

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos

ANA CAROLINE POLO

**Efeitos inibitórios dos extratos aquosos e hidroalcoólicos
da casca de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) sobre a
amilase pancreática e sobre a absorção de amido**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá para a obtenção do grau de Mestre em Ciência de Alimentos

Maringá –2025

Orientadora: Profa. Dra. Rosane Marina Peralta

Co-orientador: Prof. Dr. Adelar Bracht

ANA CAROLINE POLO

**“EFEITOS INIBITÓRIOS DOS EXTRATOS AQUOSOS E
HIDROALCOÓLICOS DA CASCA DE JATOBÁ (*Hymenaea courbaril* L.)
SOBRE A AMILASE PANCREÁTICA E SOBRE A ABSORÇÃO DE AMIDO”.**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, para obtenção do grau de Mestre em Ciência de Alimentos.



Profa. Dra. Rúbia Carvalho Gomes Correa



Prof. Dr. José Rivaldo dos Santos Filho



Profa. Dra. Rosane Marina Peralta
Orientadora

Maringá – 2025

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá - PR, Brasil)

P778e	<p>Polo, Ana Caroline</p> <p>Efeitos inibitórios dos extratos aquosos e hidroalcoólicos da casca de jatobá (<i>Hymenaea courbaril</i> L.) sobre a amilase pancreática e sobre a absorção de amido / Ana Caroline Polo. -- Maringá, PR, 2025. 26 f. : il. color., figs., tabs.</p> <p>Orientadora: Profa. Dra. Rosane Marina Peralta. Coorientador: Prof. Dr. Adelar Bracht.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Bioquímica, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, 2025.</p> <p>1. <i>Hymenaea courbaril</i> (Jatobá). 2. Inibição enzimática. 3. Amido. 4. Diabetes. I. Peralta, Rosane Marina, orient. II. Bracht, Adelar, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Biológicas. Departamento de Bioquímica. Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos. IV. Título.</p> <p>CDD 23.ed. 664.7207</p>
-------	---

DEDICATÓRIA

Dedico esta conquista única e exclusivamente para minha mãe e meu pai, LUZINETE CIPRIANO E JORACI POLO. Por tudo que eles sempre fizeram e fazem por mim. Sei que muitas vezes abriram mão de sonhos e desejos próprios para que eu pudesse realizar os meus. Sei que, mesmo em silêncio, vocês enfrentaram batalhas que eu nem imaginava, tudo para me proporcionar as oportunidades que tive na vida. Por isso, essa vitória não é só minha; ela é, sobretudo, de vocês. Obrigada por me ensinarem o valor da honestidade, da humildade e da perseverança. Obrigada por me mostrarem, dia após dia, que o amor é a base de tudo e que, com apoio e fé, podemos superar qualquer obstáculo. Vocês são o exemplo de que o trabalho árduo e a dedicação geram frutos, e é esse exemplo que carrego comigo em cada conquista. Com todo o meu amor, respeito e gratidão, dedico a vocês esta dissertação, na certeza de que, sem o suporte e a força de vocês, nada disso teria sido possível. Obrigada por serem quem são e por fazerem de mim quem sou.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por estar no controle da minha vida, por me dar a oportunidade de concluir mais esta conquista, por não desistir de mim e me manter de pé, me dando força, saúde. Mesmo em momentos difíceis que passei durante esses anos.

Agradecimento imensamente especial à minha orientadora Profa. Dra. Rosane Marina Peralta principalmente por toda paciência comigo, durante um ano difícil para mim, por ter me ensinado muito, por nunca ter medido esforços para me orientar e ajudar no desenvolvimento deste trabalho. Serei eternamente grata.

Ao Prof. Dr. Adelar Bracht pelo auxílio nas análises cinéticas bem como pelo auxílio na submissão do artigo científico.

À Dra. Thaís Marques Uber pelo auxílio na realização de todos os experimentos pela paciência, eternamente grata por sua acolhida.

Ao doutorando Gustavo H. Souza pelo auxílio na execução dos experimentos com animais que fazem parte dessa dissertação.

A todos os colegas do Laboratório de Bioquímica de Microrganismos e de Alimentos.

A todo o corpo docente do Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá.

À Fundação Araucária pela bolsa concedida.

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação de mestrado está apresentada na forma de um artigo científico intitulado **Efeitos inibitórios dos extratos aquosos e hidroalcoólicos da casca de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) sobre a amilase pancreática e sobre a absorção de amido.**

A versão em inglês intitulada **Inhibitory effects of aqueous and hydroalcoholic extracts from jatobá coat (*Hymenaea courbaril* L.) on pancreatic amylase and starch absorption** foi submetida ao periódico científico Biocatalysis and Agricultural Biotechnology (IF=3,4, Qualis A3)

RESUMO GERAL

INTRODUÇÃO - Várias estratégias podem ser empregadas para reduzir picos glicêmicos após a ingestão de amido. Uma abordagem envolve o uso de extratos naturais capazes de inibir enzimas que catalisam a hidrólise do amido. *Hymenaea courbaril* L., comumente conhecida como jatobá, é uma árvore da família Caesalpiniaceae e é abundante no Brasil. A casca do fruto do jatobá é um subproduto industrial do processamento da farinha de jatobá, normalmente descartado. Este subproduto é rico em oligômeros de procianidina (taninos). Este projeto teve como objetivo avaliar os efeitos inibitórios de extratos aquosos e hidroalcoólicos (etanol-água 70:30) da casca de jatobá na amilase pancreática e na absorção de amido.

MATERIAL E MÉTODOS - Para avaliar o efeito inibitório na atividade da amilase, concentrações variadas de extratos foram adicionadas a misturas de amido-enzima, e os açúcares redutores resultantes foram quantificados usando o método do ácido dinitrossalicílico. Para avaliar os efeitos inibitórios na absorção do amido, foram conduzidos testes de tolerância ao amido em camundongos machos alojados individualmente com acesso *ad libitum* à água e ração granulada padrão, após aprovação prévia do Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade de Maringá (Protocolo nº 9006100823-CEUA-UEM). Os testes foram precedidos por um período de jejum de 18 horas, após o qual todos os animais receberam amido de milho (1g/kg de peso corporal), exceto um grupo que recebeu apenas água potável. Amostras de sangue foram coletadas da veia da cauda dos animais em 0, 15, 30, 45 e 60 minutos. A glicemia foi medida usando um glicosímetro Accu-Chek® Active.

RESULTADOS, DISCUSSÃO E CONCLUSÃO - Os valores de IC₅₀ (concentração de extrato necessária para inibir 50% da atividade da amilase) para os extratos aquoso e hidroalcoólico foram 81,98±3,53 µg/mL e 51,06±0,42 µg/mL, respectivamente. Tanto o extrato aquoso quanto o hidroalcoólico reduziram a hiperglicemia induzida pela administração de amido, com o extrato hidroalcoólico se mostrando mais efetivo, apresentando reduções estatisticamente significativas (avaliadas pelo teste de Newman-Keuls após MANOVA) em 30 e 60 minutos. Em conclusão, esses achados sugerem que os extratos aquosos e hidroalcoólicos da casca de jatobá justificam uma investigação mais aprofundada como potenciais inibidores da amilase pancreática e possíveis moduladores da glicemia pós-ingestão de amido.

PALAVRAS-CHAVES – amido, diabetes, inibição enzimática

GENERAL ABSTRACT

INTRODUCTION - Several strategies can be employed to reduce glycemic spikes following starch ingestion. One approach involves using natural extracts capable of inhibiting enzymes that catalyze starch hydrolysis. *Hymenaea courbaril* L., commonly known as jatobá, is a tree from the Caesalpinaceae family and is abundant in Brazil. The fruit coat of jatobá is an industrial by-product of jatobá flour processing, typically discarded. This by-product is rich in procyanidin oligomers (tannins). This project aimed to assess the inhibitory effects of aqueous and hydroalcoholic (70:30 ethanol-water) extracts of jatobá coat on pancreatic amylase and starch absorption.

MATERIAL AND METHODS - To evaluate the inhibitory effect on amylase activity, varying concentrations of extracts were added to starch-enzyme mixtures, and the resulting reducing sugars were quantified using the dinitrosalicylic acid method. To assess inhibitory effects on starch absorption, starch tolerance tests were conducted in male mice housed individually with ad libitum access to water and standard pellet feed, following prior approval from the Ethics Committee on Animal Experimentation at the University of Maringá (Protocol No. 9006100823-CEUA-UEM). The tests were preceded by an 18-hour fasting period, after which all animals received corn starch (1g/kg body weight), except for one group that received only potable water. Blood samples were collected from the animals' tail vein at 0, 15, 30, 45, and 60 minutes. Blood glucose was measured using an Accu-Chek® Active glucometer.

