

# Inhibición de la $\alpha$ -amilasa por medio de extractos de plantas medicinales como tratamiento complementario/alternativo de la diabetes y la caries.

[Inhibition of  $\alpha$ -amylase by means of extracts of medicinal plants as complementary/ alternative treatment of diabetes and caries.]

## **Autores:**

Od. Ponce, Jorge Orlando [1, a]  
Srta. Rodríguez Vigay, Nazarena [1, b]  
Prof. Dr. Juárez, Rolando Pablo [1, c]

## **Fecha de recepción:**

07/08/2017

## **Fecha de modificación:**

01/12/2017

## **Fecha de aprobación:**

20/12/2017

[1] Grupo de Investigación y Desarrollo "Saliva como fluido diagnóstico". Facultad de Odontología. Universidad Nacional del Nordeste.

[a] Docente investigador.

[b] Becaria de investigación.

[c] Director/Coordinador del GID.

Ponce, JO; Rodríguez Vigay, N; Juárez, RP. Inhibición de la  $\alpha$ -amilasa por medio de extractos de plantas medicinales como tratamiento complementario/alternativo de la diabetes y la caries. Rev. Soc. Odontol. La Plata; 2018; XXVIII(55):41-45

## **Dirección de Contacto:**

E-mail: ropablojuarez@odn.unne.edu.ar

## **RESUMEN**

Los inhibidores selectivos de la  $\alpha$ -amilasa salival y pancreática humana, son un medio eficaz para controlar los niveles de azúcar en la saliva y la sangre, durante el control de la caries y la diabetes. En la presente revisión, después de identificar las principales funciones de la enzima, se exponen algunas de las respuestas observadas después de la exposición de la  $\alpha$ -amilasa a las plantas, en escala molecular y entera. Diferentes tipos de moléculas de plantas medicinales actúan como inhibidores de la  $\alpha$ -amilasa, como una terapia alternativa o complementaria en el tratamiento de la diabetes y en el control de uno de los factores de la formación de caries (dieta).

## **PALABRAS CLAVE**

$\alpha$ -amilasa; Inhibición enzimática; Plantas medicinales; Diabetes; Caries.

## **SUMMARY**

Selective inhibitors of human salivary and pancreatic  $\alpha$ -amylase are an effective means of controlling saliva and blood sugar levels in the management of caries and diabetes. In the present review, after identifying the main functions of the enzyme, it was exposed some of the observed responses after exposure to  $\alpha$ -amylase at the molecular and whole plants scale. Different types of medicinal plants molecules have been found to act as  $\alpha$ -amylase inhibitors, as an alternative or complementary therapy in the management of diabetes and control to one of the predisposing factors to caries (diet).

## **KEY WORDS**

$\alpha$ -amylase; Enzyme inhibition; Medicinal plants; Diabetes; Caries.

## INTRODUCCIÓN

La enzima  $\alpha$ -amilasa salival humana (ASH), es una de las proteínas clave y la más abundante en la saliva humana. Inicia la digestión de carbohidratos complejos en la cavidad bucal humana. El proceso se completa posteriormente con la  $\alpha$ -amilasa pancreática humana (APH). (1)

Mediante estudios histoquímicos en animales de laboratorio, se ha determinado que la ASH se produce en las glándulas salivales mayores con el siguiente orden: glándulas parótidas, submaxilares y sublinguales. (2) Representa el 10-20% de todas las proteínas producidas por la glándula parótida. (3)

Tanto la APH como la ASH ( $\alpha$ -1, 4-glucano-4-glucanohidrolasa, EC 3.2.1.1), catalizan la hidrólisis de los enlaces  $\alpha$ -1,4-glicosídicos en almidón, glucógeno y otros oligosacáridos y polisacáridos. (4)

La función de la ASH no se limita a la iniciación de la digestión en la cavidad oral. Juega un papel importante en la modulación de la adhesión y crecimiento bacteriano en las superficies intraorales, participa en el equilibrio ácido-básico de la saliva, (1,5) en los trastornos de ansiedad y anorexia nerviosa, (6,7) en los trastornos del sueño, (8) en el stress del dolor, (9) del trabajo, (10) y de la competición en atletas. (11,12)

En la literatura internacional, estudios que destacan la utilización de la ASH como biomarcador emergente para el estrés físico, psicológico o psicosocial, revelaron aumento de la actividad de ASH debido al estrés. (11,13-15)

Sin embargo, debido a su importancia en varios trastornos metabólicos incluyendo la diabetes y obesidad, la APH ha sido más ampliamente estudiada que la ASH.

