
Evaluación del efecto antioxidante de hojas de *Lepidium peruvianum* Chacón, “MACA”

ANTIOXIDANT EFFECT OF *LEPIDIUM PERUVIANUM* CHACÓN MACA LEAVES

Cuentas, R¹; De la Cruz, L¹; Hernández, G¹; Mateo, I¹; Castañeda, C²; Ibáñez, L³; Ramos, E³.

RESUMEN

La maca crece en los departamentos alto andinos, de la Cordillera de los Andes del Perú, entre 3500 y 4700 m.s.n.m.

Objetivos: Evaluar el efecto antioxidante de las hojas de *Lepidium peruvianum* Chacón, “Maca”.

Materiales y Método: Se utilizaron hojas de maca, molidas, de la zona de Junín, a partir de las cuales se prepararon, por maceración, 3 extractos: 1) en éter etílico (EEE), 2) en agua destilada (EAD) y 3) en alcohol etílico (EAE). Posteriormente fueron filtrados y evaporados en un Rotavapor Laborota 4003, Heidolph. La evaluación del efecto antioxidante, se realizó por el método de DPPH, comparando el coeficiente de inhibición-50 (IC50) con la Vitamina C.

Resultados: La captación de radicales libres (%) a 100 ug/ml fue: EEE=99.63, EAE=94.87, EAD= 99.37, VIT C=, 94.72, a 50 ug/ml: EEE=96.83, EAE=89.93, EAD= 86.57, VIT C= 93.69, a 25ug/ml: EEE= 95.24, EAE=90.84, EAD= 78.02, VIT C=84.63, a 1 ug/ml: EEE=92.31, EAE=94.87, EAD= 35.53, VIT C=84.01. Asimismo, encontramos que el IC-50 (ug/ml) fue: EEE= 63.78, EAE=249, EAD= 75.29, VIT C= 1.76.

Conclusión: Los resultados demuestran la capacidad antioxidante de *Lepidium peruvianum* Chacón, la que podría estar relacionada con la presencia de flavonoides (quercetina) y de antocianinas, entre otros compuestos.

Palabras clave: Hojas de maca, Capacidad antioxidante, Flavonoides, Quercetina, DPPH, IC-50, Vitamina C.

ABSTRACT

Maca grows in the Andean regions of Peru between 3500 and 4700 meters above sea level.

Objectives: To evaluate the antioxidant effect of *Lepidium peruvianum* Chacón, “Maca” leaves

Materials and Method: In the present study, we used ground leaves of maca from the Junín region from where three types of extracts were prepared by maceration: 1) ethyl ether extract (EEE), 2) water extract (EAD) and 3) ethyl alcohol extract (EAE). Evaluation of the antioxidant effect was performed by the DPPH method, comparing the coefficient of inhibition-50 (IC50) with Vitamin C.

Results: Capture of free radicals (%) at 100 ug/ml was: EEE=99.63, EAE=94.87, EAD = 99.37, VIT C =, 94.72, at 50 ug/ml: EEE=96.83, EAE=89.93, EAD = 86.57, VIT C = 93.69, at 25ug/ml: EEE = 95.24, EAE=90.84, EAD = 78.02, VIT C=84.63, at 1 ug/ml: EEE=92.31, EAE=94.87, EAD = 35.53, VIT C=84.01. Also, we found that the IC-50 (ug/ml) was: EEE = 63.78, EAE=249, EAD = 75.29, VIT C = 1.76.

Conclusion: These results demonstrate the antioxidant capacity of *Lepidium peruvianum* Chacón, that could be related to the presence of flavonoids (quercetin) and anthocyanins, among other compounds.

Key words: Maca leaves, Antioxidant Capacity, Flavonoids, Quercetin, DPPH, IC-50, Vitamin C.

1 Alumnos de la Asignatura de Farmacología

2 Director del Instituto de Investigación

3 Profesoras del Instituto de Investigación

INTRODUCCIÓN

Los cultivos andinos de granos, tubérculos, raíces, frutos, plantas aromáticas y medicinales, tienen un enorme potencial de transformación primaria y agroindustrial, a partir de los cuales se pueden obtener productos exclusivos, únicos.⁵ La Maca es una planta nativa, cuyos hipocótilos poseen un alto valor nutricional^{1,2}, tanto como el maíz, el trigo, el arroz, y superior a la papa; entre sus metabolitos primarios mencionaremos: proteínas 10. %, carbohidratos 59 %. Lípidos 2.2 % y 8.5 % de fibra. Entre los ácidos grasos, los más abundantes son el: linolénico, palmítico y oleico; aminoácidos esenciales: leucina, arginina, fenilamina, lisina, glicina, alanina, valina. Isoleucina, ácido glutámico, serina, ácido aspártico y, en menor proporción, histidina, treonina, tirosina, metionina, hidroxiprolina, prolina, sarcosina; además de minerales como: calcio, hierro, Zinc, Potasio, entre otros.^{3,6}

