



FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**TESIS**

EFFECTO BACTERICIDA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO  
DE *PLANTAGO MAJOR*, "LLANTÉN" FRENTE A  
*STREPTOCOCCUS MUTANS*

PRESENTADO POR  
**Bach. SANDY SOTO PAREDES**

TESIS PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE QUIMICO FARMACEUTICO

ASESOR

Q.F. OSCAR PEDRO SANTISTEBAN ROJAS

HUACHO – PERU

2016

## **DEDICATORIA**

*Al cerrar este capítulo de mi vida el cual considero uno de los más importantes logros, dedico este trabajo a Dios por darme la oportunidad de guiar mis pasos y regalarme una vida llena de bendiciones.*

*A mis padres Gloria y Feliciano por su apoyo, comprensión y por ser mi ejemplo de lucha y trabajo.*

## **AGRADECIMIENTO**

Mi agradecimiento es a Dios por haberme orientado por el camino del bien, por darme la salud, la fuerza y la fé.

A mi familia por su apoyo incondicional, porque me han enseñado valores y por ellos sé que todo lo que realicé con esfuerzo y sacrificio será gratificado.

Agradezco a la Escuela de Farmacia y Bioquímica de la UAP y a mis profesores por la formación académica y quienes con nobleza y entusiasmo depositaron en mi sus valiosos conocimientos.

- Q.F. Oscar Santisteban Rojas

- Microbióloga Ana Contreras Contreras

Gracias por su apoyo y asesoramiento y valiosas sugerencias en todas las etapas del desarrollo de la presente tesis.

## RESUMEN

El llantén es una hierba ("maleza") que crece libremente en los distintos suelos de cultivo, tanto en Vegueta, Huacho y otros lugares del mundo.

Algunas personas lo emplean para aliviar el dolor e inflamación, de diversas maneras, otras como alimentos para sus animales domésticos. En nuestro país pocos lo emplean por sus propiedades antibacterianas o anti ulcerosas, etc.

El presente trabajo de investigación buscó demostrar las propiedades antibacterianas del extracto alcohólico (etanólico) de *Plantago major*, llantén, frente a una bacteria propia de la cavidad bucal, *Streptococcus mutans*. Se ensayaron cinco concentraciones de etanol, 10, 20, 30, 40 y 70% V/V, con una masa de hojas secas de llantén de 10 gramos, determinando que los halos de inhibición más amplios fueron a la concentración alcohólica de 70%. El método microbiológico empleado fue disco placa, empleando Agar Mueller Hinton como medio nutritivo e incorporando a la bacteria, en una suspensión al 0,5 en la escala de McFarland.

Concluimos que el mejor medio para extraer los metabolitos secundarios de las hojas secas de llantén corresponde al de concentración 70% V/V de etanol y este puede ser empleado para elaborar un colutorio o spray que pueda ayudar a las personas con su dolor e infección de garganta.

Palabras claves: *Plantago major*, actividad bactericida, *Streptococcus mutans*, extracto etanólico.

## ABSTRACT

Plantain is an herb ( "weeds") that grows freely in different agricultural soils, both in Vegueta, Huacho and elsewhere.

Some people use it to relieve pain and inflammation, in various ways, sometimes as food for their pets. In our country, few use it for its antibacterial properties or anti ulcer, etc.

This research seek to demonstrate the antibacterial properties of alcoholic extract (ethanol) of *Plantago major*, "llantén", against a bacterium itself of the oral cavity, *Streptococcus mutans*. five concentrations of ethanol, 10, 20, 30, 40 and 70% V / V were tested with a mass of dried plantain leaves 10 grams, determining which halos broader inhibition were the alcohol concentration of 70%. The method used was plaque microbiological disc using Mueller Hinton Agar as nutrient medium and incorporating the bacteria in a suspension in 0.5 McFarland.

We conclude that the best way to extract the secondary metabolites of dry plantain leaves concentration corresponds to 70% and this can be used to develop a mouthwash or spray that can help people with their pain and sore throat.

Keywords: *Plantago major*, bactericidal activity, *Streptococcus mutans*, ethanol extract.

## ÍNDICE

DEDICATORIA .....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	v
ÍNDICE .....	vi
INTRODUCCIÓN .....	ix
<b>CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>10</b>
<b>1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA.....</b>	<b>10</b>
<b>1.2 DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>11</b>
1.2.1 DELIMITACIÓN TEMPORAL .....	11
1.2.2 DELIMITACIÓN GEOGRÁFICA.....	11
1.2.3 DELIMITACIÓN SOCIAL .....	12
1.2.4 DELIMITACION CONCEPTUAL .....	12
<b>1.3 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....</b>	<b>12</b>
1.3.1 PROBLEMA PRINCIPAL .....	12
1.3.2 PROBLEMAS SECUNDARIOS.....	12
<b>1.4 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>13</b>
1.4.1 OBJETIVO GENERAL .....	13
1.4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS .....	13
<b>1.5 HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>13</b>
1.5.1 HIPÓTESIS GENERAL.....	13
1.5.2 HIPOTESIS SECUNDARIAS .....	14
<b>1.6 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>14</b>

<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>16</b>
<b>2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....	<b>16</b>
<b>2.2 BASES TEÓRICAS</b> .....	<b>22</b>
<b>2.3 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS</b> .....	<b>37</b>
<b>CAPÍTULO III: METODOLOGÍA</b> .....	<b>41</b>
<b>3.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN</b> .....	<b>41</b>
<b>3.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....	<b>41</b>
<b>3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....	<b>42</b>
3.3.1 POBLACIÓN .....	42
3.3.2 MUESTRA .....	42
<b>3.4 VARIABLES, DIMENSIONES E INDICADORES</b> .....	<b>42</b>
<b>3.5 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS</b> .....	<b>43</b>
3.5.1 TÉCNICAS.....	43
3.5.2 INSTRUMENTOS .....	44
<b>3.6 PROCEDIMIENTOS</b> .....	<b>44</b>
3.6.1. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA DE LLANTEN .....	44
3.6.2. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA .....	44
3.6.3. OBTENCIÓN DE EXTRACCIÓN ALCOHÓLICA .....	45
3.6.4. EVALUACIÓN DEL EFECTO BACTERICIDA IN VITRO.....	46
<b>CAPÍTULO IV: RESULTADOS</b> .....	<b>56</b>
<b>4.1 RESULTADOS</b> .....	<b>56</b>
<b>4.2 DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b> .....	<b>61</b>

<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>63</b>
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	<b>64</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>65</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>69</b>
1. MATRIZ DE CONSISTENCIA .....	70
2. OTROS.....	71



## INTRODUCCIÓN

El llantén, *Plantago major*, "llantén", es una hierba prodigiosa conocida en todo el mundo. Los herederos de las culturas que existieron tanto en Europa, Asia, América latina, África, etc., conocen su potencial tanto medicinal como nutritivo a nivel agropecuario.

En muchas latitudes se emplean siempre para preparar baños, emplastos, como infusión, agua de tiempo, etc.

De un tiempo a esta parte, reconocido su uso, se están realizando múltiples investigaciones sobre las propiedades farmacológicas del llantén y su sustento científico (amparado en sus componentes químicos -metabolitos secundarios-). Las pruebas abarcan las áreas de microbiología, farmacología, toxicología, etc., Área de Profesionales Químicos Farmacéuticos.

Los resultados encontrados son alentadores, llegando inclusive algunos científicos a reportar actividad anti cancerígena (para cierto tipo de cáncer).

En la presente investigación estamos demostrando la actividad bactericida del extracto hidroalcohólico de hojas secas de llantén, *Plantago major*, en frío, frente a la cepa de *Streptococcus mutans*, una bacteria típica de la boca. Los resultados nos muestran una efectiva actividad bactericida y sujeta a variación según la concentración de la solución hidroalcohólica empleada para la extracción de los metabolitos secundarios.

