



SECCIÓN ARTÍCULOS ORIGINALES  
REVISTA CENTRO DE ESTUDIOS EN SALUD  
Año 8 Vol 1 No. 10 (Pags. 120 - 130)

## EVALUACION DE LA VARIACION DE LOS COMPUESTOS PRESENTES EN ACEITE ESENCIAL DE *Ruta graveolens* L., SOMETIDA A CONDICIONES DE ESTRÉS HÍDRICO

Jaqueline Mena Huertas<sup>1</sup>, Juan Pablo García<sup>2</sup> Nathaly Nicola Benavides<sup>3</sup> María Clara Yépez<sup>4</sup>

**Fecha de recepción: sep 15 - 08**

**Aceptado: Nov 07 - 08**

### RESUMEN

Estudios farmacológicos realizados con *Ruta graveolens* (Ruda), han demostrado que en su aceite esencial existen compuestos con actividad antimicrobial, resultado que fue verificado por el grupo de investigación “prevención de cáncer” de la Universidad de Nariño, demostrando el efecto *in vitro* del aceite esencial de esta planta sobre *Helicobacter pylori*. Teniendo en cuenta que el déficit hídrico es el principal estrés abiótico que afecta al cuerpo vegetal y que genera diversas respuestas, entre las cuales destaca la alteración del metabolismo secundario y consecuentemente la presencia y concentración de los metabolitos generados, se planteó un estudio cuyo objetivo fue analizar la variación de compuestos presentes en el aceite esencial de *R. graveolens* obtenido de plantas sometidas a diferentes niveles de estrés hídrico para asociarlo con el posible efecto en la actividad bactericida. Se usaron 30 plantas de *R. graveolens*, en las que se determinó la capacidad de campo en 100ml; con base en este parámetro, se establecieron tres tratamientos con riego cada dos días: un grupo control regado con los 100ml y dos grupos de riego deficitario controlado con 50 ml y 25 ml de agua respectivamente. El material vegetal de cada tratamiento fue colectado, desinfectado y secado en horno a 64°C por 24 horas, para obtener el aceite esencial por hidrodestilación asistida por radiación con microondas, se purificó con hexano y se caracterizó por cromatografía de gases. La composición del aceite esencial de *R.*

- 
- 1 Magíster Ciencias Biológicas. Docente tiempo completo categoría Asistente. Departamento de Biología. Universidad de Nariño. sajamena@udenar.edu.co.
  - 2 Estudiante V semestre Programa de Biología. Universidad de Nariño. aikijuando@hotmail.com
  - 3 Estudiante V semestre Programa de Biología. Universidad de Nariño. na\_tik19@hotmail.com
  - 4 Magíster en Ciencias Biomédicas. Docente tiempo completo categoría Asociado. Directora Centro de estudios en salud CESUN, Universidad de Nariño. mcych@udenar.edu.co

*graveolens* tiene cambios significativos entre el tratamiento control y los dos niveles de estrés hídrico (leve y moderado), tanto en concentración como en compuestos presentes, existiendo una relación directamente proporcional entre el grado de estrés hídrico a que fue sometida la planta y el número de compuestos reportados.

**Palabras Clave:** *Ruta Graveolens*, estrés hídrico, aceites esenciales, efectos biológicos

### ABSTRACT

Pharmacological studies conducted with *Ruta graveolens* (Ruda) have shown that in its essential oil compounds exist an antimicrobial activity, this result was verified by the research group “of cancer prevention at the Nariño University, showing the effect in vitro of the essential oil of this plant on the *Helicobacter pylori*. Given that the water deficit is the major abiotic stress affects the plant body and generating various responses, which include the alteration of the secondary metabolism and consequently the presence and concentration of metabolites generated. It raised a study whose aim was to analyze the variation of compounds present in the essential oil of *R. graveolens* obtained from plants subjected to different levels of water stress and associated with the effect on the bactericidal activity. 30 plants of *R. graveolens* were used to determine in 100ml the field capacity, based on this parameter is set three irrigation treatments every two days: a control group watered with 100ml, two groups of regulated deficit irrigation with 50ml and 25ml of water respectively; material was collected from each treatment, disinfected and dried in an oven at 64°C for 24h to obtain the essential oil by hydro distillation assisted by microwave radiation, was purified with hexane and characterized by gas chromatography. The composition of essential oil of *R. graveolens* have significant changes between treatment and control the two levels of water stress (mild and moderate) on the concentration in the compounds present, there is a direct correlation between the degree of water stress that was submitted to the plant and the number of compounds reported.

**Keywords:** *Ruta Graveolens*, water, stress, essential oil, biological effects.

### INTRODUCCIÓN

Los metabolitos secundarios producidos por las plantas, han recibido especial atención en farmacología por su acción antimicrobiana y antifúngica; estudios realizados con *Ruta graveolens*, han demostrado la existencia en su aceite esencial de por lo menos 17

compuestos con actividad antimicrobial que evidencia su amplio efecto tanto sobre Bacterias Gram positivas como Gram negativas e incluso, algunos hongos. Aparentemente, los alcaloides conocidos como rutacridona-epóxido e hidroxirutacridona-hepóxido, son las sustancias activas más efectivas para el control bacteriano actuando como bactericidas.

