saber.ucv.ve/bitstream/123456789/7897/1/tesis%20mois%c3%a9s%20daniel%20gamero.pdf>.
96. Knabben, C. y Costa, José. Manual de classificação do feijão: Instrução Normativa nº 12, de 28 de março de 2008. Brasília, DF: Embrapa, 2012. Disponível em:< http://www.felgran.com.br/images/Classifica%C3%A7ao_Feijao_Embrapa.pdf>.
97. Brayer, G.D., Luo, Y., Withers, S.G., 1995. The structure of human pancreatic alpha-amylase at 1.8 Angstrom resolution and comparisons with related enzymes. *Protein Sci*. 4, 1730–1742.