De esta forma se está sentando un precedente del estudio farmacológico de una planta, mejor modo de extraer sus metabolitos secundarios y la posibilidad de realizar estudios *in vivo*, en colaboración de un médico especialista y del equipo de salud, para así sugerir su uso a la comunidad y lograr una recuperación de su salud empleando productos naturales de nuestra localidad.

# **CAPÍTULO I**

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

### **1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA**

En el distrito de Huacho, Hualmay, Huaura, Vegüeta y otros de nuestra provincia, y otras provincias del Perú, un grupo selecto de personas dedicadas a la disertación e introducción al conocimiento y cultura humana es afectado permanentemente por el "dolor de garganta".

La medicina tradicional (para aquellos que la conocen) les sugiere el empleo de gárgaras. Otros con ciertos conocimientos de medicina occidental recurren al uso de antisépticos, antiinflamatorios locales (caramelos para el dolor de garganta) o sistémicos (AINEs).

El uso reiterado de antiinflamatorios desarrolla en algunas personas, sensibilidad, acostumbamiento o hipersensibilidad, etc., además su contenido de excipientes puede causar molestias a los usuarios del producto medicamentoso.

El dolor de garganta suele ser provocado por una leve inflamación en la faringe y en muchos casos, va acompañado de una creciente infección en las amígdalas y las zonas aledañas situadas en la garganta.

La principal causa de la garganta inflamada e infectada puede ser ocasionada por virus o por bacterias del género *Streptococcus* quienes al proliferar generan la infección e inflamación, y como consecuencia tenemos un dolor de garganta que se va incrementando gradualmente, pudiendo ocasionar una amigdalitis.

El llantén, una planta que crece como "mala hierba", ha sido usada para aliviar procesos inflamatorios, de cicatrización.

El aprovechamiento de las propiedades del llantén sólo se da en personas de ascendencia nativa o por algunas personas del equipo de salud conocedoras de las propiedades de las plantas medicinales.

Teniendo en cuenta que esta hierba crece abundantemente en el distrito de Vegüeta y teniendo en cuenta que la mayoría de la población vegüetana y de la provincia desconoce su uso, realizamos la presente investigación.

## **1.2. DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

### **1.2.1 DELIMITACIÓN TEMPORAL:**

La presente investigación se realizó durante los meses marzo a julio de 2016.

### **1.2.2. DELIMITACIÓN GEOGRÁFICA:**

La recolección de la muestra vegetal se efectuó en el distrito de Vegüeta, la elaboración del extracto alcohólico, concentración y

ensayos microbiológicos se efectuaron en los laboratorios de la Universidad Alas Peruanas, Filial Huacho, 2016.

### 1.2.3 DELIMITACIÓN SOCIAL:

Se efectuó la evaluación de la solución hidroalcohólica "in vitro" por el método de disco placa cultivo en los laboratorios de la Universidad Alas Peruanas, filial Huacho.

### 1.2.4. DELIMITACION CONCEPTUAL:

La hierba llamada "llantén" (*Plantago major*) crece en todo el territorio peruano, en las tres regiones naturales, como una mala hierba. La **extracción** de sus metabolitos secundarios (principios activos) se hace mediante **soluciones hidroalcohólica**.

La evaluación de su **actividad antibacteriana** se hace por tanto "**in vitro**", empleando el método **disco placa cultivo** frente a cepas de ***Streptococcus mutans***.

## 1.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

### 1.3.1. PROBLEMA PRINCIPAL

¿El extracto hidroalcohólico de *Plantago major*, "llantén", tendrá efecto bactericida in vitro?

### 1.3.2. PROBLEMAS SECUNDARIOS

1.3.2.1 ¿Tendrá efecto bactericida **in vitro** el extracto hidroalcohólico de *Plantago major*, "llantén", al 10% sobre la cepas de *Streptococcus mutans*?

**1.3.2.2.** ¿Cuál será la **concentración adecuada** de la solución hidroalcohólico que permita una mayor extracción de metabolitos secundarios de *Plantago major*, "llantén" con mayor efecto bactericida sobre las cepas de *Streptococcus mutans*?

## **1.4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN**

### **1.4.1. OBJETIVO GENERAL**

Determinar el efecto bactericida "**in vitro**" del extracto hidroalcohólico de *Plantago major*, "llantén" sobre las cepas de *Streptococcus mutans*.

### **1.4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS**

**1.4.2.1.** Evaluar el efecto bactericida in vitro del extracto hidroalcohólico de *Plantago major*, "llantén" al 10%

**1.4.2.2.** Determinar la concentración de la solución hidroalcohólica que permita la mejor extracción de metabolitos secundarios de *Plantago major*, "llantén" con mayor efecto bactericida sobre las cepas de *Streptococcus mutans*.

## **1.5. HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN**

### **1.5.1 HIPÓTESIS PRINCIPAL O CENTRAL**

El extracto hidroalcohólico de *Plantago major*, "llantén" tiene efecto bactericida "*in vitro*" sobre las cepas de *Streptococcus mutans*

## **1.5.2. HIPÓTESIS SECUNDARIAS**

**1.5.2.1.** El extracto hidroalcohólico de *Plantago major*, "llantén" al 10% muestra efecto bactericida al ser evaluado "in vitro" frente a cepas de *Streptococcus mutans*.

**1.5.2.2.** El extracto hidroalcohólico de *Plantago major*, "llantén" al 10% obtenido con la solución hidroalcohólico de mayor concentración volumen/volumen tiene un mayor efecto bactericida frente a cepas de *Streptococcus mutans*.

## **1.6. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

### **a) JUSTIFICACIÓN**

El uso de plantas medicinales se realiza en muchas partes del mundo como un legado cultural, en base al conocimiento transmitido de generación en generación de manera oral.

El presente trabajo de investigación tiene importancia cultural, teórica y social. Busca rescatar el uso tradicional del llantén, sustentado en los conocimientos occidentales de la microbiología y la farmacología. La presente investigación aporta un resultado sólido, casuístico referido al efecto bactericida del extracto hidroalcohólico del llantén, medido a través del halo de inhibición en la cepa *Streptococcus mutans*, lo que nos permite afirmar que las hojas de dicha hierba, empleados de manera artesanal, contienen metabolitos secundarios con un efecto bactericida, además de efecto antiinflamatorio entre otros.

La actividad medicinal de *Plantago major* no se justifica por un solo compuesto, sino a la interacción de varios; los efectos son producto de la acción en conjunto de distintas sustancias y de su regulación mutua.

Las investigaciones realizadas sobre *Plantago major*, realizadas a nivel mundial (son muy escasas a nivel nacional, con la dilucidación de los núcleos químicos) han revelado la presencia de mucílagos, pectinas, flavonoides, taninos, un glucósido cromogénico iridoide denominado aucubósido (aucubina) y otro glucósido llamado catapol. Tanto las hojas como las flores y el tallo poseen el glucósido aucubina.

*Plantago major* también tiene propiedades hemostáticas ya que incrementa la coagulación de la sangre en las heridas, evitando hemorragias. Las hojas del llantén frescas contienen las propiedades apropiadas para desinfectar las heridas y favorecer su cicatrización.

Es por ello que la presente investigación se basa en la demostración de la actividad bactericida "in vitro" frente a cepas de *Streptococcus mutans* de los extractos etanólicos *Plantago major*, "llantén".

## **b) IMPORTANCIA**

*Plantago major* es una mala hierba empleado comúnmente como forraje y cuya cocción se emplea como antiinflamatorio. Esta investigación demuestra que se puede usar por sus propiedades bactericidas y es posible se pueda elaborar una forma farmacéutica de acción local.

