

ESTUDIO FARMACOGNÓSTICO PARA EL CUIDADO DE LA SALUD A PARTIR DE ACEITES ESENCIALES OBTENIDOS POR DESTILACIÓN DE ARRASTRE DE VAPOR

Martha Cecilia Beltrán Cifuentes*, Enelia Cristina Peláez Gutiérrez**,
Jorge Mario Estrada Álvarez**, Juan Antonio Escobar Ríos**,
Leticia Serna Ángel***, Duvier Ríos Morales****

Resumen

Introducción: la medicina natural aborda de forma considerable el conocimiento etnobotánico de las plantas medicinales a partir del estudio de sus principios activos, mediante técnicas de fotoquímica en la aplicación de los diferentes campos de la salud.

La producción de plantas medicinales y aromáticas resulta rentable cuando se le da un valor agregado a la producción primaria, es decir, se comercializan no como drogas vegetales frescas o secas, sino procesadas y transformadas de donde se obtienen extractos, aceites o pueden elaborarse fitomedicamentos, fitocosméticos, etc.

Método: se realizó un estudio con abordaje experimental, donde se tomó como referente algunas especies del género *Ocimum* pertenecientes a la familia Labiatae (Lamiaceae) cultivadas en el departamento de Risaralda. Las especies estudiadas correspondieron a las variedades: *O. basilicum* L. var *cinammom*, *O. anisatum*, *O. purpurescens*, *O. album*, *O. thrysiflorum*, *O. cf. Gratissimum*.

Los aceites esenciales fueron obtenidos de la parte aérea de cada especie vegetal, mediante extracción por destilación de arrastre de vapor y extracción líquido-líquido con acetato de etilo. Este procedimiento se realizó por triplicado para cada especie y su composición química fue determinada por GC-MS.

Para la identificación de los componentes de los aceites se usó la base de datos de la librería Wiley (Séptima edición versión 2003). El registro de los datos se realizó a través del programa Microsoft Excel.

Resultados: la composición química de los aceites esenciales obtenida por GC-MS, reportaron un contenido alto en fenilpropanos (eugenol, (E)-cinamato de metilo y (Z)-cinamato de metilo) y monoterpenos oxigenados (eucaliptol, α -terpineol, β -terpineol y linalool).

Conclusiones: los resultados obtenidos son confirmados al revisar los reportes de otros estudios sobre la composición química de algunas variedades de albahaca cultivadas en el departamento del Tolima. En este estudio se encontró un quimiotipo para ellas "cinamato de metilo", y que los volátiles de estos vegetales eran ricos en fenilpropanoides.

Palabras clave: farmacognosia, *ocimum*, aceites esenciales, GC-MS, destilación, composición química.

- * Candidata MSc. Biología Molecular y Biotecnología. Especialista en Biología Molecular y Biotecnología. Licenciada en Biología y Química. Líder Grupo de Investigación en Biotecnología y Biodiversidad GIBIBIO. Coordinadora Laboratorio de Biotecnología. Facultad de Ciencias Básicas, Fundación Universitaria del Área Andina Seccional Pereira, Risaralda. marthacb51@hotmail.com
- ** Fundación Universitaria del Área Andina Seccional Pereira.
- *** Ph.D. Mejoramiento y Biotecnología Vegetal, MSc. Genética. Investigadora GIBIBIO. letisera25@hotmail.com
- **** Ingeniero Agrónomo. Investigador GIBIBIO. duviermorales@terra.com.co

I STUDY FARMACOGNOSICO FOR THE CARE OF THE HEALTH FROM ESSENTIAL OILS OBTAINED BY DISTILLATION OF STEAM DRAGGING

Abstract

Introduction: natural medicine has substantially addressed the ethnobotanical knowledge of medicinal plants from the study of active principles, using techniques of phytochemistry, for application in different fields of health, including cosmetology.

The production of medicinal and aromatic plants is cost-effective when given added value to primary production, those are not as drugs marketed fresh or dried vegetables, but processed and transformed. In that sense can be obtained extracts, oils or develop phytomedicines, phytocosmetic, etc.

