

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**ESTUDO GALENICO DE FORMAS PLÁSTICAS (GEL E CREME) DO EX-
TRATO BRUTO DE “Maca”, *Lepidium peruvianum* CHACON sp. nov.**

AUTOR: LUIS F LENS SARDÓN

RECIFE / 2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

AUTOR: LUIS F LENS SARDÓN

**ESTUDO GALENICO DE FORMAS PLÁSTICAS (GEL E CREME) DO EX-
TRATO BRUTO DE Maca, *Lepidium peruvianum* CHACON sp. nov.**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação Em
Ciências Farmacêuticas, como requisito à obtenção do grau
acadêmico de Mestre em Ciências Farmacêuticas.**

Orientadora: Prof^a Dra. Jane Sheila Higino

Co-orientadora: Prof^a Dra. Ivone A. Souza

RECIFE / 2012

Catálogo na Publicação (CIP)

Bibliote-
Mônica
CRB4-

cária:
Uchôa,
1010

L567e Lens, Luis F Sardón.

Estudo galênico de formas plásticas (gel e creme) do extrato bruto de maca, *Lepidium peruvianum* CHACON sp. nov. / Luis F Lens Sardón. – Recife: O autor, 2012.

70 folhas: il. ; 30 cm.

Orientador: Dr^a. Jane Sheila Higinó.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2012.

Inclui bibliografia, apêndices e anexos.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA PARA ASSUNTOS DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS



Recife, 09 de março de 2012.

Defesa de Dissertação de Mestrado de Luis F Lens Sardón defendida e APROVADA, por decisão unânime, em 09 de março de 2012 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

PRESIDENTE E PRIMEIRA EXAMINADORA INTERNA: Prof.ª Dr.ª Jane Sheila Higino
(Deptº de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

Assinatura: _____

SEGUNDA EXAMINADORA INTERNA: Prof.ª Dr.ª Elba Lúcia Cavalcanti Amorim.
(Deptº de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

Assinatura: _____

EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. Arquímedes Fernandes Monteiro de Melo
(Deptº de Pesquisa e Extensão da Universidade de Pernambuco - UPE).

Assinatura: _____

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Reitor

Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

Vice-Reitor

Silvio Romero de Barros Marques

Pró-Reitor para Assuntos de Pesquisa e Pós-Graduação

Francisco de Sousa Ramos

Diretor do Centro de Ciências da Saúde

Nicodemos Teles de Pontes Filho

Vice-Diretor do Centro de Ciências da Saúde

Vânia Pinheiro Ramos

Chefe do Departamento de Ciências Farmacêuticas

Dalcy José Brondani

Vice-Chefe do Departamento de Ciências Farmacêuticas

Antônio Rodolfo de Faria

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Nereide Stela Santos Magalhães

Vice-Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Ana Cristina Lima Leite

“Gracias a la vida... que me ha dado tanto
Me ha dado la marcha de mis pies cansados
Con ellos anduve ciudades y charcos
Playas y desiertos montanas y llanos ”
Violeta Parra

SUMÁRIO

SUMARIO.....	1
Lista de Figuras.....	4
Lista de Quadros e Tabelas.....	4
Lista de Abreviaturas	5
Resumo.....	6
Abstract.....	7
1. Introdução.....	8
2. Objetivos.....	11
3. Revisão da Literatura.....	12
3.1 Considerações gerais.....	14
3.1.1 Da Planta.....	14
3.1.2 Taxonomia.....	14
3.1.3 Habitat.....	19
3.1.4 Historia.....	21
4. Constituintes Químicos.....	22
4.1 Metabólitos Secundários.....	24
4.1.1 Alcaloides.....	26
4.1.2 Esteróis.....	27
4.1.3 β - Carbolina.....	28

4.1.4	Macaeno e Macamidas.....	29
4.1.5	Glicosinolatos.....	30
5	Atividades biológicas da Maca.....	32
5.1	Efeito Fotoprotetor.....	32
5.2	Ações Energética e Tolerância ao Estresse.....	33
5.3	Melhora a Fertilidade.....	33
5.4	Melhora do desempenho sexual (Aumento da Libido).....	35
5.5	Ação Quimioprotetora e Antiproliferativa.....	35
5.6	Ação Antimenopausica - Osteoporose.....	36
6	Toxicologia.....	37
7	Parte Experimental	38
	Artigo I: Avaliação da toxicidade aguda da Maca <i>Lepidium peruvianum</i> Chacon (Brassicaceae)	38
7.1	Estudos Toxicológicos.....	39
	Artigo II: Determinação da Atividade Antimicrobiana do Extrato bruto seco da farinha de <i>L. peruvianum</i> CHACON	48
7.2	Estudos Microbiológicos.....	49
8	Estudos Galênicos.....	54
8.1	Introdução.....	54
8.2	Materiais.....	55
8.3	Metodologia.....	56
	8.3.1. Obtenção do Extrato Bruto Seco de <i>Lepidium peruvianum</i> CHACON.....	

8.3.2. Gel Tópico a Base do Extrato de <i>Lepidium peruvianum</i> CHACON.....	56
8.3.3 Creme Tópico a Base do Extrato de <i>Lepidium peruvianum</i>	58
8.3.4 Técnica Preparatória do Creme Dermatológico.....	59
8.4. Resultados e discussão.....	64
8.5. Conclusões.....	65
9 Conclusões Gerais.....	66
10 Perspectivas.....	67
11 Referências.....	68

LISTA DE FIGURAS

Fig. 01 – <i>Lepidium peruvianum</i> CHACON	12
Fig. 02 – <i>Lepidium peruvianum</i> CHACON	13

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 – Habitat de espécies andinas conhecidas do gênero <i>Lepidium</i>	19
Quadro 2. Constituintes da maca	23
Figura 3 Alcaloides da maca	26
Figura 4 Fitoesteróis da maca	27
Figura 5 β -Carbolina	28
Figura 6 Macaeno e Macamidas	29
Figura 7 Estrutura geral dos Glicosinolatos	30

LISTA DE ABREVIATURAS

v/v.....	Volume por Volume
CMI.....	Concentração Mínima Inibitória
NCIB.....	Coleção Nacional de Bactérias Industriais
i.p.....	Intraperitoneal
v.o.....	Via Oral
D ₁	Maior Dose que não Mata nenhum dos animais do lote
D ₂	Menor Dose capaz de Matar a todos os animais do lote

EHL..... Equilíbrio Hidrófilo/Lipofílico

O/A..... Óleo em Água

A/O..... Água em Óleo

UVA..... Ultravioleta-A

UVB..... Ultravioleta-B

UVC..... Ultravioleta-C

WALP..... Walpers.

sp. nov. Especie nova

RESUMO

As infecções do trato genital são a causa mais frequente de consulta ginecológica (50-70 % das queixas). Acredita-se que todas as mulheres sexualmente ativas já tiveram pelo menos um episódio de vaginose bacteriana e/ou vulvovaginite. O aumento da resistência das bactérias aos antibióticos convencionais tem estimulado intensos esforços para desenvolver novos agentes antimicrobianos eficazes contra essas bactérias e fungos. O objetivo deste estudo é realizar a produção de formas farmacêuticas plásticas de ação tópica dermatológica e vaginal a partir do extrato seco do hipocotiledon, de *Lepidium peruvianum* CHACON sp. Nov. = *Lepidium meyenii* WALP., popularmente conhecida como MACA; esta é uma planta herbácea, bienal ou anual; distribuída basicamente nos Andes Centrais do Peru, em altitudes que vão de 3.500 até 4.500 metros acima do nível do mar. Inicialmente foi feita a identificação botânica e a obtenção de extrato aquoso. Foi realizada a pesquisa de toxicidade da planta; através do teste de toxicidade aguda em camundongos com o extrato bruto, realizado por via intraperitoneal e via oral, a toxicidade foi testada até uma dose de 4.500 mg/kg; e posteriormente foi verificada a ação frente a fungos e bactérias patógenas, comprovando se a ação sobre fungos. Ensaio farmacotécnicos revelaram que o extrato se incorpora perfeitamente nas formulações escolhidas. A determinação das características físico-químicas dos produtos acabados mostrou que a manipulação não altera qualitativa nem quantitativamente o extrato. Estudos preliminares indicam que as perspectivas de sua utilização nas Indústrias, Cosmética e de Medicamentos são ótimas, pois a utilização destas novas formulações leva a uma diminuição do uso de métodos convencionais, que não raro acarretam ações indesejáveis ao organismo humano.

Palavras chave: maca, *Lepidium peruvianum*, formas plásticas, antifúngica.

ABSTRACT

Fungal infections, such as the lower genital tract are the most frequent cause of gynecological (50-70% of complaints). It is believed that all sexually active women have had at least one episode of bacterial and / or fungal vaginosis. Increasing resistance to conventional antibiotics has stimulated intense efforts to develop new antimicrobial agents effective against these bacteria and fungi. The objective of this study is the production of plastic pharmaceutical forms of action and vaginal topical dermatological from hipocotiledon dry extract of *Lepidium peruvianum* Chacon sp. Nov. = *Lepidium meyenii* WALP., popularly known as maca, this is a herbaceous, biennial or annual, distributed primarily in the Central Andes of Peru, at altitudes ranging from 3.500 to 4.500 meters above sea level. Initially, we made the botanical identification and obtaining aqueous extract. Thereafter a search was made toxicity of the plant, through an acute toxicity test in mice with crude extract, made by intraperitoneal and oral toxicity was tested to a dose of 4500 mg / kg and subsequently was found to action against pathogenic fungi and bacteria, confirming that the action of fungi. Tests revealed that the extract pharmacotechnical embodies - perfectly in dosage topical gel and cream (skin or vaginal). Determination of physico-chemical characteristics of the finished product showed that manipulation did not change the qualitative or quantitative extract. Preliminary studies indicate that the prospects for their use in Industry, Drug and Cosmetics are great, because the use of these new formulations leads to a decreased use of conventional methods, which often cause undesirable actions on the human body.

Keywords: maca, *Lepidium peruvianum*, plastic forms, antifungal.

INTRODUÇÃO



1. INTRODUÇÃO

Doenças causadas por fungos passaram a receber maior atenção no século passado, principalmente nas duas décadas finais, com o advento da AIDS que predispõe os pacientes a várias infecções microbianas. Entre os fungos responsáveis por doenças em indivíduos imunodeprimidos, e nos aparentemente saudáveis, encontramos as espécies do gênero *Candida*.

Candidíase ou candidose é uma micose causada por leveduras do gênero *Candida*, o principal agente das Candidíase é a *C. albicans*. A maioria dos estudos mostra que esta espécie constitui 60% dos isolados de amostras clínicas (L. S. BARBEDO, 2010). Uma vez que esta levedura faz parte da microbiota humana, ela é considerada uma micose oportunista. A candidíase é uma micose de importância em saúde pública, considerada também como uma doença sexualmente transmissível DST., podendo causar ampla gama de danos. As espécies mais frequentemente achadas nas Candidíase são: *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. lusitaniae*, *C. viswanathii*, *C. famata*, dentre outras.

Espécies de *Candida* residem como comensais, fazendo parte da microbiota normal dos indivíduos saudáveis. Geralmente, havendo uma quebra no balanço normal da microbiota ou quando o sistema imune do hospedeiro encontra-se comprometido, as espécies do gênero *Cândida* tendem a tornar-se patogênicas. Quanto à origem, pode ser endógena, quando oriunda da microbiota; ou exógena, como nas DST. (L. S. BARBEDO, 2010).

Lepidium meyenii WALP. = *Lepidium peruvianum* CHACON sp. Nov. popular e comercialmente conhecida como “MACA” é uma planta da família Brassicaceae cultivada nos Andes centrais do Peru, em altitudes superiores a 4.000 metros acima do nível do mar, o cultivo e sua utilização como alimento são datados em 2.000 anos a. C (COBO, 1956), (ROSTOROWSKI, 1978), esta utilização milenar indica que a planta possui uma toxicidade baixa ou nula.

Formas plásticas são preparações consistentes e pegajosas de aparência translúcida ou opaca, destinadas à aplicação na pele ou mucosas. As indicações dependem do grau de absorção percutâneo, na aplicação tópica epidérmica destacam-se as ações emoliente, antimicrobiana, desodorizante, protetora etc.

Nos estudos galênicos, foram desenvolvidos produtos plásticos tópicos incluindo a gel e o creme, que pela sua natureza físico-química permitem uma fácil assimilação com grande absorção. O extrato de farinha de maca mostrou duas características importantes, ser bastante hidrofílico e de rápida absorção, características que permitem uma incorporação adequada para essas formas (gel, creme).

A ação antifúngica do extrato de *Lepidium peruvianum* CHACON sp. Nov., comprovada em testes microbiológicos, aparentemente determinada pela presença dos alcaloides imidazólicos e ao sinergismo com outros metabólitos da planta.

2. OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

- Desenvolver formas farmacêuticas plásticas tópicas (géis e cremes) a partir do extrato bruto seco da farinha do hipocotiledon de *Lepidium peruvianum* CHACON sp. Nov. = *Lepidium meyenii* WALP.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato seco da farinha do hipocotiledon de *Lepidium peruvianum* CHACON = *Lepidium meyenii* WALP.
- Realizar avaliação toxicológica, para determinação da dose terapêutica das preparações;
- Desenvolver estudos Farmacotécnicos com desenvolvimento de formulações ideais para a incorporação do extrato seco de *Lepidium peruvianum* CHACON.

REVISÃO DA LITERATURA



3. REVISÃO DA LITERATURA



Fig. 01 – *Lepidium peruvianum* CHACON

FONTE: DR GLORIA CHACON, 1998.

3.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE *Lepidium meyenii* WALP. = *Lepidium peruvianum* CHACON sp. Nov. (BRASSICACEAE)

3.1.1 DA PLANTA



Fig. 02 – *Lepidium peruvianum* CHACON

FONTE: DR GLORIA CHACON (1961)

3.1.2 TAXONOMIA

- **Divisão:** Magnoliophyta
 - **Classe:** Magnoliopsida ou Dicotiledonea
 - **Subclasse:** Dilleniidae
 - **Ordem:** Capparales
 - **Familia:** Brassicaceae ou Crucífera
 - **Tribu:** Lepidieae
 - **Especie:**

Lepidium meyenii WALP. = *Lepidium peruvianum* CHACON sp. nov.

(Germplasm Resources Information Network, GRIN-1990)

- **Nome comum:** Maca
- **Nome em Quéchuá:** Maca, Maka.
- **Nome em Aymará:** Ayak Chichira
- **Nomes Populares:** Maca, Maka, Ginseng Peruano.

Lepidium peruvianum CHACON sp. nov. é uma planta herbácea da família das Brassicaceae (fig. 01 e fig. 02), encontrada na região dos Andes centrais no Peru, a Maca cresce entre 3.500 e 4.450m. acima do nível do mar, é uma planta autó-gama, cleistógama, com uma fase reprodutiva de cinco meses e com uma floração de dois meses, de comportamento bienal e anual quando cultivada (LEON 1964).

Espécie octoploide com $2n=8x=64$ cromossomas (QUIROS et al. 1997), de meiose normal, com seus cromossomas associando-se de forma predominante ambivalente. Este tipo de associação indica que a Maca é um poliploide disômico. O poliploidismo é um evento comum entre as espécies da tribo das Lepideaceae (DARLINGTON e JANAKI AMMAL, 1945).

BULBO:

Órgão subterrâneo muito carnoso formado pela parte inferior do hipocotiledon e da raiz (LEON 1964; TELLO. 1992). Estas partes da planta engrossam durante o crescimento, formando um bulbo de forma globosa arredondada, naviforme muito parecido ao rabanete. Chamaremos a este órgão hipocótilo, o mesmo que é o produto da Maca. Com tamanhos de 3-6 cm. de diâmetro transversal e de 4-7 cm. longitudinal, parecido ao rabanete (cone invertido). Tem cores que variam do amarelo claro (a espécie cultivada geralmente apresenta esta cor) até o preto,

passando pelo marrom, o roxo, etc. Esta adaptação do hipocotiledon é o principal órgão de armazenamento. A variação na cor do bulbo não implica nenhuma variação na textura, no sabor do mesmo nem na composição dos metabólitos secundários, esta variação das cores é provavelmente por causa da composição do solo e não por fatores intrínsecos (ZHAO J., 2011).

A colheita da Maca é anual, mas seu ciclo é completado quando as condições ambientais são favoráveis (QUIROS et al., 1997). Outra característica da Maca, sobretudo a cultivada em Junin, nos períodos de seca, a planta esconde os hipocotiledons, os mesmos só se desenvolvem após o período de chuvas por isto que muitos autores consideram como uma planta bianual (TELLO et al. 1992). Durante os anos favoráveis com umidade suficiente e em ausência de geadas as plantas completam seu ciclo durante um ano. A fase vegetativa inclui a expansão e crescimento dos hipocótilos e da raiz. Estes órgãos crescem completamente após sete meses do plantio. Uma vez formado o bulbo (hipocotiledon e raiz), a planta começa a fase reprodutiva. Geralmente, os primeiros brotos aparecem em forma de ramalhete ao centro da roseta ou como flores solitárias entre as folhas.

CAULE:

Curto e pouco visível, semelhante ao das cenouras ou dos rabanetes.

FOLHAS:

As folhas formam um tapete que cresce em contato com o solo. As folhas apresentam um dimorfismo; são grandes na etapa vegetativa e reduzidas durante ciclo reprodutivo; arrosetadas, compostas, com bainha alargada, pecíolo comprido com face adaxial plana. Limbo composto com comprimento de 6 a 9 cm; Folíolos basais pinatífidos e as caulinares pequenas (TELLO et al. 1992).

FLORES:

Pequenas, em ramalhete composto e raramente simples, formam grupos, são hermafroditas, actinomorfas, de cor verde-claro, cálice de prefloração esbranquiçado e corola com quatro pétalas livres ligeiramente encurvadas até o ápice. Tem quatro sépalas erguidas, côncavas, e quatro pétalas brancas pequenas. O ovário é oval e bicarpelar com um estilo curto, que evolui para um silique deiscendente de dois carpelos, levando uma semente por carpelo. Anteras bem desenvolvidas. O número normal de estames funcionais na família Brassicaceae é de seis, apresentam um número variável de estames rudimentares afuncionais. A Maca é preferentemente uma espécie autógama. A polinização inicia-se 4-5 dias após o brote das flores e continua por outros 3 dias. As anteras e as pétalas murcham 2 dias após a polinização e o ovário começa o desenvolvimento do fruto. A falta de insetos polinizadores nas áreas de cultivo da maca são evidência adicional da autogamia desta planta. Só foi constatada a visita esporádica de dois a três espécies de Dipterae (QUIROS. 1997).

Todas estas observações sugerem que a reprodução da maca é realizada por autopolinização. A maior parte do pólen obtido das flores da Maca é fértil. Compatível com outras espécies de crucíferas, os grãos de pólen são trinucleares.

FRUTO:

Ovoide de cor amarelo avermelhada, Silicua, de 1-2 mm de largura, ligeiramente amarginado. Com uma semente por lóculo. Chegam à maturidade em aproximadamente 5 semanas. Quando maduros, os frutos iniciam deiscência e a semente madura será lançada. Aproximadamente 85% dos frutos portam as sementes, em boas condições de cultivo as sementes germinam em 5-7 dias. Uma única planta de maca produz aproximadamente 14 g. de sementes. As sementes

são pequenas cada grama contem aproximadamente 1.600 sementes, medindo 2 milímetros de comprimento (QUIROS. 1997).

O plantio da maca, *Lepidium peruvianum* CHACON, realiza-se de setembro a dezembro. As sementes são esparzidas nos campos para serem colhidas em 6 a 8 meses.

Após a coleta, os bulbos são secos ao sol e ao frio durante 4 a 7 dias, durante esta exposição perdem o 75% do seu peso original. Este processo de secagem é um método tradicional no mundo andino, por causa das variações de temperatura entre o dia e a noite, somadas à baixa pressão atmosférica, o clima andino se comporta como um liofilizador natural. Os alimentos que sofrem este procedimento de secagem perdem grande parte do seu peso pela perda de água, facilitando assim seu transporte e o armazenamento. Este processo de secagem lento ocasiona que a Maca mude de sabor: de um sabor amargo-pungente a um sabor doce caramelado. O bulbo seco através desta metodologia pode ser armazenado por 4 anos sem perder as suas propriedades (CONDORI CRUZ D., 1992).

O cultivo da maca pode esgotar a terra, é por isto que após a colheita, os campos onde foram cultivados devem descansar entre 5 a 10 anos. A utilização de praguicidas não é necessário para este cultivo, pois não possui competidores nem pragas que tenham se aclimatado nesta região (TELLO, 1992).

O nome ***Lepidium meyenii* WALP**, foi dado pelo pesquisador alemão Gerhard Walpers, indistintamente a variedades selvagens e as cultivadas em 1843. Já nome ***Lepidium peruvianum* CHACON**, é o nome que identifica de maneira precisa às espécies de *Lepidium* cultivadas nas regiões de Junin e Cerro de Pasco no Peru, este nome foi dado pela pesquisadora peruana Gloria Chacon Popovici.

3.1.3 HABITAT

O Habitat preferente de muitas espécies do gênero *Lepidium* são os andes sul-americanos (Quadro1). Referindo-se a maca, o cronista do século XVI Padre Cobo disse: “Esta planta cresce numa zona hostil e das mais frias dos Andes onde nenhuma outra planta cultivada cresce como alimento” (COBO, 1956)

O habitat da maca, tem um clima intensamente frio o que torna praticamente impossível o cultivo de plantas folhosas. O fato que numa área tão hostil tenha sido possível a aclimação desta planta é uma demonstração da grande habilidade agrícola dos povos Andinos.

Quadro 1 – Habitat de espécies andinas conhecidas do gênero *Lepidium*

ESPECIE	HABITAT
<i>L. abrotanifolium</i>	Perú (Lima, Junín), Bolivia y Ecuador
<i>L. aletes</i>	Perú (Arequipa, Tacna; Sudamérica).
<i>L. bipinnatifidum</i>	Perú (Ancash, Puno, Arequipa, Huánuco, Cusco, Lima, La Libertad, Cajamarca-Tambillo-Cutervo- Nancho); Bolivia y Colombia
<i>L. chichicara</i>	Perú (Ayacucho, Puno, Arequipa, Lima, Cajamarca-Cutervo) y Bolivia
<i>L. cyclocarpum</i>	Lima, Arequipa
<i>L. Meyeni</i>	Puno, Moquegua
<i>L. raimondii</i>	Cajamarca (Cascas), La Libertad
<i>L. subvaginatum</i>	Perú (Cajamarca-Cutervo), Chile
<i>L. virginicum</i>	Perú (Lima, Moquegua, Piura, Cajamarca-Cutervo); México e Venezuela
<i>L. walpersii</i>	Perú (Puno) y Bolivia
<i>L. weddellii</i>	Perú (Lima, Ancash); y Bolivia
<i>L. depressum</i>	Junín
<i>L. kalenbornii</i>	Ayacucho
<i>L. peruvianun</i>	Junín, Pasco
<i>L. pubescens</i>	Lima

A Puna é um dos lugares mais inóspitos na terra. Uma zona ecológica carente de árvores, caracterizada por estepes, tundras e áridas planícies características das zonas alpinas e subalpinas. Este ecossistema neotropical na Cordilheira dos Andes, localiza-se nas partes mais altas deste conjunto orográfico em elevações entre 3.800 e 4.800m., entre as latitudes 8°S e 30°S aproximadamente, cobrindo territórios do centro e sul do Perú, o nordeste do Chile, o ocidente da Bolívia e o noroeste da Argentina. Os parâmetros de altitude variam com a latitude, o geógrafo peruano Javier Pulgar Vidal em 1978 a delimitou entre os 4.000 e 4.800 metros acima do nível do mar, embora outras fontes a limitam entre 3.500 e 4.200 metros acima do nível do mar, trata-se de uma região de baixa pressão atmosférica, menor concentração de oxigênio no ar e climas extremamente frios, com poucas precipitações e uma temperatura média anual de até 10°C a -7°C. Todos estes fatores climático-geográficos geram características especiais à flora e fauna desta região.

A Puna Central Andina é uma elevação montanhosa estendendo ao longo da coluna vertebral dos Andes, através do Peru e da Bolívia, sul e no norte do Chile e da Argentina. Conectado a Puna úmida ao norte e oeste, com a Puna seca no sul, esta eco região recebe uma quantidade moderada de chuvas, geralmente entre 400 a 800 mm por ano. A Maca cultivada, *Lepidium peruvianum* CHACON sp. Nov. medra nesta região mais precisamente nos Andes centrais do Peru nas vizinhanças do lago de Junin (Pulgar J.,1978).

3.1.4 HISTORIA

Segundo evidências históricas o cultivo da maca provavelmente iniciou-se entre os séculos IV-VII a.C. (formativo tardio) e o século IV D.C., na área de San Blás ou Junín pelos povoadores de Chinchaycocha. A expansão do seu cultivo no habitat Alto Andino teria sido realizada pelas culturas Yaru e Ayarmarca, os quais deram bastante importância a seu cultivo como alimento, sabemos que nes-

ta região não existem muitas possibilidades de alimentos muito menos cultiváveis (MATTO, 1975); (RICK,1979), (ANTUNEZ DE MAYOLO 1977), (ROSTWORSKI 1978), (WALDEMAR 1976). Os Yaros foram exímios criadores de gado e praticavam uma agricultura intensa, foram os primeiros a terem extensas superfícies dedicadas ao cultivo da Maca. (PACHECO 1988) menciona que os habitantes de Bombamarca (Junín) praticavam criação de gado e agricultura promissória, aplicavam um sistema de irrigação por meio de canais que conduziam água das lagoas próximas, comercializando por meio de troca, o charque, fibras, sal, Maca y entre outros produtos por eles produzidos.

