

---

# Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas

EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT CAPACITY OF SEVEN PERUVIAN MEDICINAL PLANTS.

---

Dr. Castañeda C. B.<sup>1</sup>, Q.F. Ramos LL. E.<sup>2</sup>, Dra. Ibáñez V. L.<sup>3</sup>

## RESUMEN

Se evaluó la capacidad antioxidante de veintinueve extractos de las siguientes plantas medicinales: *Cinnamomum zeylanicum* “canela”, *Calophyllum brasiliense* “lagarto caspi”, *Myrciaria dubia* “camu camu”, *Minthostachys mollis* “muña”, *Alchornea castaneifolia* “hiporuro”, *Smalanthus sonchifolius* “yacón”, *Lepidium peruvianum* y *Lepidium meyenii* “maca”, por el método de la decoloración del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Los resultados obtenidos al evaluar la capacidad antioxidante a las concentraciones de 1 ug/mL, 50 ug/mL, 100 ug/mL y 200 ug/mL fueron: canela (Extracto etanólico de la corteza) 97,59% a una concentración de 1 ug/mL, lagarto caspi (E. Metanólico de hojas) 99,76% a 50 ug/mL, camu camu (E. Metanólico del fruto) 98,09% a 50 ug/mL, muña (E. Acuoso de hojas) 92,41% a 50 ug/mL, hiporuro (E. Metanólico de hojas) 100,57% a 100 ug/mL, Lagarto caspi, (E. Acuoso de hojas) 110,56% a 100 ug/mL, *Lepidium peruvianum* (E. Acuoso de hipocótilo) 95,55% a 200 ug/mL y *Lepidium meyenii* (E. Metanólico de hipocótilo) 88,21% a 200 ug/mL, en comparación con el ácido ascórbico (Vitamina C) que presentó una actividad antioxidante en promedio de 92,82%.

## Palabras clave

*Cinnamomum zeylanicum* “canela”, *Calophyllum brasiliense* “lagarto caspi”, *Myrciaria dubia* “camu camu”, *Minthostachys mollis* “muña”, *Alchornea castaneifolia* “hiporuro”, *Smalanthus sonchifolius* “yacón”, *Lepidium peruvianum* y *Lepidium meyenii* “maca”, Capacidad antioxidante, DPPH.

## SUMMARY

We evaluated the antioxidant activity of twenty-nine extracts of the following medicinal plants: *Cinnamomum zeylanicum* “canela”, *Calophyllum brasiliense* “lagarto caspi”, *Myrciaria dubia* “camu camu”, *Minthostachys mollis* “muña”, *Alchornea castaneifolia* “hiporuro”, *Smalanthus sonchifolius* “yacón”, *Lepidium peruvianum* and *Lepidium meyenii* “maca”, by the bleaching method of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

(DPPH) radical. The antioxidant capacity obtained at the concentrations of 1 ug/mL, 50 ug/mL, 100 ug/mL and 200 ug/mL were: canela (ethanolic extract from bark) 97,59% at 1 ug/mL concentration, lagarto caspi (methanolic extract from leaves) 99,76% at 50 ug/mL, camu camu (methanolic extract from the fruit) 98,09% at 50 ug/mL, muña (watery extract from leaves) 92,41% at 50 ug/mL, hiporuro (methanolic extract from leaves) 100,57% at 100 ug/mL, Lagarto caspi (watery extract from leaves) 110,56% at 100 ug/mL, *Lepidium peruvianum* (watery extract from hypocotyl) 95,55% at 200 ug/mL and *Lepidium meyenii* (methanolic extract from hypocotyl) 88,21% at 200 ug/mL, in comparison with ascorbic acid (Vitamin C) that presented an antioxidant activity of 92,82%.

## Key words

*Cinnamomum zeylanicum* “cinnamon”, *Calophyllum brasiliense* “lagarto caspi”, *Myrciaria dubia* “camu camu”, *Minthostachys mollis* “muña”, *Alchornea castaneifolia* “hiporuro”, *Smalanthus sonchifolius* “yacón”, *Lepidium peruvianum* and *Lepidium meyenii* “maca”, Antioxidant capacity, DPPH.

## INTRODUCCIÓN

Numerosos estudios en nutrición humana, demuestran una estrecha correlación entre el consumo de frutas y verduras y la menor incidencia de enfermedades crónicas degenerativas, debido a su bajo contenido en colesterol y a la presencia de vitaminas, fibras, antioxidantes naturales y minerales<sup>35</sup>. Así mismo, el estrés oxidativo ha sido asociado a la patogénesis de muchas enfermedades humanas, como: arterioesclerosis, artritis, demencia, cáncer, etc<sup>48</sup>; es por ello que el uso de antioxidantes, es estudiado de forma intensiva, en farmacología; particularmente, en el tratamiento de accidentes cerebrovasculares y enfermedades neurodegenerativas. Actualmente, se sabe que tanto por causas ambientales (radiación), así como por la ingesta de algún contaminante o incluso como consecuencia de nuestro propio metabolismo, surgen algunas moléculas que nos pueden provocar daño. A estas se les conoce

---

1 Director del Instituto de Investigación de la FMH-USMP.

2 - 3. Integrantes del Centro de Investigación de Medicina Tradicional.

como especies oxígeno reactivas (ROS), que se asocian a enfermedades como cáncer, problemas cardíacos o al natural envejecimiento humano. Entre los problemas que originan figuran: destrucción de paredes celulares, inactivación de enzimas, debilitamiento de la capacidad defensiva, alteración del sistema inmunológico e incluso daño del material genético<sup>36</sup>.

Las tendencias mundiales de la alimentación, en los últimos años, indican un interés acentuado de los consumidores hacia ciertos alimentos que, además de contener nutrientes, contengan sustancias fisiológicamente activas que cumplan, al igual que los nutrientes esenciales, una función beneficiosa en la reducción de ciertas enfermedades. A estos alimentos, se les ha denominado “alimentos funcionales” y se viene realizando la identificación de ciertos principios activos, a fin de evaluar su seguridad y las dosis respectivas a utilizar, estableciéndose, en la mayoría de casos, marcadores analíticos, marcadores farmacológicos; realizándose, además, ensayos clínicos controlados a doble ciego, demostrando sus efectos bioquímicos, fisiológicos, farmacológicos y toxicológicos. El término Alimento Funcional fue propuesto por primera vez en Japón en la década de los 80's con la publicación de la reglamentación para los “Alimentos para uso específico de salud” (“Foods for specified health use” o FOSHU). Aunque el término alimentos funcionales no es una categoría de alimento legalmente reconocida por la Administración de alimentos y Drogas (FDA) de los Estados Unidos; sin embargo, se han dado, recientemente, algunos cambios legislativos acerca de la información que deben contener las etiquetas de los productos relacionados con beneficios funcionales de los alimentos. Las regulaciones de la NLEA (Ley de Etiquetado y Regulación Nutricional) y de la DSHEA (Ley de Suplementos Dietéticos Salud y Educación) se encaminan a preparar el camino legal en que se debe fundamentar el uso de estos productos. La posición oficial de la U.S. Food & Drugs Administration (FDA) es: “Las sustancias específicas de los alimentos pueden favorecer la salud como parte de una dieta variada”<sup>3</sup>.

Es así que, un estudio realizado en China, demostró la eficacia de la administración de un suplemento nutricional con:  $\beta$ -caroteno, vitamina E y Selenio, sobre la mortalidad total y por cáncer (especialmente carcinoma de esófago en una población deficitaria)<sup>7</sup>. Sin embargo, un estudio Finlandés realizado sobre una población de alto riesgo (fumadores excesivos) mostró que el suplemento con dosis elevadas de  $\beta$ -caroteno, aumentaba el riesgo de padecer un carcinoma de pulmón<sup>2</sup>, lo que, de confirmarse, indicaría la importancia de la administración de una dieta diaria con cantidades adecuadas de nutrientes esenciales “naturales” para el mantenimiento de una salud óptima. Estos antioxidantes

naturales se encuentran presentes en, prácticamente, todas las plantas, microorganismos, hongos e incluso en los tejidos animales<sup>59</sup>.