RESULTS, DISCUSSION AND CONCLUSION - The IC₅₀ values (concentration of extract required to inhibit 50% of amylase activity) for the aqueous and hydroalcoholic extracts were 81.98±3.53 µg/mL and 51.06±0.42 µg/mL, respectively. Both the aqueous and hydroalcoholic extracts reduced hyperglycemia induced by starch administration, with the hydroalcoholic extract proving more effective, showing statistically significant reductions (evaluated by the Newman-Keuls test following MANOVA) at 30 and 60 minutes. In summary, these findings suggest that aqueous and hydroalcoholic extracts from jatobá coat warrant further investigation as potential pancreatic amylase inhibitors and possible modulators of glycemia post-starch ingestion.

KEY-WORDS - diabetes, enzyme inhibition, starch

EFEITOS INIBITÓRIOS DOS EXTRATOS AQUOSOS E HIDROALCOÓLICOS DA CASCA DE JATOBÁ (*Hymenaea courbaril* L.) SOBRE A AMILASE PANCREÁTICA E SOBRE A ABSORÇÃO DE AMIDO

Ana Caroline Polo¹, Thaís Marques Uber², Gustavo H. Souza², Amanda Rúbia de Figueiredo Trindade¹, Rúbia Carvalho Gomes Corrêa³, Anacharis Babeto de Sá Nakanishi^{1,2}, Adelar Bracht², Rosane Marina Peralta^{1,2}

¹Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Maringá

²Programa de Pós-graduação em Bioquímica. Universidade Estadual de Maringá

³Programa de Pós-graduação em Tecnologias Limpas, Universidade Cesumar -

UniCesumar

Resumo

Hymenaea courbaril, comumente conhecida como jatobá, é uma árvore da família Caesalpiniaceae, abundante no Brasil. A casca do fruto do jatobá é um subproduto industrial do processamento da farinha de jatobá, normalmente descartado. Atualmente, dentro do conceito de bioeconomia circular, há uma série de esforços em andamento com o propósito de encontrar aplicações economicamente viáveis para os biorresíduos do jatobá. Dentro deste contexto, o presente trabalho mostra tentativas de encontrar uma possível aplicação para a casca do jatobá na área de controle glicêmico através da inibição da atividade da alfa-amilase. Esta é uma forte possibilidade se considerarmos a riqueza da casca do jatobá em oligômeros de procianidina (taninos). Extratos aquosos e hidroalcoólicos (etanol-água 70:30) da casca do jatobá foram usados para testar a hipótese. Estudos cinéticos detalhados foram conduzidos, com medições iniciais da taxa de reação da reação catalisada pela alfa-amilase em várias concentrações de substrato (amido) e extratos. Os efeitos na absorção de amido *in vivo* foram avaliados por meio do teste de tolerância ao amido em camundongos. Ambos os extratos inibiram a alfa-amilase. Os valores de IC₅₀ (concentrações que causam 50% de inibição) para os extratos aquoso e hidroalcoólico foram 81,98±3,53 µg/mL e 51,06±0,42 µg/mL, respectivamente. A inibição foi do tipo não competitiva. Ambos os extratos reduziram a hiperglicemia causada pela administração de amido em camundongos, o extrato hidroalcoólico se mostrou mais eficaz. Essas observações *in vivo* podem ser atribuídas aos efeitos inibitórios dos extratos na alfa-amilase. Os achados sugerem que os extratos aquosos e hidroalcoólicos do revestimento de jatobá justificam investigações adicionais como moduladores potenciais da glicemia após a ingestão de amido.

Palavras-chave: diabetes, inibição enzimática, amido

1. Introdução

Hymenaea courbaril L., comumente conhecida como jatobá, é uma leguminosa pertencente à família Caesalpinaceae, que ocorre abundantemente nas florestas brasileiras. A espécie tem valor econômico devido ao seu fornecimento de madeira de alta qualidade, resinas, incenso, cosméticos e ingredientes alimentícios, bem como tônicos naturais, fortificantes e substâncias energizantes (Grisi et al., 2019). É *vox populi*, que a planta também possui propriedades medicinais, como propriedades antimicrobianas, antioxidantes, anti-inflamatórias, antiplasmódicas e atividades larvicidas (Grisi et al., 2019; Bezerra et al., 2013). Extratos de várias partes anatômicas desta espécie apresentam níveis significativos de terpenos e terpenoides, bem como flavonoides, aminoácidos, ácidos graxos, carboidratos, cumarinas, esteroides, várias lactonas e cromonas (Matos et al., 2023). O fruto do jatobá, ilustrado no painel B da Figura 1, é uma vagem de casca dura que contém uma polpa doce e farinácea usada como ingrediente alimentar conhecido como farinha de jatobá. A casca da vagem é um subproduto industrial do processamento da farinha, normalmente descartado.

Oligômeros de procianidina (taninos) de vários graus de polimerização de monômero a nonâmeros de apenas unidades ligadas do tipo B foram identificados em extratos das cascas de frutas (unidades flavan-3-ol ligadas por C-4 a C-8 (ou C-6)) de epicatequina (EC) sem ésteres de galato (Sasaki et al., 2009). Atualmente, há uma série de esforços em andamento com o propósito de encontrar aplicações economicamente viáveis para os biorresíduos de muitas plantas, dentro do conceito de bioeconomia circular (Pal et al., 2024). Neste sentido, o presente trabalho apresenta tentativas de encontrar uma possível aplicação para a casca de jatobá na área de controle glicêmico por meio da inibição da atividade da alfa-amilase. Essa com certeza é uma aplicação importante para tais resíduos, pois o diabetes é uma doença amplamente distribuída que tem consequências negativas para a qualidade de vida humana (Tomic et al., 2022).

O diabetes tipo 2, em particular, é um distúrbio metabólico crônico caracterizado pela resistência à insulina e deficiência relativa de insulina, levando a níveis elevados de glicose no sangue (Taylor, 2012). É frequentemente associado a fatores de estilo de vida, como obesidade, inatividade física e maus hábitos alimentares (Petroni et al., 2021). A inibição da alfa-amilase é um fenômeno que contribui para diminuir a glicose no sangue, especialmente após refeições ricas em amido, porque a absorção das frações glicosil derivadas deste polissacarídeo é substancialmente retardada (Azzopardi et al., 2016, Wibowo et al., 2024). Isso evita picos acentuados nos níveis de açúcar no sangue após as refeições, o que é benéfico para indivíduos com diabetes. O uso consistente de inibidores de alfa-amilase pode ajudar a manter níveis de glicemia mais estáveis,

reduzindo o risco de complicações associadas ao diabetes (Sun et al., 2019). Alguns estudos sugerem que os inibidores naturais de alfa-amilase podem melhorar a sensibilidade à insulina, permitindo que o corpo utilize a glicose de forma mais eficaz (Rangel-Galván et al., 2024). Isso pode ser particularmente benéfico para indivíduos com resistência à insulina, uma característica comum do diabetes tipo 2. A inibição da alfa-amilase por extratos de casca de jatobá é uma forte possibilidade se considerarmos a riqueza da casca de jatobá em oligômeros de procianidina (taninos). Os taninos geralmente têm a capacidade de inibir enzimas digestivas, como amplamente demonstrado em vários estudos (Correa et al., 2023; Kato et al., 2017; Silva et al., 2014). Uma caracterização avançada da constituição fenólica de extratos aquosos e hidroalcoólicos deste subproduto foi relatada recentemente (Del Angelo et al., 2024) e dímeros e trímeros de (epi)catequina tipo B foram os compostos mais abundantes em ambos os extratos (Fig. 1).