Por otra parte, existe evidencia científica sobre inhibidores naturales de APH con posibilidades de utilización en el tratamiento de la diabetes, pues retardan la liberación de glucosa a partir de hidratos de carbono, retrasan su absorción intestinal y disminuyen la glucemia postprandial, en consecuencia reducen la hiperglucemia. (16)

Asimismo, la inhibición de la actividad de ASH por taninos endógenos presentes en el té, se postula como mecanismo de acción anti-cariogénica. (17)

El objetivo de esta investigación documental, fue analizar y discutir la evidencia científica sobre la posibilidad de la inhibición de la APH como la ASH, mediante productos naturales durante el tratamiento del paciente diabético y la terapéutica de la caries

dental respectivamente. La búsqueda bibliográfica se realizó en las Bases de Datos Medline, EBSCOhost y Scopus. Se seleccionaron 47 artículos científicos que cumplían con las pautas internacionales (declaración CONSORT, declaración STROBE y recomendaciones Equator-Network).

### Inhibidores naturales de alfa-amilasa en el tratamiento de la diabetes.

La  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa son enzimas claves para hidrolizar carbohidratos, son responsables de romper los enlaces  $\alpha$ , 1-4 en disacáridos y polisacáridos, liberando glucosa. El aumento de glucosa observado unos minutos después de la ingestión contribuye a la hiperglucemia, el sello distintivo de la diabetes mellitus (DM). (18)

La DM es el trastorno endocrino más común, caracterizado por hiperglucemia crónica o aumento de los niveles de glucosa en la sangre por alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos, las grasas y las proteínas como resultado de la ausencia absoluta o relativa de secreción de insulina. La estrategia básica en el tratamiento de la DM es el mantenimiento de los niveles de glucosa en sangre en condiciones normales. (19)

A partir del 2003, según la OMS, el uso de medicamentos tradicionales a base de hierbas se ha propagado, en los países en desarrollo, pero también en los países industrializados, como una forma complementaria de tratar y prevenir las enfermedades. (20)

La importancia de las hierbas medicinales en el tratamiento de la diabetes está bien documentada, ya que están libres de efectos secundarios y son menos costosas en comparación con los agentes hipoglucémicos sintéticos. Varios de estos compuestos han sido obtenidos de plantas (flavonoides, compuestos fenólicos, taninos condensados, taninos hidrolizables, terpenos y derivados del ácido cinámico) o microbios (acarbose, miglitol, voglibosa). Las propiedades antidiabéticas se deben a la inhibición de las enzimas digestivas ( $\alpha$ -glucosidasa,  $\alpha$ -amilasa, sucrasa, maltasa). Al inhibir la  $\alpha$ -amilasa, retrasan la liberación de glucosa de los complejos de carbohidratos dietéticos y su absorción. (21-23)

La inhibición de la  $\alpha$ -amilasa podría deberse a la acción concertada de encapsulación de la enzima y/o el almidón en la matriz de fibra y/o la acción de los inhibidores. Eventualmente, esto conduce a una reducción de la glucosa, absorción y atenuación del aumento postprandial de la glucosa. (18)

Los compuestos polifenólicos encontrados en los extractos interactúan con proteínas y por lo tanto inhiben la actividad enzimática. (24)

Los taninos son polifenoles vegetales naturales. Están ampliamente distribuidos en la naturaleza y están presentes en frutas, tés, hierbas y árboles. Se unen a proteínas, compuestos básicos, pigmentos, compuestos de gran peso molecular, e iones metálicos y exhiben actividades antioxidantes. El tanino hidrolizable más simple y común es la galotanina presente en las galletas naturales de China. (25) Una de las proantocianidinas (taninos condensados) más ampliamente estudiadas es la que se extrae de la corteza del árbol de acacia negra (*Acacia mearnsii*). (26)