En 1961 se determinó los metabolitos secundarios por primera vez, reportando la presencia de alcaloides, glucósidos, taninos y saponinas⁷. Presentando en mayor cantidad los Glucosinolatos⁸. Isotiocianatos⁹, bencilglucosinolatos (glucotropaeolin)^{3,4,10}, p-metoxibencilglucosinato^{4,8} y m- metoxibencilglucosinato^{10,11}. El Fenilacetónitrilo, un producto de la degradación de bencilglucosinato ha sido también encontrado en la parte aérea de *Lepidium meyenii*¹². Dentro de los esteroides de maca ha presentado β -sitosterol, campesterol y estigmasterol.¹³

La Maca contiene, también, nueve ácidos grasos poliinsaturados llamados macaenos y macamidias (benzylated alkamides)¹³. Estos incluyen tres nuevos compuestos: (i) N-bencil octanamida; (ii) N-bencil-16-hidroxi-9-oxo-10E, 12E, 14E-octadecatrieneamida; y (iii) N-bencil-9,16-dioxo-10E, 12E, 14E-octadeca-trieneamida. Otras macamidias también han sido descritas tales como: (i) N-bencil-5-oxo-6E, 8E-octadecadienamida; (ii) N-bencilhexadecanamida; y (iii) ácido 5-oxo-6E,8E-octadecadienoico. Siendo también reportado la macaridina (1,2-dihidro-N-hidroxipiridina) y cinco nuevos alkamides¹⁴. El porcentaje del total de macaenos y macamidias en las diferentes variedades son de 0.15% a 0.84%¹⁵. El extracto metanólico de maca también contiene (1R, 3S)-1- metiltetrahidro- β -carboline-3-ácido carboxílico.¹¹

Uridin y ácido málico, son otros compuestos presentes en el hipocótilo de maca¹¹. Las Prostaglandinas también han sido reportadas en maca³, flavonoides¹⁶ y antocianinas¹⁷. Entre

los flavonoides encontrados está el flavonol, quercetina¹⁸. Se reportó dos nuevos alcaloides imidazólicos (lepidilina A y lepidilina B) aislados del extracto de hipocótilo de *Lepidium meyenii* identificados como: (i) 1,3-dibencil-4,5-dimetilimidazolium chloride; y (ii) 1,3-dibencil-2,4,5-trimetilimidazolium chloride¹⁹. Otro alcaloide fue el isopteropodin.¹⁸ En la parte aérea de *Lepidium meyenii* se han encontrado 53 componentes, en el aceite esencial, Fenilacetónitrilo (85.9%), benzaldehído (3.1%) y 3-metoxifenilacetónitrilo (2.1%) siendo estos los componentes mayoritarios.¹²

La variedad *Lepidium peruvianum* Chacón, es también conocida como *Lepidium meyenii* Walp «Maca», se cultiva principalmente en las regiones Suni y Puna de los departamentos de Junín y Pasco, entre los 3700 y 4500 m.^{20,22,23} Su raíz constituye la porción comestible de la planta, y la medicina tradicional le atribuye propiedades afrodisíacas, reguladora, inmunoestimulante, energizante y antiartrítica^{21,24}. En plantas medicinales, han sido encontradas varias clases de metabolitos con propiedades antimutagénicas, antioxidantes, anticancerígenas e inmunomoduladoras, sustancias importantes en el tratamiento de varias enfermedades infecciosas, desórdenes inmunológicos y cáncer²⁵.

Se considera que la Maca protege contra el estrés oxidativo²⁶ posee efecto adaptogénico²⁷ es un buen suplemento alimenticio²⁸, energizante, revitalizadora^{11,29,30}, mejora la memoria, la anemia, leucemia, SIDA y cáncer⁴. Eleva el hematocrito³¹. Disminuye la osteoporosis³². La maca demuestra la ausencia de toxicidad.^{12,33,35,36}

Los macrófagos son células importantes en el desarrollo de la inmunidad innata y adaptativa; al ser activados, ya sea por efecto de citocinas pro-inflamatorias o infecciones por diferentes microorganismos, liberan Óxido Nítrico (NO) y otros intermediarios reactivos del oxígeno, responsables de su actividad citotóxica y citostática contra microorganismos infecciosos y células tumorales.³⁷

Se ha reportado efecto antioxidante del extracto acuoso del hipocótilo de maca, evidenciado por su capacidad citoprotectora contra la apoptosis inducida, lo que indicaría que la actividad citotóxica es selectiva y está dirigida contra células tumorales. La actividad antitumoral e inmunomoduladora de los extractos acuoso, metanólico y alcaloides de la maca-ecotipo amarillo, es atribuida a la estimulación de macrófagos (incremento de fagocitosis y producción de NO) y otras células del sistema inmune.

En otros estudios se determinó el efecto antioxidante de extractos del hipocòtilo de la maca de las especies reportadas como *Lepidium peruvianum* y *Lepidium meyenii* presentando, ambos, un buen efecto antioxidante.^{34,38}

En el presente trabajo evaluamos el efecto antioxidante de las hojas de *Lepidium peruvianum* Chacón MACA, aspecto no estudiado a la fecha, a fin de aprovechar este recurso, no apreciado y eliminado por los agricultores y las empresas, y darle un mayor valor agregado.