Method: a study with an experimental approach which was taken as reference of the genus *Ocimum* species belonging to the family Labiatae (Lamiaceae) that are cultivated in the Department of Risaralda. The species studied were of the varieties: *O. basilicum* L. var *cinammom*, *O. anisatum*, *O. purpurescens*, *O. album*, *O. thrysiflorum*, *O. cf. gratissimum*.

Essential oils were obtained from the aerial parts of each plant species by extraction of the steam distillation and solvent extraction with ethyl acetate. This procedure was performed in triplicate for each species and its chemical composition was determined by GC-MS.

To identify the components of the oils used the database Wiley library (Seventh Edition Version 2003). The recording of data was performed using Microsoft Excel program.

Results: the chemical composition of essential oils obtained by GC-MS, reported high in phenylpropane (eugenol, (E)-methyl cinnamate (Z)-methyl cinnamate) and oxygenated monoterpenes (eucalyptol, α -terpineol, β -terpineol and linalool).

Conclusions: the results are confirmed by reviewing reports from other studies on the chemical composition of some varieties of basil grown in the department of Tolima. This study found a chemotype for them "methyl cinnamate", and volatiles of these plants were rich in phenylpropanoids.

Keywords: farmacognosia, ocimum, essential oils, GC-MS, distillation, chemical composition.

ESTUDO FARMACOGNÓSTICO PARA O CUIDADO DA SAÚDE A PARTIR DE AZEITES VEGETAIS OBTIDOS POR DESTILAÇÃO DE ARRASTE DO VAPOR

Resumo

Introdução: a medicina natural tem abordado consideravelmente o conhecimento etnobotânico das plantas medicinais, a partir do estudo de seus principais ativos, mediante técnicas de fitoquímica, da aplicação em diferentes campos da saúde, entre os quais a cosmetologia.

Método: foi feito um estudo com abordagem experimental, onde se tomaram como referentes algumas espécies do gênero *Ocimum*, da família Labiatae (Lamiaceae), que são cultivadas no Departamento de Risaralda. As espécies estudadas corresponderam às variedades: *O. basilicum* L. var *cinammom*, *O. anisatum*, *O. purpurescens*, *O. album*, *O. thrysiflorum*, *O. cf. Gratissimum*.

Os azeites essenciais foram obtidos da parte aérea de cada espécie vegetal, pela extração por destilação de arraste de vapor e sua composição química foi determinada por GC-MS.

Resultados: a composição química dos azeites essenciais obtidos por GC-MS reportaram um conteúdo alto em fenilpropanos (eugenol, (E)- cuabanato de netiko e (Z)- cinamato de metilo) e monoterpenos oxigenados (eucaliptol, α -terpineol, β -terpineol y linalool).

Conclusões: os compostos identificados têm sido reportados por sua alta atividade biológica de ação farmacêutica, tais como antimicrobiana e antimicrótica, e por suas essências em produtos de higiene, como sabões, detergentes, shampôs, loções, desodorantes e cremes dentais.

Palavras chave: farmacognosia, ocimum, azeites essenciais, cosméticos.

Introducción

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que el 80% de la población en países desarrollados se apoya en medicinas tradicionales (principalmente drogas vegetales) para sus necesidades básicas de salud. Además de las medicinas tradicionales practicadas en países en vías de desarrollo, existe un incremento en el número de medicinas alternativas o naturales (1). Los productos con mayor aceptación son sedantes, tónicos y tratamientos para desórdenes cardiovasculares, respiratorios, digestivos y tratamientos para la belleza.

Colombia se considera el segundo país del mundo en diversidad biológica, en donde las plantas medicinales ocupan el lugar más importante (2, 3). Posee 50.000 especies y aproximadamente 5.000 son utilizadas por los indígenas y campesinos como medicinales (4); esto hace que el país tenga alto potencial como fuente de principios activos que podrían utilizarse como alternativa terapéutica (5).