El picnogenol, un extracto acuoso patentado obtenido de la corteza de pino marítimo francés, inhibe específicamente la  $\alpha$ -glucosidasa, pero también inhibe competitivamente la ASH y del páncreas porcino (APP). (27,28)

Dos extractos acuosos de hojas de *Urtica dioica* L. (Urticaceae) y *Juglans regia* L. (Juglandaceae), utilizando acarbose como el inhibidor estándar, mostraron inhibición *in vitro* competitiva de APP, dependiente del tiempo de exposición y concentración del extracto. El extracto de *J. regia* (0.4 mg/ml) fue más activo que *U. dioica* (2 mg/ml). (29)

Cinco plantas medicinales nativas antidiabéticas, tradicionalmente utilizadas en Mauritius (nación insular del Océano Índico), denominadas *Stillingia lineata* (SL), *Faujasia flexuosa* (FF), *Erythroxylum laurifolium* (EL), *Elaeodendron orientale* (EO) y *Antidesma madagascariensis* (AM), se estudiaron por su posible actividad inhibidora de  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa, *in vitro*. Sólo los extractos metanólicos de EL, EO y AM, mostraron una significativa inhibición de  $\alpha$ -amilasa, comparable con la actividad de acarbose. (18)

Extractos de estreptomicetos endofíticos de dos plantas medicinales, *Leucas ciliata* y *Rauwolfia densiflora*, mostraron poseer propiedades adecuadas para el tratamiento de la diabetes por inhibición de la  $\alpha$ -amilasa. (16)

Con el fin de descubrir potentes inhibidores de la  $\alpha$ -amilasa, se desarrolló un método de selección de ligandos basado en enzimas inmovilizadas en nanopartículas magnéticas junto con HPLC (cromatografía líquida de rendimiento) y MS (espectrometría de masa). Basándose en la teoría de afinidad, se emplearon nanopartículas magnéticas recubiertas con  $\alpha$ -amilasa para buscar los li-

gandos de los extractos de *Garcinia xanthochymus* (Clusiaceae). Se aislaron tres agentes potenciales, bioflavonoides fukugetina, GB2a, y GB2a glucósido. Los valores de IC50 de fukugetina (0.97 µg/ml) y GB2a (3.46 µg/ml), fueron más bajos que los obtenidos con acarbosa (9.04 µg/ml). (30)

Otras plantas medicinales y productos naturales, utilizados como agentes antidiabéticos que muestran inhibición de la  $\alpha$ -amilasa, son el fenogreco (*T. foenum-graecum*) y la nuez (*J. regia*). Estudios en seres humanos, demostraron que el fenogreco ejerce efectos hipoglucémicos, por estimulación de la secreción de insulina dependiente de la glucosa desde las células  $\beta$  pancreáticas y por aumento del número de receptores de insulina, así como por inhibición de la actividad de  $\alpha$ -amilasa y sacarosa. Las hojas del árbol de nueces, se utilizan tradicionalmente para el tratamiento de la diabetes en diferentes países asiáticos y mediterráneos. Estudios *in vitro*, propusieron que la inhibición de la  $\alpha$ -amilasa y la inhibición de las reacciones de oxidación, son posibles mecanismos de acción. (22)

Las hojas de *Stevia Rebaudiana* (Stevia), han sido tradicionalmente usadas en Brasil y Paraguay para endulzar los tés y medicinas locales. Además de algunos flavonoides, contienen una concentración de esteviósido y rebaudiósido, cuya concentración varía entre el 2,5 y el 9% de acuerdo a la fuente y elaboración de la droga, y son cien veces más dulces que el azúcar. Debido a que tiene un efecto insignificante sobre la glucosa en la sangre, es utilizada como edulcorante (líquido o polvo) para dietas controladas restringidas en carbohidratos. (31)