MATERIALES Y MÉTODO

II.1 MATERIALES

II.1.1 Material Vegetal

Para este estudio se recolectaron las hojas de *Lepidium peruvianum* Chacón, comúnmente llamado “maca”, de la zona de Junín.

CLASIFICACION

Reino: Plantae
Phylum: Angiosperma
Clase: Dicotyledoneae
Subclase: Archichlamydeae
Orden: Papaverales
Familia: Brassicaceae - Crucifera
Género: *Lepidium*
Especie: *Lepidium peruvianum* Chacón



Figura N°1: *Lepidium peruvianum* Ch.

EQUIPOS

- Espectrofotómetro UV 2550 (Shimadzu)
- Rotavapor modelo Laborota 4003 (Heildolph)
- Estufa FANEM
- Vortex – Genie 2
- Balanza analítica Acculab Sartorio Group

MÉTODOS ANALÍTICOS

OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

La muestra de hojas fue recolectada en el mes de noviembre del 2007 por personal del Centro de Medicina Tradicional. Las hojas fueron estabilizadas en una estufa a una temperatura no mayor de 40°C, luego fueron molidas y tamizadas; posteriormente se obtuvieron 3 extractos, utilizando tres solventes (Éter etílico, etanol y agua) y siguiendo la Metodología de Ciulei.^{39,40} Los extractos fueron filtrados y evaporados en un Rotavapor Laborata 4003, Heidolph.

Evaluación del efecto antioxidante

El DPPH es un radical libre y acepta un electrón o un radical hidrógeno para convertirse en una molécula diamagnética estable. Para evaluar la potencia antioxidante mediante el barrido de radicales en las muestras del análisis, se registra la densidad óptica de los radicales DPPH. Por ello, el DPPH se utiliza habitualmente como sustrato para evaluar la actividad antioxidante de las sustancias.⁴¹

La actividad antioxidante o antirradical se midió mediante el descenso en la absorbancia a 517 nm según método de Brand-Williams⁴², modificado por Molyneux⁴³ y Suárez⁴⁴ de una solución metanólica (20mg/L) de 2,2-difenil-1-picril hidrazilo (DPPH) provocado por la muestra los tres extractos (EEE, EAE, EAD). Se preparó una solución de DPPH 2mg en 100 mL de metanol. Se preparó una solución de los extractos solubles en el solvente según prueba de solubilidad, en una concentración de 300 µg/mL, partir de este se prepararon diferentes soluciones dando concentraciones de 1, 10, 25, 50 y 100 µg/mL. El Blanco de muestra se preparó con 0.4 mL de muestra (solución del extracto) y 0.8 mL de metanol. Luego se preparó el patrón de referencia 0.4 mL de metanol y 0.8 mL de sol. DPPH. Se procedió a preparar la muestra con 0.4 mL de solución de los extractos y 0.8mL de DPPH, se dejó por 30min en la oscuridad y se leyó a 517nm, en un espectrofotómetro. Se midió la absorbancia del patrón de referencia y del blanco de la muestra. Como estándar se utilizó el ácido ascórbico.



Figura N°2: Espectrofotómetro UV 2550 y la muestra a analizar.



Figura N°3: De izquierda a derecha:
 Tubo N°1: Extracto Etanólico,
 Tubo N°2: Extracto Eter Etílico
 Tubo N°3: Vitamina C
 Tubo N°4: Extracto Acuoso

Para calcular el efecto antioxidante se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de la Capacidad Antioxidante} = \frac{[1 - (\text{Abs. de la Muestra} - \text{Abs. Blanco muestra})] \times 100}{\text{Abs. DPPH}}$$

Las reacciones se corrieron por triplicado.

La IC₅₀ se calculó en base a la fórmula de la pendiente, como una reducción del 50% en la absorbancia ocasionada por los extractos EEE, EAE y EAD.

RESULTADOS

ANÁLISIS FITOQUÍMICO

Cuadro Nro. 1. Screening Fitoquímico de hojas de *Lepidium peruvianum* Chacón: Extracto en Eter Etílico (EEE), Extracto en Alcohol etílico (EAE) y Extracto en Agua destilada (EAD).

IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS	RESULTADOS			
	EEE	EAE	EAD	TOTAL
GRASAS Y ACEITES	-			-
ALCALOIDES	+	+	+++	++
LACTONAS Y COUMARINAS	-			-
TRITERPENOS Y/O ESTEROIDES	++	+++		+++
CATEQUINAS		+++		+++
RESINAS		+++		+++
AZUCARES REDUCTORES		++	+++	+++
SAPONINAS DE TIPO ESTEROIDAL Y TRITERPENOIDES		-	++	+
FENOLES Y TANINOS		++	+++	+++
AMINOACIDOS LIBRES O AMINAS		+		+
QUINONAS		-		-
FLAVONOIDEOS		-	+	+
ANTOCIANIDINAS		-		-
PRINCIPIOS AMARGOS			++	++
ENSAYO DE MUCILAGOS			+	+

Leyenda: (-) Negativo, (+) Leve, (++) Moderado, (+++) Abundante.