La oxidación de las moléculas biológicas, membranas y tejidos, es inducida por el oxígeno activo y mediada por radicales libres, siendo la causa del aumento de la incidencia de enfermedades degenerativas en los seres humanos. El metabolismo oxidativo, proceso biológico normal, es capaz de generar radicales libres oxigenados, altamente reactivos. Estas especies con oxígenos activos incluyen el radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), el radical óxido nítrico ( $NO\cdot$ ) y el oxígeno singulete ( $^1O_2$ )<sup>35</sup>. Además, la radiación cósmica y la radiación electromagnética de baja longitud de onda (por ejemplo los rayos gama) pueden dividir el agua en el organismo para generar el radical hidroxilo,  $OH\cdot$ . Este radical, débilmente reactivo, una vez producido ataca a cualquiera molécula que esté cerca, siendo su vida media extremadamente pequeña y reaccionando en su punto de formación dejando tras de sí una secuela de reacciones en cadena, de radicales libres en propagación. Asimismo, cierta parte de los superóxidos son producidos por reacciones químicas, en las que muchas moléculas del cuerpo interactúan directamente con el Oxígeno, para producir superóxido. Ejemplos de estas moléculas constituyen las catecolaminas, tetrahidrofolatos y algunos componentes de la cadena mitocondrial y otras cadenas de transporte de electrones. Esta producción de superóxido es inevitable. Además, cierta cantidad de superóxido se produce, deliberadamente, por células como fagocitos activados (neutrófilos, monocitos, macrófagos, eosinófilos) dando lugar a grandes cantidades de superóxido, como parte de los mecanismos de defensa, del organismo, frente a las agresiones de diversa índole, tales como en las inflamaciones crónicas; pudiendo afectar los mecanismos normales de protección. Además, aproximadamente el 1 al 3 % de oxígeno que respiramos es usado para producir superóxido. Como los seres humanos consumimos una gran cantidad de oxígeno, podemos producir más de dos kilos de superóxido cada año; las personas con infecciones crónicas pueden producir más. Otro radical libre fisiológico es el óxido nítrico (NO) que es producido por el endotelio vascular como factor relajante del endotelio vascular (EVRF) y también por los fagocitos y el cerebro. El óxido nítrico, tiene muchas funciones fisiológicas útiles pero un exceso puede ser tóxico<sup>22</sup>.

En nuestro organismo, la producción de los radicales libres que se dan constantemente “in vivo”, ha permitido desarrollar diversos mecanismos de defensa antioxidante, como medios de protección. La enzima superóxido dismutasa remueve el  $O_2^{\cdot-}$  convirtiéndolo en  $H_2O_2$ , el cual es transformado por la enzimas catalasa y Glutación peroxidasa, en agua ( $H_2O$ ).

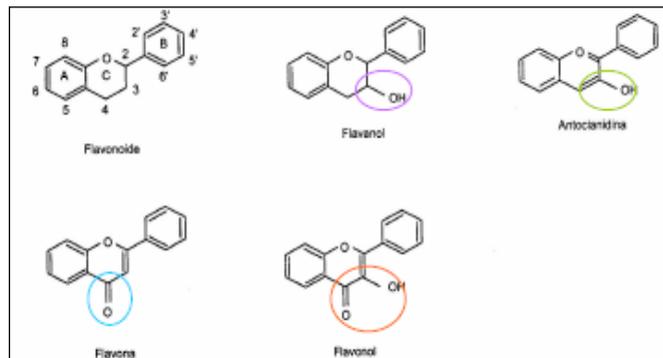
Asimismo, existen moléculas que remueven los radicales libres por reacción directa (no catalítica) tales como: el glutatión reducido, los tocoferoles (vitamina E) y el ácido ascórbico (Vitamina C). Cuando la defensa antioxidante, no es cien por ciento eficiente, incrementa la formación de radicales libres en el organismo; a esto se denomina estrés oxidativo. Se cree que muchos de los efectos colaterales de los medicamentos se relacionan con un aumento en el daño oxidativo, causado por el exceso de radicales libres, los que producirían daño celular. Ante el estrés oxidativo, el organismo debe responder con una defensa antioxidante extra, ya que el estrés oxidativo severo puede causar la muerte de la célula. En las frutas, las legumbres y algunos vegetales se encuentran muchas sustancias capaces de atrapar radicales libres, mejorando nuestra defensa antioxidante, reportándose que son capaces de detener o prevenir el desarrollo de tumores y los efectos bioquímicos asociados con la progresión de los mismos; este potencial se atribuye, principalmente, a sus propiedades antioxidantes. Se reporta que la capacidad antioxidante de una copa de vino es igual a 7 jugos de Naranja ó 20 jugos de Manzana<sup>37</sup>.

En un proceso inflamatorio, el ADN constituye uno de los mayores blancos de los radicales libres, generando mutaciones o pérdidas en el control celular, siendo ésta una de las causas más directas que se investigan en el ámbito de la carcinogénesis inducida por oxidantes. A pesar de la existencia de un sistema de defensas antioxidantes, el ADN sufre, permanentemente, daños por oxidación, razón por la cual es constantemente reparado por las enzimas glicosilasas, específicas para las bases nitrogenadas que han sido modificadas por oxidación (Ames et al., 1993)<sup>18</sup>. Muchos compuestos antiinflamatorios actúan gracias a su actividad antioxidante, existiendo por lo tanto una buena correlación entre ambas actividades (Sreejayan y Rao, 1996)<sup>18</sup>. Durante el proceso de carcinogénesis las células pasan por sucesivos

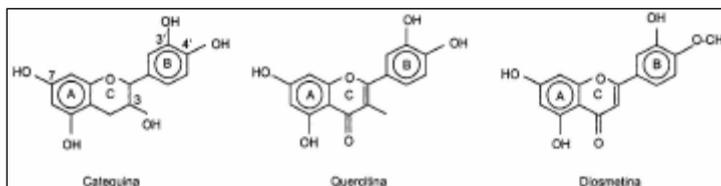
estadios, antes de convertirse en neoplásicas. El primero es conocido como “iniciación” que involucra cambios a nivel genético inducidos por algunos compuestos mutagénicos. Las células pueden mantenerse latentes en este estadio por mucho tiempo. El segundo estadio es la “promoción” donde los agentes promotores inducen la expresión de estas células portadoras de alteraciones genómicas, llevándolas en última instancia a la “transformación” neoplásica. Los radicales libres pueden actuar como agentes agresores del ADN tanto en la etapa de la iniciación como en la promoción tumoral (O'Brien, 1994)<sup>18</sup>. Los antioxidantes pueden ejercer un efecto benéfico en los estadios avanzados del proceso carcinogénico. Estudios basados en el tratamiento de animales, con metástasis pulmonar, con extractos vegetales antioxidantes, demostraron una inhibición en el proceso de neovascularización del tumor, determinándose, además, que los radicales libres participaban directamente en este estadio (Monte et al. 1994)<sup>18</sup>. La neovascularización de los tumores es un proceso muy importante que lleva los vasos sanguíneos hacia el tumor en desarrollo y aporta nutrientes y vías de acceso para su diseminación y metástasis<sup>18</sup>.

Por otro lado, se ha acumulado información sobre la capacidad de algunos componentes de los alimentos para disminuir o prevenir los procesos de oxidación celular (Guanábana, uva, chirimoya, guayaba, semilla del marañón, carambola, plátano verde, noni, ciruela, granadilla, mango, papaya, mamey, naranja, limón, maracuya, zapote, níspero, jagua, entre otros)<sup>35</sup>. Un antioxidante, es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. El sistema antioxidante de defensa está constituido por compuestos de naturaleza enzimática como: superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, y compuestos de naturaleza no enzimática como: vitamina E, Beta-caroteno, vitamina C, Glutatión reducido, albúmina, flavonoides y metales de transición como Se, Cu, Zn, entre otros<sup>13,35, 48,56</sup>.