El extracto acuoso de hojas de *S. rebaudiana*, posee efectos inhibidores *in vitro* que son dosis dependiente, tanto para la APP como para la alfa glucosidasa. Las muestras con una alta concentración de *Stevia* mostraron el mayor contenido fenólico total y capacidad antioxidante, capaces de inhibir el estrés oxidativo mediado por radicales oxigenados reactivos, que junto con la hiperglucemia forman parte de la fisiopatología de la DM. (32)

Estudios que evaluaron la actividad antimicrobiana de las hojas de *S. rebaudiana*, mostraron una actividad antibacteriana y antifúngica dependiente del tipo de solvente utilizado para preparar el extracto y la concentración de los principios bioactivos. Los extractos alcohólicos de *Stevia*, fueron superiores cuando se comparó con la forma acuosa. (33,34)

Debido al alto contenido de varios fitoconstituyentes, tales como fenoles, ácidos

fenólicos y flavonoides, los extractos de *Stevia* han mostrado una actividad antimicrobiana, antihipertensiva, antitumoral, antiinflamatoria, hepatoprotectora e inmunomoduladora tanto *in vitro* como en estudios con animales. (35)

### Inhibidores naturales de alfa-amilasa en la prevención y el tratamiento de la caries.

La ASH, se encuentra en abundancia en la película de esmalte adquirida, es capaz de modular la colonización bacteriana y proporcionar glucosa adicional para el proceso de formación del biofilm. Su concentración es mayor en la saliva de niños de 4 a 8 años de edad con caries activa, en comparación con niños libres de caries. (36)

En algunos estudios, se encontró un aumento significativo de la actividad amilasa, en el grupo con caries activa. Sin embargo, en otros trabajos su actividad fue 1.7 veces mayor en la saliva de niños preescolares (24 a 48 meses) sin caries, que en la saliva de niños con caries. La amilasa en la saliva total no estimulada, parecía estar correlacionada negativamente con la pérdida mineral, mostrando un efecto protector de amilasa contra caries. (37)

Los niños que tenían una actividad de  $\alpha$ -amilasa salival inferior a 122.8 U/ml, tenían un riesgo 3,33 veces mayor de desarrollar caries de la primera infancia (ECC), que los niños que tenían una mayor actividad de la proteína. Es capaz de unirse a bacterias cariogénicas y promover su retirada de la cavidad oral, que podría ayudar a reducir el nivel de estos microorganismos y por lo tanto disminuir el riesgo de ECC. (38)

Por lo tanto, la inhibición de la ASH parecería ser esencial para la prevención de la caries dental. En muchos países, los extractos de plantas han sido tradicionalmente utilizados para el tratamiento de las lesiones de la mucosa bucal y enfermedades periodontales. (20)

Los extractos de hierbas se han utilizado con éxito en Odontología, en diversos formatos como pastas o enjuagues dentales, como agentes contra varios microorganismos incluyendo las bacterias responsables de la caries dental. (39)

El efecto inhibidor del té verde y del té negro, sobre la ASH, ha sido demostrado. (40) La inhibición del té verde, se debe a la presencia del polifenol epigallocatequina galato, que disminuye la formación de carbohidratos fermentables involucrados en la formación de caries. (41,42) El té negro de-

mostró actividad anticariogénica. Se han invocado diversos mecanismos para explicar este efecto, por ejemplo la presencia de fluoruro endógeno. (43)

La inhibición de alfa-amilasa, producida por los polifenoles (tanino endógeno) presentes en el té negro luego de su decocción, se produjo después de un corto intervalo de consumo y duró un periodo de tiempo prolongado. (44,45)

Otra planta medicinal estudiada, es la hierba *Spilanthes calva* comúnmente conocida como "Akarkarah" o "planta dolor de muelas", que pertenece a la familia Asteraceae. Extractos de su raíz incorporados a dentífricos, mostraron inhibición de la actividad de la ASH. (40)

A pesar de su amplio uso en el campo medicinal, en Odontología existen pocas evidencias científicas del uso de la *Stevia*. En este marco, estudios han reportado el efecto antimicrobiano de extractos de *Stevia* sobre hongos y diversas bacterias, como *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*. (33,34,46)