(1,2,3,4) Con base en este hallazgo y a reportes de la cultura popular, el grupo de “Prevención de cáncer” de la Universidad de Nariño, realizó un estudio en el cual se evaluó el efecto *in vitro* de extractos acuosos y aceites esenciales de plantas medicinales promisorias de la región, sobre aislamientos de *H. pylori*, obteniendo resultados positivos sobre la inhibición del crecimiento de la bacteria, entre los cuales está el aceite esencial de follaje de ruda. (5)

Las plantas son organismos sensibles a las condiciones ambientales y teniendo en cuenta que, el agua y los nutrientes minerales coexisten en una íntima asociación, por cuanto los iones disponibles para ser asimilados por la planta se encuentran disueltos en la fracción líquida del terreno y son absorbibles gracias al flujo hídrico que discurre a lo largo de la trayectoria terreno-raíces-ramas, el déficit hídrico puede causar efectos sobre todos los aspectos del metabolismo y la estructura fina celular. (6) En la práctica agronómica, la estimulación del déficit hídrico, altera la composición, concentración y producción de metabolitos secundarios en los aceites esenciales de especies que puedan tener una implicación comercial y medicinal, (7,8) el fundamento de estas investigaciones, es considerar el agua como un factor limitante que interviene en la expresión de metabolitos secundarios en las plantas, puesto que permite la expresión de proteínas que no se sintetizan en condiciones normales y que la planta utiliza como osmoprotectores; la deficiencia de agua esta correlacionada con los procesos fotosintéticos, en donde la captación de carbono inorgánico (CO<sub>2</sub>) se ve disminuida, interviniendo en el metabolismo. (9)

El estrés hídrico desencadena una serie de respuestas tales como: la biosíntesis de metabolitos secundarios y activación

simultánea de la síntesis de proteínas específicas denominadas de estrés, hasta cambios en el desarrollo y/o reproducción de las plantas. (10)

En este estudio se evaluó la variación de los compuestos presentes en el aceite esencial de *R. graveolens* para asociarlo con su actividad bactericida y su posible efecto sobre *H. pylori*

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio de tipo experimental, de dos fases:

**Fase de invernadero:** Las plántulas de *Ruta graveolens* sometidas a tratamiento, fueron cultivadas por propagación vegetativa en vivero; se sometieron a un periodo de adaptación de dos semanas a las condiciones de invernadero y para ello, se determinaron las condiciones ideales de riego con base en su capacidad de campo y teniendo en cuenta los criterios establecidos por Bieto y Talon. (11) Una vez acondicionadas, se establecieron tres tratamientos con 10 plantas cada uno; el primero denominado “Control”, con condiciones ideales de riego -100ml de agua- y dos tratamientos deficitarios regados con 50% y 25% del contenido hídrico óptimo, denominados RD50 y RD25 respectivamente, cada dos días y durante un mes. Para verificar el grado de estrés de cada grupo se determinó déficit de saturación hídrica (DSH), que indica la magnitud en que el tejido difiere de la cantidad máxima de agua que podría absorber, con la formula:

$$DSH: 100 - [(PSat.- PF. 100)/(PSat.- PS) ]$$

Donde:

PF: Peso fresco de las hojas

PS: Peso de saturación: se mantuvo las hojas en caja petri con 20 ml de agua por 3 h.

PS: Peso seco: las hojas se secaron en una estufa a 80 °C por 24 h.

Adicionalmente se tomaron medidas de peso y altura antes y después de cada tratamiento para verificar la variación de crecimiento.

**Fase de laboratorio:** Obtención y análisis del Aceite esencial de *Ruta graveolens*

Para obtener el aceite esencial se utilizó el método de Hidrodestilación asistida por radiación con microondas (MWHd), usando los parámetros previos establecidos por Mena y Yépez.<sup>(12)</sup> El material foliar de las plantas seleccionado de cada tratamiento, se secó en mufla a 65°C por 24 horas. Se tomaron 60 gr del material macerado y se introdujeron en un balón de 4 litros de capacidad, al cual se le adicionaron 500 ml de agua destilada y se acopló al sistema de Hidrodestilación.

La extracción se realizó utilizando un horno microondas Electrolux®, modelo EME28ID2SS, con una potencia de salida de 850 w, durante 1 hora y al 60% de la potencia de salida, con 1 minuto intermedio de descanso cada 10 minutos. El aceite fue recogido en tubo ependorff de 1,5 ml previamente esterilizado y cubierto con papel aluminio, con el fin de conservar adecuadamente la muestra.