Durante o período colonial, os visitantes espanhóis Vásquez Espinoza ao cerca de 1598 e Cobo entre 1603-1629 dão ao ocidente as primeiras descrições da planta e seus usos. Por sua vez H. Ruíz, como parte da Royal Spanish Botanical Expedition em 1777-1778, achou cultivos da planta nas proximidades do lago de Junín e dá um curto relato sobre a sua utilização (LEÓN, 1964). (REA 1992) colhe as seguintes referências históricas: Na visita efetuada em 1549 à zona de Junín, é mencionado que o “encomendeiro” Juan Tello de Soto Mayor recebeu "frutos" de Maca como tributo e foi relatado para ele que era utilizada para melhorar a fecundidade do gado de Castilla. De igual maneira, na visita à zona de Huánuco em 1572 relata que os Chinchaycocha utilizavam a Maca como meio de cambio desde a época pre-inca, aproveitando a produção de maca, sendo a causa da altitude o único cultivo conhecido por este povo.

Rea (1992) postula que a domesticação da Maca teria uma antiguidade superior a 2000 anos, na zona de San Blas departamento de Junin (Andes centrais no Perú). O mesmo autor também descreve como os tubérculos frescos eram fervidos e feitos purê utilizado como cataplasma abdominal para provocar as regras, também era cortada em rodela e decotas e eram tomadas três a quatro dias após a última regra (menstruação) pelas mulheres estéreis que desejavam engravidar.

4. CONSTITUINTES QUÍMICOS

A Maca é rica em proteínas, ácidos graxos insaturados e minerais. Os bulbos frescos da Maca têm mais de 80% de água. Os bulbos desidratados contêm 8,87 - 11,6% de proteínas; 1,09 - 2,2%, de lipídios; 54,6 - 60,0% de carboidratos (23,4% de sacarose; 1,55%, de glicose; 4,56% oligossacarídeos, 30,4% polissacarídeos); 8,23-9,08% de fibra e 4,9-5,0% de cinzas, Como alimento tem um teor em de energia de 663 kJ/100 g (DINI M., et al, 1994; YU & JIN, 2004; VALENTOVA et al, 2006).

Na maca foram achados 18 ou 19 tipos de aminoácidos. Entre os quais sete essenciais (Triptófano não é detectado), seu conteúdo proteico (342,6 - 388,6 mg de proteína / g) é maior que em batatas e cenouras. O conteúdo de ácidos graxos insaturados, como linoleico e oleico, é 52,7- 60,3% do total de ácidos graxos. A farinha ou pó de maca seca também é abundante em sais minerais (Dini et al, 1994; Yu & Jin, 2004). O conteúdo mineral da maca relatado em Dini et al. (1994) foram 16,6 Fe, Mn 0,8, Cu 5,9, 3,8 Zn, Na 18.7, K 2050 e Ca 150 (mg/100 g de matéria seca). Os estudos Iniciais sobre a maca foram centrados nas suas características alimentares. No Quadro 2 enumeram-se os principais constituintes da maca segundo o trabalho realizado por Dini et al em 1994.

Quadro 2. Constituintes da maca

COMPOSIÇÃO %	
Carboidratos	59,0
Proteínas	10,2
Fibra	8,5
Cinzas	4,8
Lipídios	2,2
VITAMINAS mg (%)	
Tiamina B ₁	0,20
Riboflavina B ₂	0,35
Vitamina C	2,5
SAIS MINERAIS mg/100g	
Ca	150
P	180
Fe	16,6
Mn	0,8
Cu	5,9
Zn	3,8
Na	18,7
K	2050
AMINOÁCIDOS mg/g Proteína	
Ácido Aspártico	91,7
Ácido Glutâmico	156,5
Serina	50,4
Histidina	21,9
Glicina	68,3
Treonina	33,1
Alanina	63,1

Arginina	99,4
Tirosina	30,6
Fenilalanina	55,3
Valina	79,3
Metionina	28
Isoleucina	47,4
Leucina	91,0
Lisina	54,4
Hidroxiprolina	0,5
Sarcosina	0,7
ÁCIDOS GRAXOS %	
Insaturados simples	13,4
Poli-insaturados	52,8
Saturados	33,8 %
AÇUCARES	
Frutose	5,9 %
Glicose	5,2 %
Sacarose	16,6 %
Maltose	< 0,1 %
Lactose	2,1 %

Esta composição se refere ao bulbo desidratado, por isto o baixo índice de água nesta análise, a maca crua não desidratada tem um conteúdo de água de +/- 80% (Dini et al., 1994).

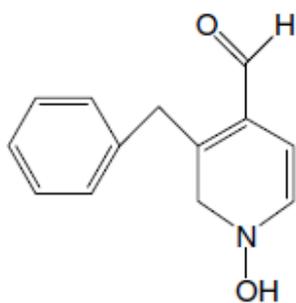
4.1 METÁBOLITOS SECUNDARIOS

Em 1961 foram determinados os primeiros metabólitos secundários, reportando a presença de alcaloides, glicosídeos, taninos e saponinas (CHACÓN. 1961). A composição da maca tem sido analisada e elucidada utilizando diversos sistemas analíticos como: TLC/HPLC / UV-HPLC / MS-GC / MS-ESI / MS ESI / HRMS, NMR e outros.

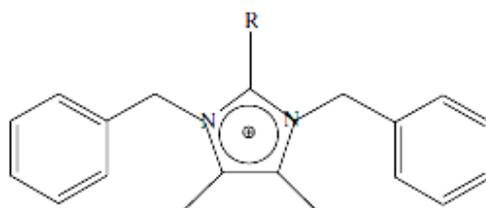
4.1.1 ALCALÓIDES

Três alcaloides foram isolados nos bulbos da maca: dois alcaloides imidazólicos: lepidiline A e B lepidiline (BAOLIANG C., 2003), e um derivado benzilado 1,2-diidro-N-hidroxipiridina chamado macaridine (MUHAMMAD et al., 2002) (ZHAO J., MUHAMMAD I., 2005). Suas estruturas são mostradas na fig. 3.

A ação antifúngica do extrato de maca poderia estar relacionada à presença destes alcaloides imidazólicos pois quimicamente são semelhantes aos azóis antifúngicos ou antifúngicos imidazólicos como o miconazol (Robert A. Fromtling 1988).



1,2-diidro-N-hidroxipiridina (macaridina)



R=H(1,3-dibenzil - 4,5 cloreto di metil imidazol) Lepidilina A

R=Me(1,3-dibenzil - 2,4,5 cloreto tri metil imidazol) Lepidilina B

Figura 3 **Alcaloides da maca**

4.1.2 FITOESTERÓIS

Fitoesteróis são compostos bioativos encontrados em todos os alimentos de origem vegetal. Nas plantas, mais de 200 tipos diferentes de fitoesteróis têm sido relatados.

Muitos tipos de fitoesteróis foram isolados na maca. Foram identificados e isolados, β -sitosterol, campesterol, brassicasterol, ergosteryl e estigmasterol. Estes compostos são potentes moduladores dos níveis de colesterol no plasma e apresentam propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes. As estruturas dos fitoesteróis encontrados na maca são mostradas na fig. 4. (DINI et al, 1994; ZHENG et al, 2000).

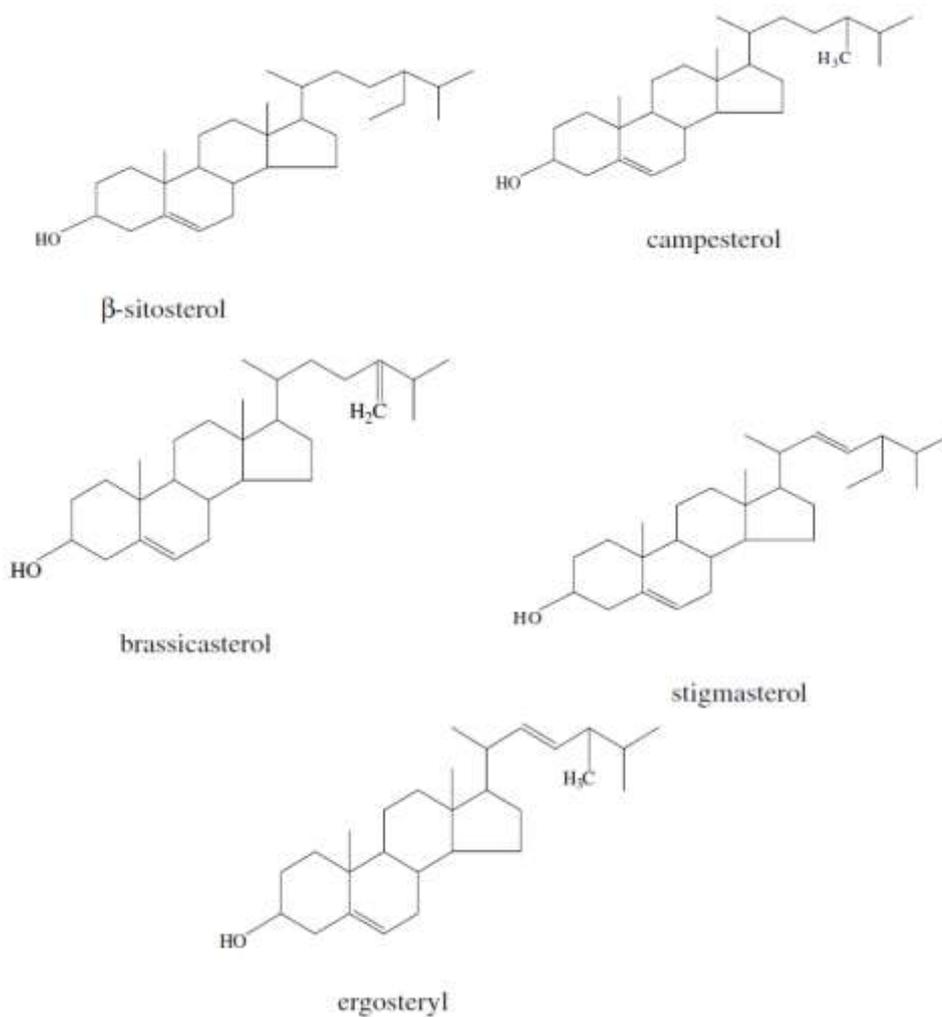


Figura 4 Fitoesteróis da maca

4.1.3 β -CARBOLINA

Na maca foi identificada e isolada a (1R, 3S) -1- metil tetrahydro - β - carbolina -3- carboxilato, composto que atua como um inibidor da enzima monoamina oxidase. Sua estrutura é mostrada na Fig. 5.

Os compostos inibidores da monoamina oxidase (IMAO) são utilizados principalmente em psiquiatria para o tratamento de transtornos depressivos e na neurologia para o alívio dos sintomas da doença de Parkinson (VOLZ & GLEITA, 1998). Alguns alimentos, tais como o chocolate e o cacau também contêm esses compostos, e a presença destes compostos em alimentos como tem sido em hipótese podem desempenhar um papel no desejo (Piacente et Al., 2002).

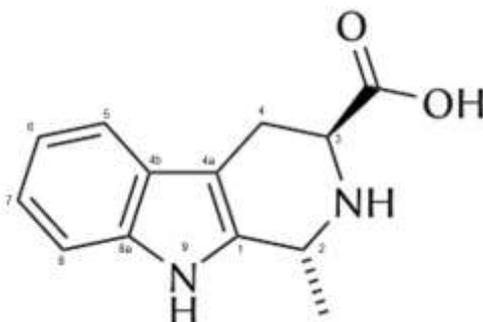


Figura 5 (1R, 3S) -1- metil tetrahydro - β -carbolina-3-carboxilato

4.1.4 MACAENO E MACAMIDAS

A maca contém, também, ácidos graxos poli-insaturados chamados macaenos e macamidas (alcamidas benziladas) (ZHENG B.L. 2000), estes novos ácidos graxos poli-insaturados e suas amidas não foram encontrados em outras plantas podendo servirem como marcadores químicos. (Ganzera m., et al, 2002); Muhammad I., 2002); (Zhao J. Et al, 2005),

Macaenos e Macamidas podem ser os componentes biologicamente ativos da maca envolvidos no melhoramento do desempenho sexual (ZHENG et al., 2000). O conteúdo desses compostos incomuns varia amplamente em diferentes amostras de maca. Em maca seca, varia em torno de 0,09 - 0,45%, para o macaeno, e varia de 0,06% para 0,52% para a macamidas (GANZERA et al., 2002).