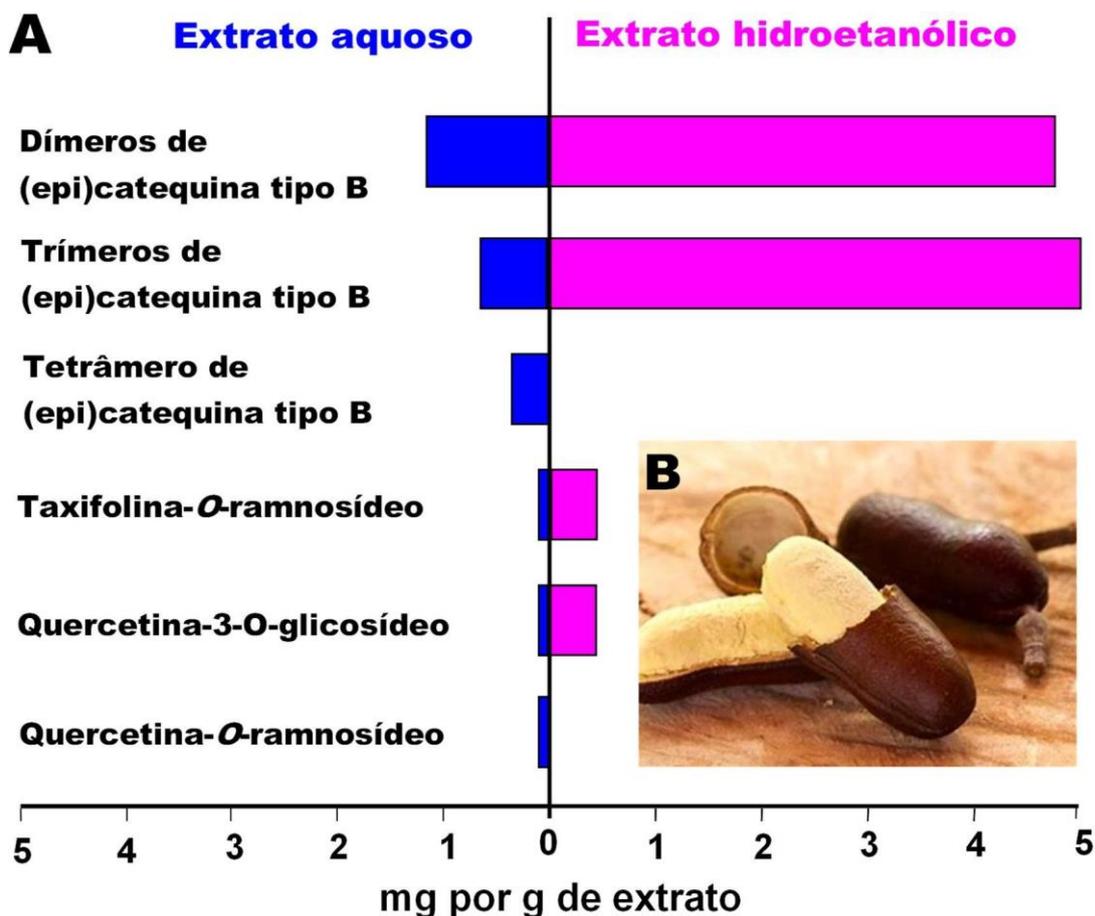


Figura 1. A: Taninos e outros polifenóis identificados nos extratos aquosos (painel esquerdo) e hidroalcoólicos (painel direito) da casca de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.). Para mais informações, consulte Del Angelo et al. (2024). B: Polpa e casca de jatobá.

Considerando, portanto, o que foi exposto acima, os objetivos deste estudo foram avaliar, por meio de experimentos *in vitro* e *in vivo*, os possíveis efeitos inibitórios de extratos aquosos e hidroalcoólicos da casca de jatobá sobre a alfa-amilase pancreática e a absorção de amido. Estudos cinéticos detalhados foram conduzidos, com medidas das velocidades iniciais da reação catalisada pela alfa-amilase pancreática em várias concentrações de substrato (amido) e extratos de casca de jatobá. Os efeitos na absorção de amido *in vivo* foram avaliados por meio do teste de tolerância ao amido em camundongos. A complementação dos experimentos *in vitro* com os experimentos *in vivo* deve fornecer um quadro mais completo sobre o potencial antidiabético do extrato da casca de jatobá.

2. Material e métodos

2.1. Material vegetal

As vagens maduras de *Hymenaea courbaril* L. foram coletadas na Fazenda Experimental Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá, localizada no distrito de Iguatemi (23°25' S; 51°57' W; 550 m de altitude), Estado do Paraná, Brasil. Após a identificação, um voucher foi depositado sob o código HUEM000020252 no Herbário da Universidade Estadual de Maringá (HUEM). Os frutos de jatobá foram lavados com água e secos à temperatura ambiente. A separação da polpa amarela contendo as sementes, das cascas duras de cada vagem foi realizada manualmente. Após a separação, as cascas foram quebradas em pedaços menores com o auxílio de um martelo e moídas em moinho de facas até formação de um pó fino. Este último foi armazenado ao abrigo da luz e da umidade a -20 °C.

2.2. Extração dos compostos bioativos

Os extratos, aquoso (AE) e hidroetanólico (ETOH) foram obtidos adicionando-se a cada g do resíduo 20 mL da solução de extração, água ou etanol:água 70%. Os frascos lacrados foram agitados por 2 h a 130 rpm em temperatura ambiente (25 °C) no escuro. Este procedimento foi repetido três vezes. Os extratos combinados foram centrifugados a 1792g por 15 min. O sobrenadante derivado da extração hidroetanólica foi evaporado a 35 °C para remoção do etanol. A liofilização foi a última etapa antes de armazenar os materiais a -20 °C até o uso (Del Angelo et al., 2024).

2.3. Inibição in vitro da alfa-amilase pancreática

Os ensaios da α -amilase pancreática suína foram realizados a 37 °C em tampão fosfato 20 mmol/L, pH 6,9, contendo 6,7 mmol/L de NaCl (Gopal & Muralikrishna, 2009). O pH do meio de reação foi testado para todas as situações (com e sem os extratos inibidores) e nenhuma

mudança foi detectada durante o tempo de incubação. Amido de batata (Sigma-Aldrich) foi usado como substrato. A enzima e um dos dois extratos (aquoso e hidroetanólico) foram pré-incubados com a enzima e a reação foi iniciada pela adição do substrato. A atividade específica da α -amilase pancreática suína foi de 500 unidades/mg de proteína. A quantidade de enzima adicionada a cada sistema de reação foi de 1 U. As misturas foram mantidas nessas condições por 10 min. e interrompidas pela adição de ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) conforme preconizado pelo método de Miller, 1959. Os açúcares redutores resultantes da hidrólise do amido foram quantificados pelo método do DNS utilizando-se maltose como padrão (Miller, 1959). O grupo aldeído dos açúcares redutores converte o ácido 3,5-dinitrosalicílico em ácido 3-amino-5-nitrossalicílico, que é a forma reduzida do DNS. A formação do ácido 3-amino-5-nitrossalicílico resulta em uma mudança na quantidade de luz absorvida a 540 nm. A absorbância medida usando um espectrofotômetro é diretamente proporcional à quantidade de açúcar redutor.

2.4. Experimentos in vivo

Para avaliar os efeitos inibitórios na absorção do amido, testes de tolerância ao amido foram conduzidos em camundongos Swiss machos, pesando 30-35 g. Os animais tiveram livre acesso à água e ração padrão e foram tratados e alojados de acordo com as diretrizes universalmente aceitas para experimentação animal. Antes das investigações, os animais foram mantidos por uma semana em condições ambientais padrão. Durante todo o período de experimentação, os camundongos foram mantidos em gaiolas individuais. A comida foi retirada 18 h antes dos experimentos. A glicemia foi avaliada com sangue da cauda utilizando-se o Accu-Chek® Active Glucose Meter. O protocolo experimental foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade de Maringá (Protocolo nº 9006100823-CEUA-UEM). Os animais foram divididos em 9 grupos ($n = 4$ ratos por grupo). Ao grupo I (controle positivo), amido de milho comercial (1 g por kg de peso corporal) foi administrado intragastricamente. O grupo II (controle negativo) recebeu apenas água da torneira. O grupo III recebeu amido de milho comercial intragástrico mais acarbose, um reconhecido inibidor da amilase pancreática (50 mg/kg). Os grupos IV, V e VI receberam amido de milho comercial intragástrico mais diferentes doses de extratos aquosos de casca de jatobá (200 mg/kg, 400 mg/kg e 600 mg/kg, respectivamente). Os grupos VII, VIII e IX, finalmente, receberam amido de milho comercial intragástrico mais diferentes doses de extratos hidroalcoólicos de casca de jatobá (200 mg/kg, 400 mg/kg e 600 mg/kg, respectivamente). Os níveis de glicemia em jejum foram determinados antes da administração de amido e inibidores de amilase (tempo 0). Avaliações posteriores dos níveis de glicemia ocorreram em 30, 60, 90 e 120 min. As áreas sob as curvas das relações

concentração de glicemia *versus* tempo foram calculadas por integração numérica usando o software Scientist® da Micro Math Scientific Software (Salt Lake City, UT). As doses de extrato que produziram redução de 50% dessas áreas foram determinadas por interpolação numérica com a fórmula de Stineman por meio do Micro Math Scientific Software (Salt Lake City, UT).

2.5. Cálculos e análise estatística

A interpolação numérica para a determinação da concentração do inibidor semi-máximo (IC₅₀) foi feita usando o software Scientist® da Micro Math Scientific Software (Salt Lake City, UT). O mesmo programa foi usado para ajustar as equações de taxa às taxas iniciais experimentais da atividade da alfa-amilase por meio de um procedimento iterativo de mínimos quadrados não linear. O critério de seleção do modelo (MSC), os desvios-padrão dos parâmetros otimizados e a soma dos desvios quadrados entre as velocidades de reação experimentais e as calculadas foram usados como um guia para decidir sobre o mecanismo cinético com a maior probabilidade. O critério de seleção do modelo é definido como (Akaike, 1974):

$$MSC = \ln \left[\frac{\sum_{i=1}^n w_i (Y_{obs_i} - Y_{cal_i})^2}{\sum_{i=1}^n w_i (Y_{obs_i} - Y_{cal_i})^2} \right] - \frac{2p}{n} \quad (1)$$

Y_{obs} são as velocidades de reação medidas, a velocidade média de reação, Y_{cal} a velocidade de reação calculada com os parâmetros otimizados, w o peso de cada ponto experimental, n o número de observações e p o número de parâmetros do conjunto de equações.