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Los resultados obtenidos de la captación de Radicales Libres (RL) fueron:

Tabla Nº 1: Porcentaje de captación de radicales Libres a 100 ug/mL

Extractos	% de Captación de R. L.
EEE	99.63
EAE	94.87
EAD	99.39
VIT C	94.72

Gráfico Nº 1: Porcentaje de captación de Radicales Libres a 100 ug/mL

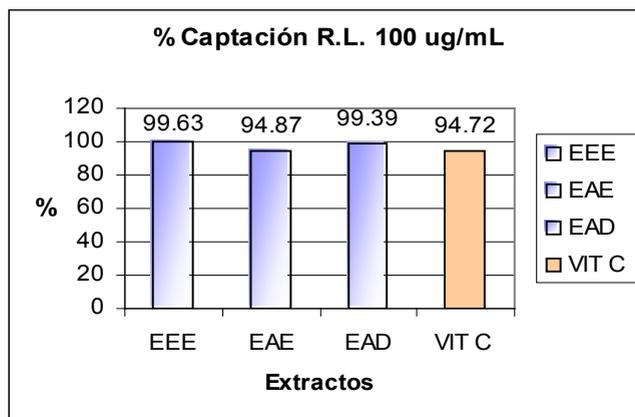


Tabla Nº 2: Porcentaje de captación de radicales Libres a 50 ug/mL

Extractos	% de Captación de R. L.
EEE	96.83
EAE	89.93
EAD	86.57
VIT C	93.96

Gráfico Nº. 2: Porcentaje de captación de radicales Libres a 50 ug/mL

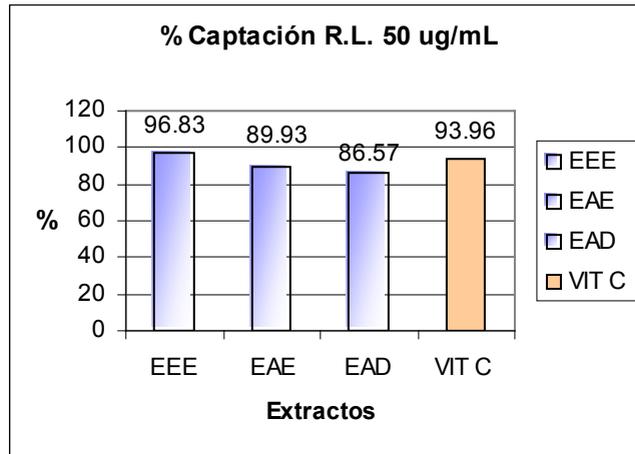
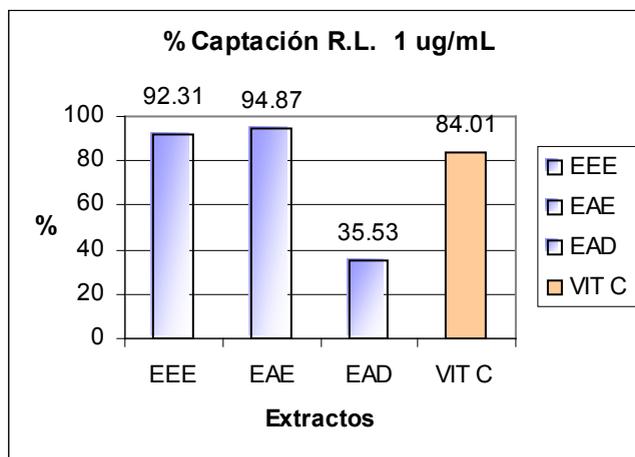


Tabla Nº 3: Porcentaje de captación de radicales Libres a 1 ug/ml

Extractos	% de Captación de R. L.
EEE	92.31
EAE	94.87
EAD	35.53
VIT C	84.01

Gráfico Nº 3: Porcentaje de captación de radicales Libres a 1 ug/mL



Resultados de la IC 50

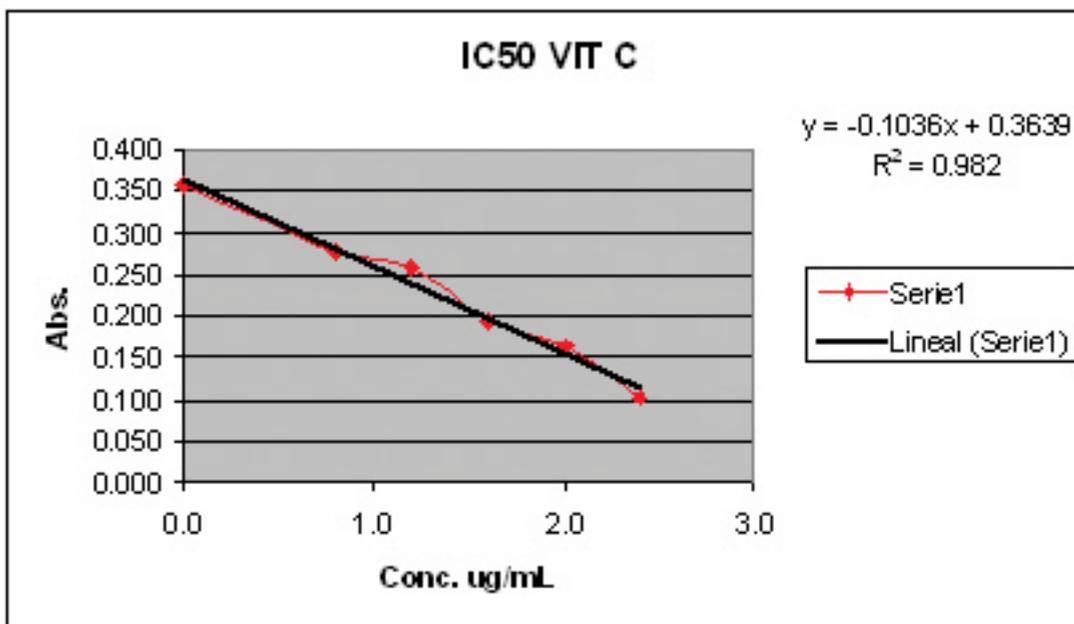
El IC-50 (ug/ml) fue: EEE= 63.78, EAE=249, EAD= 75.29, VIT C= 1.76.