La familia Lamiaceae es una de las más empleadas en el mundo como fuente de especias y de extractos con propiedades antibacteriales y antioxidantes (6); dentro de ella, el género *Ocimum* comprende más de 50 especies y tiene una amplia distribución geográfica por las regiones de clima tropical y subtropical (7, 8, 9). Se caracteriza por variabilidad morfológica y de quimiotipos de los aceites esenciales (AEs), definidos como mezclas complejas de sustancias volátiles de más de 100 componentes de los tipos monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanos y compuestos alifáticos de bajo peso molecular como alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos (8, 10,

11). Varias especies, comúnmente llamadas albahacas, son un importante grupo de plantas aromáticas. El carácter aromático de cada tipo de albahaca depende de la genética del vegetal, de su estado de desarrollo vegetativo, de los factores agroclimatológicos y de los compuestos químicos en la síntesis de los aceites esenciales (AEs) (8, 11), encontrándose constituyentes como linalol, geraniol, citral, alcanfor, eugenol, timol, etc. (7, 12) biológicamente activos, que presentan propiedades alelopáticas, antibacteriales, antioxidantes, nematocidas, antistáticas y antifúngicas entre otras (13, 14). En la medicina tradicional se utilizan por sus propiedades carminativa, estimulante y antiespasmódica (14), con valor para la industria de perfumería, cosméticos, alimentaria y farmacéutica (7, 13).

En Risaralda, algunas de las especies cultivadas corresponden a ciertas variedades de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) entre ellas, *O. basilicum* L. var *cinammom*, *O. anisatum*, *O. purpurescens*, *O. album*, *O. thrysiflorum*, *O. cf. gratissimum*, cuya información es escasa y donde el referente son los usos tradicionales para estimular el cuero cabelludo, y en consecuencia el crecimiento del cabello; cualidades atribuidas principalmente a la albahaca blanca *Ocimum basilicum* L. (15, 16).

Esta investigación se propuso para determinar la composición química por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS) de los aceites esenciales obtenidos de la parte aérea de las seis variedades de albahaca extraídos por destilación de arrastre de vapor, para identificar compuestos que conduzcan a la obtención de productos para el cuidado de la salud en el campo de la farmacognosia.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio con abordaje experimental, donde se tomaron como referentes algunas especies del género *Ocimum* pertenecientes a la familia Labiatae (Lamiaceae). Se estudiaron especies de las variedades: *O. basilicum* L. var *cinammom*, *O. anisatum*, *O. purpurescens*, *O. album*, *O. thrysiflorum*, *O. cf. Gratissimum*.

Procedencia del material vegetal

Las seis variedades: *O. basilicum* L. var *cinammom*, *O. anisatum*, *O. purpurescens*, *O. album*, *O. thrysiflorum*, *O. cf. gratissimum*, fueron colectadas en la finca Guadalcanal de La Florida en el departamento de Risaralda a 1440 msnm, 76% de humedad relativa y temperatura promedio de 27°C.

Colecta del material vegetal

El material vegetal fue manipulado haciendo uso de las medidas de asepsia respectivas. Se seleccionaron fruto, flores, fluorescencia y las hojas cuya apariencia fue sana desde la estípula. Se depositaron en bolsas negras hasta completar aproximadamente 500 gramos.

Procesamiento del material vegetal

El material vegetal fue secado a temperatura ambiente en el Laboratorio de Biotecnología de La Fundación Universitaria del Área Andina durante cinco días; luego se picó manualmente de manera fina y se conservó en frascos de vidrio.

Clasificación taxonómica

Para validar su taxonomía se llevaron hojas, flores, frutos y fluorescencias de cada especie recolectada al Jardín Botánico de la Universidad Tecnológica

de Pereira, donde fueron depositadas sus respectivas muestras testigos.

Extracción del aceite esencial

El aceite esencial de cada especie vegetal se obtuvo por destilación de arrastre de vapor de la parte aérea (10 g) durante 3 horas. El destilado se transfirió a un embudo de separación en donde se extrajo el aceite esencial con acetato de etilo. Posteriormente se secó con sulfato de sodio anhidro. Finalmente fueron almacenados en frascos herméticos y resguardados de la luz.