Para comparar a evolução temporal das concentrações de glicose sanguínea após a administração dos vários extratos de jatobá, os dados foram submetidos à análise de variância múltipla (MANOVA) com teste post-hoc de acordo com Student-Newman-Keuls. Os cálculos foram realizados usando o programa Statistica™ da Stat Soft® (Tulsa, OK, EUA). O critério geral de significância foi $p \leq 0,05$.

3. Resultados e discussão

3.1. Atividade da α -amilase em função das concentrações dos extratos de jatobá *in vitro*

Os resultados dos experimentos em que se verificou a influência dos extratos hidroalcoólicos e aquosos da casca de jatobá na atividade da alfa-amilase são mostrados na Figura 2. Esses experimentos foram realizados com uma concentração fixa de substrato (amido) de 1 g/100 mL e concentrações variáveis de ambos os extratos. No painel A da Figura 2, as velocidades de

reação foram representadas em relação às concentrações dos extratos. Ambos os extratos foram inibitórios, mas o hidroalcoólico foi mais eficaz.

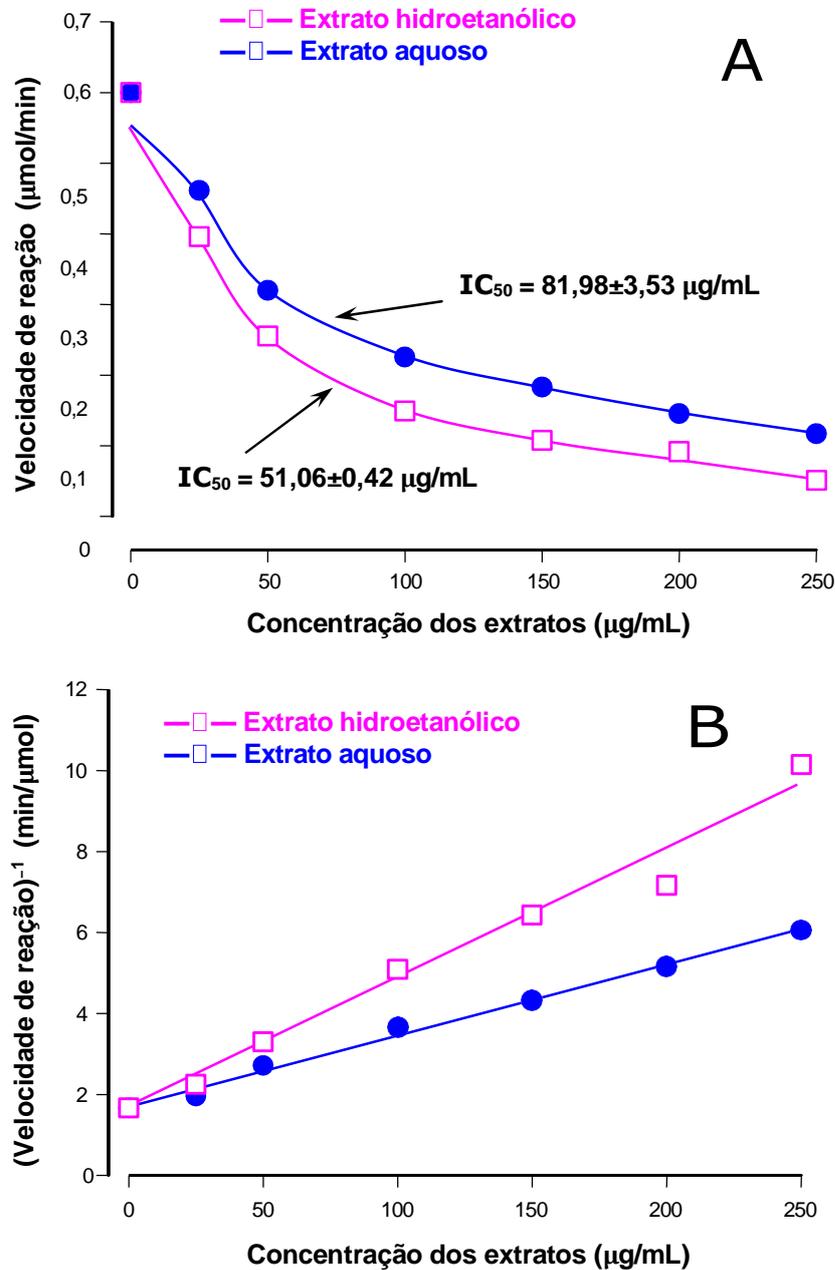


Figura 2. Inibição da alfa-amilase pancreática pelos extratos aquoso e hidroalcoólico de jatobá. As velocidades iniciais da reação catalisada pela alfa-amilase pancreática foram medidas conforme descrito na seção Materiais e Métodos em uma concentração fixa de substrato (amido) (1 g/100 mL) e concentrações variáveis de extrato. No painel A, as velocidades de reação foram representadas em relação às concentrações de extrato; no painel B, os inversos das velocidades de reação foram plotados em relação às concentrações de extrato; Os valores de IC_{50} , fornecidos no painel A, foram obtidos por interpolação numérica (fórmula de interpolação de Stineman).

Os valores de IC_{50} , que estão indicados na Figura 2A, podem ser usados para quantificar a diferença na eficácia de ambos os extratos, que é em torno de 60% a favor do extrato hidroalcoólico. A representação dos inversos das velocidades de reação ($1/v$) contra as concentrações de ambos os extratos na Figura 2B foi feita para obter uma resposta preliminar sobre o mecanismo da inibição, ou seja, se é incompleta (hiperbólica) ou completa (linear ou parabólica). As relações bastante lineares entre $1/v$ e as concentrações dos extratos sugerem que a inibição é do tipo linear (Plowman, 1972).

3.2. Inibição da atividade da α -amilase em várias concentrações de substrato

Para estender a análise ainda mais, as velocidades de reação iniciais foram medidas variando simultaneamente as concentrações do substrato e dos extratos. Os resultados desses experimentos são mostrados nas Figuras 3 e 4.

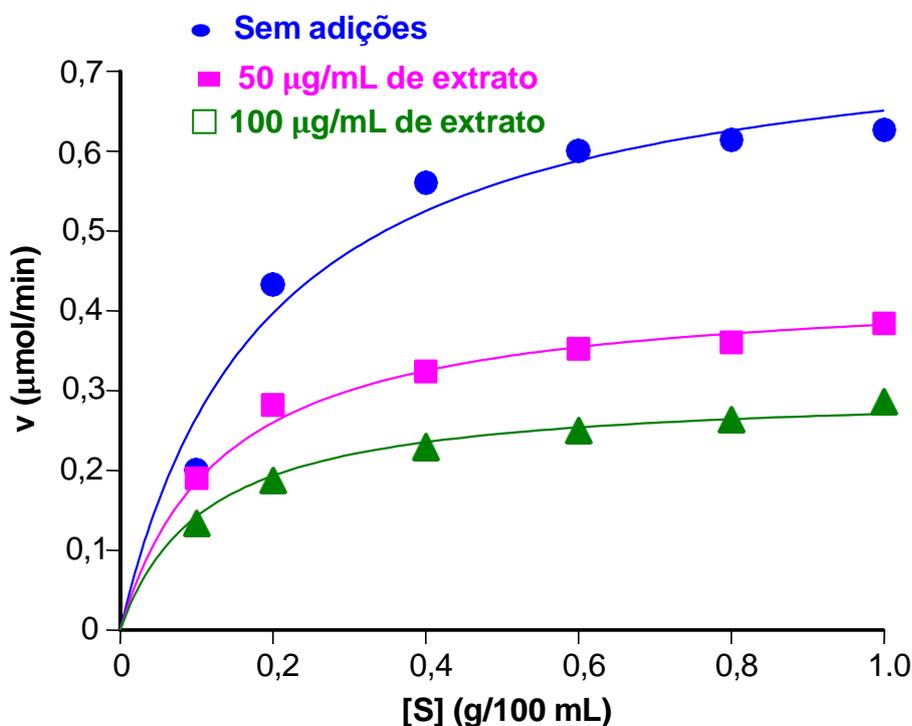


Figura 3 Cinética da inibição da alfa-amilase pancreática pelo extrato aquoso de jatobá. As velocidades iniciais da reação catalisada pela alfa-amilase pancreática foram medidas conforme descrito na seção Materiais e métodos em várias concentrações de substrato ($[S]$, amido) e no extrato aquoso de jatobá (indicado no canto superior direito). A equação (2) foi ajustada simultaneamente a todo o conjunto de dados por meio de um procedimento de mínimos quadrados não linear. Os símbolos representam os dados experimentais ($n = 3$). As linhas contínuas foram calculadas pela equação (2) após a introdução das constantes cinéticas otimizadas. Os valores otimizados foram: V_{max} , $0,774 \pm 0,031$ $\mu\text{mol}/\text{min}$; K_M , $0,191 \pm 0,026$ $\text{g}/100$ mL ; K_{i1} = $197,73 \pm 147,21$ $\mu\text{g}/\text{mL}$; K_{i2} = $63,55 \pm 7,73$ $\mu\text{g}/\text{mL}$. O coeficiente de correlação (r) foi de 0,993 e o critério de seleção do modelo 4,032.