Tabla N° 4: Capacidad Antioxidante mediante la IC 50 (ug/mL) de los extractos EEE, EAE, EAD.

IC 50 (ug/mL)	
IC 50 Vit. C	1.76
IC 50 EEE	63.78
IC 50 EAE	249
IC 50 EAD	75.29

La tabla N° 4 nos muestra que el IC-50 más cercano a la vitamina C es el de EEE con 63.78 ug/mL; y luego le sigue el EAD con 75.29 ug/mL. Acercándose más a la vitamina C el extracto en éter etílico (EEE).

Gráfico N° 4: Capacidad antioxidante IC 50 de Vitamina C (ug/mL)



DISCUSIÓN

En la actualidad, pese a la limitada acción de tratamientos frente a enfermedades que se controlan pero no se curan, la medicina tradicional⁴⁵ está siendo empleada como alternativa para poder encontrar nuevas rutas que den solución a estas enfermedades, que epidemiológicamente van en aumento, por cambios en el estilo de vida, debido al fenómeno de globalización, en todos los aspectos.

Existen diferentes métodos para determinar la actividad antioxidantes in vitro, de las diversas sustancias.⁴⁶ La actividad antioxidante, en los extractos de las hojas maca, fue determinada por el método del DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo) que consiste en determinar la pérdida de la coloración violeta intensa cuando éste es capturado por un atrapador de radicales libres; la absorbancia máxima de este radical se da a 517nm, dicha longitud de onda fue la utilizada en al presente investigación.

Todas las muestras fueron activas al decolorar el DPPH, presentando mayor actividad de captación de radicales libres el extracto de éter etílico de maca con una actividad de 99.63% y de 96.83% a una concentración de 100 y 50 ug/mL respectivamente; siendo el resultado de mayor actividad antioxidante que el que se obtuvo en otro trabajo en el mismo Centro de Investigación realizado con extracto de Camu-Camu en el cual dio una actividad de 99.40% y 98.09% en concentraciones de 100 y 50 ug/mL respectivamente .

Los datos obtenidos mediante el método del test DPPH mostraron que los diferentes extractos de las hojas de maca poseen buenos efectos antioxidantes. Es importante recalcar que la actividad antioxidante es dependiente de la concentración del extracto y del microambiente en el que se encuentra el compuesto, pudiendo interactuar entre sí, produciéndose efectos sinérgicos o inhibitorios.

En comparación con un estudio realizado en Brasil, por Raddi y col.⁴⁷, con distintas plantas, utilizando la quercetina como antioxidante de referencia, la actividad del secuestro de los radicales libres por los extractos, demostró ser dosis dependiente, al igual que lo reportado en el presente trabajo con las hojas de maca. En la concentración de 5 ug/mL, el secuestro de DPPH varió de 59.4% hasta 5.7%. ; a 1 ug/ml de extracto de éter etílico de hojas de maca se obtuvo 92.31 % de actividad antioxidante superando a varias plantas estudiadas en dicho trabajo como *anacardium humile*, *alchornea glandulosa* *alchorena triplinervia*, *byrsonima crassa*, *byrsonima intermedia*, *byrsonima cinera* y *davilla elliptica*.

Sandoval y col 2002 reportaron la actividad antioxidante del hipocótilo de *Lepidium meyenii* mas no las hojas, demostrando la actividad antioxidante de la maca frente a los radicales libres peroxilo producidos durante los estados inflamatorios, maca puede ayudar a mantener un equilibrio entre los oxidantes y los antioxidantes, obteniendo un IC 50 con el DPPH de 610 y 430 ug/mL³⁸. Así mismo Bafna y Mirshra 2005 evaluaron al *Curculigo orchioides* mediante el ensayo del DPPH encontrando un valor de IC 50 105.94 ug/mL en relación a la curcumina de 52.71 ug/mL⁴¹. Nosotros en el análisis de la capacidad antioxidante de hojas de maca obtuvimos un valor de IC50 63.78 ug/mL para el extracto EEE y de IC50 75.29 ug/mL para el EAE cercano al valor de la curcumina y cercano al valor de la vitamina C, dado que cuanto mas menor es el valor de la IC50 mayor es el poder antioxidante⁴³.