Se observó que el efecto inhibitorio del extracto alcohólico de *Stevia*, fue superior a la forma acuosa e inferior cuando se compara con la clorhexidina, utilizada como control positivo. Las razones pueden ser la mejor solubilidad del compuesto de *Stevia* en alcohol, que mejora la biodisponibilidad y potencia la bioactividad. (31)

Extractos acuosos y etanólicos de cuatro hierbas anti diabéticas, *Withania somnifera*, *Boerhaavia diffusa*, *Tinospora cordifolia*, y *Stevia rebaudiana*, demostraron efectos inhibitorios *in vitro* sobre ASH y APH, que fueron dependientes de la concentración del principio bioactivo y del tipo del solvente utilizado para preparar el extracto. La inhibición puede deberse a la presencia de fenoles, flavonoides y saponinas en los extractos de las plantas. (47)

## CONCLUSIONES

La actividad de la ASH, es un ejemplo del potencial que tienen las proteínas salivales en la modulación de varias funciones en la cavidad oral. A su vez, su inhibición puede reducir significativamente el aumento postprandial de la glucosa en sangre y saliva, por lo tanto, puede ser una estrategia importante en el manejo del nivel de glucosa en la sangre en pacientes diabéticos tipo 2 y en la prevención y tratamiento de la caries. En base a los estudios de las plantas medicinales realizados en las otras ciencias de la salud, para determinar el efecto de los extractos sobre los microorganismos asocia-

dos a la caries dental, son necesarios estudios en animales, estudios *in vivo*, *in vitro* y ensayos clínicos que determinen la bioactividad de los diferentes componentes.

Además, un punto interesante a considerar es la estandarización de las muestras medicamentosas a base de hierbas, para garantizar la calidad, seguridad y reproducibilidad. Las aplicaciones serían ilimitadas. Así, la industria farmacéutica y alimentaria, puede (podría) incorporar los extractos en forma de colutorios, pastas dentales, aplicaciones tópicas, bebidas, edulcorantes, panes funcionales (hechos de harina de grano entero y otros ingredientes funcionales provenientes de las plantas medicinales).