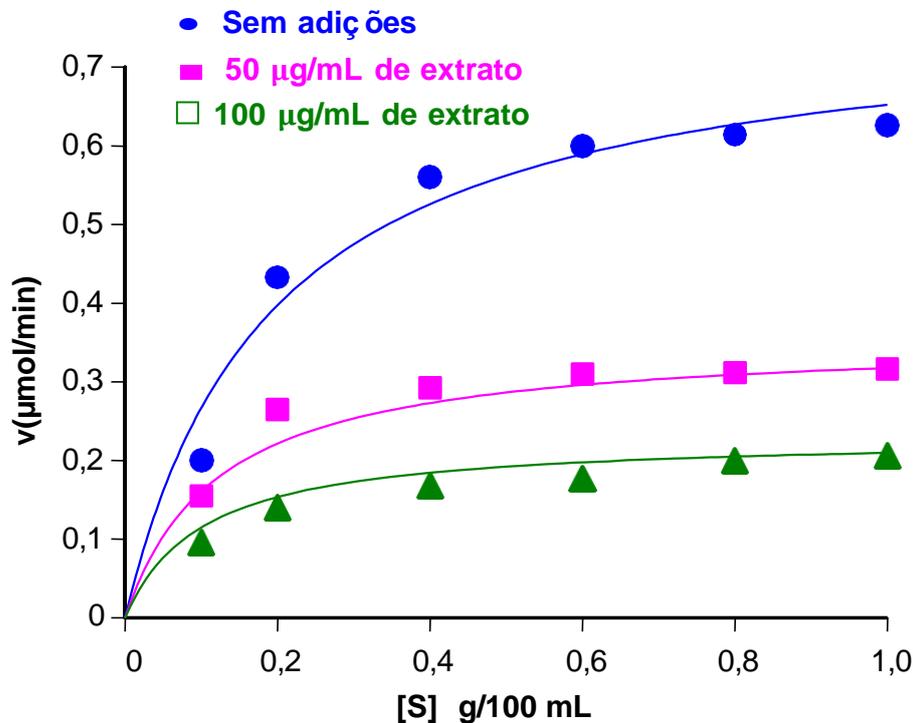


Figura 4. Cinética da inibição da alfa-amilase pancreática pelo extrato hidroetanólico de jatobá. As taxas iniciais da reação catalisada pela alfa-amilase pancreática foram medidas conforme descrito na seção Materiais e métodos em várias concentrações de substrato ([S], amido) e no extrato aquoso de jatobá (indicado no canto superior direito). A equação (2) foi ajustada simultaneamente a todo o conjunto de dados por meio de um procedimento de mínimos quadrados não linear. Os símbolos representam os dados experimentais ($n = 3$). As linhas contínuas foram calculadas pela equação (#) após a introdução das constantes cinéticas otimizadas. Os valores otimizados foram: V_{max} , $0,776 \pm 0,036$ $\mu\text{mol}/\text{min}$; K_M , $0,190 \pm 0,030$ $\text{g}/100$ mL ; $K_{i1} = 128,97 \pm 99,81$ $\mu\text{g}/\text{mL}$; $K_{i2} = 42,25 \pm 5,58$ $\mu\text{g}/\text{mL}$. O coeficiente de correlação (r) foi de 0,992 e o critério de seleção do modelo 3,822.

Nesses gráficos, as velocidades iniciais foram representadas contra as concentrações do substrato. Para cada inibidor, as velocidades em concentrações variáveis de substrato foram medidas com duas concentrações diferentes de inibidor, além da condição de ausência do inibidor (curvas de controle). As concentrações do inibidor são indicadas em cada gráfico. Curvas de saturação típicas foram obtidas, confirmando observações anteriores (Kato et al.,

2017; Castilho et al., 2021). Para ambos os extratos não há tendência de convergência em altas concentrações de substrato, fato que exclui a inibição competitiva. Consistentemente, a equação para inibição competitiva não se ajustou aos dados experimentais (não mostrado). Tentativas de ajustar a equação para inibição não competitiva também falharam (não mostrado), mas a equação para inibição não competitiva (Cleland, 1963, Plowman, 1972), dada abaixo, se ajustou muito bem aos dados experimentais.

$$v = \frac{V_{\max} [S]}{K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_{i1}} \right) + [S] \left(1 + \frac{[I]}{K_{i2}} \right)} \quad (2)$$

Na equação (2) v é a velocidade de reação, $[S]$ a concentração do substrato e $[I]$ a concentração do extrato. Além disso, V_{\max} é a velocidade máxima de reação, K_M a constante de Michaelis-Menten, K_{i1} a constante de dissociação (constante inibidora) do complexo enzima-inibidor (EI) e K_{i2} a constante de dissociação (constante inibidora) do complexo enzima-substrato-inibidor (ESI). A concordância entre teoria e experimento pode ser apreciada comparando os pontos experimentais nas Figuras 3 e 4 com as linhas contínuas, que representam as curvas que foram calculadas após a introdução dos valores otimizados de V_{\max} , K_M , K_{i1} e K_{i2} na equação (2) para cada inibidor, além dos valores de $[S]$ e $[I]$. Os valores otimizados de V_{\max} , K_M , K_{i1} e K_{i2} são listados nas legendas das Figuras 3 e 4. As legendas também listam os valores dos coeficientes de correlação e dos critérios de seleção do modelo (calculados de acordo com a equação (1)). Esses parâmetros fornecem uma medida quantitativa para a qualidade do ajuste.

A comparação das constantes inibidoras obtidas para o extrato aquoso (Figura 3) com aquelas obtidas para o extrato hidroalcoólico (Figura 4) revela que estas últimas foram menores, corroborando o fato de que o extrato hidroalcoólico é um inibidor mais forte quando comparado ao extrato aquoso. Para ambos os extratos, K_{i2} é menor que K_{i1} , indicando que para ambas as preparações o complexo ESI se forma mais facilmente do que o complexo EI. Em outras palavras, a ligação do substrato à enzima facilita a inibição até certo ponto. A rigor, K_{i1} e K_{i2} são apenas constantes de dissociação simples se as ações inibitórias dos extratos forem causadas em cada caso por uma única substância. Isso é altamente improvável, no entanto, porque os extratos vegetais geralmente têm uma composição molecular altamente complexa. Por esse motivo, K_{i1} e K_{i2} são provavelmente parâmetros compostos complexos que refletem a ação de vários compostos. Como todos os compostos nos extratos estão presentes em proporções constantes, K_{i1} e K_{i2} ainda podem ser considerados uma medida para a força inibitória de cada preparação (Chou & Talalay, 1977).

A relação linear entre $1/v$ e $[I]$ mostrada na Figura 2B também está de acordo com a equação (2). De fato, se a forma recíproca da equação (2) for rearranjada como uma função de $[I]$, é fácil ver que $1/v$ é uma função linear de $[I]$:

$$\frac{1}{v} = \left(\frac{K_M + [S]}{V_{\max} [S]} \right) + \left(\frac{K_M}{V_{\max} K_{i1} [S]} + \frac{1}{V_{\max} K_{i2}} \right) \cdot [I] \quad (3)$$

A inclinação da linha $1/v$ versus $[I]$ foi encontrada como sendo maior para o extrato hidroalcoólico porque os valores de K_{i1} e K_{i2} para esta preparação foram menores (Figura 2B). Além disso, a convergência das linhas retas obtidas com ambos os extratos na Figura 2B no eixo $1/v$ é esperada em uma concentração de substrato fixa. Vale mencionar que a inibição linear indica que complexos binários como EI_2 ou de ordem superior não são formados, embora nem sempre seja o mesmo tipo de molécula envolvida. A formação de complexos como EI_2 ou ESI_2 resultaria em inibição parabólica em vez da inibição linear que foi de fato observada.