Con un embudo de separación y utilizando hexano, se purificó el aceite esencial. El aceite purificado se analizó por método de Cromatografía de Gases CG en un cromatógrafo SHIMADZU 6C17A, detector FID con una temperatura de 280°C, inyección modo SPIH 1:30 con una temperatura de inyección de 250°C; programación de temperatura de 50°C (2 min) hasta 250°C (3 min) 10°C cada minuto. Columna DB-SMB (30m, 0.25 µm) Lyw. Patrones de cálculo de índice de Kovats con estándar de n-parafinas RESTEK 99.9 % pureza de C6-C24

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Fase de invernadero

Los resultados del cálculo de contenido hídrico (CRH) de la Tabla 1, permiten determinar que las plantas de los tratamientos RD50 y RD25, estuvieron en grado de estrés leve y moderado respectivamente, según los criterios de Hsiao<sup>(13)</sup>

**Tabla 1. Cálculo de CRH para los tres tratamientos y determinación del nivel de estrés hídrico**

TRATAMIENTO	MEDIDAS					Nivel de estrés Hídrico de acuerdo con los criterios de Hsiao
	PF	PT	PS	CRH	Variación Respecto al control	
Riego Normal	0,016	0,02	0,014	50	-	Control
RD 50	0,02	0,022	0,017	42,1	7,9 %	<b>Estrés leve:</b> disminución del CRH en un 8-10 % respecto a plantas control
RD 25	0,016	0,018	0,014	35	15 %	<b>Estrés moderado:</b> disminución del CRH entre un 10 y un 20% con respecto al control

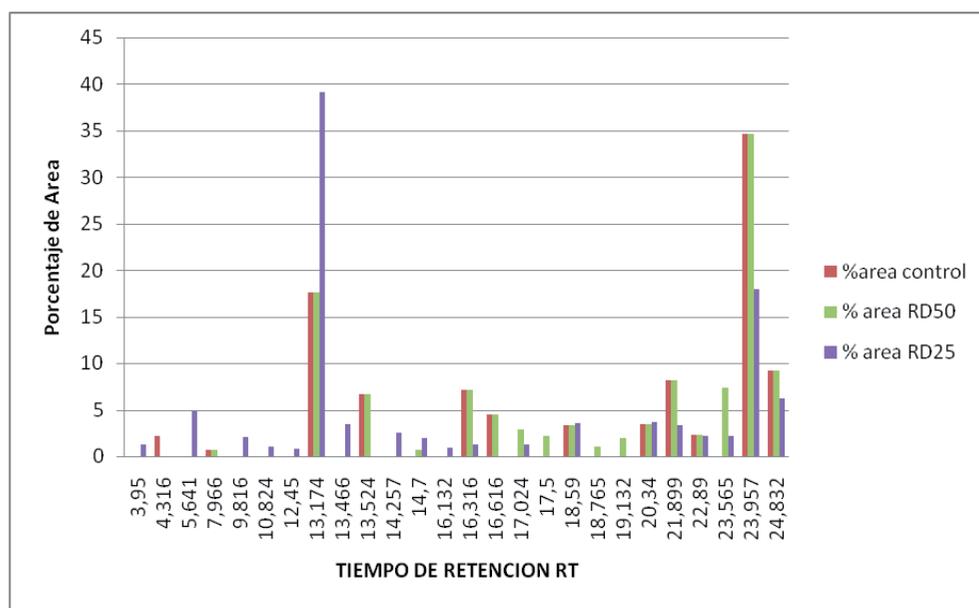
Al finalizar los tratamientos, se observaron diferencias en el peso y altura de las plantas de los tres tratamientos verificados con análisis de varianza; para el peso, se obtuvo un valor  $P=0,00008$  para un  $\alpha 0,05$  y la prueba de medias de Tukey evidenció diferencias entre los tres tratamientos, siendo el de mayor peso el de las plantas del grupo control; para altura, el análisis de varianza presentó un  $P=0,0002$  para un  $\alpha=0,05$ ; el análisis de rangos múltiples de Tukey mostró diferencias entre las plantas del grupo control y los demás tratamientos. En el experimento se observó que ante el riego deficitario, la planta prosiguió en su crecimiento, aunque hay una disminución de biomasa, acorde con varios estudios en los cuales se reporta

que en estrés hídrico puede haber reducción en la síntesis de proteínas totales y disociación temprana de ribosomas;<sup>(14)</sup> además, en estas condiciones ocurre la síntesis de proteínas especiales que proveen a la planta de mecanismos osmoprotectores, que producen cambios en los metabolitos secundarios generados.<sup>(15)</sup>

### Fase de laboratorio

Al analizar los cromatogramas se encontraron diferencias tanto en número, como en concentración y tipo de compuestos en los tratamientos determinados como estrés leve y estrés moderado, en comparación con el tratamiento control (Figura 1, Tablas 2, 3 y 4)

**Figura 1. Resultado de Cromatograma: Compuestos obtenidos en cada uno de los tratamientos de plantas sometidas diferentes niveles de estrés (Tiempo de retención v.s porcentaje de área de picos observados en CG)**