**Figura 1. Moléculas con actividad antioxidante**  
**a. Flavonoides**



### b. Catequinas y otras



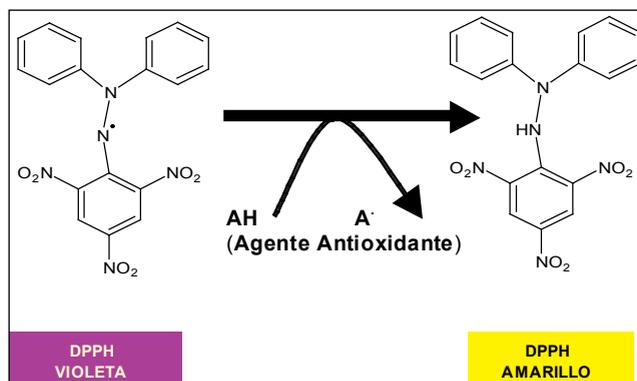
Fuente: Amalia Neira. Centro de Pomáceas – Universidad de Talca-Chile<sup>37</sup>

Algunos de los antioxidantes, son vitaminas (aminas indispensables para la vida, tales como la vitamina A, C y E; otros son Flavonoides (quercetina, catequina), antocianinas, carotenoides o ácidos fenólicos (ácido caféico y ácido clorogénico). Flavonoides como la catequina se encuentran en el vino tinto y manzanas; quercetina en cebollas, uvas y manzanas. El poder antioxidante de algunos compuestos ha sido clasificado de menor a mayor grado de la siguiente forma: vitamina C (=4); B-caroteno (=5); vitamina E (=6); frutas y verduras (=8)<sup>36</sup>.

La vitamina A, es un antioxidante soluble en la grasa que protege a las células contra radicales libre dañinos, además de otros roles vitales en el organismo. Sin embargo, a dosis muy elevadas es potencialmente peligrosa porque puede acumularse en cantidades tóxicas. Por esta razón se debe usar con precaución. En general, los suplementos de β-caroteno, tomados en dosis nutricionales, son una forma segura de obtener la vitamina A. El β-caroteno, es llamado “pro vitamina A” y es transformado en vitamina A en la medida que el organismo lo necesite<sup>19</sup>.

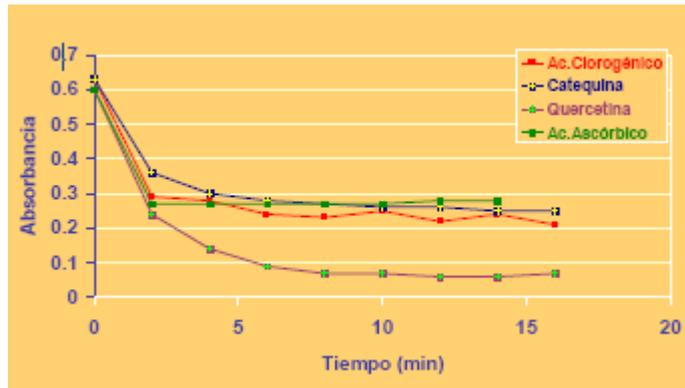
Actualmente, existen diversos métodos para determinar la actividad antioxidante, los cuales se basan en su capacidad para captar radicales libres. Entre ellos se pueden mencionar el uso del 2,2-difenil-1-picril hidrazilo (DPPH), ácido 2,2', azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6- sulfónico (ABTS, test del status antioxidante total), la reacción con el óxido nítrico (test NO), diclorhidrato de N,N-Dimetil-p-fenilendiamina(DMPD), poder antioxidante reductor férrico (Ferric Reducing/antioxidant Power: FRAP), generación de radicales superóxido: a) en leucocitos de rata. b) autooxidación de pirogalol c) sistema hipoxantina/xantina oxidasa, Sistema NADH\_FENAZINA METOSULFATO -O<sub>2</sub> -AZUL DE NITROTETRAZOLIO; generación de radical hidroxilo: Sistema H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Fe + 3 -EDTA ASCORBATO, sistema ácido ascórbico-Hierro EDTA; generacióm del radical peróxido de Hidrógeno: Sistema NADH -Microsomias hepáticas, sistema ABAP/Lisozima; generacióm del ácido hipocloroso (HOCl): Sistema Na OCl/ H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, entre otros<sup>17,18,28,40</sup>. A continuación se muestran, en las Figuras 3 y 4, valores de absorbancia vs tiempo para diferentes compuestos antioxidantes (ácido clorogénico, catequina, quercetina y ácido ascórbico), además de una curva de calibración por el método del DPPH.

Figura 2. Método del 2, 2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)



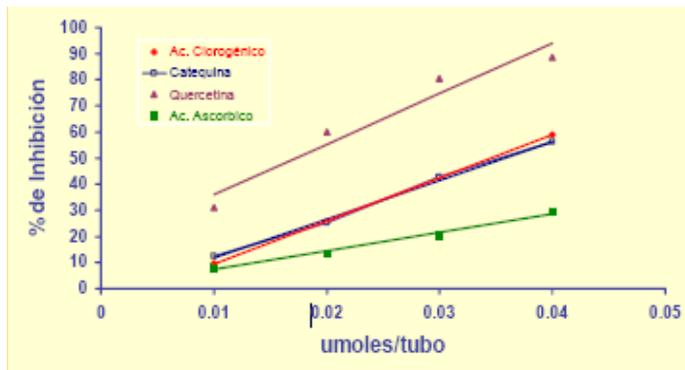
Fuente: Molyneux. J. Sci. Technol.,2004 <sup>(31)</sup>

**Figura 3. Absorbancia vs Tiempo 0.04 uM/ tubo, de principios activos (P.A.) con actividad antioxidante**



Fuente: Amalia Neyra. Centro de Pomáceas – Universidad de Talca- Chile <sup>(37)</sup>

**Figura 4. CURVAS DE CALIBRACIÓN DE P.A. ANTIOXIDANTES POR DPPH**



Fuente: Amalia Neyra. Centro de Pomáceas – Universidad de Talca- Chile <sup>(37)</sup>

Un punto de interés, en la investigación de productos naturales, es la búsqueda de ensayos capaces de guiar al investigador en la purificación y el fraccionamiento del extracto vegetal en estudio, por lo que se prefiere usar sistemas *in vitro* para analizar la actividad farmacológica de los extractos vegetales, ya que los resultados de las pruebas, se obtienen en forma más rápida y económica que las pruebas *in vivo*. Además, estas pruebas siempre deben ser previas a la investigación preclínica y clínica.

Por ello el objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antioxidante *in vitro* de nueve extractos de plantas medicinales peruanas e introducidas, a través del ensayo de la decoloración del radical DPPH.

## MATERIALES Y MÉTODO

### Materiales

Se ha empleado ácido ascórbico (A61) de FISHER, DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo, D9132-1) de Sigma-Aldrich. Metanol, Etanol, Diclorometano, Agua destilada. Las plantas medicinales fueron proporcionadas por diversas Instituciones (Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana (IIAP) de Iquitos, Instituto Rural Valle Grande de Cañete, Empresa Peruvian Heritage, KOKEN, AMAZON y otras).

Las muestras fueron estabilizadas, molidas y tamizadas, procediéndose, luego, a macerar por un período de una semana con solventes tales como etanol, metanol, diclorometano y agua. Los diferentes extractos se prepararon a las concentraciones de 5, 10 y 20 % p/v.

En el caso de los extractos acuosos, éstos fueron obtenidos por cocimiento por espacio de 10 minutos después de la primera ebullición; posteriormente se filtró cada extracto y se obtuvo una solución y un marco. Las soluciones se concentraron hasta la total eliminación de los solventes, utilizando un Rotavapor modelo Laborota 4003 (Heildolph), obteniéndose diferentes residuos secos. Los extractos secos, fueron estandarizados teniendo en cuenta el porcentaje de sólidos totales p/v, utilizando para ello una balanza analítica Acculab Sartorius Group. El registro de los espectros de absorción y las medidas de absorbancia, se llevó a cabo en un Espectrofotómetro Shimadzu UV 2550.