Análisis cromatográfico

La composición química de los aceites esenciales fueron separados e identificados mediante un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas (GC-MS) marca Shimadzu QP-2010, equipado con un inyector automático AOC-20i, automuestreador con inyección AOC-20s Split/splitless, modo de ionización EI/PCI/NCI y sistema de inserción directa controlado por software de solución GC-MS. Con columna Rtx-CLP Pesticides Restek de 30 m de largo, 0.25 mm DI, 0.25 µm de partícula y el gas de arrastre helio. Se empleó un programa de temperatura en el equipo, iniciándose el proceso a 50°C durante un minuto, luego se incrementó la temperatura a razón de 2°C/min hasta 280°C y seguidamente hasta 300°C a razón de 10°C/min. El inyector se mantuvo a 280°C. Para la identificación de los componentes de los aceites se utilizó la base de datos de la librería Wiley (Séptima edición versión 2003)

Análisis estadístico: El registro de los datos se realizó a través del programa MICROSOFT EXCEL, a partir del cual se procedió a verificar la reproducibilidad de los datos, dado que la extracción fue realizada por triplicado.

Resultados

Clasificación taxonómica

En el cuadro 1 se reporta la identificación taxonómica de cada especie vegetal, la cual fue realizada en el Jardín Botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira. (Cuadro 1)

Análisis cromatográfico

El análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) permitió conocer la composición química y la abundancia relativa de los principales componentes que conformaban los aceites estudiados. En el cuadro 1 y figura 1, se reportan los componentes mayoritarios (>20%) a un tiempo de retención determinado (t_R) y otros componentes identificados en cada uno de los aceites extraídos de las partes

aéreas de las especies *Ocimum basilicum* L. var *cinammom*, *O. anisatum*, *O. purpurescens*, *O. album*, *O. thyrsoiflorum*, *O. cf. gratissimum* (Lamiaceae).

En el cuadro 2 se observan los resultados de los espectros de masas obtenidos de los componentes mayoritarios identificados en cada uno de los aceites esenciales extraídos, donde se muestran las fragmentaciones teóricas de los componentes según la base de datos de la librería Wiley (Séptima edición versión 2003) y las fragmentaciones reales obtenidas en unidades de masa/carga (m/z) de cada componente, junto con la intensidad relativa de cada señal, el pico base (intensidad relativa del 100%) y el pico de ión molecular consistente con el peso molecular de cada uno de los componentes (última señal tabulada).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de algunas especies de *Ocimum* (Lamiaceae).

Familia	Género	Especie	Nº muestras
Lamiaceae	<i>Ocimum</i>	<i>Ocimum basilicum</i> var. <i>cinammom</i>	760
		<i>Ocimum basilicum</i> var. <i>anisatum</i>	761
		<i>Ocimum basilicum</i> var. <i>purpurescens</i>	762
		<i>Ocimum basilicum</i> var. <i>album</i>	763
		<i>Ocimum basilicum</i> var. <i>thyrsoiflorum</i>	764
		<i>Ocimum basilicum</i> cf. <i>gratissimum</i>	765

Cuadro 2. Componentes mayoritarios identificados por GC-MS de *O. basilicum* L. var *album* (A), *O. thyrsoiflorum* (B), *O. cinammom* (C), *O. anisatum* (D), *O. purpurescens* (E) y *O. cf. gratissimum* (F).

t_R min	Compuesto	Cantidad relativa (%)					
		A	B	C	D	E	F
8,315	Eucaliptol	3,255	3,884	24,055	1,369	0,489	1,982
8,941	β -terpineol	0,341	0,261	0,593	---	---	---
9,370	Linalool	18,165	31,746	3,655	7,320	0,654	41,194
10,949	α -terpineol	1,311	1,614	3,699	1,354	0,876	0,481
12,503	(Z)-cinamato de metilo	7,106	6,378	---	8,938	7,889	---
13,193	Eugenol	---	---	37,600	---	---	1,866
13,652	(E)-cinamato de metilo	28,203	24,316	---	51,730	34,272	---

Cuadro 3. Resultados obtenidos según los espectros de masas de los componentes mayoritarios de *O. basilicum* L. var *album* (A), *O. thyriflorum* (B), *O. cinammom* (C), *O. anisatum* (D), *O. purpurescens* (E) y *O. cf. gratissimum* (F).