**Tabla 2. Resultados de cromatograma para plantas control**

UNIVERSIDAD DE NARIÑO - ANALISIS ACEITE ESENCIAL DE RUDA MUESTRA NORMAL							
CROMATOGRAFIA DE GASES -DETECTOR FID							
Pico No	Tr	% Area	Ik Exp	Posible Compuesto	Ik Teórico	Posible Compuesto	Ik Teórico
1	4,316	2,186	778	Buten-2-ol acetate <2-methyl-3->	777		
2	7,966	0,716	980	Menthane <trans-para->	979	Pinene <beta->	979
3	13,174	17,632	1242	Cumin aldehyde	1242	Anisaldehyde <orto->	1242
4	13,524	6,623	1253	Geraniol	1253	Piperitone	1253
5	16,316	7,183	1448	Seychellene	1447	Dodecadien-1-ol<2Z,6	1447
6	16,616	4,476	1459	Farnesene <(E)-beta->	1457	Sesquisabinene	1460
7	18,59	3,357	1635	Isoborneol <8-isobutyryloxy->	1634	Hexenyl Phenyl Aceta	1634
8	20,34	3,5	1807	Nootkatone	1807	Salicyllate, 2-ethylhex	1807
9	21,899	8,159	1877	Hexadecanol <n->	1876	Cubitene	1879
10	22,89	2,355	2009	Hexadecyl acetate	2004	Coumarin <7-hydroxy	1014
11	23,957	34,639	2030	Isopropyl hexadecanoate	2025	Bergaptene <iso->	2035
12	24,832	9,174	2046	Canellal	2046		

**Tabla 3. Resultados de cromatograma para plantas sometidas a estrés leve**

UNIVERSIDAD DE NARIÑO-ANÁLISIS ACEITE ESENCIAL DE RUDA MUESTRA RD25 ANÁLISIS POR CROMATOGRFIA DE GASES DETECTOR FID							
Pico No	Tr	% Area	Ik Exp	Posible Compuesto	Ik Teórico	Posible Compuesto	Ik Teórico
1	3,95	1,314	752	NI			
2	5,641	4,861	856	Salvene <Z->	856		
3	9,816	2,106	1081	Vertocitral C <cis->	1080	Tolualdehyde	1082
4	10,824	1,072	1138	Mentha-2,8-dien-1-ol<cis-para->	1138	Thujanol <iso-3->	1138
5	12,45	0,858	1218	Isophorone <4-methylene->	1218		
6	13,174	39,117	1242	Cumin aldehyde	1242	Anisaldehyde <orto->	1242
7	13,466	3,439	1251	Anis aldehyde <para->	1250	Thymoquinone	1252
8	14,257	2,587	1276	Ment-1-en-7-al <para->	1276	Carvone oxide <trans->	1276
9	14,7	1,935	1291	Sabinyl Acetate <trans->	1291	Indole	1291
10	16,132	0,924	1442	Aromadendrene	1441	Farnesene <(Z)-beta->	1443
11	16,316	1,27	1448	Seychellene	1447	Dodecadien-1-al<2Z,6E->	1447
12	17,024	1,31	1474	Terpinyl isobutanoate <alpha->	1473	Isobornyl n-butanoate	1475
13	18,582	3,572	1635	Isoborneol <8-isobutyryloxy->	1634	Hexenyl Phenyl Aceta	1634
14	20,332	3,685	1807	Nootkatone	1807	Salicyllate, 2-ethylhex	1807
15	21,907	3,361	1878	Hexadecanol <n->	1876	Cubitene	1879
16	22,89	2,18	2009	Hexadecyl acetate	2004	Coumarin <7-hydroxy->	1014
17	23,565	2,24	2022	Abieta-8,12-diene	2023		
18	23,965	17,92	2030	Isopropyl hexadecanoate	2025	Bergaptene <iso->	2035
19	24,832	6,255	2046	Canellal	2046		

**Tabla 4. Resultados de cromatograma para plantas sometidas a estrés moderado**

UNIVERSIDAD DE NARIÑO -ANÁLISIS DE ACEITE ESENCIAL DE RUDA MUESTRA RD50							
Pico No	Tr	% Area	Ik Exp	Posible Compuesto	Ik Teórico	Posible Compuesto	Ik Teórico
1	7,966	0,716	980	Menthane <trans-para->	979	Pinene <beta->	979
2	13,174	17,632	1242	Cumin aldehyde	1242	Anisaldehyde <orto->	1242
3	13,524	6,623	1253	Geraniol	1253	Piperitone	1253
4	14,757	0,691	1292	Sabinyl Acetate <trans->	1291	Indole	1291
5	16,316	7,183	1448	Seychellene	1447	Dodecadien-1-al<2Z,6E->	1447
6	16,616	4,476	1459	Farnesene <(E)-beta->	1457	Sesquisabinene	1460
7	17,024	2,914	1474	Terpinyl isobutanoate <alpha->	1473	Isobornyl n-butanoate	1475
8	17,5	2,142	1492	Metil Isoeugenol	1492	Calameno	1492
9	18,59	3,357	1635	Isoborneol <8-isobutyryloxy->	1634	Hexenyl Phenyl Aceta	1634
10	18,765	1,09	1642	Murolol	1642	Hinesol, Daucol	1642
11	19,132	1,92	1657	Geraniol Valerato	1657	Valerianol	1658
12	20,34	3,5	1807	Nootkatone	1807	Salicyllate, 2-ethylhex	1807
13	21,899	8,159	1877	Hexadecanol <n->	1876	Cubitene	1879
14	22,89	2,355	2009	Hexadecyl acetate	2004	Coumarin <7-hydroxy->	1014
15	23,565	7,321	2022	Abieta-8,12-diene	2023		2023
16	23,957	34,639	2030	Isopropyl hexadecanoate	2025	Bergaptene <iso->	2035
17	24,832	9,174	2046	Canellal	2046		