3.3. Testes de tolerância ao amido em camundongos

A inibição da alfa-amilase *in vivo* deve, em princípio, diminuir ao menos o aparecimento de glicose livre na circulação após a ingestão de amido. Este fenômeno é frequentemente estimado por meio de testes de tolerância ao amido (Correa et al., 2023). A Fig. 5 mostra os resultados obtidos em uma série de experimentos nos quais três doses diferentes de ambos os extratos foram dadas a camundongos antes da administração do amido. As medições da glicemia foram feitas em vários momentos subsequentes.

As Figuras 5A e 5B mostram os resultados obtidos quando extratos aquosos e hidroalcoólicos foram administrados, respectivamente. Conforme esperado de vários relatórios anteriores (Kato-Schwartz et al., 2018, Kato-Schwartz et al., 2020, Silva et al., 2021, Correa et al., 2023), a concentração de glicose no sangue aumenta rapidamente após a administração de amido sob condições de controle, mas diminui depois disso. Essa resposta foi quase abolida quando a acarbose, o inibidor clássico da digestão do amido, foi administrada a 50 mg/kg (Figura 5C). A administração de 200 mg/kg do extrato aquoso de jatobá não foi muito eficaz, pois apenas o pico de concentração de glicose no sangue foi diminuído (Figura 5A). Quando as doses do extrato aquoso foram aumentadas, no entanto, os efeitos ganharam significância. A dose de 400 mg/kg não modificou a forma da curva, pois o pico ainda ocorreu em 30 minutos. A dose de 600 mg/kg, no entanto, deslocou o pico para 60 minutos. O extrato hidroalcoólico, como revelado pela Figura 5B, mostrou um comportamento complexo, embora os efeitos tenham sido inibitórios nas doses mais altas. A dose mais baixa, 200 mg/kg, tendeu a aumentar os níveis de glicose no sangue, sem significância estatística, no entanto. As doses de 400 e 600

mg/kg, por outro lado, foram apenas inibitórias. No entanto, as evoluções temporais das curvas obtidas com essas duas doses foram diferentes, pois a curva de 400 mg/kg apresentou uma queda acentuada na concentração de glicose a partir de 60 minutos.

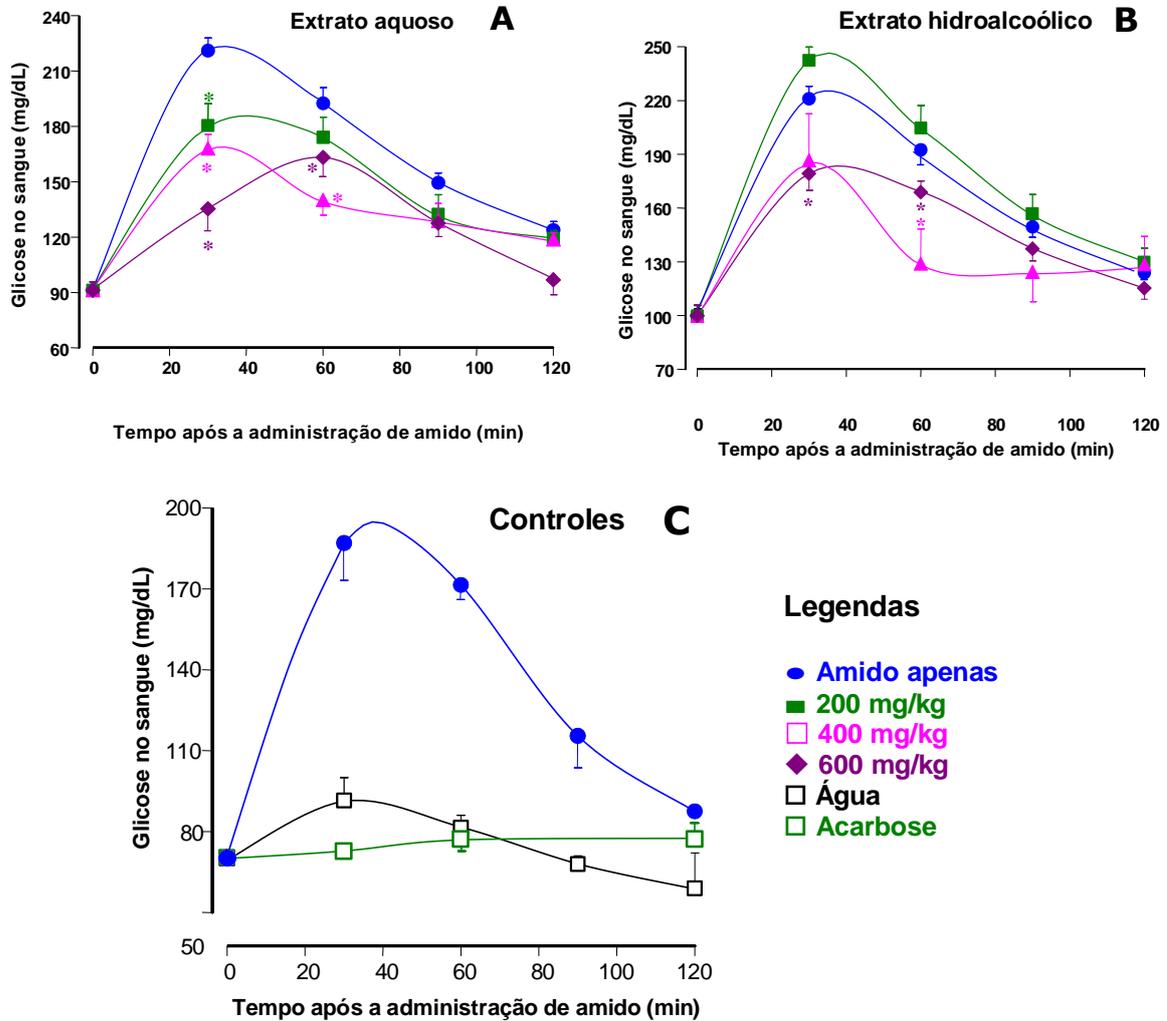


Figura 5. Efeitos do extrato aquoso de jatobá (painel A), extrato hidroetanólico de jatobá (painel B) e acarbose ou água (painel C) sobre os níveis de glicose sanguínea após administração oral de amido em camundongos. A administração oral de amido comercial (1 g por kg de peso corporal) foi feita imediatamente após a administração dos extratos ou acarbose (inibidor de referência). As doses de cada extrato são dadas nos gráficos. A glicose plasmática foi medida conforme descrito na seção Materiais e métodos. Cada valor representa a média \pm erro padrão médio de 4 camundongos. Os asteriscos indicam significância estatística em relação à curva de controle ($p \leq 0,05$) de acordo com o teste post-hoc de Student-Newman-Keuls realizado após análise de variância múltipla (MANOVA).

3.4. Comparação das ações dos extratos de jatobá com as de outros extratos vegetais

É interessante neste ponto comparar as forças inibitórias dos extratos de jatobá com as de outros extratos vegetais. As condições do ensaio da alfa-amilase e a fonte da enzima são importantes e, por esta razão, apenas os resultados obtidos em condições muito semelhantes devem ser selecionados para comparações. A Tabela 1 lista vários extratos inibitórios para os quais os resultados foram obtidos com a alfa-amilase suína pancreática de acordo com vários relatos da literatura de experimentos nos quais os ensaios foram conduzidos nas mesmas condições empregadas no presente trabalho. A lista na Tabela 1 é exibida em ordem decrescente de potência, conforme deduzido dos valores de IC_{50} correspondentes. Os dados revelam que a potência inibitória da alfa-amilase dos extratos vegetais varia em mais de duas ordens de magnitude quando a enzima é analisada *in vitro*. Os extratos de jatobá utilizados no presente trabalho certamente não são os inibidores mais potentes da alfa-amilase, mas sua potência é próxima à do extrato da casca da semente de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze (Silva et al., 2014). Além disso, os extratos de jatobá são muito mais potentes que os extratos de chá roxo e casca de jabuticaba (Silva et al., 2021; Castilho et al., 2021). A partir dos estudos listados na Tabela 1 também é possível inferir a capacidade dos vários extratos em afetar as excursões glicêmicas que ocorrem após uma carga de amido. A área sob as curvas de glicose versus tempo, subtraída da linha basal, é geralmente considerada uma medida da taxa de absorção das unidades de glicosil que são liberadas no trato intestinal. Quando os experimentos são repetidos com várias doses, é possível determinar a dose que reduz a área sob a curva em 50%, a chamada dose ID_{50} . A Tabela 1 lista os valores de ID_{50} obtidos nos vários estudos em que os valores de IC_{50} para a alfa-amilase também foram obtidos. Os valores de ID_{50} listados na Tabela 1 foram informados diretamente pelos autores citados ou calculados por interpolação numérica a partir dos dados que foram apresentados. A única exceção é o ID_{50} do extrato de *A. angustifolia*, que não é muito preciso porque foi obtido por extrapolação linear. O ID_{50} para o extrato aquoso de jatobá foi obtido a partir dos dados da Figura 5A. Mesmo um exame superficial da Tabela 1 revela que não há correlação entre os valores de IC_{50} para inibição da alfa-amilase e os valores de ID_{50} para absorção de amido. O fenômeno corrobora novamente a noção de que é muito difícil prever o efeito *in vivo* na digestão do amido com base apenas nas medidas de inibição da alfa-amilase ou alfa-glucosidase (Tonsic et al., 2023). A maior discrepância é talvez o extrato da casca da fruta jabuticaba, que é um inibidor muito fraco da alfa-amilase, mas cujos efeitos na digestão do amido não podem ser classificados na mesma categoria. O inibidor mais eficiente da alfa-amilase, o extrato da semente de tamarindo, também pode ser considerado um bom inibidor da digestão do amido, mas um pouco inferior ao chá roxo, que também é um inibidor