Compuesto	Fragmentación teórica (m/z)	Fragmentación real (m/z)					
		A	B	C	D	E	F
Eucaliptol	27 (14,3); 43 (100) ;	32 (7,8);	30(7,3);	30(3,9);	30(3,9);	32(6,4);	32(15,6);
	69 (35,7); 81 (59,5); 108 (40,5); 111 (4,8); 121 (2,4); 125 (6); 139 (26,2); 154 (23,8)	43(100) ; 69(46,8); 81(59,7); 108(41); 121(5,2); 139(21); 154 (23,4)	43(100) ; 69(49,4); 81(46,8); 108(39); 121(7,8); 139(22); 154 (18,2)	43(100) ; 69(46,8); 81(57,7); 108(39); 121(7,8); 139(20); 154 (22,3)	43(100) ; 69(46,8); 81(63,1); 111(31); 121(8,9); 139(18); 154 (28,9)	43(100) ; 69(40,3); 81(57,7); 108(50); 121(4,8); 139(26); 154 (11,1)	43(100) ; 69(35,1); 81(44,2); 108(34); 125(3,9); 139(25); 154 (15,6)
		30 (14);		30 (10,4)			27 (2,6);
	27 (19); 41 (64,3); 71 (100) ; 93 (59,5); 107 (7,1); 121 (20,2); 136 (8,3); 154 (1,2)	41 (60); 55 (57,1); 71(100) ; 81(23,4); 93(57,1); 109(5,2); 121(16); 136(5,2) 154 (1,2)	41 (59,7); 93(61,1); 107(5,2); 121(16); 136(3,9) 154 (1,1)	43(57,1); 93(59,1); 107(7,8); 121(10); 136(4,9) 154 (0,1)	41(54,5); 93(22,1); 107(5,2); 121(14); 136(2,6) 154 (1,2)		41(62,3); 71(100) ; 93(57,1); 107(5,2); 121(14); 136(3,1) 154 (0,3)
	28 (53,6); 43 (71,4); 59 (100) ; 81 (45,2); 93 (85,7); 107 (16,7); 121 (72,6); 136 (65,5); 154 (5,6)	---	---	30(15,6); 43(51,9); 59(100) ; 81(31,2); 93(57,1); 107(7,8); 121(42); 136(36); 154 (0,5)	---	---	---
	38 (4,8); 51 (31); 63 (7,1); 77 (50); 91 (5,9); 103 (76,2); 117 (3,6); 131 (100) ; 144 (1,2); 162 (45,2)	38(5,2); 51(28,6); 63(6,5); 77(41,6); 91(6,5); 103(73); 117(5,2); 144 (2,6); 162(45)	38(5,2); 51(33,8); 63(7,8); 77(46,8); 91(6,5); 103(78); 117(5,2); 144 (1,3); 162(42)	---	38(3,9); 51(32,5); 63(5,2); 77(54,5); 91(5,2); 103(83); 117(9,1); 144 (2,6); 162(65)	30(0,5); 51(32,5); 63(45,5); 77(54,5); 91(3,9); 103(73); 117(4,4); 131(100) ; 162(44) ---	---
(Z)-cinamato de metilo	27 (16,7); 39 (29,8); 55 (38,1); 65 (19); 77 (47,6); 91 (38,1); 103 (42,4); 121 (24,3); 131 (33,6); 149 (39,8); 164 (100)	---	---	30(2,4); 39(15,6); 55(31,2); 65(18,2); 77(31,2); 91(31,2); 103(40); 121(21); 131(34); 149(39); 164(100)	---	51(32,5); 63(5,2); 77(45,5); 91(3,9);	30(2,4); 39(15,6); 55(31,2); 65(18,2); 77(31,2); 91(31,2); 103(40); 121(21); 131(34); 149(39); 164(100)