### Determinación de la Actividad antioxidante por el método DPPH

El Fundamento del método desarrollado por Brand-Willams et al<sup>8</sup> DPPH, consiste en que este radical tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por reacción con una sustancia antioxidante; la absorbancia es medida espectrofotométricamente a 517 nm. La diferencia de absorbancias, permite obtener el porcentaje de captación de radicales libres<sup>12,15</sup>.

### Procedimiento

1. Preparamos 100 ml de una solución de DPPH (2,2-difenil-1-picril hidrazilo) en metanol de 20 mg/L.
2. Luego se preparó una solución metanólica de los extractos en una concentración de 300 ug/ml (Solución A) y de 600 ug/mL (Solución D)
3. El Blanco se preparó con metanol agua 2:1 para ajustar el espectrofotómetro a cero.

Figura N° 5. Plantas peruanas nativas e introducidas evaluadas



4. El Blanco de muestra se preparó con 0.75 mL de muestra (solución A) y 1.5 mL de metanol.
5. Se preparó el patrón de referencia con 1.5 mL de DPPH y 0.75 mL de agua.
6. Luego se procedió a preparar la muestra con 0.75 mL de solución A y 1.5 mL de DPPH, obteniéndose una concentración final de 100 ug/mL, dejándose x 5 min. Y se leyó a 517 nm en un espectrofotómetro.
7. Se midió la absorbancia del patrón de referencia y del blanco de la muestra.
8. Luego se diluyó la solución A con metanol en una proporción 1:2 (solución B) para obtener una concentración final de 50 ug/mL, y en una proporción de 1:10 (solución C) para obtener una concentración final de 1 ug/mL.
9. Con las soluciones B, C y D se procedió igual a los puntos 6 y 7.

Los extractos fueron evaluados por triplicado, a diferentes concentraciones de 1, 25, 50, 100 y 200 ug/mL, utilizando como fármaco control, vitamina C.

Posteriormente, con los valores de las absorbancias obtenidas se determinó el % de captación de radicales libres (DPPH) mediante la siguiente formula:

$$\text{Capacidad Antioxidante} = \left[ 1 - \frac{(A2 - A3)}{A1} \right] \times 100$$

**% Captación de Radical Libre**

Donde:

A1= Absorbancia del patrón de referencia

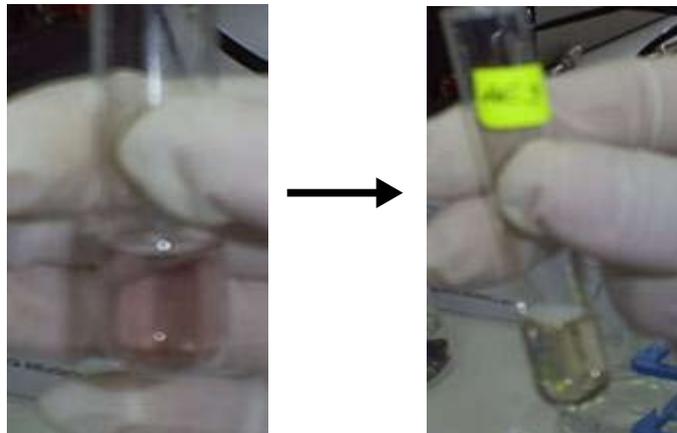
A2= Absorbancia de la muestra

A3= Absorbancia del blanco de muestra

Figura 6. Preparación de soluciones antioxidantes



Figura 7. Cambio de coloración del DPPH.



**Figura 8. Medición de absorbancias de las soluciones en el Espectrofotómetro**



**RESULTADOS**

En la Tabla No 1 y Figura No. 9 consignamos la capacidad antioxidante, medida por el porcentaje de captación de radicales libres, para las diferentes plantas estudiadas, a las concentraciones de 1 ug/mL, 50 ug/mL, 100 ug/mL y 200 ug/mL. Asimismo, en la Tabla 1.1, se puede observar la capacidad antioxidante de la Vitamina C utilizado como fármaco control a diferentes concentraciones.

**Tabla 1. Capacidad Antioxidante por el método del DPPH**

MUESTRA	Extracto	% CAPTACION DE RADICAL LIBRE (R.L.)
VITAMINA C (Control ) (Acido Ascórbico)	-----	92,82
Canela, corteza ( <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ) 10%	Etanol	97.59 <sup>a</sup>
Lagarto, hoja ( <i>Calophyllum brasiliense</i> ) 20%	Metanol	99.76 <sup>b</sup>
Camu- camu, fruto ( <i>Myrciaria dubia</i> ) 10%	Metanol	98.09 <sup>b</sup>
Muña, hoja ( <i>Minthostachys mollis</i> ) 10%	Acuoso	92.41 <sup>b</sup>
Hiporuro, hoja ( <i>Alchornea castaneifolia</i> ) 10%	Metanol	75.96 <sup>b</sup>
Lagarto, hoja ( <i>Calophyllum brasiliense</i> ) 10%	Acuoso	110.56 <sup>c</sup>
Yacón, hoja ( <i>Smallanthus sonchifolius</i> ) 10%	Etanol	103.19 <sup>d</sup>
MACA KOKEN, hipocótilo ( <i>Lepidium peruvianum</i> ) 10%	Acuoso	95.55 <sup>d</sup>
MACA AMAZON, hipocótilo ( <i>Lepidium meyenii</i> ) 10%	Metanol	88.21 <sup>d</sup>

<sup>a</sup> 1 ug/mL,

<sup>b</sup> 50 ug/mL

<sup>c</sup> 100 ug/ mL

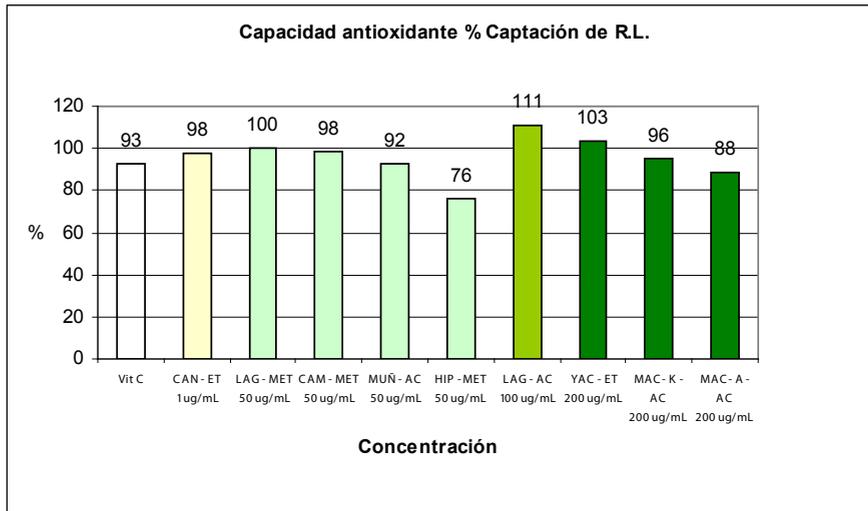
<sup>d</sup> 200 ug/ mL

**Tabla 1.1 Capacidad Antioxidante del ácido ascórbico (Vitamina C) por el método del DPPH**

**Concentración de Vitamina C**

	1 ug/mL	25 ug/mL	50 ug/mL	100 ug/mL	200 ug/mL
% Captación R.L.	85.05	89.56	94.08	97.27	98.14

**Figura 9. Capacidad antioxidante de plantas medicinales nativas e introducidas. Porcentaje de Captación de Radical Libre DPPH**



En las tablas 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8 se aprecian los resultados obtenidos en la evaluación de la capacidad antioxidante de canela, lagarto, camu-camu, hiporuro, yacón, muña y maca respectivamente, a través del porcentaje de captación de radicales libres por los diferentes extractos.