Los cambios en el balance hídrico celular, constituyen una de las principales causas de las alteraciones en la fotosíntesis y en el crecimiento, puesto que, en condiciones de estrés, se estimulan otras rutas que conducen a la formación de compuestos usualmente distintivos de ciertos grupos taxonómicos. Estas

rutas constituyen el metabolismo secundario y sus productos se denominan metabolitos secundarios, como en el caso de los compuestos que forman el aceite esencial. (16) Esto explica porqué en el tratamiento normal, se pueden diferenciar 12 compuestos y en los tratamientos de estrés hídrico leve y moderado, el número

de compuestos presentes en el aceite esencial aumentó a 17 y 19 respectivamente, puesto que se estimuló el metabolismo secundario.

En la figura 1 y las tablas 2 a 4, se puede apreciar la presencia de posibles compuestos comunes reportados por CG (según índice de Kovats), de importancia para el control bacteriano en los tres tratamientos, los cuales son: *coumarin 7 hidroxil*: pertenece al grupo de las cumarinas, característico del aceite esencial de *R. graveolens* y con amplio rango de acción biológica, entre las que se puede citar: acción antibacteriana, antibiótica, antifúngica, anticoagulante, antiinflamatoria y analgésica, aunque existen reportes de hepatotoxicidad y citotoxicidad. (17, 18, 19, 20, 21) *Canellal*: un sesquiterpeno que se encuentra en diversas plantas y asociado a actividad antibacteriana; ha favorecido la disminución del crecimiento de células tumorales *in vitro*, aunque también está asociado a procesos de citotoxicidad. (22, 23) *Nootkanone*: Sesquiterpeno que eventualmente puede estar asociado a actividad antibacteriana. (24) *Isoborneol*: Alcohol bicíclico que puede afectar el crecimiento bacteriano *in vitro*. (25)

También se encontraron compuestos que únicamente aparecen en el tratamiento control y en el sometido a estrés leve, con valor bactericida que se pierde en plantas sometidas a estrés moderado como: *Geraniol*: alcohol acíclico que ha sido reportado principalmente con efecto insecticida, pero además puede tener efecto *in vitro*, provocando inhibición en el crecimiento de algunas bacterias; también se ha reportado con efecto antioxidante y protector de las membranas celulares, (26, 27) *Farnesol*: alcohol que recientemente ha sido reportado como protector en el desarrollo de tumores, (28) probablemente protegiendo la mucosa gástrica cuando se

infecta con *H. pylori*, evitando el desarrollo de neoplasias y afectando el crecimiento de esta bacteria; además se ha reportado su efecto bactericida sobre *Candida albicans*. (29) *α-Pinene*: Monoterpeno presente en el aceite esencial de diversas plantas superiores con efecto fungicida, bactericida y antimicrobiano, entre otros. (30, 31)

En aquellas plantas sometidas a estrés leve y moderado, aparecen compuestos comunes como: *Indol*, una auxina de tipo alcaloide que experimentalmente ha presentado efectos protectores en el desarrollo de algunos cánceres; (32) de igual manera, por su naturaleza alcaloide, podría tener efecto bactericida, lo cual favorecería el efecto de control sobre *H. pylori*; (33) *Isobornil butanoate*, aunque no se consiguen informes de actividad bactericida, ha sido reportado como un posible medicamento para el control de tumores cancerígenos, (34) que en el caso del tratamiento para la infección por *H. pylori*, sería de gran beneficio *in vivo* puesto que podría realizar un efecto de protección al epitelio gástrico, disminuyendo la formación de úlcera y consecuentemente de neoplasias y metaplasia; (35) *Abieta 8,12 dieno* es un diterpenoide que está asociado con actividad antiparasitaria, antitumoral pero también se reportan algunos efectos citotóxicos. (36)

En estrés leve se observan compuestos exclusivos como: *Calameneno*, un sesquiterpeno presente en el aceite esencial de diversas plantas con reportes de actividad antiinflamatoria y antiulcerosa, (37, 38) que sería de gran importancia en la prevención del desarrollo de cáncer gástrico asociado a la infección por *H. pylori*; también se encuentra *Hinesol*, otro sesquiterpeno que presenta actividad antifúngica, (39) y *Valerianol* un terpenoide que puede tener efectos citotóxicos. (40)