## Bibliografía

1. Tananska VT. (2014). Salivary  $\alpha$ -Amylase and chromogranin A in anxiety-related research. *Folia Med (Plovdiv)*; 56(4):233-6. doi: 10.1515/folmed-2015-0001
2. Yamagishi R, Wakayama T, Nakata H, Adthanyawanich K, Kumchanteuk T, Yamamoto M, Iseki S. (2014). Expression and Localization of  $\alpha$ -amylase in the Submandibular and Sublingual Glands of Mice. *Acta Histochem Cytochem*; 47(3): 95-102. doi: 10.1267/ahc.14005
3. Abrão AL, Leal SC, Falcão DP. (2014). Salivary and serum cortisol levels, salivary alpha-amylase and unstimulated whole saliva flow rate in pregnant and non-pregnant. *Rev Bras Ginecol Obstet*; 36(2):72-8. PMID: 24676015
4. Boehlke C, Zierau O, Hannig C. (2015). Salivary amylase—the enzyme of unspecialized euryphagous animals. *Archives of Oral Biology*; 60(8):1162-1176. doi: 10.1016/j.archoralbio.2015.05.008
5. Palmer RJ, Jr. (2014). Composition and development of oral bacterial communities. *Periodontol 2000*; 64(1):20-39. doi: 10.1111/j.1600-0757.2012.00453.x
6. Paszynska E, Dmistrz-Weglarz M, Tyszkiewicz-Nwafor M, Slopian A. (2016). Salivary alpha-amylase, secretory IgA and free cortisol as neurobiological components of the stress response in the acute phase of anorexia nervosa. *World J Biol Psychiatry*; 17(4):266-73. doi:10.3109/15622975.2016.1163419
7. Yorbik O, Mutlu C, Ozturk O, Altinay DK, Tanju IA, Kurt I. (2016). Salivary alpha amylase levels in youths with anxiety disorders. *Psychiatry Res*; 235:148-53. doi: 10.1016/j.psychres.2015.11.021
8. Van Lenten SA, Doane LD. (2016). Examining multiple sleep behaviors and diurnal salivary cortisol and alpha-amylase: within and between-person associations. *Psychoneuroendocrinology*; 68:100-110. doi: 10.1016/j.psyneuen.2016.02.017
9. Wittwer A, Krummenacher P, La Marca R, Ehler U, Folkers G. (2016). Salivary Alpha-Amylase Correlates with Subjective Heat Pain Perception. *Pain Med*; 17(6):1131-6. doi: 10.1093/pm/pnv085
10. Marchand A, Juster RP, Lupien SJ, Durand P. (2016). Psychosocial determinants of diurnal alpha-amylase among healthy Quebec workers. *Psychoneuroendocrinology*; 66:65-74. doi: 10.1016/j.psyneuen.2016.01.005
11. Backes TP, Horvath PJ, Kazial KA. (2015). Salivary alpha amylase and salivary cortisol response to fluid consumption in exercising athletes. *Biol Sport*; 32(4):275-80. doi: 10.5604/20831862.1163689
12. Chennaoui M, Bougard C, Drogou C, Langrume C, Miller C, Gomez-Merino D, Vergnoux F. (2016). Stress biomarkers, mood states, and sleep during a major competition: success and failure athlete's profile of high-level swimmers. *Front Physiol*; 7:94. doi: 10.3389/fphys.2016.00094
13. Vineetha R, Pai KM, Vengal M, Gopalakrishna K, Narayanakurup D. (2014). Usefulness of salivary alpha amylase as a biomarker of chronic stress and stress related oral mucosal changes - a pilot study. *J Clin Exp Dent*; 6(2): e132-e137. doi: 10.4317/jced.51355
14. Grassi G, Mark A, Esler M. (2015). The sympathetic nervous system alterations in human hypertension. *Circ Res*; 116(6): 976-990. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.303604
15. Nater M, La Marca R, Erni K, Ehler U. (2015). Alpha-Amylase Activity in Blood Increases after Pharmacological, But Not Psychological, Activation of the Adrenergic System. *PLoS One*; 10(6). doi:10.1371/journal.pone.0130449
16. Akshatha VJ, Nalini MS, D'Souza C, Prakash HS. (2014). Streptomycete endophytes from anti-diabetic medicinal plants of the Western Ghats inhibit  $\alpha$ -amylase and promote glucose uptake. *Lett Appl Microbiol*; 58(5):433-439. doi: 10.1111/lam.12209
17. Arya V, Taneja L, Srivastava A, Nandlal S. (2016). Anticariogenic Activity of Black Tea - An In vivo Study. *J Clin Diagn Res*; 10(3): ZC74-ZC77. doi: 10.7860/JCDR/2016/16276.7489
18. Picot CM, Subratty AH, Mahomoodally MF. (2014). Inhibitory potential of five traditionally used native antidiabetic medicinal plants on  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, glucose entrapment, and amyolysis kinetics in vitro. *Adv Pharmacol Sci*. Article ID 739834, 7 pages, doi: 10.1155/2014/739834