## **c) LIMITACIONES**

La principal limitación para la presente investigación fue la carencia de apoyo en el área microbiológica. La carencia del medio de cultivo, agar Mueller Hinton, de algunos instrumentos propios del área, un ambiente estrictamente destinado a los ensayos microbiológicos.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Perú. Alvarado Villanueva, Verónica, 2010. Efecto antibacteriano *in vitro* de *Plantago major L*, *Erythroxylum novogranatense*, *Plowman var truxillense* y *Camellia sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica. El objetivo de la investigación fue comparar la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos hidroalcohólicos de tres plantas medicinales: *Plantago major L*. (llantén), *Erythroxylum novogranatense var truxillense* (coca trujillo) y *Camellia sinensis* (té verde) mediante el método de difusión en agar con discos, sobre cinco cepas patrones de bacterias orales: *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Lactobacillus acidophilus*. ATCC 314, *Actinomyces viscosus* ATCC 15987, *Prevotella melaninogenicus* ATCC 25845 y *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586. Se concluye que los tres extractos hidroalcohólicos en las diluciones de 25 y 50 µg/mL presentaron actividad antibacteriana sobre *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Actinomyces viscosus*, *Prevotella melaninogenica* y *Fusobacteriumnucleatum*. El efecto antibacteriano aumentó con la concentración en *P. melaninogenica*, que fue la cepa más sensible y *A. viscosus* la menos sensible.



**Perú. Estudio Comparativo del Efecto Antiinflamatorio del *Plantago major* "llantén" y del Diclofenaco. Estacio M.**

**RESUMEN** Se determinó la Dosis Letal 50(DL50) del extracto metanólico del *Plantago major* "Llantén" administrado por vía intraperitoneal, hallándose como resultado una DL50 equivalente a 4,000 mg/kg de peso de animal utilizándose para ello 36 ratones divididos en 6 grupos de 6 animales cada uno. Se evidenció las propiedades antiinflamatorias significativas del extracto metanólico, administrado por vía intraperitoneal, a la dosis de 400 mg/kg y 800 mg/kg de peso frente al diclofenaco, utilizando la técnica estandarizada de Edwars (CYTED), del Granuloma de Pouche .

**Perú. Tratamientos tradicionales utilizados en un área endémica de leishmaniasis cutánea en el Perú. Roberto Pineda-Reyes.** Con el objetivo de conocer el tratamiento utilizado por pobladores de un área endémica de leishmaniasis cutánea (LC) previo a su atención en un servicio de salud, se realizó un estudio de corte transversal en un poblado de Lima, Perú. Un alto porcentaje de personas potencialmente infectadas por LC manipulan y tratan sus lesiones con métodos tradicionales antes de acudir a un centro de salud, lo que podría interferir con el diagnóstico y efectividad del programa de tratamiento implementado por el Ministerio de Salud. Entre las plantas usadas se encuentra *Plantago major*, "llantén".

**Costa Rica. Blanco, Barbara 2008. Descripción anatómica, propiedades medicinales y uso potencial de *Plantago major* (llantén) Tecnología en Marcha, Vol. 21-2, Abril-Junio 2008.**

Su objetivo fue de analizar preliminarmente la anatomía, los compuestos medicinales y el potencial de comercialización de *Plantago major*. Por medio de análisis de cromatografía de capa fina, se comprobó la presencia de los **glucosidos aucubina y catalpol.**

**Noruega. Berit Samuelsen, Anne, 2005 Los usos tradicionales, componentes químicos y biológicos actividades de *Plantago major* L.** Una revisión. *Plantago major* contiene compuestos biológicamente activos tales como polisacáridos, lípidos, derivados del ácido cafeico, flavonoides, glucósidos iridoides y terpenoides. Alcaloides y algunos ácidos orgánicos también se han detectado. Un rango de actividades biológicas se ha encontrado a partir de extractos de plantas incluyendo la actividad de la curación de heridas, antiinflamatorio, analgésico, antioxidante, antibiótico débil, modulación inmunológica y la actividad antiulcero génicos.

**Paraguay. María Paz Echeverriarza, 2005 (Programa Educación UNESCO - Montevideo) Manual de uso de hierbas medicinales en Paraguay.** Expone el modo de uso medicinal de la planta Llantén, Parte utilizada: hojas y planta entera. Propiedades: Eupéptico, digestivo, antiséptico, anti disentérico y antiinflamatorio. Indicaciones: es muy eficaz para combatir el ardor de estómago, afecciones de las vías respiratorias, diarreas, disentería, flemas y catarros bronquiales. Las gárgaras con el té de llantén sirven para combatir las inflamaciones de la boca y de la garganta, encías sanguinolentas; así como para curar las anginas y parotiditis. Las gárgaras con el té disminuyen la hinchazón de las amígdalas, evitando la operación. Las hojas frescas machacadas, empleadas en forma de emplasto, curan las úlceras. **Forma de empleo:** Tés de llantén para el uso interno, 30 gramos para un litro de agua, tres o cuatro tazas diarias. Para gárgaras, lociones y emplastos, 60 gramos para un litro de agua, varias veces al día.

**Honduras. Pablo J. Cambar 2012. EFECTOS FARMACOLÓGICOS DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE HOJAS DE LLANTÉN (*Plantago major*).** Los estudios farmacológicos generales revelaron efectos de origen posiblemente central como pérdida del reflejo auricular, pasividad, bradipnea, ptosis palpebral etc., y otros periféricos como enoftalmos debida a hipotensión arterial, contorsiones abdominales por histamina, acetilcolina o pH etc.

**Bolivia. Jenny Pinto Dávalos, 2008. Evaluación de la actividad gastroprotectora de los extractos de llantén (*Plantago major*)** Las hojas de esta planta se utilizan en forma tradicional como medicina astringente, antiinflamatoria, diurética y antiulcerosa. Sin embargo esta última actividad no ha sido validada científicamente a través de pruebas biológicas. el extracto acuoso como el extracto etanólico de llantén (500 mg/kg peso) presentan una actividad gastroprotectora similar alomeprazol; medicamento patrón. Así también se determinó que los compuestos que posiblemente son responsables de la actividad gastroprotectora son los taninos y flavonoides presentes.

**Cuba. Ayní Rodríguez Pargas, 2012. ACTIVIDAD ANTIFUNGICA IN VITRO DE UNA CREMA DE *Plantago major* L.** Se demostró mediante un estudio *in vitro*, según el método de difusión con discos en agar Sabouraud, el efecto antifúngico de una crema elaborada con las hojas de *Plantago major* en una concentración de 20,7 g de sólidos por cada gramo de ungüento hidrófilo; ésta resultó muy efectiva frente a la *Candida albicans*, en menor grado, frente al *Trichophyllum rubrum* no se observó actividad antimicótica *in vitro* frente al *Microspor umcanis*.

**Suecia. Muhammad Zubair, 2010. Genetic and environmental effects on polyphenols in *Plantago major*.** Las hojas y semillas de *Plantago major* (llantén común o mayor de plátano) han sido utilizado durante siglos para tratar las enfermedades relacionadas con la piel, órganos digestivos y sangre circulación como heridas, la inflamación y la hipertensión. O bien enteros o triturados hojas se han usado para tratar por ejemplo, quemaduras y todo tipo de heridas para mejorar el proceso de curación, y para detener el sangrado. Para tratar heridas superficiales es suficiente aplicar el jugo de las hojas. Ambos polisacáridos y polifenoles pueden tener un efecto sinérgico sobre la curación de heridas y otras actividades biológicas. Polifenoles extraído de hojas y semillas de *P. major* se han reportado tener bioactivo especialmente los efectos sobre la curación de heridas, y para tener antiulcerogénico, antiinflamatorio, actividad antioxidante, anticancerígeno y antiviral. Tres

subespecies han sido descrito de *Plantago major*, dos de los cuales han sido sometidos a análisis genético y fitoquímico. El énfasis principal del papel introductor y es destacar algunos factores que pueden ser importantes para la utilización de *Plantago major* como hierba medicinal, proporcionando la posibilidad de estudios filosóficos, se describe la taxonomía incluidas las diferencias morfológicas entre las dos subespecies, la distribución, la biología, la genética y los marcadores de ADN utilizados en *Plantago major*.