relativamente fraco da alfa-amilase. As ações inesperadamente fortes do chá roxo e do extrato da casca da fruta jabuticaba provavelmente estão relacionadas ao fato de que a diminuição da digestão do amido por essas preparações não é causada somente pela inibição da alfa-amilase. Outros mecanismos podem ser corresponsáveis pelos efeitos *in vivo*. Uma questão mais relevante para o presente trabalho é aquela relacionada às ações relativamente modestas na digestão do amido de vários extratos que são, na verdade, inibidores relativamente fortes da alfa-amilase. Isso inclui, por exemplo, o *Cytinus hypocistis* (L.) L., mas também o extrato de jatobá. Os resultados do presente trabalho não nos permitem inferir sobre as causas dessa discrepância. É verdade, no entanto, que as condições no trato gastrointestinal diferem certamente daquelas no sistema de incubação usado para analisar a alfa-amilase. É difícil, portanto, prever a resposta a cada extrato vegetal, especialmente quando os inibidores também são quimicamente distintos porque podem ser enzimaticamente modificados em componentes mais ou menos ativos. No caso do extrato de *Cytinus hypocistis*, foram feitas tentativas de responder a essa questão submetendo o extrato à digestão gastrointestinal *in vitro* (Correa et al, 2023). Foi descoberto que o último procedimento aumentou o IC₅₀ para inibição da alfa-amilase por um fator de três. A eficiência inibitória no trato intestinal também pode ser modificada pela ligação a peptídeos ou proteínas que estão presentes no último (Dave et al., 2014 Herczeg, 1975). No caso do extrato de *Cytinus hypocistis*, por exemplo, foi demonstrado que a albumina, geralmente presente no trato intestinal, diminui significativamente sua ação inibitória da alfa-amilase de maneira dependente da concentração (Correa et al., 2023). Fenômenos semelhantes poderiam ter acontecido nos experimentos conduzidos aqui com o extrato de jatobá. A confirmação evidentemente precisa de trabalho experimental adicional. Deve ser enfatizado que é igualmente possível que modificações no trato intestinal possam produzir compostos que estimulem em vez de inibir a alfa-amilase. Um equilíbrio entre inibição e estimulação pode ser estabelecido sob tais circunstâncias. Isso pode de fato ter acontecido no presente trabalho com o extrato hidro-etanólico quando administrado aos camundongos na dose mais baixa, pois os fenômenos na Figura 5 são altamente dinâmicos e dependentes do tempo. Os extratos vegetais geralmente têm uma composição altamente complexa e geralmente diferem consideravelmente uns dos outros, de modo que os padrões de transformação também podem ser esperados para diferir de caso a caso.

Tabela 1. Comparação das inibições da alfa-amilase de várias preparações vegetais com sua capacidade de diminuir a digestão do amido. Os valores de IC₅₀ (concentrações de extrato produzindo 50% de inibição da alfa-amilase) foram todos obtidos diretamente das referências citadas. Os valores de ID₅₀ são as doses em camundongos ou ratos que reduziram em 50% as áreas sob as curvas de glicose entre o tempo zero e o tempo de 120 minutos em comparação com os experimentos de controle. Eles foram informados diretamente pelos autores citados ou calculados a partir dos dados que foram apresentados com a única exceção dos dados de *Araucaria angustifolia* que não são muito precisos porque foram obtidos por extrapolação linear.

Planta	Tipo de preparação	Inibição in vitro da α -Amylase (IC ₅₀ em $\mu\text{g/mL}$)	Inibição in vivo da digestão do amido (ID ₅₀ in mg/kg)	Animal	Referência
<i>Tamarindus indica</i> (tamarindo)	Extrato hidroalcoólico da semente	13.3	151.4	Camundongo	Souza et al., 2025
<i>Cytinus hypocistis</i>	Extrato ultrasom de toda a planta	14.0	349.8	Camundongo	Correa et al., 2023
<i>Araucaria angustifolia</i>	Extrato da casca da semente (rica em taninos)	45.0	≈308.6	Rato	Silva et al., 2014
<i>Hymenaea courbaril</i> (jatobá)	Extrato aquoso da casca do fruto	81.9	500.1	Camundongo	Este trabalho
<i>Vitis vinifera</i> (uva)	Extrato hidroalcoólico do resíduo da uva	145.0	131.6	Rato	Kato-Schwarz et al., 2020
<i>Camellia sinensis</i> (chá roxo)	Extrato aquoso (preparação de chá)	630.0	96.8	Camundongo	Silva et al, 2021
<i>Myrciaria jaboticaba</i> (jaboticaba)	Extrato hidroalcoólico da casca da fruta	1963.0	250.0	Camundongo	Castilho et al., 2021

3.5. *Compostos possivelmente envolvidos*

Os extratos vegetais geralmente têm uma composição altamente complexa, uma característica que torna difícil atribuir efeitos particulares a compostos específicos. No entanto, é bem conhecido que taninos e polifenólicos em geral são inibidores da alfa-amilase, um fato demonstrado diretamente por experimentos nos quais taninos purificados ou polifenólicos foram usados (Kato et al., 2017) ou por experimentos usando extratos ricos em tanino (Correa et al., 2023). O extrato hidro-etanólico foi um inibidor um pouco mais potente da alfa-amilase, uma observação que seria consistente com o fato de que esta preparação tem um maior teor de tanino (Figura 1). No entanto, a diferença na potência inibitória (37,7%) entre ambos os extratos é menos pronunciada quando comparada à sua diferença nos teores de tanino e polifenólicos (78%). Portanto, se alguém assume que os taninos são os únicos inibidores nos extratos, esse alguém também é forçado a assumir que o tetrâmero de (epi)catequina tipo B (Figura 1), que é exclusivo do extrato aquoso, deve ser um inibidor mais forte, capaz de exceder os teores muito mais altos dos dímeros e trímeros de (epi)catequina do extrato hidroetanólico. Também se deve considerar seriamente a presença nos extratos de jatobá de outros compostos, não pertencentes às classes de taninos ou polifenólicos. Esta é uma possibilidade que foi explorada no caso da semente de tamarindo para a qual vários compostos, não pertencentes às classes de taninos e polifenólicos, mas com potencial de serem fortes inibidores da alfa-amilase, foram detectados (Souza et al., 2025).

4. Conclusão

Os resultados obtidos no presente trabalho confirmam a hipótese levantada inicialmente, a saber, que, graças à sua riqueza em taninos e polifenóis, os extratos de casca de jatobá devem ser capazes de inibir a atividade da alfa-amilase. O extrato hidroetanólico foi um inibidor mais forte da alfa-amilase quando comparado ao extrato aquoso (37,7% mais ativo). O extrato aquoso, no entanto, produziu uma inibição muito mais bem definida da digestão do amido *in vivo*. Embora ambos os extratos tenham potencial para serem usados como preparações capazes de reduzir a hiperglicemia causada pela administração de amido, o extrato aquoso parece ser mais indicado como agente anti-hiperglicêmico porque requer doses menores para ser eficaz. Em qualquer caso, no entanto, os achados sugerem que tanto os extratos aquosos quanto os hidroalcoólicos da casca de jatobá justificam investigações adicionais como potenciais moduladores da glicemia após a ingestão de amido.