Compuesto	Fragmentación teórica (m/z)	Fragmentación real (m/z)					
		A	B	C	D	E	F
(E)-cinamato de metilo	38 (4,8);	39(3,9);	39(5,2);		39(3,9);	51(32,5);	
	51 (31);	51(31,2);	51(33,8);		51(32,5);	63(5,2);	
	63 (7,1); 77	63(3,9);	63(7,8);		63(5,2);	77(45,5);	
	(50);	77(44,2);	77(46,8);		77(54,5);	91(3,9);	
	91 (5,9); 103	91(5,2);	91(5,6);		91(5,2);	103(73);	---
	(76,2); 117	103(73);	103(68);	---	103(83);	117(4,4);	
	(3,6); 131	117(4,2);	117(3,9);		117(6,5);	131(100)	
	(100);	131(100)	131(100)		131(100)	144 (1,8)	
	144 (1,2);	144 (2,1)	144 (1,3)		144 (2,6)	162(44)	
	162 (45,2)	162(42)	162(42)		162(65)		

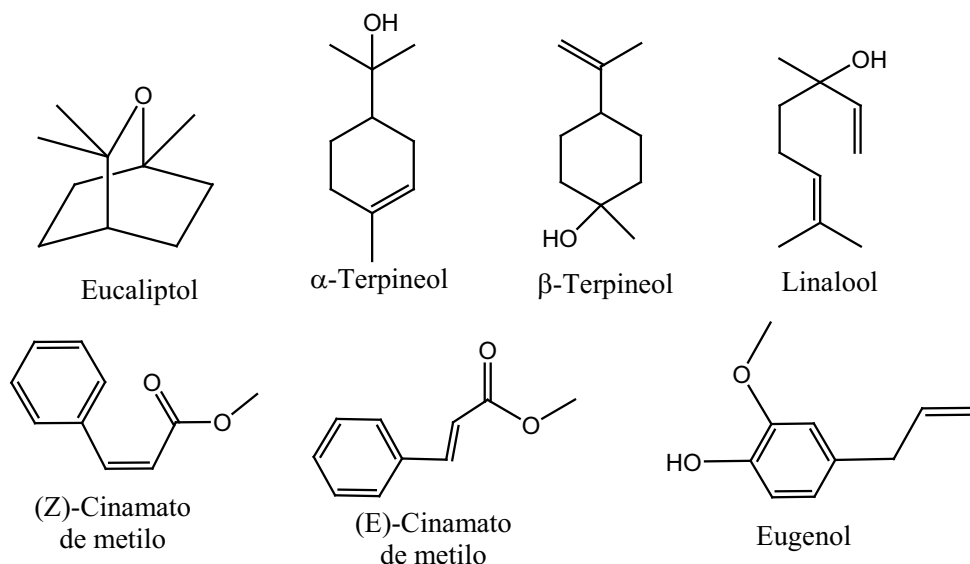


Figura 1. Estructura química de los componentes mayoritarios de los aceites esenciales de *O. basilicum* L. var *cinammom*, *O. anisatum*, *O. purpurescens*, *O. album*, *O. thyrsoiflorum*, *O. cf. gratissimum*.

Discusión

De acuerdo al análisis cromatográfico y de espectrometría de masas, los aceites de cada variedad se caracterizaron por su contenido alto en fenilpropanos (eugenol, (E)-cinamato de metilo y (Z)-cinamato de metilo) y monoterpenos oxigenados (eucaliptol, α-terpineol, β-terpineol y linalool), sobresaliendo como compuestos mayoritarios para *O.*

basilicum L. var *album* (A): (E)-cinamato de metilo (28,20%) y linalool (18,17%); *O. thyrsoiflorum* (B): (E)-cinamato de metilo (24,32%) y linalool (31,75%); *O. cinammom* (C): eucaliptol (24,06%) y eugenol (37,60%); *O. anisatum* (D) y *O. purpurescens* (E): (E)-cinamato de metilo (51,73% y 34,27% respectivamente) y *O. cf. gratissimum* (F): linalool (41,19%).