Um macaeno e dezesseis Macamidas foram encontrados. As estruturas de macaeno e algumas macamidas são mostradas nas Fig. 6.

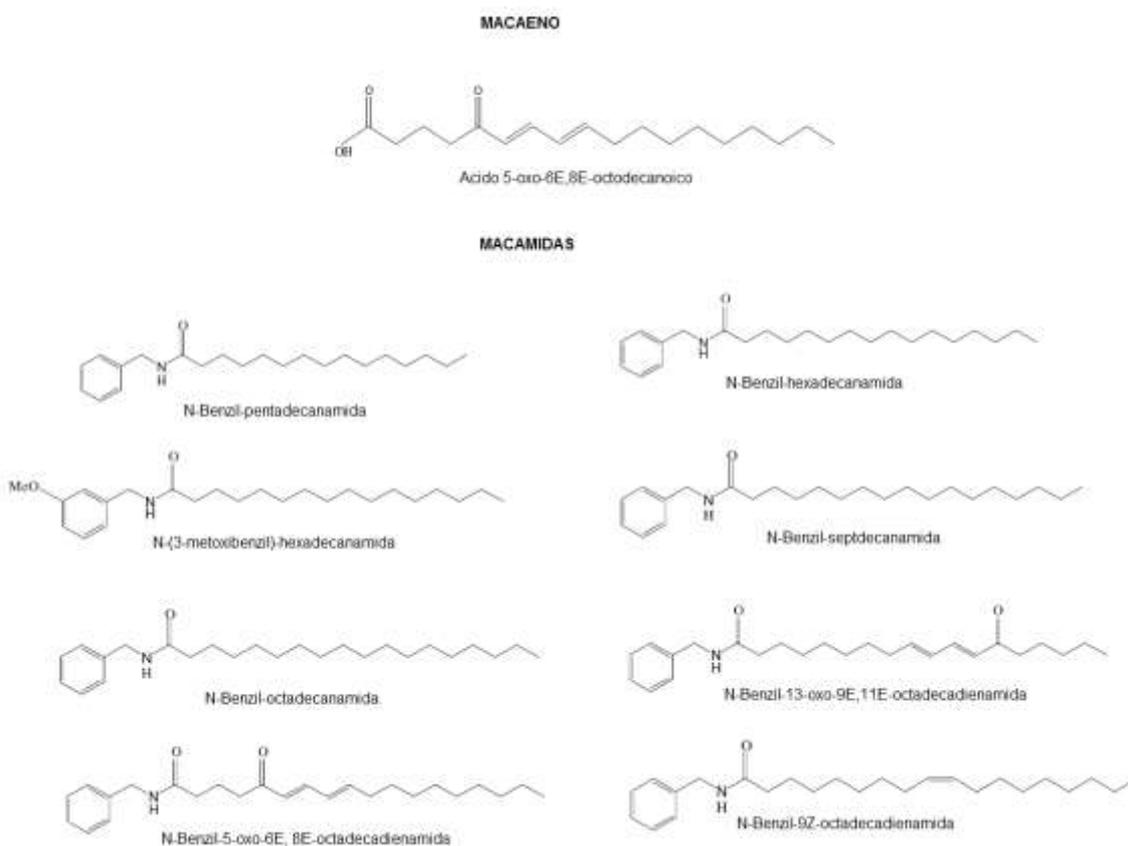


Figura 6

Macaeno e Macamidas encontrados na maca.

Uridina, ácido málico, prostaglandinas também têm sido reportadas na maca assim como flavonoides, saponinas e antocianinas. Entre os flavonoides encontrados estão o flavonol e a quercetina.

4.1.5 GLICOSINOLATOS

Os glicosinolatos são metabólitos secundários de baixo peso molecular presentes em plantas principalmente do gênero Brassica onde se encontra uma terceira parte dos 100 tipos de glicosinolatos conhecidos. São metabólitos secundários de plantas da ordem das Brassicales, particularmente da família Brassicaceae (crucíferas, como repolho ou rabanete), atuam nas plantas como mecanismo de defesa contra pragas. São responsáveis pelo sabor amargo ou pungente característico em alimentos como mostarda, rabanete, agrião, maca, couve-flor, etc.

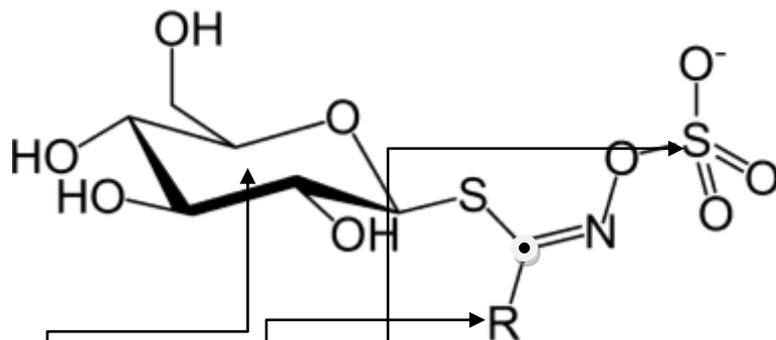


Figura 1

- Uma **glicose** através de uma ligação por um enxofre.
 - Um **grupo sulfato** através do átomo de nitrogênio do grupo oxima.
- e uma **aglicona variável**, derivada de um aminoácido.

Fig. 7

Estrutura geral dos Glicosinolatos

Dependendo da cadeia lateral (R), os glicosinolatos se dividem em três grandes grupos: alifáticos (derivados da metionina, alanina, valina, leucina ou isoleucina), aromáticos (derivados da fenilalanina ou tirosina) e indólicos, na maca não foram achados glicosinolatos indolicos (derivados do Triptófano). A estrutura geral dos glicosinolatos é mostrada na fig 7. Os glicosinolatos achados na maca são: Benzilglicosinolato, glucotropaeolin, p-metoxibenzilglucosinolato e *m*-metoxibenzilglucosinolato, Sinalbina, Hidroxi-benzilglicosinolato, e seus derivados Iso-tiocianatos e tiocianatos produtos da ação enzimática (JOHNS. 1980), (DINI A., 1994), (LI G., 2001), (DINI I., 2002), (ZHENG B.L., 2000).

Os glicosinolatos sofrem hidrólise pela ação da enzima mirosinase produzindo isotiocianatos, nitrilas, e a liberação de uma glicose. A mirosinase esta presente nas crucíferas, na planta integra a mirosinase se encontra encapsulada, também achamos mirosinase na microflora intestinal dos mamíferos.

Glicosinolatos e ou seus produtos de degradação, conhecidos por seus atributos de fungicida, propriedades bactericidas, nematicidas, recentemente são de grande interesse e intensa pesquisa por sua ação quimioprotetora contra alguns tipos de câncer (FARNHAM M. W. et al, 2000).

5. ATIVIDADES BIOLÓGICAS DA MACA

Nos últimos 10 anos muitos estudos tem sido realizados com a maca, muitos princípios ativos foram isolados e vários efeitos farmacológicos demonstrados, além de possuir um grande número de evidencias subjetivas que surgem do conhecimento popular. A singular variedade de efeitos farmacológicos nos levariam a pensar que a maca se comporta como um normalizador e promotor da homeostase ou mesmo como um adaptogeno.

5.1- EFEITO FOTOPROTETOR

Um efeito esperado e comprovado através de um estudo em ratos na qual a aplicação tópica de extrato aquoso de maca evita após irradiação UVA, UVB e UVC evita e previne os efeitos danosos da radiação sobre a pele, segundo os autores este efeito é dado pela presença de polifenóis e glicosinolatos. (GONZALES C. C. & GONZALES G.F., 2008).

5.2 AÇÃO ENERGETICA e TOLERANCIA ao STRESS

A administração de maca pode reduzir os efeitos do stress, incluindo o controle do aumento da corticosterona e todos os parâmetros relacionados com este aumento, tais como o tamanho das glândulas suprarrenais e as úlceras induzidas pelo estresse, também diminui os níveis dos ácidos graxos livres de e da glicose no plasma, produzidas pelo estresse (LÓPEZ F. et al, 2004). A farinha de maca tem mostrado um efeito anti-cansaço, e pode aumentar a duração da mobilidade em testes de natação forçada de camundongos (RUBIO et al, 2006); A maca é rica em proteínas, ácidos graxos insaturados, vitaminas, açúcares e sais minerais. Esta composição a torna um produto altamente nutritivo é poderia ser uma das razões para seus efeitos na vitalidade e o cansaço.

5.3 MELHORA A FERTILIDADE

Durante o período Inca, a maca foi utilizada como alimento nas populações alto andinas comprovando se que a mesma melhorava a fertilidade destas populações e seus animais. (QUIRÓS & CÁRDENAS, 1997).

Nos últimos anos os efeitos da maca foram cientificamente analisados usando o modelo animal (rato). Assim foi comprovado que a administração de maca evitava alguns desequilíbrios produzidos pela elevada altitude a redução do peso corporal e aumentava o número de espermatozoides no epidídimo (GONZALES et al., 2004), e também foi comprovada a redução do efeito toxico do malation ou de acetato de chumbo sobre a espermatogênese em ratos (BUSTOS -

OBREGÓN et al., 2005) e (RUBIO et al., 2006a). Em outro estudo, ratos machos normais tratados com extratos de maca apresentaram um aumento significativo no número de espermatozoides e espermátides no epidídimo e um aumento no peso no testículo e epidídimo (GONZALES et al, 2001). Estes efeitos são dose-dependente (CHUNG et al., 2005) e (GONZALES et al., 2004).

A maca mostrou ter os mesmos efeitos em humanos. Isto foi verificado após administração oral de comprimidos de maca em homens adultos normais durante um período de 4 meses, foi comprovado um aumento do volume seminal de 2,23 ml para 2,91 ml, a contagem de espermatozoides por ejaculação aumentou de $140,95 \times 10^6/\text{mL}$ para $259,29 \times 10^6/\text{mL}$, enquanto a contagem de espermatozoides, aumentou de $87,72 \times 10^6/\text{mL}$. para $183,16 \times 10^6/\text{mL}$ (GONZALES et al., 2001).

Maca também atua na fertilidade em mulheres. Na administração oral do extrato de maca em camundongos fêmeas, adultas; foi observado um aumento no tamanho da ninhada e nas taxas de gravidez. O mecanismo de ação da maca sobre a fertilidade de machos e fêmeas ainda não está totalmente elucidada; alguns estudos têm demonstrado que extratos de maca tem atividade estrogênica, esta atividade foi comprovada num estudo in vitro utilizando células MCF-7 (VALENTOVÁ et al, 2006). Os efeitos sobre atividade estrogênica de maca podem ser em parte devidos ao teor de fitoesteróis (RUBIO et al., 2006b), (ZHANG et al. 2,006).

Outros estudos consideram que os efeitos da maca na melhora da fertilidade não estão relacionados com uma ação hormonal. Esta conclusão baseia-se às seguintes conclusões:

- Após a administração de extratos de maca, os níveis séricos dos hormônios reprodutivos como o hormônio luteinizante (LH), hormônio folículo estimulante (FSH), prolactina (PRL), testosterona (T) e estradiol (E_2) não são

modificados ([CHUNG et al., 2005), (GONZALES et al., 2001), (GONZALES et al., 2003), (GONZALES et al., 2005) e (GONZALES et al., 2006]).

- Os pesos de órgãos andrógeno-dependentes fora o epidídimo, como as vesículas seminais e a próstata, não são afetados pela administração oral de maca. O epidídimo registra variação no peso, este maior peso pode ser devido a um aumento no número de espermatozoides (GONZALES et al., 2001), (GONZALES et al., 2003).

Como a existência ou não da atividade estrogênica de maca desempenha um papel importante na alteração da fertilidade no homem, esta atividade da maca precisa uma maior atenção.

5.4 MELHORA DO DESEMPENHO SEXUAL (AUMENTO DA LIBIDO)

Verificou-se que a administração oral de extratos de maca melhorou o desempenho sexual de ratos machos jovens; além disso, a administração de maca melhorou a função erétil e diminuição do período de latência entre ereções em ratos (ZHENG et al., 2000).