19. ADA, American Diabetes Association. (2014). Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care*; 37: S14-S80. doi:10.2337/dc14-S014
20. Mittal S, Hiregoudar M, Subramaniam R, Muralikrishna KS, Sakeenabi B, Prashant GM, Chandu GN. (2011). Effect of three herbal extracts against Streptococcus mutans and Lactobacillus acidophilus in comparison to chlorhexidine. *J Indian Assoc Public Health Dent*; 9(5):336-40. Available online at: <http://www.jiaphd.org/article.asp?issn=2319-5932;year=2011;volume=9;issue=5;spage=336;epage=340;aulast=Mittal;type=0>
21. Ikarashi N, Sato W, Toda T, Ishii M, Ochiai W, Sugiyama K. (2012). Inhibitory effect of polyphenol-rich fraction from the bark of Acacia mearnsii on itching associated with allergic dermatitis. *J Evid Based Complementary Altern Med*. 120389. doi: 10.1155/2012/120389.120389
22. Ríos JL, Francini F, Schinell GR. (2015). Natural Products for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Planta Med*; 81(12-13):975-94. doi:10.1055/s-0035a1546131
23. Chawla R, Thakur P, Chowdhry A, Jaiswal S, Sharma A, Goel R, Sharma J, Priyadarshi SS, Kumar V, Sharma RK, Arora R. (2013). Evidence based herbal drug standardization approach in coping with challenges of holistic management of diabetes: a dreadful lifestyle disorder of 21st century. *J Diabetes Metab Disord*; 12(1):35. doi: 10.1186/2251-6581-12-35
24. Thilagam E, Parimaladevi B, Kumarappan C, Mandal SC. (2013).  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitory activity of Senna surattensis. *J Acupunct Meridian Stud*; 6(1):24-30. doi: 10.1016/j.jams.2012.10.005
25. Melone F, Saladino R, Lange H, Crestini C. (2013). Tannin structural elucidation and quantitative 31P NMR analysis. 1. Model compounds. *J Agric Food Chem*; 61(39):9307-9315. doi: 10.1021/jf401477c
26. Kusano R, Ogawa S, Matsuo Y, Tanaka T, Yazaki Y, Kouno I. (2011).  $\alpha$ -amylase and lipase inhibitory activity and structural characterization of acacia bark proanthocyanidins. *J. Nat. Prod*; 74(2): 119-128. doi: 10.1021/np100372t
27. Kim YM, Jeong YK, Wang MH, Lee WY, Rhee HI. (2005). Inhibitory effect of pine extract on  $\alpha$ -glucosidase activity and postprandial hyperglycemia. *Nutrition*; 21(6):756-761. doi: 10.1016/j.nut.2004.10.014
28. Schäfer A, Hogger P. (2007). Oligomeric procyanidins of French maritime pine bark extract (Pycnogenol) effectively inhibit  $\alpha$ -glucosidase. *Diabetes Res Clin Pract*; 77(1):41-46. doi: 10.1016/j.diabres.2006.10.011
29. Rahimzadeh M, Jahanshahi S, Moein S, Moein MR. (2014). Evaluation of alphaamylase inhibition by Urtica dioica and Juglans regia extracts. *Iran J Basic Med Sci*; 17(6):465-469. PMID: PMC4137939
30. Li Y, Chen Y, Xiao C, Chen D, Xiao Y, Mei Z. (2014). Rapid screening and identification of  $\alpha$ -amylase inhibitors from Garcinia xanthochymus using enzyme-immobilized magnetic nanoparticles coupled with HPLC and MS. *J Chromatogr B; Analyt Technol Biomed Life Sci*; 960:166-173. doi: 10.1016/j.jchromb.2014.04.041
31. Ajagannavar S, Shamarao S, Battur H, Tikare S, Al-Kheraif A, Al Esawy Al Sayed M. (2014). Effect of aqueous and alcoholic Stevia (Stevia rebaudiana) extracts against Streptococcus mutans and Lactobacillus acidophilus in comparison to chlorhexidine: An in vitro study. *J Int Soc Prevent Communit Dent*; 4:S116-S121. doi: 10.4103/2231-0762.146215
32. Ruiz-Ruiz JC, Moguel-Ordoñez YB, Matus-Basto AJ, Segura-Campos MR. (2015). Antidiabetic and antioxidant activity of Stevia rebaudiana extracts (Var. Morita) and their incorporation into a potential functional bread. *J Food Sci Technol*; 52(12):7894-7903. doi: 10.1007/s13197-015-1883-3
33. Debnath M. (2008). Clonal propagation and antimicrobial activity of an endemic medicinal plant Stevia rebaudiana. *J Med Plants Res*; 2(2):45-51. Available online at: <http://www.academicjournals.org/journal/JMPR/article-full-text-pdf/9412C0A15064>
34. Jayaraman S, Manoharan MS, Illanchezian S. (2008). In-vitro antimicrobial and antitumor acti-