**Egipto. Mohamed, 2011. Biochemical studies on *Plantago major* L. and *Cyamopsis tetragonoloba* L.** Internacional Journal of Biodiversity and Conservation. Realizó el estudio bioquímico sobre *Plantago major* L. y *Cyamopsis tetragonoloba* L. 2011. Mohamed, I. Kobeasy1 Analizaron semillas y hojas de *Plantago major* L. sus componentes químicos en general, incluyendo, ácidos grasos y aminoácidos. Las hojas de *Plantago major* L. muestra un alto porcentaje de ácido linolénico (56,19%), las semillas de llantén mostraron un 25,41% de ácido linoleico. Aminoácidos esenciales y no esenciales estaban presentes en todas las muestras teniendo altas cantidades de glutámico, arginina, aspártico y leucina. Fenoles totales, flavonoides totales y contenido de taninos fueron los más altos en hojas de llantén. La actividad antioxidante de los extractos etanólicos, agua caliente y fría de *Plantago major* L. se evaluaron. Las hojas de llantén mostraron una mayor actividad antioxidante que las semillas. Los extractos etanólicos, fríos y calientes mostraron gran actividad contra el cáncer inducido con diversos grados. Extracto etanólico de *Plantago major* L. hojas poseía el mayor efecto sobre el crecimiento celular tumoral (Muertes: 74%) seguido por el extracto de agua caliente de hojas *Plantago major* L. (Muertes: 54,6%).

**Malaysia. Jamilah J A A, 2012. Análisis de diversos extractos de la hoja de hojas de *Plantago major* utilizados como medicina tradicional mediante cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de masas (GC-MS)** *Plantago major* ha sido utilizado como un remedio de cicatrización de heridas durante siglos en el tratamiento de un amplio número de enfermedades. Este estudio analizo la composición química de los diversos

extractos (éter de petróleo, metanol, acetato de etilo, n-butanol y acuoso) de la hoja de *Plantago major* L y fueron analizados por triple cuadrupolo GC-MS.

**Brasil. Estudio de la acción antimicrobiana conjunta de extractos acuosos de Tansagem (*Plantago major* L., Plantaginaceae) y la granada (*Punica granatum* L., Punicaceae) y la interferencia de la misma en la acción de la amoxicilina in vitro. TELES, D.G.** Se llevaron a cabo varios estudios para determinar la eficacia de estas plantas se desconoce la existencia de interacciones y la combinación de la interferencia de los mismos, ya sea beneficioso o causar cualquier daño al cuerpo. Con el fin de descubrir la existencia de estas interacciones o interferir con la acción del antibiótico amoxicilina fue probado granatum importante Punica y *Plantago* contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. En la prueba de microdilución en caldo, *Punica granatum* mostró un MIC de 6,25% frente a *S. aureus* y 25% frente a *E. coli*. El extracto de *Plantago* importante no mostró actividad contra las bacterias. La prueba de difusión en disco confirmó la existencia de interacciones, con sólo cuatro resultados significativos (Amoxicilina + Pure *Plantago major* (PGP), amoxicilina + *Plantago major* dilución 1 (pGD1) y Amoxicilina + *Plantago major* dilución 2 (PGD 2) contra *E. coli* y amoxicilina + PGP frente a *S. aureus*). Llegamos a la conclusión de que existe una interacción entre el usuario y los extractos de extractos con amoxicilina, que también puede ocurrir con otros antibióticos y generar riesgos para la población. Por lo tanto, es esencial para llevar a cabo pruebas para complementar esta investigación proporciona más información al público para la seguridad en el uso de plantas medicinales, la información al público, garantizando su seguridad en el uso de plantas medicinales.

## 2.2. BASES TEÓRICAS

### 2.2.1. PLANTAGO MAJOR, LLANTÉN<sup>1</sup>



#### Clasificación

Nombre científico:	<i>Plantago major</i> L
Reino:	Plantae
Subreino:	Tracheobionta
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Asteridae
Familia:	Plantaginaceae
Género:	Plantago
Especie:	<i>Plantago major</i>

#### Componentes químicos de *Plantago major*

#### Screening Fitoquímico

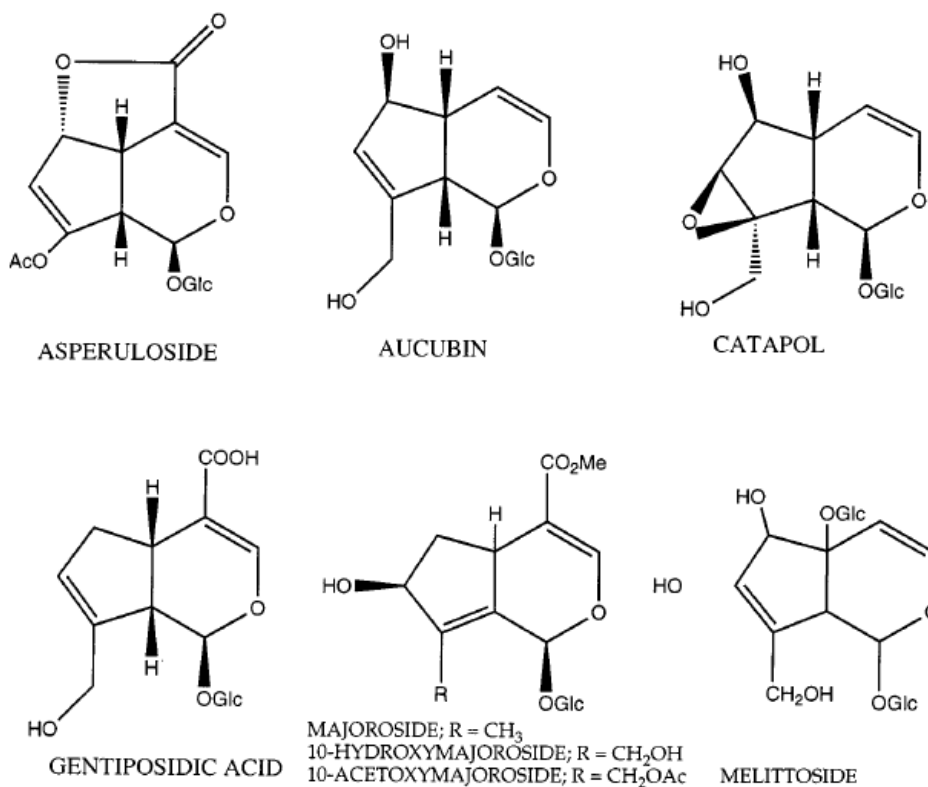
Tabla 1. Resultados de la marcha fitoquímica preliminar

METABOLITO	REACCIÓN	RESULTADO
FLAVONOIDES	SHINODA	++
	GELATINA	++
TANINOS	CLORURO FÉRRICO	++
SAPONINAS	INDICE DE ESPUMA	+
	MAYER	+
ALCALOIDES	DRAGUENDORF	+

<sup>1</sup> Formulación de un fitomedicamento con actividad gastroprotectora a partir de extractos de llantén (*Plantago major*)

Formation of a phytomedicine from llanten (*Plantago major*) extract with gastroprotective activities  
Vanessa Andrea Sabag Asfura, Jenny Pinto Dávalos, Silvia Zabalaga Vía, Marco Camacho Aramayo

Las investigaciones realizadas sobre *Plantago major* han revelado la presencia de mucílagos, pectinas, flavonoides, taninos, un glucósido cromogénico iridoide denominado aucubósido (**aucubina**) y otro glucósido llamado **catalpol**. Tanto las hojas como las flores y el tallo poseen el glucósido aucubina.