Otra investigación realizada también en el hipocótilo de maca, Valentova y col 2006 reportaron una IC50 de 3460 y 710 ug/mL analizados con el método DPPH⁴⁸. Observando así que el extracto en éter etílico (EEE), alcohol etílico (EAE) y el extracto en agua destilada (EAD) de hojas de maca demostró tener una mayor actividad antioxidante que los estudios mencionados.

Fahey y col 2001 demostraron la actividad antioxidante y anticarcinogénica también del hipocótilo, debido a su contenido de isotiocianato⁹. A su vez el alcaloide reportado por Hou 2004 (1R, 3S)-1-metiltetrahydro-β-carboline-3-ácido carboxílico es un constituyente de la maca con acción antioxidante⁴⁹. En nuestra investigación nosotros encontramos en el análisis Fitoquímico positivo a alcaloides en los tres extractos EEE, EAE y EAD de hojas de maca. Estos resultados demuestran la capacidad antioxidante de *Lepidium peruvianum* Chacón la cual podría estar relacionada con la presencia los metabolitos secundarios determinados en el presente estudio mediante el análisis fitoquímico tales como: compuestos fenólicos, flavonoides, catequinas, alcaloides, triterpenos, entre otros compuestos observados en el Cuadro Nro 1. Algunos investigadores han asociado la presencia de metabolitos secundarios con efectos medicinales potenciales. Valentova y col. 2003, sugieren que los alcaloides, esteroides, glucosinolatos, isotiocianatos y las macamidas de maca sean probablemente los responsables de sus características potenciales como la acción sobre la fertilidad, afrodisíaco, adaptógeno, agente estimulante, anabólico y de su influencia en el equilibrio hormonal.^{50,51}

Los resultados observados confirman la actividad antioxidante de las hojas de maca; sin embargo, deben

realizarse trabajos *in vivo* a fin de obtener información acerca de extractos y sustancias que podrían ser de utilidad en el control de enfermedades degenerativas⁵⁰, en cuya fisiopatología juegan un papel importante la actividad de los radicales libres, tales como: cáncer, aterosclerosis, úlceras abdominales e incluso el proceso normal de envejecimiento, etc.^{19,34,52,53}. Gonzales y Valerio 2006 mencionan al *Lepidium meyenii* “maca”, a *Uncaria tomentosa* “uña de gato” y *Croton lechleri* “sangre de dragón” como plantas medicinales nativas usadas como agentes anticancerígenos². Actualmente Maca es reportada en la literatura científica en presentar un bajo grado de toxicidad oral aguda en animales y de baja toxicidad celular *in vitro*.⁵⁴

CONCLUSIONES

1. Se concluye que los estudios *in Vitro*, realizados para evaluar el efecto antioxidante de las hojas de maca, mediante el método del DPPH, son rápidos, económicos y sencillos.
2. El extracto en éter etílico de las hojas de maca, presentó la mayor capacidad antioxidante, con una captación de radicales libres, superior al 90%, seguido del extracto etanólico. La capacidad antioxidante del éter etílico, con una IC50 de 63.78 ug/mL fue el más cercano a la IC50 de la vitamina C, en comparación con el extracto de agua destilada y el extracto en alcohol etílico.
3. Se sugiere realizar otros estudios *in vitro* e *in vivo* que ratifiquen la capacidad antioxidante de las hojas de maca y continuar con un estudio químico que permita el aislamiento e identificación de los metabolitos activos de los extractos trabajados en el presente estudio.

B. Castañeda C.
Instituto de Investigación
Fac. Med. USMP

AGRADECIMIENTOS

A la Mg. Maria Luisa Guevara de Fujita del Laboratorio de Genética y Biología Molecular del Instituto de Investigación de la Facultad de Medicina – USMP

A la Mg. Silvia Suárez C. del Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina – UNMSM.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Quirós C. y Aliaga, R. Maca (*Lepidium meyenii* Walp.). Andean roots and tubers: Ahipa, arracacha, maca and yacon. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 1997. pp. 173-197.
2. Gonzales GF, Valerio LG. Medicinal plants from Peru: a review of plants as potential agents against cancer. *Anticancer Agents Med Chem.* 2006 Sep;6(5):429-44.
3. Dini A, Migliuolo G, Ratrelli L, et al. Chemical composition of *Lepidium meyenii*. *Food Chem* 1994; 49: 347-9
4. Li G, Ammermann U, Quiros CF. Glucosinolate contents in maca (*Lepidium peruvianum* Chacón) seeds, sprouts, mature plants and several derived commercial products. *Econ Bot* 2001; 55: 255-62
5. National Research Council. Lost crops of the Incas: little-known plants of Andes with promise for worldwide cultivation. Washington, DC: The National Academies Press, 1989: 56-65
6. Espinoza CL, Poma IP. Determinación de aminoácidos esenciales de la maca (*Lepidium meyenii* Walp.) y elaboración de una mezcla proteica a base de alimentos andinos. Huancayo (Perú): Facultad de Ingeniería e industria alimentaria, Universidad Nacional del Centro del Perú, 1995.
7. Chacón G. Phytochemical Studies of *Lepidium meyenii* Walp. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 1961.
8. Johns T. The anu and the maca. *J Ethnobiol* 1981; 1: 208-12
9. Fahey JW, Zalcmann AT, Talalay P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry* 2001; 56:5-51
10. Dini I, Tenore GC, Dini A. Glucosinolates from maca (*Lepidium meyenii*). *Biochem Syst Ecol* 2002; 30: 1087-90
11. Piacente S, Carbone V, Plaza A, et al. Investigation of the tuber constituents of maca (*Lepidium meyenii* Walp). *J Agric Food Chem* 2002; 50: 5621-5
12. Tellez MR, Khan IA, Kobaisy M, et al. Composition of the essential oil of *Lepidium meyenii* (Walp.). *Phytochemistry* 2002; 61: 149-55
13. Zheng BL, He K, Kim CH, et al. Effect of a lipidic extract from *Lepidium meyenii* on sexual behavior in mice and rats. *Urology* 2000; 55: 598-602.