Según estudios recientes (8, 11), los fenilpropanos son reconocidos como

compuestos con una alta actividad biológica; la mayor cantidad de (E)-cinamato de metilo y eugenol encontrados en esta investigación puede ser por el medio agreste en el cual se desarrolló el vegetal y se esperaría alta acción farmacéutica como antimicrobiana y antimicótica.

Por otra parte los monoterpenos oxigenados son los responsables del olor en las plantas, extraídos para utilizarlos como esencia aromática en productos de higiene tales como jabones, detergentes, champús, lociones, desodorantes y pastas de dientes (8, 10, 11, 17). Cabe destacar que los monoterpenos como el linalool, se utilizan en medicina tradicional como sedantes y anticonvulsivos (18), y el eucaliptol por sus propiedades antisépticas, particularmente de las vías respiratorias, es componente principal de medicamentos para el dolor en encías, boca y garganta (19).

La composición química de las seis variedades de albahaca fue variada. Entre los componentes mayoritarios se identificaron el linalool, eugenol, eucaliptol y (E)-cinamato de metilo, entre otros compuestos como (Z)-cinamato de metilo, α -terpineol y β -terpineol, lo que muestra un alto contenido en compuestos de tipo monoterpenos oxigenados y fenilpropanos.

Los resultados obtenidos son confirmados al revisar los reportes de otros estudios

sobre la composición química de algunas variedades de albahaca cultivadas en el departamento del Tolima. En este estudio se encontró un quimiotipo para ellas “cinamato de metilo”, igualmente, los volátiles de estos vegetales eran ricos en fenilpropanoides y monoterpenos oxigenados (11).

Reportes de investigaciones realizadas indican que los fenilpropanos presentan una alta actividad antibacteriana para *O. Gratissimum* sobre *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* y *Tricophyton mentagrophytes* var. *interdigitale* (20). Además los aceites esenciales de *O. basilicum* L. var *basilicum* y de *O. gratissimum* L. muestran actividad inhibitoria sobre varias cepas de *S. aureus* y de *K. pneumoniae* multirresistentes de origen nosocomial (13).

Según estudios farmacognósticos el (E)-cinamato de metilo, el linalool y el eucaliptol se caracterizan por presentar actividad antimicrobiana, antimicótica y antiséptica, lo que permitirá continuar con la investigación en el Laboratorio de Biotecnología de La Fundación Universitaria del Área Andina, para validar este tipo de actividades biológicas y obtener productos que contribuyan al cuidado de la salud.

Agradecimientos

Comité Institucional de Investigaciones y Departamento de Ciencias Básicas de la Fundación Universitaria del Área Andina Seccional Pereira

REFERENCIAS

1. Toscano, J.Y. *Traditional Use of Medicinal Plants in the Sidewalk San Isidro, Municipality of San Jose de Pare-Boyacá: A Preliminary Study Using Quantitative Technical*. Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Tunja, Boyacá, Colombia. 2006.