Num ensaio duplo-cego, randomizado, em paralelo, placebo-controle, realizado em homens foi relatado um aumento generalizado no desejo sexual no grupo de teste. 56 homens saudáveis (entre 21-56 anos) participaram do ensaio, o desejo sexual foi avaliado através de um auto relato subjetivo (questionário). O resultado revelou aumento manifesto do desejo sexual de 40,0% após 8 e 12 semanas do tratamento com maca. Os resultados no grupo tratado com maca, eram significativamente diferentes aos do grupo tratado com placebo (GONZALES et al., 2002),

5.5 AÇÃO QUIMIOPROTETORA E ANTIPROLIFERATIVA

Muitos glicosinolatos são conhecidos por seus efeitos tóxicos, principalmente como goitrogenos (substâncias que inibem a função da glândula tiroide, interferindo com a absorção de iodo, como resultado, podem causar bócio.), a maca não produz glicosinolatos goitrogenicos. Em contraste, os glicosinolatos são conhecidos pelas suas ações, como agentes quimioprotetores contra agentes cancerígenos, pelo bloqueio da iniciação de tumores, efeito comprovado em estudos realizados em tecidos de roedores, fígado, cólon, glândula mamária, próstata e pâncreas, etc. (ZENICO T., 2008)

5.6 AÇÃO ANTIMENOPAUSICA - OSTEOPOROSE

A menopausa, período que ocorre ao redor dos 45 anos de idade, é definida como o momento da parada das menstruações, decorrente da diminuição do funcionamento dos ovários. Isto levará a uma redução da concentração dos hormônios sexuais femininos (estrógenos). Uma das consequências disso é a redução da densidade mineral óssea.

A maca tem sido usada para tratar mulheres com sintomas da menopausa, não só para aliviar a osteoporose como também regulando outros efeitos: impede a secura vaginal, lubrificando e tonificando a vagina. Estudos em ratas ovariectomizadas demonstraram que maca aumentou significativamente o teor de cálcio no fêmur (ZHANG et al., 2006). O mecanismo pelo qual a maca protege ratas ovariectomizadas contra a osteoporose é diferente da terapia de reposição hormonal (TRH). Não aumentado os níveis do estrogênio nem do peso uterino apresentando menos efeitos colaterais do que a terapia de reposição hormonal. (GONZALES et al., 2001; GONZALES et al., 2003; GONZALES et al., 2005; ZHANG et al., 2006),

Ainda não é conhecido quais dos metabolitos secundários são responsáveis por esta ação da Maca. A presença de Fitoesteróis, Macaeno, Macamidas e outros metabolitos secundários na planta podem contribuir para esta ação.

6 TOXICOLOGIA

No estudo de ARROYO (1977) não foi possível à determinação da Dose Letal Media DL_{50} para a maca, pois não foram observadas alterações que indiquem mudanças ou danos macroscópicos quando utilizada a maior dose; por isto a maca pode ser considerada inócua à dose utilizada segundo o critério de Williams (ARROYO A., 1997).

Quando avaliados os pesos e as características macroscópicas de órgãos como coração, pulmão, fígado, pâncreas, testículos e vesículas seminais, não foram achadas alterações, descartando - se assim qualquer efeito tóxico. Estudos *in Vitro* em hepatócitos demonstraram que a maca não apresenta hepatotoxicidade, pelo contrario, possui um leve efeito citoprotetor (VALENTOVA K. et al. 2006).

ARTIGO I



Avaliação da toxicidade aguda da Maca *Lepidium peruvianum* Chacon (Brassicaceae)

7 ESTUDOS TOXICOLÓGICOS

Avaliação da toxicidade aguda da Maca *Lepidium peruvianum* Chacon (Brassicaceae)

LENS, S.L.F; PINTO, R.H.; SOUZA, I.A.; HIGINO, J.S.

- Submetido ao International Journal of Dentistry IJD.

RESUMO

A Maca, *Lepidium peruvianum* Chacon (Brassicaceae), é uma planta originária e cultivada na região dos Andes centrais no Perú; cresce em altitudes superiores a 4.000 metros acima do nível do mar, conhecida por seus efeitos potencializadores da sexualidade e como energético. O nosso trabalho de investigação de *Lepidium peruvianum* CHACON tem como objetivo avaliar a toxicidade aguda, através de duas vias de administração: intraperitoneal e oral. Foram selecionados camundongos (*Mus musculus*) Swiss albinos machos: todos os animais foram divididos em grupos de cinco por gaiola. A maior dose utilizada por via intraperitoneal foi de 4.500 mg/Kg e a menor de 750 mg/Kg; enquanto a dose mais elevada por via oral foi de 4.500 mg/Kg e menor de 1.500 mg/Kg. Na administração por via intraperitoneal verificamos seguintes reações: movimentos estereotipados, tremores finos, movimentos circulares, saltos, reação de fuga e aumento da libido; todas elas consideradas estimulantes. Não foram observadas reações depressoras. Em relação a outros efeitos, todos os animais apresentaram contorções abdominais, palidez e reações periféricas (espasmos). Na administração por via oral os

efeitos estimulantes foram mais acentuados quando comparados à via intraperitoneal, também não foram verificados efeitos deprimidos; quanto a outros efeitos foi observado acentuação das contrações, palidez e refluxo. O extrato investigado apresentou reações características de estimulantes de ação central. Vale salientar que os efeitos colaterais são pequenos quando comparados a outros vegetais, não foram verificados óbitos durante e após o período de administração (24 h - 48 h - 72 h) no ensaio em nenhuma dose.

Palavras chave: *maca, Lepidium peruvianum CHACON. toxicidade aguda*

ABSTRACT.

The maca , *Lepidium peruvianum* Chacon (Brassicaceae), is a plant of the central region of the Andes in Peru; it grows at altitudes exceeding 4,000 m. above sea level; known for its effects which increase stamina, libido and energy. The toxicological process checks from signs and symptoms that can lead to behavioral reactions. The investigation of *Lepidium peruvianum* CHACON aimed to evaluate the acute toxicity through two routes of administration, intraperitoneal and oral. We selected male mice (*mus musculus*) Swiss albino animals, all animals were divided into groups of five per cage. The highest dose applied intraperitoneally was 4.500 mg / kg and the smallest of 750 mg / kg, while the higher dose orally was 4.500 mg / kg and the smallest of 1500 mg / kg. In our results we found that for intraperitoneal via, we observed the following reactions: stereotypical movements, fine tremors, circular movements, jumps, reaction of escape and increase of the libido, all considered as stimulating effects, depressive reactions were not observed. Regarding other effects, all they presented spasms, abdominal contortions and paleness, peripheric reactions (run away reaction, spasms); to oral administration the stimulating effects were more pronounced when compared to the intraperitoneal route, , also depressants effects has not been checked, and other effects were observed accentuation of contractions, pallor and reflow. The extract investigated, showed characteristics reactions of centrally stimulants. It is worth mentioning that the effects are small compared to other plants, was not observed during and after the administration period (24 h - 48 h - 72 h) deaths in the trial at any dose.

Key words: *maca, Lepidium peruvianum Chacon, , acute toxicity.*

INTRODUÇÃO

A maca (*Lepidium peruvianum* Chacon, = *Lepidium meyenii* Walpers) é uma planta herbácea anual ou bienal, que cresce exclusivamente entre 4.000 e 4.500m acima do nível do mar, nos Andes centrais do Peru, onde é cultivada pelo seu bulbo comestível (hipocótilo-raiz) e pelas propriedades relacionadas à melhora da fertilidade e como energético. Os povoadores andinos desde a antiguidade a utilizavam para melhorar suas capacidades físicas e mentais. Alguns narradores como Frei Antonio Vásquez de Espinoza numa crônica que data de 1598 faz menção ao consumo desta planta pelas populações próximas ao lago de Junin (VÁZQUEZ DE ESPINOZA, A. 1948). Posteriormente Cobo entre 1603-1629 também notificou estes fatos, indicando que a maca crescia nos lugares muito agrestes e frios da região de Puna (superiores a 4.000 metros acima do nível do mar), onde não há possibilidades de cultivo de nenhuma outra planta alimentícia (COBO B., 1956).

O valor nutricional dos bulbos secos da maca contém aproximadamente 10% de água, 55–65% carboidratos altamente digeríveis, 2,2% lipídios, 10–13% proteínas e 8,5% fibra. A maca é particularmente rica em ferro, cálcio, cobre, zinco e potássio (DINI et al. 1994), apresentando um alto teor de aminoácidos essenciais, como serina, arginina, fenilalanina, valina, isoleucina, leucina e lisina. Os principais ácidos graxos incluem ácido linoleico, ácido linolênico, ácido palmítico e ácido de oleico (GANZERA et al. 2002, VALENTOVA et al., 2006), assim como os ácidos poli-insaturados, macaeno e macamidás (ZHENG et al. 2000; GANZERA et al. 2002; MUHAMMED et al. 2002; ZHENG et al. 2000) listam como o princi-

país metabolitos secundários de maca : flavonoides, fitoesteróis (Sitosterol (45.5%), Estigmasterol (4.5%), Brassicasterol (9.1%), de Ergosterol (13.6%) campesterol e β -sitosterol (27.3%)), benzil alcanidas., , a maca contém altas concentrações de glicosinolatos aromáticos (glucotropaeolin e p-metoxibenzil glicosinato) e seus derivados produtos da ação da enzima mirosinase, os isotiocianatos (JOHNS 1981). O conteúdo absoluto de glicosinolatos nos bulbos frescos da maca é maior que o achado em outras espécies da família Brassicaceae (LI et al. 2001).

As principais atividades biológicas conhecidas da maca são:

- Melhora da fertilidade mesmo que as pesquisas consideram que a maca não atua modificando os níveis hormonais;
- Melhora o desempenho sexual;
- É um potente energético com um papel na vitalidade e na tolerância ao estresse;
- Equilibra os sintomas próprios da pós-menopausa, entre eles a osteoporose.

Embora nos últimos anos muitos estudos tenham sido realizados com a Maca, as substâncias eficazes que a compoem e os seus mecanismos de ação não foram completamente elucidados.

Embora exista uma grande quantidade de provas e resultados interessantes, as atividades desta planta precisam de uma revisão mais aprofundada, tanto na composição fito química como às suas atividades farmacológicas.

OBJETIVO:

Avaliar a toxicidade aguda, de um extrato aquoso liofilizado através de duas vias de administração: intraperitoneal e oral em doses diferentes.

MATERIAL E METODO:

MATERIAL BOTÂNICO

Farinha de maca, *Lepidium peruvianum* CHACON, As amostras utilizadas de farinha de *Lepidium peruvianum* CHACON foram gentilmente enviadas desde o Peru pela Dra. Gloria Chacon Popovici, taxonomista responsável pela classificação da espécie.

COLETA DE MATERIAL VEGETAL

Os bulbos frescos de *Lepidium peruvianum* CHACON foram coletados na cidade de Cerro de Pasco a 4.200 metros acima do nível do mar, e na mesma localidade foram dessecados através de uma espécie de liofilização natural, aproveitando as condições próprias destas altitudes: baixa pressão atmosférica e severas variações de temperatura entre o dia e a noite, permitindo sucessivos congelamentos e descongelamentos. Após 15 dias os bulbos estão completamente secos (aproximadamente com 10% umidade); posteriormente os bulbos foram moídos obtendo-se uma farinha fina.

PREPARAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO E LIOFILIZADO

A partir da farinha de *Lepidium peruvianum* CHACON preparou-se um extrato aquoso de 80 g de farinha de maca em 800 ml de água destilada a tempera-

tura ambiente, após agitação por duas horas foi filtrada e o filtrado foi liofilizado (Liofilizador FTS Systems) durante 24 horas numa temperatura de -80°C e vácuo de 160 bar. O produto final (extrato seco) é um pó amarelado bastante aromático, com um rendimento de 17,6 g (~22 %), o qual foi conservado em dessecador até o momento do uso.

ANIMAIS

Foram utilizados camundongos Swiss albinos machos (*Mus musculus*) adultos com a faixa etária de 60 dias, peso (ver Tabela 1). Todos os animais foram procedentes do biotério do Departamento de Antibióticos - Laboratório de Farmacologia e Cancerologia Experimental (UFPE).

Tabela 1 **Peso de camundongos utilizados na avaliação da toxicidade aguda da maca (g.)**

Media	Maior	Menor	Desvio padrão
41,33	58	28	7,95

Os animais (tabela 1) foram separados em grupos (n=5), mantidos em gaiolas de polipropileno, a uma temperatura de 22 ± 2 °C, em condições controladas de iluminação, com ciclos de claro-escuro de 12 h e água *ad libitum*.

A metodologia utilizada no estudo seguiu as recomendações estabelecidas por Karber e Behrens 1964.

O material liofilizado foi solubilizado em soro fisiológico e administrado em doses crescentes seguindo a progressão geométrica de razão 2. O método utili-

zado preconiza determinar qual a maior dose que não apresenta letalidade (D1) e menor dose capaz de provocar óbito em 100% dos animais (D2).

Foram prefixadas doses de 750, 1.500, 3.000 e 4.500 mg/kg de peso corporal por via Intraperitoneal e 1.500, 3.000 e 4.500 mg/kg de peso corporal por via Oral.

Os animais permaneceram em observação por um período de 48 horas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Nas tabelas 2 e 3 verificamos as doses administradas, as reações comportamentais e a as vias de administração, respectivamente. Não foi verificado óbito durante nem após a administração do extrato liofilizado de maca.

É interessante notar que os efeitos estimulantes ou energizantes aparecem quase imediatamente à administração, independente da via, manifestando com isto que a absorção do extrato é imediata.