En el caso de plantas sometidas a estrés moderado, aparecen compuestos exclusivos como Salvene (RT5,641), Vertocitral (RT9,816), Mentha-2,8-dien-1-ol (cis-para)(RT 10,824), Isophorone (RT 12,45), Anís aldehído (RT13,466), Ment-1-en-7-al(RT 13,466), Aromadendreno(RT 14,25) (figura 1), que según la literatura, pueden tener efectos microbiológico, insecticida, genotóxico y citotóxico,<sup>(41)</sup> y aumenta considerablemente la concentración de *Cumin aldehído*, del cual existen varios reportes sobre su actividad en bacterias Gram positivas y Gram negativas,<sup>(42)</sup> además de otros efectos analgésicos y antiinflamatorios;<sup>(43)</sup> también se observa incremento en la concentración de *Isoborneol* y *Notkatone*, que tiene efectos bactericidas potenciales, por tanto, este aceite esencial puede producir mayor efecto bactericida que el obtenido en condiciones de riego normal.

El efecto de la restricción hídrica sobre los aceites esenciales de *R. graveolens* en este estudio es variable, coincidiendo con estudios similares realizados en otras plantas,<sup>(44)</sup> que han demostrado que la composición de ellos en una misma especie es muy diversa y que es necesario estudiar cada uno de los compuestos en diferentes condiciones controladas.<sup>(45,46)</sup>

En conclusión, la composición del aceite esencial de *Ruta graveolens* tiene cambios significativos entre el tratamiento control y los dos niveles de estrés hídrico (leve y moderado), tanto en la concentración como en el número de compuestos reportados, existiendo relación directamente proporcional entre el grado de estrés hídrico al cual es sometida la planta y el número de compuestos reportados.

En condiciones de estrés leve y moderado, se estimula el incremento de la concentración,

de algunos compuestos y la aparición de otros diferenciales con actividad antibiótica, que puede incrementar su efecto bactericida convencional, pero también se reportan compuestos con una diversa actividad biológica, que probablemente podría realizar un efecto protector de la mucosa gástrica como en el caso de la infección por *H. pylori*

## RECOMENDACIONES

Considerando que en estudios anteriores se ha demostrado el efecto del aceite esencial de *R. graveolens* sobre *H. pylori*, que las condiciones de estrés alteran la composición del aceite esencial y consecuentemente, el efecto biológico que convencionalmente presenta (incrementando o disminuyendo), es necesario hacer nuevas pruebas *in vitro* con cada uno de los extractos analizados en este estudio, con el fin de verificar su actividad microbiológica sobre *H. pylori*. Además, teniendo en cuenta las propiedades de los compuestos encontrados por CG, es conveniente analizar otros efectos como: la actividad antioxidante, antiradical y/o como supresor tumoral, por que indirectamente puede tener un efecto protector de la mucosa gástrica en el desarrollo de la infección gástrica por esta bacteria.

## AGRADECIMIENTOS:

Al sistema de investigaciones de la Universidad de Nariño, al Centro de Estudios en Salud, la Planta Piloto y la sección de laboratorio de la Universidad de Nariño porque permitieron el desarrollo de esta investigación. A las profesoras del programa de Biología Aida Baca y Ayda Patiño por sus orientaciones en el desarrollo de este trabajo.