2. Tobasura, I. *La Biodiversidad Colombiana*. Universidad de Caldas. Manizales, Caldas. 2002.
3. Ángel, R. *Situación actual del comercio de plantas medicinales en América Latina*. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 2002; 35-42.
4. Giraldo, H. *Reconocimiento y clasificación botánica de plantas medicinales y recuperación de saberes campesinos en diez veredas del municipio de Mistrató, (Risaralda)*. Boletín Investigaciones de UNISARC. 2003; 1 (2), 12-26.
5. Biocomercio Sostenible. *Estudio del mercado colombiano de aceites esenciales*. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos "Alexander von Humbolt". Bogotá, Colombia 109. 2003.
6. Viña, A., Fernández, K., Murillo, E., Méndez, J. *Actividad antioxidante y antimicrobiana de los volátiles de cuatro variedades de albahacas cultivadas en el departamento del Tolima*. Scientia et Technica Año XIII. 2007; 33, 401-403.
7. Khalid, K., Hendawy, S.F., El-Gezawy, E. *Ocimum basilicum* L. Production under Organic Farming. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences. 2006; 2(1), 25-32.
8. Reyes, J.A., Patiño, J.G., Martínez, J.R., Stashenko, E.E. *Caracterización de los metabolitos secundarios de dos especies de Ocimum (Labiatae), en función del método de extracción*. Scientia et Technica Año III. 2007; 33, 121-123.
9. Grayer, R.J., Geoffrey, C.K., Veitch, N.C., Eckert, M.R., Marin, P.D., Senanayake, P., Paton, A. *Leaf flavonoid glycosides as chemosystematic characters in Ocimum*. Biochemical Systematics and Ecology. 2002; 30, 327-342.
10. Romero, C., Belisario, Y., Blasco, M. *Extracción del aceite esencial de albahaca (Ocimum basilicum L.) con CO₂ supercrítico*. Ciencia. 2004; 12 (4), 309-314.
11. Murillo, E., Fernández, K., Sierra, D., Viña, A. *Caracterización fisicoquímica del aceite esencial de albahaca*. II. Revista Colombiana de Química. 2004; 33 (2), 139-148.
12. Sánchez, E., Leal, I.M., fuentes, L., Rodríguez, C.A. *Estudio farmacognóstico de Ocimum basilicum* L. (Albahaca blanca). Revista Cubana Farmacológica. 2000; 34 (3), 187-195.
13. Acosta, M., González, M., Araque, M., Velazco, E., Khouri, N., Rojas, L., Usubillaga, A. *Composición química de los aceites esenciales de Ocimum basilicum* L. var *basilicum*, *O. basilicum* L. var *purpurens*, *O. gratissimum* L., y *O. tenuiflorum* L., y su efecto antimicrobiano sobre bacterias multirresistentes de origen nosocomial. Revista de la Facultad de Farmacia. 2003; 45 (1), 19-24.
14. Muñoz, A., Patiño, J.G., Cárdenas, C.Y., Reyes, J.A., Martínez, J.R., Stashenko, E.E. *Composición química de extractos obtenidos por destilación-extracción simultánea con solvente de hojas e inflorescencias de nueve especies y/o variedades de albahacas (Ocimum spp.)*. Scientia et Technica Año XIII. 2007; 33, 197-199.
15. Atehortua L. *Banco de germoplasma de Plantas Medicinales una prioridad nacional*, En: Memorias I Simposio sobre Plantas Medicinales, Universidad Javeriana, Patronato de Artes y Ciencias, Santafé de Bogotá. 1992.
16. Chavéz M, Arango. *Informe nacional sobre el estado de la biodiversidad 1997-Colombia*. Tomo III. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. 1998.
17. Martin, B., Ngassoum, H., Ousmaila, T., Ngamo, M., Maponmetsem, L.J., Gerhard, B. *Aroma compounds of essential oils of two varieties of the spice plant Ocimum canum* Sims from northern Cameroon. Journal of Food Composition and Analysis. 2004; 17 (2), 197-204.
18. Brum, L.F., Elisabetsky, E., Souza, D. *Effects of linalool on Glutamate Release and Uptake in mouse cortical Synaptosomes*. Neurochemical Research. 2001; 26 (3), 191-194.
19. Bascones, A., Mudarra, S., Perea, E. *Antisépticos en el tratamiento de la enfermedad periodontal*. Avances en Periodoncia. 2002; 14 (3), 101-114.
20. Janssen, A.M., Scheffer, J.J., Ntezurubanza, L., Svendsen, A.B. *Antimicrobial activities of some Ocimum species grown in Rwanda*. 1989. Journal of Ethnopharmacol. 26: 57-63.