14. Zhao J, Muhammad I, Dunbar D, Mustafa J, Khan A. New alkaloids from Maca (*Lepidium meyenii*). J Agric Food Chem. 2005;53: 690-693.
15. Ganzera M, Zhao J, Muhammad I, et al. Chemical profiling and standardization of *Lepidium meyenii* (maca) by reversed phase high performance liquid chromatography. Chem Pharm Bull (Tokyo) 2002 Jul, 50(7): 988-991
16. Illescas, M. Estudio químico y fitoquímico comparativo de tres ecotipos de *Lepidium meyenii* Walp "maca" procedente de Carhuamayo (Junin). Lima Facultad de Farmacia y Bioquímica. Univ. Nac. Mayor de San Marcos, Perú. 1994.
17. Jeri H. Estudio fitoquímico de la maca. Pasco (Perú): Engineering Faculty. Universidad Nacional Daniel Alcides Carrion, 1990
18. Lee K-J, Dabrowski K, Rinchar J, et al. Supplementation of maca (*Lepidium meyenii*) tuber meal in diets improves growth rate and survival of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) alevins and juveniles. Aquac Res 2004; 35: 215-23.
19. Cui B, Zheng BL, He K, et al. Imidazole alkaloids from *Lepidium meyenii*. J Nat. Prod 2003; 66:1101-3.
20. Tello, J., Hermann, M., Calderon, A. La maca (*Lepidium meyenii* WALP): cultivo alimenticio potencial para las zonas altoandinas. Boletín de Lima 1992. No. 81: 59-66.
21. Rea, J. Raíces andinas: Maca. in Cultivos marginados, otra perspectiva de 1492. FAO Roma.1992., Pp. 163-166
22. León, J. The "Maca" (*Lepidium meyenii*), a little known food plant of Peru. Economic Botany 1964. 18(2):122-127.
23. Obregón, L. «Maca» Planta medicinal y nutritiva del Perú. Instituto de Fitoterapia Americano. 1998. 1era edición. Lima -Perú.
24. Bianchi, A. Maca *Lepidium meyenii*. Boletín Latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas. 2003. 2(3):26-44.
25. Punture, K., Wild C. y Vinitketkumneun V. Thai medicinal plants modulate nitric oxide and tumor necrosis factor- α in J774.2 mouse macrophages. J. of Ethnopharmacology 2004. 95:183-189.
26. Tapia A, López C, Marcelo A, et al. The maca (*Lepidium meyenii*) and their effect anti-stress in an animal model in mice. Acta Andina 1999- 2000; 8:45-56.
27. Quispe E, Delgado F, Pino A. Estudio del efecto adaptogénico de *Lepidium peruvianum* Chacón ("maca") en animales de experimentación. En: 2do. Congreso Internacional - II Congreso Peruano de Plantas Medicinales, 2003, Lima - Perú. Libro de Memorias, 2003. pp. 162.
28. Aliaga, R. Guía para el cultivo, aprovechamiento y conservación de la maca *Lepidium meyenii* Walpers. Convenio Andrés Bello. Santa Fe, Colombia. 1999. 50 pp.
29. Willard T. Sowing your wild oats and reaping loves benefits. Total Health 2000;22: 62-3
30. Ahmed AJ. Maca-stimulin libido Redux. Total Health 2003; Suppl. 25: 15-6
31. Castañeda B, Castro de la Mata R, Manrique R, Ibañez L. Efectos metabólicos de *Lepidium meyenii* Walpers, "maca" y *Lupinus mutabilis* Sweet, "Chocho" en ratas. Revista Horizonte Médico 2007 Vol 7 No 1.
32. Vila GR. Evaluación del efecto antioxidante del extracto acuoso de *Lepidium meyenii* walpers ("maca") en el desarrollo de la osteoporosis en ratas. 3er. Congreso Internacional - III Congreso Peruano de Plantas Medicinales, 2007, Lima - Perú. Libro de Memorias, 2007. p. 105
33. Samamé JC, et al. Toxicidad subcrónica de *Lepidium meyenii* W. "maca". II Congreso FITO 2003. Lima. p. 166.
34. Alzamora L., P. Galván, E. Alvarez, D. Torres, E. Colona, M. Aliaga & A. Marcelo. Producción de IFN- γ en cultivos de linfocitos humanos por efecto de los extractos metanólicos de cuatro ecotipos de *Lepidium peruvianum* Chacón (Brassicaceae). 2007a. Rev. peru. biol. Número especial 13(3): 219-221.
35. Marcelo A, Canales M, Aguilar J. Ausencia de toxicidad y Citotoxicidad de *Lepidium meyenii* (Maca). En: 1er. Congreso Internacional - I Congreso Peruano de Plantas Medicinales, 2000, Lima - Perú. Libro de Memorias, 2000. P.165-166.
36. Capcha R, Rojas P, Aguilar J. Toxicidad aguda (DL50) para dos extractos estandarizados de *Uncaria tomentosa* (Willd) DC. Y un extracto de *Lepidium meyenii* (Maca) rico en glucosinolatos. En: 1er. Congreso Internacional - I Congreso Peruano de Plantas Medicinales, 2000, Lima - Perú. Libro de Memorias, 2000. pp.159-160.
37. Tamez, R., C. Rodríguez, P. Tamez, R. Weber, R. Gómez y C. Calderón. Activación de macrófagos y linfocitos in vitro por extractos metanólicos de hojas de *Plantago major*. Ciencia UANL. 2001. Vol. IV, N° 3.
38. Sandoval, M., N. Okuhama, F. Angeles, V. Melchor, L. Candazo, J. Lao y M. Miller. Antioxidant activity of the cruciferous vegetable Maca (*Lepidium meyenii*). Food Chemistry 2002. 79: 207-213.