*Plantago major* cuenta, también, con sustancias como: ácido salicílico, sales minerales de potasio y zinc. Además, rutina, alcaloides (noscapida), esencias, resinas, esteroides, bases aminadas y compuestos azufrados. Igualmente, posee ácidos-fenoles y una lactona (loliolida) o digiprolactana, entre otros (Blanco, 2008).

Las hojas contienen sustancias con propiedades antiinflamatorias, algunas ya mencionadas, como plantamajosida, baicaleína, hispidulina, aucubina, ácido ursólico y ácido oleanólico. La cadena larga de alcoholes primarios presentes en la cera de las hojas ayudan a curar las heridas superficiales (Berit, 2000).

Entre los ácidos fenólicos se encuentran los ácidos p-hidroxibenzoico, siríngico, gentísico, caféico, ferúlico, y p-hidroxifenilacético. También, entre los mucílagos se localizan compuestos polisacáridos del tipo glucomanano, ramnogalacturano y arabinagalactano; además de arabogalactano y carotenos. Del mismo modo, cuenta con diversos flavonoides, tales como apigenina, luteolina y escutellarina.<sup>2</sup>

Compuestos como acteosida y plantamajosida poseen propiedades antibacteriales; ciertos flavonoides y el ácido caféico cuentan con propiedades antioxidantes. Los polisacáridos pépticos han resultado ser efectivos contra úlceras y por sus actividades inmunoestimuladoras. Entre los múltiples usos de esta planta en el campo de la salud humana, se encuentran sus propiedades astringentes adecuadas para detener la diarrea, disentería y amebiasis. Es eficaz para tratar enfermedades como la tos, faringitis, laringitis, bronquitis, tuberculosis, entre otras. Se utiliza para curar el dolor de garganta y la irritación en la boca; además, para reducir la inflamación glandular. Esto se debe a que la planta cuenta con un alto contenido en mucílagos, que ejerce propiedades emolientes, que suavizan las mucosas.

En el presente estudio realizado por Jenny Pinto Dávalos se observó que a una dosis de 500 mg/kg, los extractos acuosos y etanólicos de *Plantago major*, protegen significativamente la mucosa gástrica de ratas contra el daño inducido por etanol, frente al omeprazol como medicamento control. Otros estudios sugieren que la actividad gastroprotectora y antiulcerosa

---

<sup>2</sup> Referencia:

Blanco, Bárbara., Saborío, Adriana., Garro, Giovanni.

Descripción anatómica, propiedades medicinales y uso potencial de *Plantago major* (llantén mayor)

The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. Anne Berit Samuelsen



de los extractos, contra el daño inducido por etanol pueden estar relacionados con su efecto antisecretor.<sup>3</sup>

### **Los flavonoides**

Varios flavonoides han sido aislados de *Plantago major*. Según Kawashty la cantidad de cada flavonoide aislado de *Plantago major* egipcio importante puede varió de la siguiente manera: luteolina-7-glucósido >hispidulin 7-glucurónido > luteolina-7-diglucósido >apigenina 7-glucósido: nepetín-7-glucósido >luteolina 6-hidroxi 4% metoxi-7-galactósido. Los flavonoides aislados plantaginín y homoplantaginín tienen estructuras que no tienen han encontrado en *Plantago major* antes.

Muchos flavonoides son antioxidantes. Ejemplos de tales compuestos en *Plantago major* son baicaleína, hispidulin y plantaginín. Un número de flavonoides también se sabe que tienen actividad de barrederos de radicales libres. Baicaleína, hispidulin, scutallarein y plantaginín son captadores de radicales libres e inhiben la peroxidación lipídica. Tanto baicaleína y hispidulin tienen actividad antiinflamatorio. Baicaleína inhibe el edema de pata de rata, inducido por carragenina, 12-lipoxigenasa y LPS inducido por producción de óxido nítrico en los macrófagos, mientras que hispidulin ha sido demostrado ser un inhibidor de la 5-lipoxigenasa. Baicaleína tiene efecto hepato protector contra las lesiones hepáticas inducidas por CCl<sub>4</sub>-en ratas. Baicaleína puede inducir la muerte celular de células de carcinoma, causar la inhibición del crecimiento de células de humano células de hepatoma y tiene fuerte efecto antiproliferativo se muestra en la hepática de rata células estrelladas. Scutallarein y baicaleína tienen actividades antialérgicos.

---

<sup>3</sup> Evaluación de la actividad gastroprotectora de los extractos de llantén (*Plantago major*)

Evaluation of gastroprotective activity of the llanten extratcs (*Plantago major*) Jenny Pinto Dávalos, Zulema Bustamante García

Los glucósidos plantaginín, luteolina-7-glucósido y homoplantaginín también son potentes inhibidores (IC<sub>50</sub> 9,8, 40,2 y 43,3  $\mu$ M, respectivamente) mientras que la apigenina-7-glucósido no tenía efecto inhibitorio sobre la transcriptasa inversa del VIH.

Las flavonas son los principales flavonoides en *Plantago major*. Flavonas tienden a reemplazar flavonoles en *Plantago*. Subgéneros *Plantago* y *Coronopus* tienen una tendencia a producir flavonas, **luteolina y luteolina 6-hidroxi**.

### **Glucósidos feniletanoides caffeoyl**

**Verbascosida** está usualmente presente en *Plantago*, a veces junto con **plantamajoside**. Un número de otros glucósidos feniletanoides, caffeoyl ha sido reportado en *Plantago*. La concentración de verbascósido es mayor en las semillas y tallos de floración de *Plantago major* mientras que la concentración majoside es más alta en las hojas.

### **Glucósidos iridoides**

Glucósidos iridoides han demostrado ser valiosos marcadores taxonómicos de subgénero *Plantago* y las secciones dentro de este subgénero, se llegó a la conclusión de su estudio (quimiotaxonomía y evolución de *Plantago*) "compuestos de tipo majoside pueden ser de valor taxonómico dentro subgénero *Plantago*, y la presencia frecuente de iridoides 5-hidroxilados y caffeoyl glucósido feniletanoides ( $\beta$ -hydroxyacetoside) apoyar una relación entre subgéneros *Coronopus* y *Plantago*".

Otros compuestos químicos, que han sido reportados en *Plantago*, son **aucubina, melittoside, 10-acetylaucubin, el ácido 10-O-acetylgeniposidic, asperuloside, melampyroside, plantarenalosite, ixoroside, majoside, 10-hydroxymajoside, 10-acetoxymajoside,**

**geniposidic ácido, hellicoside, acteosida, plantaginín, 6-7-hidroxluteolinaglocoside,  $\beta$ -hydroxyacteoside, orobanchoside y gardoside.**

Los compuestos polifenólicos en *Plantago major*. **Plantamajoside** es el principal compuesto fenólico conocido en *Plantago major*, sus efectos biológicos bien documentados de este compuesto incluyen la actividad anti-inflamatoria (un efecto inhibitor sobre el edema de oreja de ratón inducida por ácido araquidónico; la actividad de eliminación de radicales libres y algunos antibacteriano actividad. **Verbascósido** es el segundo compuestos fenólico de importancia presente en las semillas y tallos de floración de P. major. **Verbascosido** ha demostrado pronunciada actividad anti-hepatotóxico, la actividad contra varios tipos de células cancerosas y la actividad antiviral contra el virus de la estomatitis vesicular. Estos compuestos en las plantas también funcionan como protectores y repelentes contra herbívoros.<sup>4</sup>

Análisis de diversos extractos de hojas de *Plantago major* utilizados como medicina tradicional mediante cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de masas (GC-MS)

Realizaron el análisis de la composición química de los diversos extractos (éter de petróleo, metanol, acetato de etilo, n-butanol y acuoso) de la hoja de *Plantago major L* y fueron analizados por triple cuadrupolo GC-MS. Sus resultados se muestran a continuación.