vities of stevia rebaudiana (asteraceae) leaf extracts. *Trop J Pharm Res*; 7(4):1143-9. Available online at: <https://www.ajol.info/index.php/tjpr/article/view/14700/32233>

35. Gupta E, Purwar S, Sandaram S, Gai GK. (2013). Nutritional and therapeutic values of Stevia rebaudiana: a review. *J Med Plants Res*; 7(46):3343-3353. doi: 10.5897/JMPR2013.5276
36. Singh S, Sharma A, Sood PB, Sood A, Zaidi I, Sinha A. (2015). Saliva as a prediction tool for dental caries: an in vivo study. *J Oral Biol Craniofac Res*; 5(2):59-64. doi: 10.1016/j.jobcr.2015.05.001
37. Gao X, Jiang S, Koh D, Hsu CS. (2016). Salivary biomarkers for dental caries. *Periodontology* 2000; 70(1):128-141. doi:10.1111/prd.12100
38. Borghi GN, Rodrigues LP, Lopes LM, Parisotto TM, Steiner-Oliveira C, Nobre-Dos-Santos M. (2017). Relationship among  $\alpha$  amylase and carbonic anhydrase VI in saliva, visible biofilm, and early childhood caries: a longitudinal study. *Int J Paediatr Dent*; 27(3):174-182. doi: 10.1111/ipd.12249
39. Saini R, Sharma S, Saini S. 2011. *Ayurveda and herbs in dental health*. Ayu;32:285-6. doi: 10.4103/0974-8520.92542
40. Sapra G, Kumar Vyas Y, Agarwal R, Aggarwal A, Sharma K. (2013). Effect of an herb root extract, herbal dentifrice and synthetic dentifrice on human salivary amylase. *Dent Res J (Isfahan)*; 10(4):493-498. PMID: PMC3793413
41. Awadalla HI, Ragab MH, Bassuoni MW, Fayed MT, Abbas MO. (2011). A pilot study of the role of green tea use on oral health. *Int J Dent Hyg*; 9:110-6. doi: 10.1111/j.1601-5037.2009.00440.x
42. Hara K, Ohara M, Hayashi I, Hino T, Nishimura R, Iwasaki Y, Ogawa T, Ohyama Y, Sugiyama M, Amano H. (2012). The green tea polyphenol (-)-epigallocatechin gallate precipitates salivary proteins including alpha-amylase: Biochemical implications for oral health. *Eur J Oral Sci*; 120:132-9. doi: 10.1111/j.1600-0722.2012.00947.x
43. Goenka P, Sarawgi A, Karun V, Nigam AG, Dutta S, Marwah N. (2013). Camellia sinensis (Tea): implications and role in preventing dental decay. *Phcog Rev*; 7:152-56. doi: 10.4103/0973-7847.120515
44. Vishal A, Lavina T, Ankit S, Swati N. (2016). Anticariogenic Activity of Black Tea - An In vivo Study. *J Clin Diagn Res*; 10(3): ZC74-ZC77. doi: 10.7860/JCDR/2016/16276.7489
45. Kato CG, Gonçalves G de A, Peralta RA, Seixas FAV, de Sá-Nakanishi AB, Bracht L, Comar JF, Bracht A, Peralta RM. (2017). Inhibition of  $\alpha$ -Amylases by Condensed and Hydrolysable Tannins: Focus on Kinetics and Hypoglycemic Actions. *Enzyme. Res*; 5724902. doi: 10.1155/2017/5724902
46. Pallavi SK. (2011). Effect of chlorhexidine on Mutans Streptococci and dental caries. *J Indian Assoc Public Health Dent*; 9(6):678-83. Available online at: [http://www.jiaphd.org/temp/JIndianAssocPublicHealthDent96678-60824\\_165343.pdf](http://www.jiaphd.org/temp/JIndianAssocPublicHealthDent96678-60824_165343.pdf)
47. Patil S, Raunekar V, Laware S. (2015). Comparative in-vitro  $\alpha$ -amylase inhibitory activity of four indigenous antidiabetic plants. *Indo American Journal of Pharm Research*; 5(02):741-746. Available online at: <http://www.ejmanager.com/mnstemp/36/36-1425981174.pdf>

LA

SOLP

SOS

VOS

Sólo la unión  
hace la fuerza

 SOCIEDAD ODONTOLÓGICA  
desde 1925  
SIEMPRE UN PASO ADELANTE