**Tabla 2. Capacidad Antioxidante de la corteza de *Cinnamomum zeylanicum* "canela"**

Extractos	% CAPTACION DE R. L.		
	1 ug/mL	50 ug/mL	100 ug/mL
Acuoso 10%	80,57	96,55	97,24
Etanol 10%	<b>97,59</b>	97,82	<b>98,39</b>
Metanol 10%	90,11	<b>98,74</b>	70,34
DCM 10%	73,79	69,77	77,34

**Tabla 3. Capacidad Antioxidante de las Hojas *Calophyllum brasiliense* "lagarto"**

Extractos	% CAPTACION DE R. L.		
	1 ug/mL	50 ug/mL	100 ug/mL
Acuoso 10%	57,18	95,73	<b>110,56</b>
Etanol 20%	67,14	97,75	99,53
Metanol 20 %	<b>68,80</b>	<b>99,76</b>	99,17
DCM 20 %	n.s.t.	53,26	60,74

**Tabla 4. Capacidad Antioxidante del Fruto**  
*Myrciaria dubia* "camu camu"

Extractos	% CAPTACION DE R. L.		
	1 ug/mL	50 ug/mL	100 ug/mL
Acuoso 5%	41,58	87,69	86,98
Etanol 10%	<b>66,07</b>	96,18	93,19
Metanol 10%	53,76	<b>98,09</b>	<b>99,40</b>
DCM 10%	42,17	49,22	85,19

**Tabla 5. Capacidad Antioxidante de las Hojas de**  
*Alchornea castaneifolia* "hiporuro"

Extractos	% CAPTACION DE R. L.		
	1 ug/mL	50 ug/mL	100 ug/mL
Acuoso 10%	21,28	45,89	95,32
Etanol 10%	14,61	44,18	98,44
Metanol 10%	28,09	<b>75,96</b>	<b>100,57</b>
DCM 10%	7,66	26,52	41,35

**Tabla 6. Capacidad Antioxidante de las**  
**Hojas de *Smallathus sonchifoilus* "yacón"**

Extractos	% CAPTACION DE R. L.	
	100 ug/mL	200 ug/mL
Acuoso 10%	42,86	99,20
Etanol 10%	21,21	<b>103,19</b>
Metanol 10%	10,16	101,59
DCM 10%	3,24	75,03

**Tabla 7. Capacidad Antioxidante de las Hojas**  
*Minthostachys mollis* "muña"

	% CAPTACION DE R. L.				
	1 ug/mL	25 ug/mL	50 ug/mL	100 ug/mL	200 ug/mL
Extractos					
Acuoso 10%	59,85	61,59	92,41	<b>94,72</b>	84,81

**Tabla 8. Capacidad Antioxidante del hipocótilo de *Lepidium meyenii* (Amazon) y *Lepidium peruvianum* (Koken) "maca"**

	% CAPTACION DE R. L.					
	MACA AMAZON (A)			MACA KOKEN (K)		
	50 ug/mL	100 ug/mL	200 ug/mL	50 ug/mL	100 ug/mL	200 ug/mL
Extractos						
Acuoso 10%	15,89	55,71	72,14	<b>70,04</b>	<b>87,65</b>	<b>95,55</b>
Etanol 10%	40,71	<b>67,32</b>	78,39	68,02	60,32	72,06
Metanol 10%	51,43	63,93	<b>88,21</b>	59,51	61,34	65,18
DCM 10%	25,54	37,32	81,61	57,49	66,40	65,38

En la Tabla N° 8, se observa los resultados obtenidos para dos muestras de harina de maca de 2 Empresas (KOKEN y AMAZON), observándose que el extracto acuoso de *Lepidium peruvianum* "maca" presentó una mayor capacidad antioxidante, 87.65 % a la concentración de 100 ug/mL y de 95,55 % a 200 ug/mL; sin embargo, se observó también que el extracto metanólico de *Lepidium meyenii* presentó una capacidad antioxidante de 88.21 % frente a 65.38 % de *Lepidium peruvianum* a 200 ug/mL. Estas diferencias podrían estar influenciadas por el proceso de obtención de la harina y por procesos edáficos de temperatura, clima, humedad, entre otros, que podrían intervenir en la presencia o ausencia de diversos metabolitos y/o sustancias activas.

## DISCUSIÓN

Si bien es cierto que existen diferentes métodos para evaluar la actividad antioxidante, ya sea *in vitro* o *in vivo*, los métodos *in vitro* nos permiten tener una idea aproximada de lo que ocurre en situaciones complejas, *in vivo*. Los métodos más utilizados son ABTS y DPPH. Ambos métodos, presentan una excelente estabilidad en ciertas condiciones aunque también muestran diferencias. El DPPH es un radical libre que puede obtenerse directamente sin una preparación

previa mientras que el ABTS tienen que ser generados tras una reacción que puede ser química (dióxido de manganeso, persulfato potásico, ABAP), enzimática (peroxidasa, mioglobulina) o también electroquímica. Con el ABTS se puede medir la actividad de compuestos hidrofílicos y lipofílicos<sup>27</sup>, lo que los hace de gran utilidad en el estudio simultáneo de varias plantas.

Al utilizar el Método del DPPH, observamos que el extracto acuoso de la corteza de *Cinnamomum zeylanicum* "canela" al 10% p/v presentó una gran capacidad antioxidante de 80.57, 96.55 y 97.24% a las concentraciones de 1, 50 y 100 ug/mL, respectivamente; para el extracto etanólico, se observaron valores de 97.59, 97.82 y 98.39 a las concentraciones de 1, 50 y 100 ug/mL; para el extracto metanólico de 90.11, 98.74 y 70.34% a 1, 50 y 100 ug/mL respectivamente; para el diclorometánico fue de 73.79 y 77.34% a 1 y 100 ug/mL, considerándose en todos los casos los valores por encima de 70%. De lo anteriormente referido, podemos observar que los extractos etanólico y metanólico de canela a 1 ug/mL superaron al control positivo, ácido ascórbico (vitamina C) que presentó a 1 ug/mL 85.05%-(Tabla 2). Jayaprakasha, reporta constituyentes químicos del fruto de canela tales como: 3,4-dihydroxybenzoic acid (protocatechuic acid),

epicatechin-(2beta-->O-7,4beta-->8)-epicatechin-(4beta-->8)-epicatechin (cinnamtannin B-1), 4-[2,3-dihydro-3-(hydroxymethyl)-5-(3-hydroxypropyl)-7-(methoxy)benzofuranyl]-2-methoxyphenyl beta-d-glucopyranoside (urolignoside), quercetin-3-O-(6-O-alpha-l-rhamnopyranosyl)-beta-d-glucopyranoside (rutin), and quercetin-3-O-alpha-l-rhamnopyranoside, los cuales presentaron actividad antioxidante (DPPH), lo cual nos podría indicar que posiblemente estos principios activos, presentes en la corteza de la canela, explicarían el excelente efecto antioxidante referido en el presente trabajo. Así mismo, en estudios anteriores como los de Amara y col., y Huaman y col., demostraron, también, la capacidad antibacteriana, antitumoral y antiviral del extracto metanólico de la corteza, sobre el HIV-2 (SIDA)<sup>4,23,25</sup>.

Para el extracto de hojas de *Calophyllum brasiliense* “lagarto caspi”, procedente de Iquitos, observamos que el extracto acuoso presentó mayor capacidad antioxidante, igual a 110.56% a 100 ug/mL, superando al ácido ascórbico que presentó 97.27%. Con respecto al extracto metanólico a 50 ug/mL, observamos una actividad antioxidante igual a 99.76% en comparación con el ácido ascórbico de 94.28%. (Tabla 3), no habiéndose encontrado, a la fecha, reporte alguno sobre esta propiedad antioxidante para esta especie. Said et al. reporta, para el aceite de *Calophyllum inophyllum*, propiedades antioxidantes y citoprotectoras mencionando que actuaría como un filtro UV, natural, en preparaciones oftálmicas. Yasunaka y col. reportaron la actividad antibacteriana del extracto crudo de *Calophyllum brasiliense*. Huerta-Reyes y col. reportaron la actividad antiviral (HIV-1 RT) del extracto hexánico de esta especie procedente de México, con una IC 50 = 29.6 ug/mL y una EC50 = 92.5 ug/mL sobre MT2 cells. Así mismo Ibáñez ha reportado también actividades antibacterianas, antiinflamatorias, antitumorales y antivirales de esta especie procedente de Satipo y Pucallpa – Perú<sup>24,41,57</sup>.