Foi relatado que as pessoas costumam comer cerca de 50-100 g de farinha de maca seca nas refeições (0.71-1.42 g de raiz seca por kg de peso corporal) (CHUNG et al., 2005); porém, após a administração oral de maca em camundongos em condições normais (doses equivalentes a 10 vezes a taxa normal de consumo humano) o peso corporal e de órgãos de ratos, não mostraram nenhuma diferença mensurável aos controles (CHUNG et al., 2005; GONZALES et al., 2006). Os resultados mostraram que a maca não possui toxicidade, VALENTOVA et al. (2006) observaram que a maca gera um ligeiro efeito citoprotetor em animais vivos.

Tabela 2 Efeitos da administração de extrato de maca em diferentes doses – Via IP

Parametros	DOSE Via IP (mg/Kg)			
	750	1500	3000	4500
Estimulantes				
↑ Frequencia respiratoria	+	+	+	+
Agitação	+	-	+	+
Piloereção	+	+	+	+
Movimentos estereotipados	+++	++	++	+++
Libido	+++	+++	+	-
Movimentos circulares	++	+++	+++	+++
Movimentos de vibrissas	+	-	+	+
Convulsão	-	-	+	-
Convulsão clônica	-	-	-	-
Tremores finos/grosseiros	+	-	+	++
Ereção de Calda	+	+	+	+
Postura de Ataque/Garra	+++	++	+	++
Saltos	+	++	+	++
Irritabilidade	+	+		-
Hipertrofia Testicular	+	+	+	-
Levantamento de trem posterior	-	-	+	-
Arrastamento de trem posterior	-	-	-	-
Depressores				
Abaixamento do trem posterior	+	-	+	+
Dispnea	-	-	-	-
Sonolencia	-	-	-	-
↓ Frequencia respiratoria	-	-	-	-
Prostração	-	-	-	-
Alteração de marcha	-	-	-	-
Outros				
Excreção fecal	+	-	+	++
Contorções abdominais	-	+	++	-
Reação de fuga	+++	+++	+++	++
Espasmos	-	+++	++	-
Elevação de trem posterior	-	-	-	-
Diarreia	-	-	-	-
Refluxo	-	-	-	+
Palidez	-	+	+	+
Distensão abdominal	-	-	-	-
Agressividade	+	+	-	+
Diurese	+	-	-	+
Irritação da conjuntiva	-	-	-	-
Espasticidade	-	-	-	-
Cianose	-	-	-	-
Exoftalmia	+	-	+	+
Fotofobia	-	-	+	-
Postura estatica	+	+	+	++
Petecas	+	-	+	+
Contorsão	++	+++	+++	+++
Inversão de marcha	-	+	-	+

Tabela 3 Efeitos da administração de extrato de maca em diferentes doses – Via oral

Parametros	DOSE Via ORAL (mg/Kg)		
	1500	3000	4500
Estimulantes			
↑ Frequencia respiratoria	+	+	+
Agitação		+	-
Piloereção	+	++	+
Movimentos estereotipados	+++	++	+++
Libido	++	++	+
Movimentos circulares	++	+++	+++
Movimentos de vibrissas	+	+	+
Convulsão	+	+	-
Convulsão clônica	-	-	-
Tremores finos/grosseiros	+	+	-
Ereção de Calda	+	+	+
Postura de Vaque/garra	++	++	+++
Saltos	+++	+++	++
Irritabilidade	+	-	-
Hipertrofia testicular	+	+	+
Levantamento de trem posterior	+	-	-
Arrastamento de trem posterior	-	-	-
Depressores			
Abaixamento do trem posterior	-	+	+
Dispnea	-	-	-
Sonolencia	-	-	-
↓ Frequencia respiratoria	-	-	-
Prostração	-	-	-
Alteração de marcha	-	-	-
Outros			
Excreção fecal	+	+	+
Contorções abdominais	-	+	-
Reação de fuga	+++	+++	+++
Espasmos	+++	-	-
Elevação de trem posterior	-	-	-
Diarreia	-	-	-
Refluxo	-	-	++
Palidez	-	+	+
Distensão abdominal	-	-	-
Agressividade	++	+	+
Diurese	+	-	+
Irritação da conjuntiva	-	-	-
Espasticidade	-	-	-
Cianose	-	-	-
Exoftalmia	-	+	+
Fotofobia	+	+	-
Postura estatica	+++	+	++
Contorsão	+++	+	-
Inversão de marcha	-	+	+
Petecas	-	+	+

Bibliografia:

- COBO, B. Historia del Nuevo Mundo. **Biblioteca de Autores Españoles**—Madrid, v 81, p 430, 1956.
- CHACON, R. C., Estudio fitoquímico de *Lepidium meyenii*, “Disertación Univ. Nac. Mayo de San Marcos, Lima - Peru. 1961.
- CHUNG, F., RUBIO, J., GONZALES, C., GASCO, M., & GONAZLES, G. F. Dose–response effects of *Lepidium meyenii* (Maca) aqueous extract on testicular function and weight of different organs in adult rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 98, p.143–147, 2005.
- DINI A, MIGLIUOLO G, RASTRELLI L, et al. Chemical composition of *Lepidium meyenii*. **Food Chemistry** v. 49 p. 347–349, 1994.
- GANZERA, M., ZHAO, J., MUHAMMAD, I., & KHAN, I. A. (). Chemical profiling and standardization of *Lepidium meyenii* (Maca) by reversed phase high performance liquid chromatography. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v.50 n.7, p. 988–991, 2002
- KARBER G, BEHRENS B., Statistical Methods in Biological Assays. London; Ed. Griffin Ch. And c. 1964
- MALONE. M. H. Natural Products & Plant Drugs with Pharmacological, Biological and Therapeutical activity, 1977.
- MUHAMMAD, I., ZHAO, J., DUNBAR, D. C., & KHAN, I. A., Constituents of *Lepidium meyenii* ‘Maca ’. **Phytochemistry**,v. 59, p.105–110. 2002
- RUIZ, H.. Relación histórica del viaje a los reinos del Perú y Chile, 1777-1778. Madrid. **Real Acad. de Cien. Exactas, Fis y Nat.** –v. 1. p 526, 1952
- VALENTOVA´, K., BUCKIOVA´, D., KR`EN, V., PE`KNICOVA´ , J., ULRICHOVA´, J., & S`IMA`NEK, V., The in vitro biological activity of *Lepidium meyenii* extracts. **Cell Biology and Toxicology**, v.22, p. 91–99. 2006
- VÁZQUEZ DE ESPINOZA, A. Compendio y descripción de las Indias Occidentales. Smithsonian Inst. Misc. Publ. Washington p.108, 1948.
- ZHENG, B. L., HE, K., KIM, C. H., ROGERS, L., SHAO, Y., HUNAG, Z. Y.,et al., Effect of lipidic extract from *Lepidium meyenii* on sexual behavior in mice and rats. **Urology**, v. 55, n. 4, p.598–602,. 2000

ARTIGO II



Determinação da Atividade Antimicrobiana do Extrato bruto seco da farinha de *L. peruvianum* CHACON

Determinação da Atividade Antimicrobiana do Extrato bruto seco da farinha de *L. peruvianum* CHACON

Lens S. L. F, Higino J.S., Araújo J. M.

8 ESTUDOS MICROBIOLÓGICOS

INTRODUÇÃO

Doenças causadas por fungos passaram a receber maior atenção no século passado, principalmente nas duas décadas finais, com o advento da AIDS que predispõe os pacientes a várias infecções microbianas. Entre os fungos responsáveis por doenças em indivíduos imunodeprimidos, e nos aparentemente saudáveis, encontramos as espécies do gênero *Candida*.

Candidíase ou candidose é uma micose causada por leveduras do gênero *Candida*, o principal agente das Candidíase é a *C. albicans*. A maioria dos estudos mostra que esta espécie constitui 60% dos isolados de amostras clínicas (L. S. BARBEDO, 2010). Uma vez que esta levedura faz parte da microbiota humana, ela é considerada uma micose oportunista. A candidíase é uma micose de importância em saúde pública, considerada também como uma doença sexualmente transmissível DST., podendo causar ampla gama de danos. As espécies mais frequentemente achadas nas Candidíase são: *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. lusitaniae*, *C. viswanathii*, *C. famata*, dentre outras.

Espécies de *Cândida* residem como comensais, fazendo parte da microbiota normal dos indivíduos saudáveis. Geralmente, havendo uma quebra no balanço normal da microbiota ou quando o sistema imune do hospedeiro encontra-se com-

prometido, as espécies do gênero *Cândida* tendem a tornar-se patogênicas. Quanto à origem, pode ser endógena, quando oriunda da microbiota; ou exógena, como nas DST. (L. S. BARBEDO, 2010).

A presença de certos metabólitos secundários na maca como os glicosinolatos e sobretudo os compostos imidazólicos, indicariam uma possível ação antimicrobiana nesta planta por isto se torna necessário determinar se o extrato tem ação antimicrobiana, caso confirmado possibilitaria a produção de um fito medicamento com ação terapêutica comprovada.

a. MATERIAIS

1. MEIOS DE CULTURA

- Caldo nutritivo BHI (Brain Heart Infusion) Merck
- Agar Müeller Hinton (Merck)
- Agar Sabouraud

2. LINHAGENS MICROBIANAS

2.1. Linhagem bacteriana:

- *Staphylococcus aureus*
- *Bacillus subtilis*
- *Escherichia coli*

2.2. Linhagens fúngicas

- *Candida krusei*
- *Candida utilis*

- *Candida albicans*

- *Aspergillus niger*

- *Fusarium oxysporum*

3. Materiais e equipamentos

- Estufa

- Microscópio óptico

- Placas de Petri

4. Soluções e drogas

A obtenção do extrato de *Lepidium peruvianum* CHACON, popularmente conhecida como maca foi realizado no Laboratório de farmacognosia no Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco e a liofilização foi feita no laboratório de microscopia eletrônica do LIKA.

i. Linhagens Bacterianas

Foram utilizadas no presente trabalho cepas bacterianas padronizadas de *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*; pertencentes à coleção de culturas do departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco-UFPEDA.

ii Linhagens fúngicas

Foram utilizadas no presente trabalho cepas fúngicas padronizadas de *Candida krusei*, *Candida utilis*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* e *Fusarium oxysporum*; pertencentes à coleção de culturas do departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco-UFPEDA.

MÉTODOS

As cepas Bacterianas foram cultivadas em caldo Agar Muller-Hinton e incubadas a 35°C por 24 horas.

As cepas fúngicas foram cultivadas em saboround agar e incubadas a 35°C por 48 horas.

TESTE DE DIFUSÃO EM AGAR

Para a avaliação preliminar, foi testada a concentração de 200 mg do extrato liofilizado em 2.5 ml de água. Para cada micro-organismo foram utilizadas 3 placas de Petri 15x120 mm, correspondendo a 400 µg/disco e um disco controle negativo, O sistema foi incubado a 35 °C, por 24 horas, em estufa bacteriológica. No caso das cepas fúngicas a incubação foi por 48 horas.

Após incubação das placas a 35°C por 24 h(bactérias) 48 horas (fungos) foi realizada a leitura dos halos de inibição, formados ao redor dos discos em mm.

RESULTADOS

Os resultados obtidos para o extrato liofilizado da *Lepidium peruvianum* CHACON se encontram nas tabela 1 e 2

Tabela 1. Halo de Inibição produzido pelo extrato da *Lepidium peruvianum* CHACON. sobre Linhagens Bacterianas.

Cepas Bacterianas	Diâmetro dos halos de inibição (mm) Concentração inicial do Extrato (0,08 g. ml ⁻¹)		
	PLACA 1	PLACA 2	PLACA CONTROL NEG
<i>S. aureus</i>	Não apresentou halo		
<i>B. subtilis</i>	Não apresentou halo		
<i>E. coli</i>	Não apresentou halo		

A tabela 1 indica nenhuma ação sobre as cepas bacterianas testadas.

Tabela 2. Halo de Inibição produzido pelo extrato da *Lepidium peruvianum* CHACON. sobre Linhagens fúngicas.

Cepas Fúngicas	Diâmetro dos halos de inibição (mm) Concentração inicial do Extrato (0,08 g. ml ⁻¹)		
	PLACA 1	PLACA 2	PLACA CONTROL NEG
<i>Candida albicans</i>	Não apresentou halo		
<i>Candida krusei</i>	17 mm.	16 mm.	Não apresentou halo
<i>Candida utilis</i>	11 mm.	11 mm.	Não apresentou halo
<i>Aspergillus niger</i>	Não apresentou halo		
<i>Fusarium oxysporum</i>	Não apresentou halo		

A tabela 2 indica que o extrato da *Lepidium peruvianum* CHACON., atua sobre leveduras do gênero *Candida* assim mostrando halos de inibição de 16 mm sob *Candida krusei* halos de 11 mm sob *Candida utilis*.