---

<sup>4</sup> J. Jamilah, A.A. 1 1 Sharifa and 2 N.R.S.A. Sharifah

Table 1: Chemical composition of various extracts of *Plantago major* leaves

RT	Compound	Petroleum Ether	Methanol	Ethyl Acetate	n-Butanol	Aqueous
10.527	Glycerin			30.70		12.02
10.994	Pentanoic Acid	1.44				
11.327	Group of Diglycerol		30.31			
11.583	Glycol		18.91			
11.756	Group of Diglycerol		5.26			
13.445	Group of Phenol	0.81			2.31	
14.035	Adenosine					8.87
14.340	Glucosamine	0.78				
14.738	Trans-Dueos	2.45				
15.523	Cinnamic Acid	0.68				
15.864	Octanoic Acid	4.88				
16.012	Methane	3.35			3.15	
16.305	Diathiapentene		8.43			14.53
16.369	Butane			5.02		
16.473	Catechin				1.67	
16.598	Group of Dodecane	1.40				
16.682	Pyrocatecho		2.19			
16.745	Catechin					9.22
16.920	Thiophene	0.84				
17.044	Group of Dodecane	0.65				
17.299	Benzofuran		3.30		4.47	
17.789	Pyrrole	0.98			1.74	
19.437	Silicic Acid	1.25				

Análisis de diversos extractos de hojas de *Plantago major* utilizados como medicina tradicional mediante cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de masas (GC-MS)<sup>5</sup>

Table 1: Continue

RT	Compound	Petroleum Ether	Methanol	Ethyl Acetate	n-Butanol	Aqueous
19.602	Isosorbide			4.05	5.03	
19.618	Dianhydro mannitol	1.80				
20.031	Tridecane	2.31				
20.354	Ethanone				2.63	7.40
20.365	Group of Phenol		3.99		1.33	
21.592	Napthalenone		3.01			14.13
22.421	DL-proline		5.21	7.58		
23.051	Acrylic Acid	1.30				
23.059	Vanilin				1.90	
23.315	Tetradecane	3.33				
24.374	Benzene			21.81		27.47
26.568	Group of Phenol	2.11	7.11	3.86	10.20	6.37
27.161	Benzofuranone	10.48			1.52	
28.310	Fumaric Acid	2.03				
29.961	Megastigmatrienone			5.04		
30.432	Cyclohexanoine	4.24				
31.690	Hydroxy-B ionone	3.88				
33.844	Penthyne-diol	10.26	7.59		6.00	
35.898	Pentadecanone	5.65			4.12	
37.832	Elosonoic Acid	3.20			1.73	
38.025	Benzene propanoic Acid	10.18	3.00	5.72	16.83	
38.657	Dibutyl phthalate			16.22		
38.815	Hexadecanoic Acid	1.72	1.67		2.34	
39.771	Propiolic Acid	1.07				
42.107	Linolenin				2.54	
42.314	Phytol	13.32			5.86	
46.350	Pthalic Acid				24.62	
46.546	Heptacosane	3.63				

Análisis de diversos extractos de hojas de *Plantago major* utilizados como medicina tradicional mediante cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de masas (GC-MS)<sup>6</sup>

<sup>5</sup> GC-MS Analysis of Various Extracts from Leaf of *Plantago major* Used as Traditional Medicine

J. Jamilah, A.A. 1 1 Sharifa and 2 N.R.S.A. Sharifah

<sup>6</sup> GC-MS Analysis of Various Extracts from Leaf of *Plantago major* Used as Traditional Medicine

J. Jamilah, A.A. 1 1 Sharifa and 2 N.R.S.A. Sharifah

**Table 1.** Chemical composition of *P. major* L. (seeds and leaves) and *C. tetragonoloba* L. beans (% on dry weight basis).

	<i>P. major</i> leaves	<i>P. major</i> seeds	<i>C. tetragonoloba</i>	L.S.D. at 5%
Crude Protein	14.50 <sup>c</sup> ±0.06	15.01 <sup>b</sup> ±0.07	25.58 <sup>a</sup> ±0.11	0.1639
Fat	0.9 <sup>c</sup> ±0.01	1.45 <sup>b</sup> ±0.02	2.94 <sup>a</sup> ±0.02	0.0370
Ash	16.8 <sup>a</sup> ±0.1	7.14 <sup>b</sup> ±0.06	3.6 <sup>c</sup> ±0.05	0.1442
Crude fiber	13.7 <sup>b</sup> ±0.13	26.9 <sup>a</sup> ±0.3	10.3 <sup>c</sup> ±0.10	0.3929
Total hydrolysable carbohydrate	48.89 <sup>b</sup> ±0.44	45.87 <sup>c</sup> ±0.36	56.90 <sup>a</sup> ±0.6	0.9627

Values are means ± SD of three measurements. Means in the same row with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

Mohamed, I. Kobeasy y colaboradores realizaron un estudio de los componentes bioquímicos de *Plantago major* y esto se adjuntan a continuación.<sup>7</sup>

**Table 2.** Fatty acid composition % of *P. major* L. (seeds and leaves) and *C. tetragonoloba* L. beans (% of total lipid).

Fatty acid	<i>P. major</i> L. leaves	<i>P. major</i> L. seeds	<i>C. tetragonoloba</i> L. beans
C <sub>12:0</sub>	-	10.18	-
C <sub>14:0</sub>	-	9.27	-
C <sub>16:0</sub>	17.99	15.48	14.72
C <sub>16:1</sub>	0.73	0.37	0.07
C <sub>18:0</sub>	1.62	3.84	7.81
C <sub>18:1</sub>	4.08	11.89	21.85
C <sub>18:2</sub>	18.73	25.41	48.99
C <sub>18:3</sub>	56.19	20.07	5.11
C <sub>20:0</sub>	0.41	3.49	1.16
C <sub>20:1</sub>	0.26	-	0.28
Unsaturated	79.98	57.74	76.31
Saturated	20.02	42.26	23.69
Unsaturated F.A/ Saturated F.A	3.22	1.37	3.99

<sup>7</sup> Biochemical studies on *Plantago major* L. and *Cyamopsis tetragonoloba* L.  
Mohamed, I. Kobeasy<sup>1</sup>, Osama, M. Abdel-Fatah<sup>1</sup>, Samiha M. Abd El-Salam<sup>2</sup> and Zahrat El-Ola M. Mohamed<sup>2\*</sup>

**Table 3.** Amino acid composition of *P. major* L. (seeds and leaves) and *C. tetragonoloba* L. beans (g/100g sample) on dry weight basis.