Los resultados obtenidos para *Myrciaria dubia* “camu camu” se presentan en la Tabla 4, observándose que el extracto acuoso al 5% p/v, evaluado a 100 ug/mL, presentó una capacidad antioxidante de 87.69%, en tanto que el extracto que el extracto etanólico al 10%, presentó una actividad de 96.18% a 50 ug/mL. Así mismo, el extracto metanólico al 10% presentó una capacidad antioxidante de 98.09% y 99.40% a las concentraciones de 50 y 100 ug/mL, respectivamente. El extracto diclorometánico al 10% p/v, presentó una actividad antioxidante de 85.19% a 100 ug/ml, en comparación al ácido ascórbico que presentó 97.27%, lo cual podría deberse a componentes o principios

activos con actividad antioxidante que deberían ser aislados e identificados. Muñoz y col. reporta para un extracto etanólico al 60% una capacidad antioxidante de 289.29 como valor ARP, VCEAC 805.63 mgAAE/100 g y un TEAC de 110.52 umol/g. Dib, Justi y col reportan la presencia de vitamina C igual a 2.4-3.0/100 g en la pulpa. Así mismo Zanatta reporta la presencia de muchas antocianinas, Cyanidin-3-glucoside y delphinidin-3-glucoside<sup>20,26,34,58</sup>

Para el extracto acuoso al 10% p/v, de las hojas de *Minthostachys mollis* “muña”, los resultados obtenidos fueron: 92.41 y 94.72% a 50 y 100 ug/mL y de 94.08 y 97.27% para la vitamina C (Tablas N° 7 y 1.1). Suárez y col. evaluaron mediante el método DPPH a *Minthostachys seton*, conocida también como muña, encontrando un porcentaje de captación de radicales libres igual a 92.51% a 50 ug/mL, datos muy similares a los encontrados en el presente estudio para *Minthostachys mollis*. Vera y col. reportaron una actividad antioxidante para *Minthostachys mollis* por el método ABTS reportando un TEAC (mM trolox) de 0.876, así como su actividad anticancerígena sobre líneas celulares encontrando una correlación con la actividad antioxidante<sup>47,54,55</sup>.

Para los extractos de hojas de *Alchornea castaneifolia* “hiporuro” al 10% p/v (Tabla 5), se observó un poder antioxidante de 95.32% para el extracto acuoso, 98.44% para el etanólico, 100.47% para el metanólico y 41.35% para el extracto diclorometánico a 100 ug/mL. Así mismo Rivas y col, reportan efectos analgésicos del extracto metabólico; Castañeda y col. reportaron actividad citotóxica del extracto metanólico así como actividad antitumoral y anti VIH-1, aislando Canferol y fitol<sup>10,11,39</sup>.

Las hojas de *Smalanthus sonchifolius* “yacón”, procedentes del Instituto de Valle Grande, mostraron (Tabla 6) una capacidad antioxidante de 99.20% (extracto acuoso al 10%), 103.19% (extracto etanólico), 101.59% (extracto metanólico), 75.03% (extracto diclorometánico) a 200 ug/mL. Muñoz y col. reporta una capacidad antioxidante del fruto de yacón, de 5.34 como valor ARP, VCEAC 15.66 mg AAE/100 g, y un TEAC de 2.22 umol/g. Valentova y col reportaron la actividad antioxidante por DPPH de dos fracciones (SOX y OF9) de extracto de hojas de yacón, procedente de Ecuador, cultivada en la Republica Checa, las cuales presentaron un IC 50 = 16.1 ± 3.4 ug/mL y 24.3 ± 2.7 ug/mL y por Xanthine/XOD mostraron valores de 42.0 ± 20.3 y 34 ± 11.4 SOD equivalentes U/mg; asimismo, la presencia de protocatechuic (2.5 y 0.12 mg/g), ácido clorogénico (9.9 y 1.7 mg/g), cafeico (14.7 y 0.09 mg/g)

ferulic(trazas). Alfaro y col evaluaron y reportaron sus efectos hipoglicemiantes, tanto del tubérculo como de las hojas, y ensayos clínicos de fase II<sup>1,34,49</sup>.

Los extractos acuosos al 10% p/v, de la harina obtenida a partir del hipocótilo de “maca” (Tabla 8), identificada respectivamente como *Lepidium peruvianum* y *Lepidium meyenii* fueron: *Lepidium peruvianum* de 70.04, 87.65 y 99.55 % a 50, 100 y 200 ug/mL respectivamente, *Lepidium meyenii* presentó 72.14% a 200 ug/mL. El extracto Etanólico de *Lepidium peruvianum* y *Lepidium meyenii* al 10% presentó 72.06 y 78.39 % respectivamente. Para el extracto metanólico de *Lepidium meyenii* se observó una capacidad antioxidante de 88.21% y para el extracto diclorometánico de 81.61% a 200 ug/mL. Zhao y col. reportan la presencia de alcaloides N-benzyl-9-oxo-12Z-octadecenamide, N-benzyl-9-oxo-12Z,15Z-octadecadienamide, N-benzyl-13-oxo-9E, 11E-octadecadienamide, N-benzyl-15Z-tetracosenamide y N-(m-methoxybenzyl) hexadecanamide. También Marcus y col. reportaron la presencia de macamidas y macaneos así como ácido lonoleico y linoléico en *Lepidium meyenii*. Castañeda y col. reportaron los efectos metabólicos de esta planta sobre carbohidratos, lípidos y proteínas observando un aumento del Hematocrito y la Hemoglobina a los quince días de tratamiento con maca<sup>9,42,61</sup>.

Kuskoski y col<sup>27</sup>, realizaron la medición de la absorbancia del radical DPPH a los 30 minutos; sin embargo, considerando que los radicales libres tienen vida media corta, en el presente estudio se midió la absorbancia a los 5 minutos, en concordancia con los trabajos de Lebeau et al, 2000, quienes trabajaron a partir de los 5 minutos y Schwarz et al 2001, a los 10 minutos. Asimismo, Neyra al evaluar la capacidad antioxidante de la manzana, consideró un tiempo de incubación de 8 minutos dado que en la evaluación antioxidante de un compuesto, no sólo reviste importancia la estructura química y la concentración, sino también el tipo de productos de reacción, formados. Los resultados se expresan en porcentaje, observándose una relación directa en la mayoría de los casos entre la concentración y la capacidad antioxidante de las plantas en estudio, tal como se muestra en las Tablas<sup>27,30,43</sup>.

Kuskoski et al (2004)<sup>28</sup>, como Muñoz et al (2007)<sup>34</sup>, mencionan que la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos obtenida por el método DPPH y ABTS se correlaciona con el contenido de compuestos fenólicos totales, siendo muy elevada para el camu camu, resultado similar al obtenido por nosotros, recomendando así el consumo de estos frutos en una alimentación saludable

para mejorar la calidad de vida<sup>28,34</sup>.

En otros estudios de determinación de la actividad antioxidante, de *Salvia arantocensis* y *Bidens reptans*, se concluye que, en general, los resultados obtenidos convierten a estas plantas en especies promisorias para el aislamiento de principios activos (compuestos fenólicos) con actividad antioxidante<sup>51</sup>.