## REFERENCIAS

1. Wolters B, Eilert U. 1981. Antimicrobial Substances in Callus Cultures of *Ruta graveolens*. *Planta Med.* Oct;43(10):166-74.
2. Ojala T, Remes S, Haansuu P, Vuorela H, Hiltunen R, Haahtela K, Vuorela P. 2000. Antimicrobial activity of some coumarin herbal plants growing in Finland. *J. Ethnopharmacol.* Nov;73(1-2):299-305
3. Ivanova A, Mikhova B, Najdenski H, Tsvetkova I, Kostova I. 2005. Antimicrobial and cytotoxic activity of *Ruta graveolens*. *Fitoterapia.* 2005 Jun;76(3-4):344-7.
4. F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck and M. Idaomar. 2008. Biological effects of essential oils – A review. *Food and chemical toxicology*, Volume 46, Issue 2, February 2008, Pages 446-475
5. Mena, J. y Yepez, M. 2007. Actividad antibacteriana *in vitro* de extractos de plantas regionales promisorias sobre aislamientos de *Helicobacter pylori*. *Universidad y Salud.* Año7 Vol1 No.8 (pags 7-15)
6. F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck and M. Idaomar. 2008. Biological effects of essential oils – A review. *Food and chemical toxicology*, Volume 46, Issue 2, February 2008, Pages 446-475
7. Jimenez, M. 2003. Efecto del Estrés Hídrico entre Cauaja – Pinta y Pinta – Cosecha sobre la composición fenólica en Bayas y Vinos de CV. “*Cabernet sauvignon*” Talaca – Chile. Tesis Doctoral de la Universidad de Talaca en la Facultad de Ciencias Agrarias.
8. Rodríguez, J. y Fischer, G. 2007. Balance hídrico e influencia del estrés hídrico en la inducción y desarrollo floral de la mandarina “Arrayana” en el piedemonte llanero de Colombia. *Agronomía Colombiana* 25(2): 255-263.
9. Tambussi E. 2000 Fotosíntesis, fotoprotección, productividad y estrés abiótico: algunos casos de estudio. Tesis Doctoral. División de Ciencias Experimentales y Matemáticas, Facultad de Biología, Departamento de Biología Vegetal. Universidad de Barcelona
10. Rodríguez A., García T. y Muñoz J. 2003. Análisis bioquímico y fisiológico de *Fouquieria splendens* ssp. *breviflora* bajo la acción de agentes de estrés hídrico. *Polibotanica.* Núm.16, pp.49-62, ISSN 1405-2768; México, 2003
11. Bieto, J. & Talon, M. 1993. Fisiología y bioquímica vegetal. Interamericana McGraw – Hill.
12. Mena, J. y Yepez, M. 2007. Actividad antibacteriana *in vitro* de extractos de plantas regionales promisorias sobre aislamientos de *Helicobacter pylori*. *Universidad y Salud.* Año7 Vol1 No.8 (pags 7-15)
13. Tambussi E. 2000 Fotosíntesis, fotoprotección, productividad y estrés abiótico: algunos casos de estudio. Tesis Doctoral. División de Ciencias Experimentales y Matemáticas, Facultad de Biología, Departamento de Biología Vegetal. Universidad de Barcelona.
14. Rodríguez A., García T. y Muñoz J. 2003. Análisis bioquímico y fisiológico de *Fouquieria splendens* ssp. *breviflora* bajo la acción de agentes de estrés hídrico. *Polibotanica.* Núm.16, pp.49-62, ISSN 1405-2768; México, 2003
15. Tambussi E. 2000 Fotosíntesis, fotoprotección, productividad y estrés abiótico: algunos casos de estudio. Tesis Doctoral. División de Ciencias Experimentales y Matemáticas, Facultad de Biología, Departamento de Biología Vegetal. Universidad de Barcelona
16. Arango, G.J. 2008. Introducción al Metabolismo secundario - Compuestos derivados del Ácido Shikímico. Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia. Medellín.

17. Ojala T, Remes S, Haansuu P, Vuorela H, Hiltunen R, Haahtela K, Vuorela P. 2000. Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland. *J Ethnopharmacol.* 2000 Nov;73(1-2):299-305
18. Luchini AC, Rodrigues-Orsi P, Cestari SH, Seito LN, Witacenis A, Pellizzon CH, Di Stasi LC. 2008. Intestinal anti-inflammatory activity of coumarin and 4-hydroxycoumarin in the trinitrobenzenesulphonic acid model of rat colitis. *Biol Pharm Bull.* 2008 Jul;31(7):1343-50
19. Stehle S, Kirchheiner J, Lazar A, Fuhr U. 2008. Pharmacogenetics of oral anticoagulants: a basis for dose individualization. *Clin Pharmacokinet.* 2008;47(9):565-94.
20. Sharma RK, Negi DS, Gibbons S, Otsuka H. Chemical and antibacterial constituents of *Skimmia anquetelia*. *Planta Med.* 2008 Feb;74(2):175-7. Epub 2008 Jan 31
21. Arango, G.J. 2008. Introducción al Metabolismo secundario - Compuestos derivados del Ácido Shikimico. Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia. Medellín
22. Wube AA, Bucar F, Gibbons S, Asres K. Sesquiterpenes from *Warburgia ugandensis* and their antimycobacterial activity. *Phytochemistry.* 2005 Oct;66(19):2309-15.
23. Esmaeili A, Rustaiyan A, Nadimi M, Larijani K, Nadjafi F, Tabrizi L, Chalabian F, Amiri H. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from leaves, stems and flowers of *Salvia reuterana* Boiss. grown in Iran. *Nat Prod Res.* 2008 Apr 15;22(6):516-20
24. Boonsri S, Karalai C, Ponglimanont C, Chantrapromma S, Kanjana-Opas A. Cytotoxic and antibacterial sesquiterpenes from *Thespesia populnea*. *J Nat Prod.* 2008 Jul;71(7):1173-7. Epub 2008 Jun 14
25. Vardar-Unlü G, Candan F, Sökmen A, Daferera D, Polissiou M, Sökmen M, Dönmez E, Tepe B. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey. Var. *pectinatus* (Lamiaceae). *J Agric Food Chem.* 2003 Jan 1;51(1):63-7
26. Maruyama N, Takizawa T, Ishibashi H, Hisajima T, Inouye S, Yamaguchi H, Abe S. Protective activity of geranium oil and its component, geraniol, in combination with vaginal washing against vaginal candidiasis in mice. *Biol Pharm Bull.* 2008 Aug;31(8):1501-6.
27. Radonic A, Milos M.. Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant effect of free volatile compounds from *Satureja montana* L. *Free Radic Res.* 2003 Jun;37(6):673-9
28. Scheper MA, Shirliff ME, Meiller TF, Peters BM, Jabra-Rizk MA. Farnesol, a fungal quorum-sensing molecule triggers apoptosis in human oral squamous carcinoma cells. *Neoplasia.* 2008 Sep;10(9):954-63
29. Kebaara BW, Langford ML, Navarathna DH, Dumitru R, Nickerson KW, Atkin AL. *Candida albicans* Tup1 is involved in farnesol-mediated inhibition of filamentous-growth induction. *Eukaryot Cell.* 2008 Jun;7(6):980-7. Epub 2008 Apr 18.
30. Hofstetter RW, Mahfouz JB, Klepzig KD, Ayres MP. Effects of tree phytochemistry on the interactions among endophloedic fungi associated with the southern pine beetle. *J Chem Ecol.* 2005 Mar;31(3):539-60.
31. Rasooli I, Fakoor MH, Yadegarinia D, Gachkar L, Allameh A, Rezaei MB. Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. *Int J Food Microbiol.* 2008 Feb 29;122(1-2):135-9. Epub 2007 Nov