CONCLUSÃO e DISCUSSÃO

O efeito antioxidante próprio de alguns metabolitos secundários da Maca (polifenóis, flavonoides, glicosinolatos e seus derivados após a ação da mirosinase) assim como a presença dos alcaloides imidazólicos e seu potencial efeito antifúngico, poderiam ter nos garantido um efeito mais marcado sobre as bactérias e fungos testados, uma das causas possíveis poderia ser a temperatura de preparação do extrato para este estudo o extrato foi trabalhado a temperatura ambiente, seria recomendado fazer um extrato em ebulição pois a composição

sobretudo dos produtos após a metabolização dos glicosinolatos variam com a temperatura.

Os resultados obtidos no presente trabalho mostram a importância das indicações terapêuticas das plantas, assim podemos concluir que o extrato aquoso de *Lepidium peruvianum* CHACON., apresenta atividade antimicrobiana *in vitro* sobre *Candida krusei* e *Candida utilis*, que podem estar presentes na placa bacteriana supra gengival assim como nas Candidíase vulvovaginais.

ESTUDO GALÊNICOS



9. - ESTUDOS GALÊNICOS

9.1. -INTRODUÇÃO

Tendo em vista que as formas farmacêuticas escolhidas para o desenvolvimento tecnológico foram gel e creme de uso tópico a base do extrato seco da farinha de Farinha de *Lepidium peruvianum* CHACON., nesta etapa do trabalho avaliaremos as propriedades físicas e físico-químicas das formas escolhidas.

O extrato bruto de *L. peruvianum* CHACON possui duas características que o tornam ideal para ser utilizado em formas tópicas e são sua hidrofilia e sua rápida absorção comprovada na avaliação da toxicidade aguda onde a absorção oral como a intraperitoneal foram praticamente as mesmas

A pele assim como a vagina tem sido utilizadas por muito tempo como uma via de liberação de drogas, tradicionalmente com o propósito de obter um efeito farmacológico local.

Uma grande variedade de classes de drogas foram administradas através da mucosa vaginal tais como antimicrobiais, indutores de trabalho de parto, espermicidas e hormonas sexuais. Mesmo assim desde 1920 a vagina foi considerada como um órgão incapaz absorber drogas sistematicamente.

Na maioria de casos esta via é indicada para o tratamento de distúrbios locais, mesmo assim algumas de estas drogas alcançam níveis plasmáticos suficientes para terem efeitos sistêmicos (Alexander et al., 2004; Song et al., 2004).

Atualmente, a permeabilidade da mucosa vaginal demonstrou ter uma alta absorção para substancias como agua, 17- β -estradiol, arecolina, e arecaidina, quando comparada com a mucosa intestinal (van der Bijl e van Eyk, 2003). O mecanismo de permeação para muitas substancias é por simples difusão, onde substancias hidrofóbicas são maiormente absorvidas via intracelular, de outro lado as hidrofílicas são absorvidas preferentemente através dos poros presentes na mucosa vaginal (Sassi et al., 2004).

Sistemas ideais de liberação de drogas via vaginal poderiam ser de fácil utilização, discretos, de aplicação reversível, indolores, baixo custo, ampla disponibilidade, e seguro para administração continua.

Esta via permitiria também a autoadministração, com uma interferência mínima na funcionalidade do resto do corpo e no dia a dia das pessoas. Obtendo uma alta biodisponibilidade dos fármacos (Alexander et al., 2004; Garg et al., 2003b).

Uma das vantagens da administração por via vaginal é que permite evitar o metabolismo hepático de primeiro passo, assim pode reduzir a incidência e severidade de alguns efeitos próprios da via gastrointestinal, a diminuição da ação hepática sobre certas drogas como os esteroides, evita o dano tecidual (Vermaniand Garg, 2000).

Tendo em vista que as formas farmacêuticas escolhidas para o desenvolvimento tecnológico a base do extrato de *Lepidium peruvianum* CHACON., foram gel e o creme para serem utilizados na pele ou na vagina.

9.2. - MATERIAIS

1. Matéria prima

- Extrato seco da Farinha de *Lepidium peruvianum* CHACON.

2. Equipamentos

- Chapa aquecedora Tecnal TE018
- Estufa Nova Técnica mod. NT513.
- Evaporador rotativo Marconi MA120
- Balança analítica Sartorius mod. 2632
- Destilador Fisatom mod. 525.
- Grau com Pistilo

3. Reagentes e Drogas

- Ácido esteárico (Galena)
- Água destilada
- Ácido cetosteárico (Galena)
- Carbopol 940 (Merck)
- Glicerina (Sigma)
- Trietanolamina (Sigma).

9.3. - METODOLOGIA

9.3.1. - OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO SECO DE *Lepidium peruvianum* CHACON.

O material (farinha de *Lepidium peruvianum* CHACON.) foi cedido pela Dra. Gloria Chacon Popovici taxonomista da planta y professora da Universidade Mayor de San Marcos (Lima- Peru). Deste material utilizou-se 400g para maceração em água destilada. Após três horas de maceração com agitação foi obtido o extrato aquoso por filtração. O extrato obtido foi colocado em liofilizador, para obtenção do extrato seco, porém o extrato por sua característica muito higroscópica foi levado para o dessecador. Após 15 dias no dessecador obteve-se o extrato seco, pó dividido para os testes microbiológicos, fito químicos, toxicológicos e farmacotécnicos.

9.3.2. - GEL TÓPICO À BASE DO EXTRATO de *Lepidium peruvianum* CHACON

Várias formulações centesimais foram desenvolvidas, na busca da preparação ideal, sendo selecionadas e apresentadas apenas as dez melhores neste estudo variou-se a proporcionalidade do gelificante do molhante e do dispersante.

Os géis são veículos destinados a peles oleosas e acnéicas. Neste estudo a substância gelificante foi o Carbopol 940. Este quando disperso em água, umeceta-se formando uma dispersão aquosa, com valor de pH na faixa de 2.8 a 3.2. Neste estado a molécula de Carbopol está extremamente enrolada e sua capacidade espessante é limitada. Para o espessamento é necessário à neutralização com amina de baixo peso molecular (trietanolamina, por exemplo). Ao acrescentar a trietanolamina o polímero se espessa devido à neutralização dos grupos carboxila presentes no polímero. O máximo de viscosidade do gel é com pH na faixa de 7, mas pode se estender até pH 11 (FERREIRA, 2000).

TÉCNICA PREPARATÓRIA DO GEL

Obtenção de um gel básico

Suspensão

Fórmula:

Carbopol3g (%)

Trietanolamina3mL (%)

H₂O Destilada.....q. s. p100%

Misturou-se o Carbopol com 50 mL de H₂O destilada, até uma mistura grosseira opaca. Acrescentou-se mais 100mL de H₂O destilada agitando sempre com um misturador mecânico. Adicionou-se gradativamente e sob constante agitação a trietanolamina, até obtenção de um gel de coloração bege de aspecto translúcido. Toda a operação foi realizada à temperatura ambiente. Pesaram-se do gel obtido 94g e incorporar 500mg do extrato seco de maca dissolvido em pequena quantidade de H₂O_{dest.} (5mL) agitando para uniformizar a preparação.

TABELA 08 - Variações das formulações centesimais de gel tópico à base do extrato bruto seco do *Lepidium peruvianum* CHACON.

Formulações	Gel									
Constituintes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Carbopol 940	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5
Trietanolamina	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	3,0	2,5	2,5	2,5
Extrato vegetal	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	0,5	4,0	4,0	4,0
Água dest. q. s. p	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

9.3.3. -CREME TÓPICO À BASE DO EXTRATO DE *Lepidium peruvianum* CHACON.

Algumas formulações foram testadas, escolhendo-se as melhores preparações. Destas apresentamos na tabela 08 as dez melhores atingidas. Variamos a quantidade do emulgente, do espessante e da fase dispersante. Os cremes são usados em grande escala tanto na indústria de cosméticos, quanto na de medicamentos. Isto decorre devido a três grandes fatores: é uma forma farmacêutica relativamente barata, tem uma boa penetração na pele e é de fácil remoção.

TABELA 09 - Variações das formulações centesimais de creme dermatológico (CRE) à base do extrato *Lepidium peruvianum* CHACON.

Formulações	CRE 1	CRE 2	CRE 3	CRE 4	CRE 5	CRE 6	CRE 7	CRE 8	CRE 9	CRE 10
Ácido esteárico	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	12,0	10,0
Álcool cetosteárico										10,0
Trietanolamina	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,0	3,5	3,0	2,5	3,0
Glicerina	6,5	7,0	7,5	8,0	8,5	8,0	7,5	7,0	6,5	6,0
Extrato vegetal	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Água dest. q.s.p.	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

9.3.4 TÉCNICA PREPARATÓRIA DO CREME DERMATOLÓGICO

Em um béquer de 100 mL aqueceu-se os constituintes lipossolúveis (fase lipofílica) a 70^o C. Em outro béquer aqueceu-se os constituintes hidrossolúveis (fase hidrofílica) a 70^o C. Em um gral de porcelana coloca-se a fase lipofílica, também chamada de fase dispersa, adiciona-se lentamente a fase hidrofílica, fase dispersante, e homogeniza-se com movimentos não circulares, evitando-se a aeração da preparação com formação de espuma. Ao atingir uma temperatura de 35^o C adiciona-se o extrato de *L. peruvianum* CHACON 500mg%(500mg em 99,5g do creme base) dissolvido em pequena quantidade de água destilada, ho-

mogeneiza-se até a consistência final (VILLELA, 1999). Assim se obteve um creme de coloração bege brilhante.



Figura 8 Creme e Gel de extrato bruto de Maca

9.4. -RESULTADOS E DISCUSSÃO

As formulações ideais para ação antifúngica do extrato bruto *Lepidium peruvianum* CHACON foram: Gel dermatológico o Creme tem melhor penetração (Fig 8).

9.5 CONCLUSÃO

A produção das formas farmacêuticas plásticas gel e cremes tópicos de *Lepidium peruvianum* CHACON., apresentaram-se viáveis em escala piloto. A tecnologia desenvolvida segundo a literatura forneceu produtos acabados com qualidade dentro das especificações dos compêndios oficiais.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS



10 CONCLUSÕES GERAIS

Diante do que foi projetado como objetivos fundamentais, com base nos resultados de nossa pesquisa pode - se deduzir que:

- Na revisão bibliográfica da fitoquímica desta matéria prima, onde é descrita a presença de uma grande quantidade de metabolitos secundários como polifenóis, esteroides glicosinolatos e dentre destes os alcaloides imidazólicos, possivelmente principais responsáveis pelas ações terapêuticas da *Lepidium peruvianum* CHACON contra as infecções por cândidas. A análise deste grande acervo bibliográfico somado aos ensaios realizados com o extrato nos dá à certeza de que a matéria prima é apropriada para a obtenção de um produto final com efeitos desejados.
- Seu uso popular como alimento nas comunidades alto andinas e estudos toxicológicos que indicam um valor de DL₅₀ semelhante a 15.000mg/kg (Arroyo Acevedo, J. y Sandoval de Arroyo, S. 1997) comprovam que a maca não apresenta toxicidade.
- Na obtenção das formas farmacêuticas propostas (gel e creme tópicos), a tecnologia desenvolvida segundo a literatura, forneceu produtos acabados com qualidade dentro das especificações dos compêndios oficiais.
- Com os achados deste estudo podemos concluir que o extrato do *Lepidium peruvianum* CHACON apresenta atividade antifúngica in vitro sobre Cândidas, isto nos indica a importância de se avaliar meios alternativos e economicamente viáveis para o controle das infecções vaginais e do biofilme dental causadas por estes fungos.

- E por fim apresentamos a necessidade de se avaliar estes fitoterápicos mais detalhadamente, como um meio alternativo e seguro, economicamente viável para a prevenção e cura de várias afecções tópicas, dermatológicas vaginais e bucais.

11 PERSPECTIVAS

- Controle de estabilidade química dos produtos acabados, com a determinação dos prazos de validade.
- Ensaio microbiológicos com as forma farmacêuticas acabadas.
- Isolar os Alcaloides da *Lepidium peruvianum* CHACON, e determinar se o mecanismo de ação antifúngica de extrato de maca se deve aos alcaloides imidazólicos presentes e comparar a possível ação isolada com a do extrato bruto.
- Ensaio toxicológicos pré-clínicos.
- Ensaio clínicos.
- Criar as patentes dos produtos desenvolvidos.

REFERÊNCIAS



12. - REFERÊNCIAS

ARROYO ACEVEDO, J. Y SANDOVAL DE ARROYO, S. Inocuidade de la maca (*Lepidium peruvianum* Chacón) con respecto a la DL50. Revista de la Sección Farmacología de la Facultad de Medicina Humana de la **Universidad Nacional Mayor de San Marcos**. 1997.