Los antioxidantes naturales, alfa y gama-tocoferol, extractos de romero y el flavonoide quercetina, son potentes inhibidores de la oxidación del colesterol, evitando así su transformación en oxisteroles que se forman durante la manufactura y procesamiento de alimentos. Algunos de estos antioxidantes, presentes en las diferentes plantas estudiadas, contrarrestan los efectos de los oxisteroles que son citotóxicos, mutagénicos, aterogénicos, carcinogénicos y que están presentes en los alimentos preparados mediante fritura con aceites vegetales y/o animales<sup>50</sup>.

Asimismo, se ha demostrado una disminución en la incidencia de enfermedades cardiovasculares con suplementos individuales de antioxidantes, por lo cual consideramos, de acuerdo a los resultados obtenidos, que canela, lagarto caspi, camu camu, muña, hiporuro, yacón y maca, podrían ser incorporados en la dieta diaria en la medida que se demuestre fehacientemente la calidad, la seguridad y la eficacia a una determinada dosificación, fomentando de esta manera una alimentación saludable con antioxidantes naturales y no sintéticos<sup>2</sup>.

Los niveles de vitaminas, antioxidantes y minerales en la dieta, son necesarios para la buena salud, sin embargo, hay considerables dudas sobre si los “suplementos antioxidantes” no naturales, son beneficiosos, y en caso afirmativo, qué antioxidantes lo son y en qué cantidades. Así por ejemplo, la toxicidad asociada con elevadas dosis de antioxidantes solubles en agua tales como la vitamina C es poco común, ya que estos compuestos pueden ser excretados rápidamente a través de la orina; pero los antioxidantes no polares, como el eugenol presente en el aceite de clavo de olor, presenta cierta toxicidad que tiene que ser tomada en cuenta antes de su uso. Los polifenoles, constituyen uno de los compuestos más representativos de las plantas y sus frutas. En años recientes, se ha incrementado el número de publicaciones reportando la composición química de ciertos flavonoides y de sus propiedades farmacológicas: antibacterianas, antivirales, antiinflamatorias, antialérgicas, antitrombótica, vasodilatadora, antimutagénica y antineoplásica, por su capacidad, en la dieta, para proteger o inhibir el desarrollo del cáncer<sup>32,56</sup>.

## CONCLUSIONES

Los diferentes extractos de las plantas estudiadas, presentaron una buena actividad antioxidante, siendo el extracto etanólico de canela, el que presentó una mayor capacidad de captación de radicales libres, seguido por el extracto metanólico de lagarto caspi, camu camu, extracto acuoso de muña y extracto metanólico de hiporuro.

Es recomendable seguir realizando estudios adicionales por medio de otros métodos y otras técnicas de aislamiento e identificación estructural de los principios activos presentes en estos extractos polares, semipolares y apolares, estudiados en el presente trabajo, que han presentado una gran capacidad antioxidante.

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

## AGRADECIMIENTO

Expresamos nuestro reconocimiento y agradecimiento al apoyo brindado por los alumnos del Curso de Farmacología del Semestre 2007 II quienes participaron directamente en la ejecución de cada uno de los proyectos, al Sr. Mar Hein de Peruvian Heritage quién nos proporcionó la muestra de Camu-Camu, al Dr. Ciro Castillo de Koken del Perú quien nos proporcionó la muestra de *Lepidium peruvianum* Ch, al Ing Santos Jaimes quien realizó las gestiones para que obtuviéramos muestras de *Lepidium meyenii* de Amazon, a la Magíster. Elsa Rengifo del IIAP por las muestras de Hiporuro y Lagarto Caspi, al Ing Marco Arenas por la muestra de Yacón del Instituto de Valle Grande de Cañete y a la Mg. María Luisa Guevara de Fujita quien nos proporcionó las facilidades de algunos materiales del Laboratorio de Genética y Biología Molecular.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alfaro C, Ugarte K, Belsuzarri I. Efecto normoglicémico del tubérculo y la hoja del yacón (*Smallanthus sonchifolius*) en pacientes diabético tipo 2. *Revista Horizonte Médico* 2006. 6 (1).
2. Alpha-tocopherol. Beta-carotene Cancer Prevention Study Group (ATBC). The effect of vitamin E and Beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. *N Engl J Med* 1994;330:1029-1035.
3. Alvidres-Morales A, Gonzalez-Martinez B, Jimenez Salas Z, Tendencias en la producción de alimentos: alimentos funcionales. 2002. Vol.3 No. 3 Julio- Setiembre.
4. Amara AA, El-Masry MH, Bogdady HH. Plant crude extracts could be the solution: extracts showing antitumorigenic activity. *Pak J Pharm Sci.* 2008 Apr; 21(2):159-71.
5. Aubad P, Rojano B, Lobo T. Actividad antioxidante en musgos. *Scientia Et Technica*, 2007, año XIII, No. 33. pp. 23-26.
6. Bafna AR, Mishar SH. Actividad antioxidante in Vitro del extracto de metanol de los rizomas de *Curculigo orchoides* Gaerth. *Ars Phrm* 2005; 46(2):125-138
7. Blot WJ, Li J-Y, Taylor PhR et al. Nutrition intervention trials in Linxian, China: supplementation with specific vitamin/mineral combinations, cancer incidence, and disease-specific mortality in the general population. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85:1483-1492.
8. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol* 22, 25-30, 1995.
9. 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.
10. Castañeda B, Castro de la Mata R, Manrique R, Paredes M, Ibañez L. Evaluación de la acción citotóxica y embriotóxica del extracto metanólico de *Alchornea castaneifolia* "Hiporuro". *Revista Horizonte Médico.* 2006. Vol. 6 No 1.
11. Castañeda B, Navarrete J, Ibañez L. Actividad antitumoral y anti VIH-1 de la *Alchornea castaneifolia* "Hiporuro". *Cultura* 21 Año XXV 2007. No 21.
12. Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición (CIBN). Primer Curso Nacional Antioxidantes Fitoterapéuticos. Facultad de Medicina. UNMSM. Marzo 2006.
13. Céspedes T, Sánchez D. Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo; el estado antioxidante y la terapia