Amino acids	<i>P. major</i> L. leaves	<i>P. major</i> L. seeds	<i>C. tetragonoloba</i> L. beans
Lysine	0.79±0.03	0.51±0.008	1.05±0.04
Threonine	0.64±0.01	0.48±0.009	0.75±0.01
Valine	0.92±0.03	0.70±0.01	0.81±0.03
Isoleucine	0.92±0.03	0.45±0.008	0.79±0.03
Leucine	1.30±0.05	0.77±0.03	1.31±0.05
Phenylalanine	0.80±0.03	0.55±0.01	0.89±0.03
Tyrosine	0.64±0.01	0.41±0.008	0.87±0.03
Total essential amino acid	6.01	3.87	6.47
Serine	0.62±0.02	0.59±0.01	1.07±0.04
Proline	0.64±0.03	0.62±0.03	0.71±0.04
Glycine	0.70±0.02	0.70±0.01	1.27±0.05
Alanine	0.75±0.04	0.59±0.02	0.93±0.05
Aspartic	1.85±0.03	1.05±0.04	2.22±0.04
Glutamic	1.97±0.03	2.16±0.05	4.41±0.08
Histidine	0.32±0.006	0.26±0.006	0.53±0.01
Arginine	0.70±0.02	0.72±0.03	2.41±0.09
Total non-essential amino acids	7.55	6.69	13.55

Values are means ± estimated uncertainty (U).

**Table 4.** Biological active compounds of *P. major* L. (seeds and leaves) and *C. tetragonoloba* L. beans (mg/g) on dry weight basis.

Constituent	<i>P. major</i> L. leaves	<i>P. major</i> L. seeds	<i>C. tetragonoloba</i> beans	L.S.D. at 5%
Total phenol (mg gallic/g)	13.05 <sup>a</sup> ±0.10	7.43 <sup>b</sup> ±0.07	3.76 <sup>c</sup> ±0.04	0.1496
Total flavonoid (mg Quercetin/g)	6.41 <sup>a</sup> ±0.04	3.03 <sup>b</sup> ±0.03	0.83 <sup>c</sup> ±0.01	0.05652
Tannins (mg Catechine /g)	5.63 <sup>a</sup> ±0.06	2.43 <sup>b</sup> ±0.03	0.76 <sup>c</sup> ±0.01	0.07838

Values are means ± SD of three measurements. Means in the same raw with different letters are significantly different (p < 0.05).

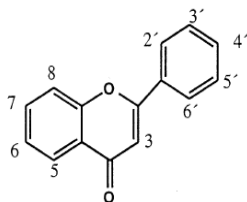
**Table 5.** Phenolic and falvonoide compounds of *P. major* L. (seeds and leaves) and *C. tetragonoloba* L. beans (mg/100 g).

<b>Compounds</b>	<b><i>P. major</i> leaves</b>	<b><i>P. major</i> seeds</b>	<b><i>C. tetragonoloba</i> beans</b>
Gallic	4.8096	0.686	1.090
pyrogallic	-	-	-
Catechol	0.241	2.356	4.103
Catechine	15.924	3.684	1.003
Caffeic acid	8.164	9.832	0.222
Vanillic acid	2.478	1.365	-
Syrengeic	4.158	3.074	1.788
Caffeine	-	-	3.158
Ellagic	132.110	-	1.055
Coumarin	2.347	0.4387	-
Ferulic acid	32.439	48.584	1.885
Colchicine	25.026	1.828	6.851
Luteolin	10.079	7.107	1.04
Quercetin	2.089	1.563	0.030
Isorhomonnetin	-	-	-
Rutin	4.323	4.071	0.338
Quercetrin	0.323	0.542	1.056
sakaruntin	-	-	-
Naringenin	0.086	0.892	0.045
Hypersoid	0.992	-	-
Chrisin	0.0224	0.013	0.043
Kaempferol	0.825	0.347	0.026

## Flavonoids in *plantago major*<sup>8</sup>

Flavonoids in *Plantago major* L. compound

Compound



	3	5	6	7	8	2'	3'	4'	5'	6'	References <sup>a</sup>
Apigenin 7-glucosid	H	OH	H	OGlc	H	H	H	OH	H	H	3
Baicalein	H	OH	OH	OH	H	H	H	H	H	H	1
Hispidulin	H	OH	Ome	OH	H	H	H	OH	H	H	2
Hispidulin 7-glucuronide	H	OH	Ome	OGlcA	H	H	H	OH	H	H	3
Homoplantagin	H	OH	Ome	OGlc	H	H	H	OH	H	H	4, 5
Luteolin 7-glucosid	H	OH	H	OGlc	H	H	OH	OH	H	H	3
Luteolin 7-diglucosid	H	OH	H	OGlc-Glc	H	H	OH	OH	H	H	3
Luteolin 6-hydroxy-4'-methoxy-7-galactoside	H	OH	OH	OGal	H	H	OH	OMe	H	H	3
Nepetin 7-glucoside	H	OH	Ome	OGlc	H	H	OH	OH	H	H	3
Plantagin	H	OH	OH	OGlc	H	H	H	OH	H	H	4, 5
Scutellarein	H	OH	OH	OH	H	H	H	OH	H	H	1, 2

<sup>a</sup> References: 1, Maksyutina (1971a); 2, Harborne and Williams (1971); 3, Kawashty et al. (1994); 4, Nishibe et al. (1995); and 5, Skari et al. (1999b).

## Antibiotic activity of *plantago major*<sup>9</sup>

Antibiotic activity of *Plantago major* L. water extract, methanol extract (MeOH), 50% and 70% ethanol extract (EtOH) determined by measurement of inhibition zones of discs containing extracts on bacteria cultures on agar plates<sup>a</sup>

Bacteria	H <sub>2</sub> O	MeOH	50% EtOH	70% EtOH	References <sup>b</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	–		++	+	1, 2, 3
<i>S. aureus</i> , methicillin resistant		+			5
<i>S. aureus</i> , methicillin sensitive		–			5
<i>Streptococcus pyogenes</i>			–		3
<i>Bacillus subtilis</i>		–	++	–	2, 3, 5
<i>Shigella sonnei</i>				+	2
<i>S. flexneri</i>			–/+	++	2, 3, 4
<i>S. dysenteriae</i>			++		4
<i>Salmonella typhi</i>			–/+		3, 4
<i>S. enteritidis</i>			–		4
<i>S. typhimurium</i>		++			5
<i>Serratia marcescens</i>		–			5
<i>Enterobacter aerogenes</i>		–			5
<i>Escherichia coli</i>	–	–	++	+	1, 2, 3, 4, 5
<i>Escherichia "crim"</i>				+	2
<i>Klebsiella pneumonia</i>		–			5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		–	–		3, 5
<i>Proteus vulgaris</i>			–		3
<i>Mycobacterium phlei</i>		+			5
<i>M. smegmatis</i>				+	2

<sup>a</sup> Effects as defined by the authors: –, inhibition zone <6–8 mm; +, inhibition zone 6–10 mm; ++, inhibition zone 10–15 mm.

<sup>b</sup> References: 1, Gaw and Wang (1949); 2, Moskalenko (1986); 3, Cáceres et al. (1987b); 4, Cáceres et al. (1990); and 5, McCutcheon et al. (1992).