39. Ciulei, I. Methodology for Analysis of Vegetal Drugs, Ministry of Chemical Industry, Bucharest, Romania. 1982. pp. 1-67.
40. Castañeda B, Manrique R, Ibañez L. Efecto hipoglicemiante y sobre la lipidemia de *Notholaena nivea*, "Cuti-Cuti". Revista Horizonte Médico Junio 2004. pp 9-22
41. Bafna AR, Mishar SH. Actividad antioxidante in Vitro del extracto de metanol de los rizomas de *Curculigo orchoides* Gaerth. Ars Phm 2005; 46(2):125-138
42. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm. Wiss. Technol 1995.22, 25-30.
43. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technol.,2004,26(2):211-219.
44. Suarez S. Arnao I, Ore R. Potencial antioxidante de cinco plantas medicinales peruanas. En: 1er. Congreso Internacional - I Congreso Peruano de Plantas Medicinales, 2000, Lima - Perú. Libro de Memorias, 2000. pp. . 140-142
45. Organización Mundial de la Salud. 56^a Asamblea mundial de la salud. Medicina tradicional. 2003
46. Kuskoski E, et l col. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Cienc. Tecnol. Aliment.,Campinas, 2005. 25(4):726-732,out.-dez.
47. Raddi MSG, Kitagawa RR, Bonacorsi C , Fonseca LM, Vilegas W. Comparación de contenido de antioxidantes de algunas plantas medicinales en Brasil para el tratamiento de trastornos gastrointestinales. En: 3er. Congreso Internacional - III Congreso Peruano de Plantas Medicinales, 2007, Lima - Perú. Libro de Memorias, 2007. pp. 85-87.
48. Valentová K, Buckiová D, Kren V, Peknicová J, Ulrichová J, Simánek V. The in vitro biological activity of *Lepidium meyenii* extracts. Cell Biol Toxicol. 2006 Mar;22(2):91-99.
49. Hou XR, Chen Q, Cao RH, Peng WL & Xu A.L. A comparative molecular field analysis of cytotoxic betacarboline analogs. Acta Pharmacol. 2004. 25:959-965.
50. Valentova K, Ulrichova J. *Smalanthus sonchifolius* and *Lepidium meyenii*: prospective Andean crops for the prevention of chronic diseases. Biomed Pap Med. Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub 2003; 147: 119-30.
51. Vecera R, Orolin J, Skottová N, Kazdová L, Oliyarnik O, Ulrichová J, Simánek V. The influence of maca (*Lepidium meyenii*) on antioxidant status, lipid and glucose metabolism in rat. Plant Foods Hum Nutr. 2007 Jun;62(2):59-63.
52. Lozano C, Julia L, Jiménez A, Touriño S, Centelles M, Torres J. Electrón-transfer capacity of catechin derivatives and influence on the cell cycle and apoptosis in HT29 cells. FEBS Journal 273 (2006) 2475-2486.
53. Paiva S, Russell R. B carotene and other carotenoids as antioxidants. Journal of the American college of nutrition, (1999).Vol 8, Nro. 5, 426-433.
54. Valerio L., Gonzales G. Toxicological aspects of the south american herbs cat's clan (*Uncaria tomentosa*) and maca (*Lepidium meyenii*). Toxicol Rev 2005;24(1):1.