5. Referências

- Akaike, H. 1974. A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans. Autom. Control*, 19, 716-723. <https://doi.org/10.1109/TAC.1974.1100705>.
- Azzopardi E., Lloyd, C., Teixeira, S.R., Conlan, S., Whitaker, I.S. 2016. Clinical applications of amylase: Novel perspectives. *Surgery*. 60, 26-37 <https://doi.org/10.1016/j.surg.2016.01.005>
- Bezerra, G.P., Góis, R.W.S., Brito, T.S., Lima, F.J.B., Bandeira, M.A.M., Romero, N.R., Magalhães, P.J.C., Santiago, G.M.P. 2013. Phytochemical study guided by the myorelaxant activity of the crude extract, fractions and constituent from stem bark of *Hymenaea courbaril* L. *J. Ethnopharmacol.*, 149, 26, 62-69. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.05.052>
- Castilho, P.A., Bracht, L., Barros, L., Albuquerque, B.R., Dias, M.I., Ferreira, I.C.F.R., Comar, J.F., da Silva, T.B.V., Peralta, R.M., Sá-Nakanishi, A.B., Bracht, A. 2021. Effects of a *Myrciaria jaboticaba* peel extract on starch and triglyceride absorption and the role of cyanidin-3-O-glucoside, *Food Funct.*, 12(6), 2644-2659. <https://doi.org/10.1039/d0fo02927k>
- Chou, T.C., Talalay, P. 1977. A simple generalized equation for the analysis of multiple inhibitions of Michaelis-Menten kinetic systems, *J. Biol. Chem.*, 252, 6438–6442 <http://intl.jbc.org/cgi/content/abstract/252/18/6438>.
- Cleland, W.W. 1963. The kinetics of enzyme-catalyzed reactions with two or more substrates or products. II. Inhibition: Nomenclature and Theory. *Biochim. Biophys. Acta* 7, 173-187. [https://doi.org/10.1016/0926-6569\(63\)90226-8](https://doi.org/10.1016/0926-6569(63)90226-8)
- Correa, V.G., Garcia-Manieri, J.A.A., Silva, A.R., Backes, E., Correa, E., Barros, L., Bracht, A., Peralta, R.M. 2023. Exploring the α -amylase-inhibitory properties of tannin-rich extracts of *Cytinus hypocistis* on starch digestion. *Food Res. Int.*, 173, 113260 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113260>
- Dave, I., A., Montoya, C.A., Rutherford, S.M., Moughan, P. 2014. Gastrointestinal endogenous proteins as a source of bioactive peptides- an in silico study. *Plos One*, 9, e-98922 <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0098922>
- Del Angelo, G.L., Oliveira, I.S., Albuquerque, B.R., Kagueyama, S.S., Silva, T.B.V., Santos Filho, J.R., Dias, M.I., Pereira, C., Calhelha, R.C., Alves, M.J., Ferrari, A., Yamaguchi, N.U., Zielinski, A.A.F., Bracht, A., Peralta, R.M., Corrêa, R.C.G. 2024. Jatoba (*Hymenaea courbaril* L.) pod residue: a source of phenolic compounds as valuable biomolecules. *Plants*, 13(22), 3207. <https://doi.org/10.3390/plants13223207>
- Grisi, P.U., Dorneles, M.C., Ranal, M.A., Oliveira, A.P., Mendes-Rodrigues, C., Santana, D.G. 2019. Ex situ initial seedling development of *Hymenaea courbaril* L. (Fabaceae): a crucial phase to preserve the species. *Hoehnea* 46(2), e742018 <https://doi.org/10.1590/2236-8906-74/2018>

- Gopal, A., Muralikrishna, G. 2009. α -Amylases: structure and function relationship. Trends Carbohydr. Res., 1, 1-11
- Herczeg, B. 1975. Normal serum albumin transfer from blood to small intestine and its role in albumin breakdown. Acta Chir. Acad. Sci. Hung, 16, 13-25
- Kato, C.G., Gonçalves, G.A., Peralta, R.A., Seixas, F.A.V., Sá-Nakanishi, A.B., Bracht, L., Comar, J.F., Bracht, A., Peralta, R.M. 2017. Inhibition of α -amylases by condensed and hydrolysable tannins: Focus on kinetics and hypoglycemic actions, Enzyme Res., 2017, Article ID 5724902. <https://doi.org/10.1155/2017/5724902>
- Kato-Schwartz, C.G., Bracht, F., Gonçalves, G.A., Soares, A.A., Vieira, T.F., Brugnari, T., Bracht, A. Peralta, R.M. 2018. Inhibition of α -amylases by pentagalloyl glucose: Kinetics, molecular dynamics and consequences for starch absorption. J. Funct. Foods, 44, 265-273 <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.03.025>
- Kato-Schwartz, C.G., Correa, R.C.G., Lima, D.S., Sá-Nakanishi, A.B., Gonçalves, G.A., Seixas, F.A.V., Haminiuk, C.W.I., Barros, L., Ferreira, I.C.R., Bracht, A., Peralta, R.M. 2020. Potential anti-diabetic properties of Merlot grape pomace extract: An in vitro, in silico and in vivo study of α -amylase and α -glucosidase inhibition. Food Res. Int., 137, 109462, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109462>
- Matos, M., Costa, A.R.C., Justino, M.N., Camara, M.B.P., Vasconcelos, O.L.S., Marques, J.C., Brandão, C.M., Marques, G.E.C. 2023. Chemical prospection and antioxidant activity of *Humiria balsamifera* (Aubl.) A. St. Hil. and *Hymenaea acourbaril* L. Nat. Prod. Res. 38, 614-618, <https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2189708>
- Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal. Chem., 31, 426-428
- Pal, P., Singh, A.K., Srivastava, R.K., Rathore, S.S., Sahoo, U.K., Subudhi, S., Sarangi, P.K., Prus, P. 2024. Circular bioeconomy in action: transforming food wastes into renewable food resources. Foods 13, 3007, <https://doi.or/10.3390/foods13183007>
- Petroni, M.L., Brodosi, L., Marchignoli, F., Sasdelli, A.S., Caraceni, P., Marchesini, G., Ravaioli, F. 2021. Nutrition in Patients with Type 2 Diabetes: Present Knowledge and Remaining Challenges. Nutrients, 13(8), 2748. <https://doi.org/10.3390/nu13082748>
- Plowman, K.M. *Enzyme Kinetics*. New York, McGraw-Hill Book Company, New York, 1972.
- Rangel-Galván, M., Pacheco-Hernández, Y., Lozoya-Gloria, E., Villa-Ruano, N. 2024. Dietary natural products as inhibitors of α -amylase and α -glucosidase: An updated review of ligand-receptor correlations validated by docking studies. Food Biosc., 62, 105456. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.105456>
- Sasaki, K., Matsukura, Y., Shijama, K., Miyake, M., Fujiwara, D., Konishi, Y. 2009. High-performance liquid chromatographic purification of oligomeric procyanidins, trimers up to nonamers, derived from the bark of jatoba (*Hymenaea courbaril*). Biosci. Biotechnol. Biochem., 73, 1274-1279. <http://doi.org/10.1271/bbb.80747>

- Silva, S.M., Koehnlein, E.A., Bracht, A., Castoldi, R., Morais, G.R., Baesso, M.L., Peralta, R.A., Souza, C.G.M., Sá-Nakanishi, A.B., Peralta, R.M. 2014. Inhibition of salivary and pancreatic α -amylases by a pinhão coat (*Araucaria angustifolia*) extract rich in condensed tannin. *Food Res. Int.*, 56, 1-8 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.12.004>
- Silva, T.B.V., Castilho, P.A., Sá-Nakanishi, A.B., Seixas, F.A.V., Dias, M.I., Barros, L., Ferreira, I.C.R., Bracht, A., Peralta, R.M. 2021. The inhibitory action of purple tea on in vivo starch digestion compared to other *Camellia sinensis* teas. *Food Res. Int.*, 150, 110781 <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110781>
- Souza, G.H., Silva, B.P., Viana Neto, G.A., Finimundy, T.C., Santos, T.F.D., Bueno, P.S.A., Souza, F.O., Pilau, E.J., Barros, L., Comar, J.F., Bracht, L., Peralta, R.M., Bracht, A., Sá-Nakanishi, A.B. 2025. *Tamarindus indica* sub-products as potential tools for simultaneous management of diabetes and obesity. *Food Funct.* (in press).
- Sun, L., Warren, F.J., Gidley, M.J. 2019. Natural products for glycaemic control: Polyphenols as inhibitors of alpha-amylase. *Trends Food Sci Technol.*, 91, 262-273 <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.07.009>
- Taylor, R. 2012. Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. *Diabetes*, 61, 778-779, <https://doi.org/10.2337/db12-0073>
- Tomic, D., Shaw, J.E., Magliano, D.J. 2022. The burden and risks of emerging complications of diabetes mellitus. *Nat. Rev. Endocrinol.*, 18 525–539 <https://doi.org/10.1038/s41574-022-00690-7>
- Tonsic, B.R., Correa, V.G., Garcia-Manieri, J.A.A., Bracht, A., Peralta, R.M. 2023. An in vivo approach to the reported effects of phenolic acids and flavonoids on pancreatic α -amylase activity, *Food Biosc.* 51, 102357. <http://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102357>
- Wibowo, S., Wardhani, S.K., Hidayati, L., Wijayanti, N., Matsuo, K., Costa, J., Nugraha, Y., Siregar, J.E., Nuringtyas, T. 2024. Investigation of α -glucosidase and α -amylase inhibition for antidiabetic potential of agarwood (*Aquilaria malaccensis*) leaves extract. *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, 58, 103152 <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103152>