BAOLIANG CUI, BO LIN ZHENG, KAN HE, AND QUN YI ZHENG. Imidazole Alkaloids from *Lepidium meyenii* **Journal of Natural Products** . Vol. 66, n. 8, p. 1101-1103, 2003

CHACÓN ROLDÁN, G. Estudio fitoquímico de *Lepidium meyenii* Walp. Tesis, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima,. 1961.

CHACÓN DE POPOVICI, G. La maca Nombre científico correcto: *L.peruvianum*, **Catálogo de las Angiospermas y Gimnospermas del Perú**, Museo de Historia Natural Javier Prado, 1993.

CHACÓN DE POPOVICI, G. La importancia de *Lepidium peruvianum* Chacón (Maca) en la alimentación y salud del ser humano y animal, 2000 años antes y después de Cristo y en el siglo XXI. Servicios Gráficos Romero. Lima, Perú. 1997.

CHACÓN DE POPOVICI, G. La maca: Alimentación y salud. **Agronegocios**. Lima, Perú. no. 4,p. 50-60. 1999.

CHACÓN DE POPOVICI, G. maca (*Lepidium peruvianum* Chacón). Planta milenaria del Perú, con propiedades altamente nutricional y medicinal. Lima, Perú. 2001.

COBO, B: Historia del Nuevo Mundo. **Biblioteca de Autores Españoles** v.81 p. 430. 1956.

CONDOR SURIAQUI, DALMIRO ANIBAL. Influencia de la maca en el incremento de peso en la reproducción y descendencia de borregas en la cooperativa comunal San Ignacio de Junín. Tesis para optar el título de ingeniero zootecnista en la Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión, Cerro de Pasco.1991.

CONDORI CRUZ D., *Tecnología del chuño*, **Boletín del IDEA**. PUNO - PERU: IDEA, v. 2, n 42, p.70-97, 1992.

DARLINGTON, C. D.; JANAKI AMMAL, E. K., **Chromosome atlas of cultivated plants**. 397 p, 1945

DINI A, MIGLIUOLO G, RASTRELLI L, et al. Chemical composition of *Lepidium meyenii*. **Food Chemistry** v. 49 p. 347–349. 1994.

DINI, I TENORE, G C., & DINI A. Glucosinolates from maca (*Lepidium meyenii*). **Biochemical systematic and Ecology**, v. 30, p.1087-1090. 2002.

FARNHAM, M. W., K. STEPHENSON, AND J. W. FAHEY. Capacity of broccoli to induce a mammalian chemoprotective enzyme varies among inbred line. **Journal of the American Society of Horticultural Science** v.125, p.482-488, 2000.

GANZERA, M., ZHAO, J., MUHAMMAD, I., & KHAN I. A. Chemical profiling and standardization of *lepidium meyenii* (maca) by reversed phase high liquid chromatography. **Chemical and pharmaceutical Bulletin**, v. 50, n. 7, p. 988-991, 2002.

GARCÍA, A. Y V. CHIRINOS (eds). Manual Técnico de Producción de Maca. Recetas culinarias de la maca ¡Poderoso Reconstituyente! **Agronegocios** Lima, Perú, n. 4, p. 217-224. 1999.

GIRAULT, LOUIS. Kallawaya guérisseurs itinérants des andes, éditions de L'ORSTOM, Institut Français de Recherche Scientifique pour le Développement en Coopération Paris - **Colléction mémoires**, n. 107, 1984 .

GONZALES G F, CORDOVA A, VEGA K, et al Effect of *Lepidium meyenii* (Maca), a root with aphrodisiac and fertility-enhancing properties, on serum reproductive hormone levels in adult healthy men. **Journal of Endocrinology**, v. 176, p.163-168, 2003.

GONZALES G F, RUIZ A, GONZALES C, et al Effect of *Lepidium meyenii* (maca) roots on spermatogenesis of male rats. **Asian Journal of Andrology**, v.3, p.231-233, 2001b.

GONZALES G, CORDOVA A, GONZALES A, et al . *Lepidium meyenii* (Maca) improved semen parameters in adult men. **Asian Journal of Andrology**, v. 3, p. 301-303, 2001.

GONZALES G, CORDOVA A, VEGA K, et al Effect of *Lepidium meyenii* (MACA) on sexual desire and its absent relationship with serum testosterone levels in adult healthy men. **Andrologia** v. 34, p. 367-372. 2002.

GONZALES, C., RUBIO, J., GASCO, M., NIETO, J., YUCRA, S., & GONZALES, G. F. Effect of short-term and long-term treatments with three ecotypes of *Lepidium meyenii*(MACA) on spermatogenesis in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.103, p. 448-454, 2006.

GONZALES-CASTAÑEDA C. & GONZALES G.F, Hypocotyls of *Lepidium meyenii* (maca), a plant highlands, prevent ultraviolet A, B and C-induced skin damage in rats. **Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine**, v. 24, p. 24-31, 2008.

GUILLET . Agrarian ecology and peasant production in the Central Andes. ; **Mountain and Research Development**. v. 1, n. 1, p. 19-28, 1981.

J. DAS NEVES, M.F. BAHIA. Gels as vaginal drug delivery systems. **International Journal of Pharmaceutics** v. 318, p. 1-4 ,2006.

JOHNS T The Anu And The Maca. **Journal of Ethnobiology** , v.1, n. 2, p. 208-212,1981.

JOHNS, T. Ethnobotany and phytochemistry of *Tropaeolum tuberosum* and *Lepidium meyenii* from Andean South-America. MSc. **Thesis, Univ. of British Columbia, England**, 113 p. 1980.

LEÓN, J. The “Maca” (*Lepidium meyenii*), a little known food plant of Peru. **Economic Botany**. V. 18, n. 2, p. 122-127, 1964.

LEONARDO S BARBEDO & DIANA BG SGARBI. Candidíase. DST - **J bras Doenças Sex Transm**, v. 22, n; 1, p. 22-38, 2010.

LI, G., U. AMMERMANN, U., AND QUIRÓS, C.F. Glucosinolate contents of maca (*Lepidium peruvianum* Chacón) seeds, sprouts, mature plants and several derived commercial products. **Economic Botany** v. 55, n. 2, p. 255-262, 2001.

LÓPEZ –FANDO A., GÓMEZ-SERRANILLOS M.P., IGLESIAS I., LOCK O., UPAMAYTA U.P., CARRETERO M.E., *Lepidium peruvianum* Chacon Restores Homeostasis Impaired by Restraint Stress, **Phytoterapy Reserch** v. 18, p. 471-474, 2004.

MUHAMMAD, I., ZHAO, J., DUNBAR, D.C.,& KHAN, I.A. Constituents of *Lepidium meyenii* 'Maca'. **Phytochemistry** v. 59, p. 105-110, 2002.

OCHOA C. Y D. UGENT. Maca (*Lepidium meyenii* Walp.: Brassicaceae): A nutritious root crop of the Central Andes”, **Economic Botany** v. 55, n. 3, p. 344-345, 2001.

PACHECO, S. M. Virtudes fecundantes de la maca. **Revista Alimentaria Técnicas de crianza, cultivos y agroindustria**, n. 7, 1986.

PIACENTE, S., CARBONE, V., PLAZA, A., ZAMPELLI, A., & PIZZA, C, Investigation of the tuber constituents of maca (*Lepidium meyenii* walp). **Journal of agricultural and Food Chemistry**, v.50, p. 5621-5625, 2002.

PONCE, D. Avances logrados en el mejoramiento genético de la maca (*Lepidium meyenii*, Walp.) en Maca, **Memoria del Primer Curso Nacional de Maca. Grupo ECO**, Lima, Perú, p. 67-74, 1999.

PULGAR, J.. La Maca y el uso de la región Puna VIII. Periódico “Expreso”, 4 de julio de 1978. Lima, Perú. p. 18, 1978.

QUIRÓS, C., EPPERSON, A., HU, J. Y HOLLE, M. Physiological studies and determination of chromosome number of maca, *Lepidium meyenii* (Brassicaceae). **Economic Botany**, v. 50, n. 2, p. 216-223, 1996.

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. p. 173-197, 1997.

QUIROZ, C.F., e CÁRDENAS R.A. Maca (*Lepidium meyenii* Walp.). In: Hermann, M. and J. Heller (eds.). Andean roots and tubers: Ahipa, arracacha, maca and yacon. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 21. **Institute of Plants Genetics and Crop Plant Research. Gatersleben/ International Plant Genetic Resources Institute**. Rome, Italy p. 173-198, 1997.

REA, J. Raíces andinas: Maca. Cultivos marginados, otra perspectiva de 1492 (J.E. Hernández Bermejo y J.E. León, eds.) FAO, Roma, p. 163-166, 1992.

ROBERT A. FROMTLING. Overview of Medically Important Antifungal Azole Derivatives. **Clinical Microbiology Reviews**, p. 187-217, 1988.

ROSTOROWSKI, M. Señoríos Indígenas de Lima y Canta. Instituto de Estudios Peruanos. Primera edición. **IEP Ediciones**. Lima-Perú. p.161, 1978.
RUBIO, J., CALDAS, M., DACILA, S., GASCO, M., & GONZALES, G.F. *Lepidium meyenii*(maca) reversed the lead acetate induced-damage on reproductive function in male rats. **Food and Chemical toxicology**, v. 44, p. 1114-1122, 2006.

RUIZ, H. Relación histórica del viaje a los reinos del Perú y Chile, 1777-1778, Acad. de Ciencias Exactas: Fis y Nat. Madrid, v. 1, p. 526, 1952.

SANDOVAL A M, OKUHAMA N, ANGELES F, et al Antioxidant activity of the cruciferous vegetable Maca (*Lepidium meyenii*). **Food Chemistry**, v. 79, n. 2, p. 207-213, 2001.

STEINMETZ K.A. Y POTTER, J.D. Vegetables, fruit, and cancer prevention; a review. **J Am Diet Assoc**, v. 96, n.10, p. 1027-1039, 1996.

TAPIA, M. Agrobiodiversidad en los Andes. **Fundación Frederick Ebert. Lima, Peru**. 1999.

TELLO, J., HERMANN, M., CALDERÓN, A. La maca (*Lepidium meyenii* WALP): cultivo alimenticio potencial para las zonas altoandinas. Boletín de Lima , n. 81, p. 59-66, 1992.

TOLEDO J., P. DEHAL, F. JARRÍN, M. HERMANN, I. AL-SHEHBAZ AND C.F.

QUIROS. Genetic variability of *Lepidium meyenii* and other Andean *Lepidium* species (Brassicaceae) assessed by molecular markers. **Annals of Botany**, v.82, p. 523-530,1998.

VALENTOVÁ, K., BUCKIOVÁ, D., KREN, V., PEKNICOVÁ, J., ULRICHOVÁ, J., & SIMÁNEK, V. The in vitro biological activity of *Lepidium meyenii* extracts. **Cell Biology and Toxicology**, v. 22, p. 91-99, 2006.

VERHOEVEN, D., R. GOLDBOHM, G. VAN POPPEL, H. VERHAGEN Y P. VAN DEN BRANDT. Epidemiological studies on brassica vegetables and cancer risk. **Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention**. v. 5, n. 9, p. 733-748, 1996.

ZHANG, Y.Z., YU, L.J., AO, M.Z., & JIN, W. W. Effect of ethanol extract of *Lepidium meyenii* walp. On osteoporosis in ovariectomized rat. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 105(1-2), p. 274-279, 2006.

ZHAO, J., MUHAMMAD, I., DUNBAR, D.C. MUSTAFA, J., & KHAN, I.A. New alkamides from maca (*Lepidium meyenii*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 690-693, 2005.

ZHAO J, AVULA B, CHAN M, CLÉMENT C, KREUZER M, KHAN I.A. Metabolic Differentiation of Maca (*Lepidium meyenii*) Accessions Cultivated under Different Conditions Using NMR and Chemometric Analysis. **Planta Medica**, v. Aug 19, 2011.

ZENICO, T. CICERO A. F. G., VALMORRI, L. MERCURIALI M. & E. BERCOVICH , Subjective effects of *Lepidium meyenii* (Maca) extract on well-being and sexual performances in patients with mild erectile dysfunction: a randomized double-blind clinical trial-Blackwell GmbH, **Andrologia**, v. 41, p. 95-99, 2009.

ZHENG B L, HE K, KIM C H, et al Effect of lipidic extract from *Lepidium Meyenii* on sexual behavior in mice and rats. **Urology** v. 55, p. 598-602, 2000.

ZHENG, B., HE, K., HWANG, Z., LU, Y., YAN, S., KIM, C. Y ZHENG, Q. Effect of Aqueous Extrac from *Lepidium meyenii* on mouse Behavior in forced swimming test. **Quality Management of Nutraceuticals. American Chemical Society**, Washington-DC, p. 258-268, 2002.