- de suplementación. Instituto de Cardiología y Cirugía cardiovascular, Enero 2000. Habana-Cuba.
14. Chang A, Klinar S, Jaime S. Evaluación de la actividad antioxidante de *Polimnia sonchifolia* "yacón".
  15. Chávez J, Chire T, Loaysa L. Curso Principios bioactivos de plantas andinas y amazónicas del Perú. Capacidad antioxidante de compuestos bioactivos. Facultad de Ciencias, Departamento de Química. UNALM 2002.
  16. Cui B, Lin B, He K, Yi Q. Imidazole Alkaloids from *Lepidium meyenii*. J Nat. Prod
  17. CYTED. Manual de Técnicas de Investigación 1995.
  18. Desmarchelier CJ, de Moraes Barros SB. Pharmacological activity of South American plants: effects on spontaneous in vivo lipid peroxidation. *Phytother Res.* 2003 Jan;17(1):80-2.
  19. Díaz Llopis M, Palomares P, Amselem L, Romero J, García-Delpech S. Arch Soc Esp Oftalmol. 2007 Jul;82(7):397-8; author reply 398-400.
  20. Dib CM, de Menezes HC, Santos AB, Grosso CR. Study of microencapsulation of camu-camu (*Myrciaria dubia*) juice. *J. Microencapsul.* 2003. 20(4):443-8.
  21. Gazera M, Zhao J, Muhammad I, Khan A. Chemical profiling and standardization of *Lepidium meyenii* (Maca) by Reversed Phase high performance liquid chromatography. *Chem. Pharm. (2002).* Bull 50(7)988-991.
  22. Halliwell B. Radicales libre, antioxidantes y enfermedad humana. *The Lancet* 1995 Vol 26, No 2.
  23. Huaman S, Hurtado H, Kong V, Leon C, Leon D, Lister P, et al. Estudio toxicológico y teratogénico del extracto metanólico de *Cinnamomum zeylanicum* (canela). *Revista Horizonte Medico.* 2003. Vol 3 No 1 y 2.
  24. Ibáñez L, Efecto antitumoral, anti-VIH y elucidación estructural de las hojas y corteza de *Calophyllum brasiliense* de Satipo y Pucallpa. *Rev. Acad. Peru Salud* 14(1), 2007:90-95. ISSN: 1990-6595
  25. Jayaprakasha GK, Ohnishi-Kameyama M, Ono H, Yoshida M, Jaganmohan R. Phenolic constituents in fruits of *Cinnamomum zeylanicum* antioxidant activity. *J Agric Food Chem.* 2006 Mar 8;54 (5):1672-9.
  26. Justi KC, Visentainer JV, Evelazio de Souza N, Matsushita M. Nutritional composition and vitamin C stability in stored camu-camu (*Myrciaria dubia*) pulp. *Arch Latinoam Nutr.* 2000. 50(4):405-8.
  27. Kuskoski E, Asuero A, Troncoso A, Manzini-Filho J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 2005. 25(4):726-732.
  28. Kuskoski E. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. *Rev. Bras. Cienc. Tecnol.* Aliment., Campinas, vol 24, n 4, 691-693, 2004
  29. Larson R. Naturally occurring antioxidants. CRC Press LLC pág. 116.
  30. Lebeau J, Furman, C, Bernier JL, Duriez P, Teissier E. Cotelle Antioxidants proprieties of di-ter-butylhydroxylated flavonoids, *Free radic. Biol. Med.* 2000., 29(9):900-912.
  31. 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.
  32. Montoro P, Tuberoso C, Piacente S, Perrone A, De Feo V, Cabras P et al. Stability and antioxidant activity of polyphenoles in extracts of *Myrtus communis* L. Berries used for the preparation of myrtle liqueur. *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 41(2006)1614-1619.
  33. Motomura Y, Neira A y Yuri J. Daño por sol. POMÁCEAS, Boletín Técnico editado por el Centro de Pomáceas de la Universidad de Talca. Vol. 8 Nro. 1
  34. Muñoz AM, Ramos-Escudero F, Alvarado-Ortiz C, Castañeda B. Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. *Rev Soc Quim Perú* 2007. 73 No 3 (142-149).
  35. Murillo E. Actividad antioxidante de bebidas de frutas y de Té comercializadas en Costa Rica. Universidad de Panama/Instituto de Alimentación y Nutrición (IANUT) 2002.
  36. Neira A, Yuri J. El valor nutritivo de la Fruta. Boletín Técnico. POMACEAS. Universidad de Talca. 2004, Vol 4. No 4.
  37. Neira A. Manzana y su valor nutritivo. Centro de Pomaceas – Universidad de Talca.
  38. Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD et al. Effects of a combination of Beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease (CARET Study) *N Engl J Med* 1996; 334:1150-1155.
  39. Rivas E, Lengua L, Liu H, Salazar A, Román L, Salvador I, et al. Estudio de la actividad analgésica de extractos metanólicos de *Maytenus krukovii* (chuchuhuasi), *Alchornea castaneifolia* (hiporuro), *Sambucus nigra* (sauco) y *Aristeguieta discolor* (pulmonaria) en ratones frente al ibuprofeno. *Revista Nuevo Horizonte.* Junio 2005.
  40. Robards K. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry* 1999; 66:401-436.
  41. Said T, Dutot M, Martin C, Beaudeau JL, Boucher C, Enee E, Baudouin C, Warnet JM, Rat P Cytoprotective

- effect against UV-induced DNA damage and oxidative stress: role of new biological UV filter. *Eur J Pharm Sci.* 2007 Mar;30(3-4):203-10.
42. Sandoval M, Okuhama N, Angeles F, Melchor V, Condezo L, Lao J, Millar M. Antioxidant activity of the cruciferous vegetable Maca (*Lepidium meyenii*). *Food Chemistry* 2002.
43. Schwarz, K, Bertelsen G, Nissen L, Gardner P, Heinonen M, Hopia, A et al. Investigación of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. Comparison of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds. *Eur. Food Res. Technol.* 2001, 212: 319-328.
44. Stampher M. Vit. E consumption and the risk of coronary disease in woman. *N Engl J Med* 1993;328.
45. Stampher M. Vit. E consumption and the risk of coronary disease in woman. *N Engl J Med* 1993;328.
46. Stella R, Kitagawa R, Bonarcosi C, Fonseca L, Wagner V. Comparación del contenido antioxidante relativo de algunas plantas medicinales brasileñas para el tratamiento de desórdenes gastrointestinales. Tercer Congreso Internacional de Plantas Medicinales. FITO 2007. Pág. 85-87.
47. Suarez S. Arnao I, Ore R. Potencial antioxidante de cinco plantas medicinales peruanas. I Congreso Peruano de Plantas Medicinales.
48. Troncoso, Guija, Quiroz. Capacidad antioxidante del chimichurri y sus componentes. Segundo Congreso Internacional FITO 2003.
49. Valentova K, Cvak L, Muck A, Ulrichova J, Simanek V. Antioxidant activity of extracts from the leaves of *Smalanthus sonchifolius*. *Eur. J. Nutr* (2003) 42:61-66
50. Valenzuela A, Sanhueza j, Nieto S. Productos oxidados del colesterol en alimentos: riesgos potenciales para la salud y papel preventivo de los antioxidantes, Grasas y aceites. Vol. 55 fasc. 3 (2004), 312-320.
51. Vásquez A, Cala M, Miranda I, Tafurt G, Martinez J, Stashenko E. Actividad antioxidante y contenido total de fenoles de los extractos etanólicos de *Salvia arantocensis*, *Salvia sochensis*, *Bidens reptons* y *Montanoa ovalifolia*. *Scientia Et Técnica*, Año XIII, No 33, Mayo de 2007.
52. Vásquez C, Galán P, Preziosi P, et al. Estudio SUVIMAX (Francia): El papel de los antioxidantes en la prevención del cáncer y la enfermedad cardiovascular. *Rev. Esp. Salud Pública* No. 3 Mayo Junio 1998: 72: 173-183.
53. 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.
54. Vera C, Arenas C, Navas J, Remsberg C, Davies N, Yañez J. Actividad Antioxidante del extracto Etanólico de "Runamayupa" y su correlación con la actividad anticancerígeno. Tercer Congreso Internacional de Plantas Medicinales. FITO 2007. Pág 39-44.
55. Vera C, Medina V, Miranda N, Remsberg C, Navas J, Arenas C. Ensayo preliminar de la actividad biológica In Vitro de los extractos metanólicos de Muña, Helecho, Chinchilcuma, Senecio, Espina de perro y corteza de sauce. Tercer Congreso Internacional de Plantas Medicinales. FITO 2007. Pág. 48-53
56. Wikipedia. Antioxidantes. <http://es.wikipedia.org/wiki/antioxidante>.
57. Yasunaka K, Abe F, Nagayama A, Okabe H, Lozada-Pérez L, Villafranco E, et al. Antibacterial activity of crude extracts from Mexican medicinal plants and purified coumarins and xanthonenes. *J Ethnopharmacol.* 2005 Feb 28;97(2):293-9. Epub 2005 Jan 12.
58. Zanatta CF, Cuevas E, Bobbio FO, Winterhalter P, Mercadante AZ. Determination of anthocyanins from camu-camu (*Myrciaria dubia*) by HPLC-PDA, HPLC-MS, and NMR. *J Agric Food Chem.* 2005 Nov 30;53(24):9531-5.
59. Zapata L, Gerard L, Davies C, Schwab M. Estudio de los componentes y actividad antioxidante en tomate. *Ciencia, Docencia y Tecnología* 2007. Año XVIII No 35 (173-193).
60. Zavaleta J, Muñoz A, Blanco T, Alvarado-Ortiz C, Loja B. Capacidad Antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. *Revista Horizonte Médico.* 2005, 2(5):29-38.
61. Zhao J, Muhammad I, Dunbar D, Mustafa J, Khan A. New alkamides from Maca (*Lepidium meyenii*). *J Agric Food Chem.* 2005,53. 690-693.