32. Oliveira DL, Pugine SM, Ferreira MS, Lins PG, Costa EJ, de Melo MP. Influence of indole acetic acid on antioxidant levels and enzyme activities of glucose metabolism in rat liver. Cell Biochem Funct. 2007 Mar-Apr;25(2):195-201
33. Louie A, Brown DL, Liu W, Kulawy RW, Deziel MR, Drusano GL In vitro infection model characterizing the effect of efflux pump inhibition on prevention of resistance to levofloxacin and ciprofloxacin in *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. 2007 Nov;51(11):3988-4000. Epub 2007 Sep 10.
34. Xia Z, Wiebe LI, Miller GG, Knaus EE Synthesis and biological evaluation of butanoate, retinoate, and bis (2,2,2-trichloroethyl) phosphate derivatives of 5-fluoro-2'-deoxyuridine and 2',5-difluoro-2'-deoxyuridine as potential dual action anticancer prodrugs. Arch Pharm (Weinheim). 1999 Aug;332(8):286-94.
35. Gasbarrino, A., Franceschi, F. y Gasbarrini, G. 1998. *Helicobacter pylori* y enfermedades extradigestivas. En: Infección por *Helicobacter pylori* en lesiones gastroduodenales La segunda década. Editorial Proas Science S.A. Barcelona España. p. 99 – 105
36. Wang YB, Huang R, Wang HB, Jin HZ, Lou LG, Qin GW. Diterpenoids from the roots of *Euphorbia fischeriana*. J Nat Prod. 2006 Jun;69(6):967-7
37. Salmoun M, Braekman JC, Ranarivelo Y, Rasamoelisendra R, Ralambomanana D, Dewelle J, Darro F, Kiss R. New calamenene sesquiterpenes from *Tarenna madagascariensis*. Nat Prod Res. 2007 Feb;21(2):111-20
38. Esteves I, Souza IR, Rodrigues M, Cardoso LG, Santos LS, Sertie JA, Perazzo FF, Lima LM, Schneedorf JM, Bastos JK, Carvalho JC. Gastric antiulcer and anti-inflammatory activities of the essential oil from *Casearia sylvestris* Sw. J Ethnopharmacol. 2005 Oct 3;101(1-3):191-6.
39. Hashimoto T, Noma Y, Kato S, Tanaka M, Takaoka S, Asakawa Y. Biotransformation of hinesol isolated from the crude drug *Atractylodes lancea* by *Aspergillus niger* and *Aspergillus cellulosa*. Chem Pharm Bull (Tokyo). 1999 May;47(5):716-7
40. Ishida T. Biotransformation of terpenoids by mammals, microorganisms, and plant-cultured cells. Chem Biodivers. 2005 May;2(5):569-90.
41. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck and M. Idaomar. 2008. Biological effects of essential oils – A review. Food and Chemical Toxicology, Volume 46, Issue 2, February 2008, Pages 446-475
42. Iacobellis NS, Lo Cantore P, Capasso F, Senatore F. Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. essential oils. J Agric Food Chem. 2005 Jan 12;53(1):57-61
43. Hajhashemi V, Ghannadi A, Jafarabadi H. *Black cumin* seed essential oil, as a potent analgesic and antiinflammatory drug. Phytother Res. 2004 Mar;18(3):195-9
44. Rodríguez A., García T. y Muñoz J. 2003. Análisis bioquímico y fisiológico de *Fouquieria splendens* ssp. breviflora bajo la acción de agentes de estrés hídrico. Polibotanica. Núm.16, pp.49-62, ISSN 1405-2768; México, 2003
45. F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck and M. Idaomar. 2008. Biological effects of essential oils – A review. Food and Chemical Toxicology, Volume 46, Issue 2, February 2008, Pages 446-475
46. Wolters B, Eilert U. Antimicrobial Substances in Callus Cultures of *Ruta graveolens*. Planta Med. 1981 Oct;43(10):166-74.