<sup>8</sup> The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review

Anne Berit Samuelsen, 2000

<sup>9</sup> The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review

Anne Berit Samuelsen, 2000



## 2.2.2. STREPTOCOCCUS MUTANS

*Streptococcus mutans* es uno de los microorganismos cariogénicos asociados a la caries dental. Se describe la caries dental como un proceso dinámico de desmineralización y remineralización, producto del metabolismo bacteriano sobre la superficie dentaria, que con el tiempo puede producir una pérdida neta de minerales. Se describe la caries dental como un proceso dinámico de desmineralización y remineralización, producto del metabolismo bacteriano sobre la superficie dentaria, que con el tiempo puede producir una pérdida neta de minerales. La microflora oral es un complejo ecosistema que contiene una amplia variedad de especies microbianas. (Tabla 1)

**Distribución de bacterias en varios sitios en la boca humana**

Grupo Bacteriano	Sitio			
	Placa	Lengua	Saliva	Surco
Gingival				
Cocos G+ Facultativos	28.2	44.8	46.2	28.8
Estreptococos	27.9	38.3	41.0	27.1
<i>S. mutans</i>	(0-50)	(0-1)	(0-1)	(0-30)
<i>S. sanguis</i>	(40-60)	(10-20)	(10-30)	(10-20)
<i>S. mitior</i>	(20-40)	(10-30)	(30-50)	(10-30)
<i>S. salivarius</i>	(0-1)	(40-60)	(40-60)	(0-1)
<i>S. milleri</i>	(3-25)	(0-1)	(0-1)	(14-56)
Estafilococos	0.3	6.5	4.0	1.7
Cocos G+ anaerobicos	12.6	4.2	13.0	7.4
Cocos G- anaerobicos	6.4	16.0	15.9	10.7
Cocos G- facultativos	0.4	3.4	1.2	0.4
Bacilos G+ facultativos	23.8	13.0	11.8	15.3
Bacilos G+ anaerobicos	18.4	8.2	4.8	20.2
Bacilos G- facultativos	ND <sup>b</sup>	3.2	2.3	1.2
Bacilos G- anaerobios	10.4	8.2	4.8	16.1
Espiroquetas	ND	ND	ND	1.0

Fuente: Hamada S, Slade HD. Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiological reviews. 1980 Jun;44(2):331-84.  
 Los datos entre paréntesis son expresados como un porcentaje de los conteos totales de estreptococos facultativos.  
<sup>b</sup> ND, No detectado.

*Streptococcus mutans* es un coco Gram positivo, dispuesto en cadena, no móvil, catalasa negativo, productor rápido de ácido láctico con capacidad de cambiar un medio de pH 7 a pH 4.2 en, aproximadamente, 24 horas. Fermentador de glucosa, lactosa, rafinosa, manitol, inulina y salicina con la

producción de ácido. Normalmente no desamina la arginina para producir amoniaco.

Usualmente no producen ni hemólisis ni decoloración en agar sangre, es principalmente alfa o gamma hemolítico en agar sangre de cordero, aunque se han reportado unas pocas cepas hemolíticas. El hábitat natural de *S. mutans* es la boca humana. Puede aislarse frecuentemente de heces en humanos y ratas.

No existe un solo método de cultivo para examinar la variable y compleja placa dental que satisfaga todas las condiciones necesarias. En algunos casos se requieren procedimientos estrictamente anaeróbicos.

### ***Streptococcus mutans***

*Streptococcus mutans* es una especie cocácea, Gram positivo, que se agrupa en cadenas. Para desarrollarse necesita medios enriquecidos y ambientes de microaerofilia o anaerobiosis, con una tensión de dióxido de carbono al 10%. Posee los polisacáridos antigénicos definidos para los serotipos c, e y f, siendo el serotipo c el más predominante de la cavidad oral en seres humanos.

Se puede aislar en medios enriquecidos como agar Mitis Salivarius con bacitracina (MSB) y el agar Trypticase Yeast-extract Cystine Saccharose con bacitracina (TYCSB) (29). Estos medios son selectivos para esta especie por la presencia de sacarosa y bacitracina en concentraciones críticas, las cuales son toleradas por *Streptococcus mutans*, pero no por los demás microorganismos orales.<sup>10</sup>

A diferencia del resto de los *Streptococcus* orales, *Streptococcus mutans* es capaz de fermentar diversos azúcares, particularmente el manitol y el sorbitol. Si la cantidad de hidratos de carbono disponible es limitada, los productos de la

---

<sup>10</sup> The traditional uses, chemical constituents and biological activities of Plantago major L. A review  
Anne Berit Samuelsen, 2000

fermentación serán formato, acetato y etanol. En medios ricos en carbohidratos se genera ácido láctico, éste es el que más ha sido asociado con el origen de la caries. Esta propiedad es conocida como **acidogenia**. La velocidad con que *Streptococcus mutans* produce ácidos, testada en rangos de pH entre 7.0 a 5.0, excede a la de los *Streptococcus* orales en la mayoría de las ocasiones, produciendo cambios en la ecología de la microbiota bucal; éstos incluyen el aumento en la proporción de *Streptococcus mutans* y de otras bacterias acidógenas y acidúricas. Esta microbiota cariogénica reduce el pH a bajos niveles, con lo que se aumenta el tiempo de recuperación del pH neutro, luego de la ingestión de carbohidratos, manteniendo los valores de pH en el biofilm bajo 5.4, lo cual favorece la desmineralización del esmalte y la consiguiente producción de caries.

Estas especies son diferenciables mediante pruebas serológicas y bioquímicas, cuyas características bioquímicas y serológicas de especies del género *Streptococcus*.<sup>11</sup>

Especie	Serotipo	Hidrólisis de Arginina	Fermentación		Producción de H <sub>2</sub> O	Crecimiento aeróbico	Susceptibilidad a la bacitracina	Hidrólisis de Esculina
			Rafinosa	Melobiosa				
<i>S.mutans</i>	c,e,f	-	+	+	-	+	-	+
<i>S.rattus</i>	b	+	+	+	-	+	-	-
<i>S.cricetus</i>	a	-	+	+	-	-	+	+
<i>S.sobrinus</i>	d,g	-	-	-	+	+	-	-
<i>S.ferus</i>	c	-	-	-	-	-	+	+
<i>S.macacae</i>	c	-	+	-	-	-	+	+
<i>S.downei</i>	h	-	-	-	-	-	+	-

Otras de las propiedades que posee esta especie son la **aciduria** y la **acidofilia**. La aciduria es la capacidad de sobrevivir y seguir produciendo ácidos a pH bajo. Esta propiedad le permite mantener la capacidad glicolítica a niveles de pH donde el crecimiento está inhibido (bajo pH 4.4); la acidofilia, por su parte, es la capacidad que posee para desarrollarse en medio ácido.

A partir de la fermentación de hidratos de carbono, principalmente de la sacarosa, *Streptococcus mutans* puede sintetizar **polisacáridos**

<sup>11</sup> Estudio clínico comparativo de recuento de *Streptococcus mutans* antes y después de la aplicación de sellante. Acuña Zepeda, Natalia Paz. Universidad de Chile, 2013.

**extracelulares (EPS)** como glucanos (dextrán y leván) y fructanos, que promueven la adherencia selectiva y la acumulación de un amplio número de *Streptococcus* cariogénicos en los dientes, además de aumentar la porosidad y dimensión de la matriz de la placa dental, permitiendo una mayor difusión de sustrato a través de la superficie del esmalte, produciendo descenso de los valores de pH en capas más profundas del biofilm, favoreciendo un incremento en el desarrollo de caries. Estas sustancias se observan como gotitas de un líquido alrededor de una colonia. Por otro lado, también sintetiza **polisacáridos intracelulares (IPS)** de reserva que pueden ser degradados por dextranasas, fructanasas y glucógeno fosforilasas, los cuales utilizan cuando no disponen de alimentos.<sup>12</sup>

Afortunadamente, muchas de las especies de estreptococos orales pueden aislarse de varios sitios usando medios selectivos como el Agar Mitis Salivarius (MS).

### Características claves para la identificación de la especie predominante estreptocócica

Organismo	Fermentación						Hidrólisis		Polisacárido a partir de la sacarosa	Peróxido	Hemólisis en agar sangre de cordero
	Manitol	Sorbitol	Melibiosas	Rafinosa	Esculina	Inulina	Arginina	Esculina			
<i>S. mutans</i>											
a	+	+	+	+	+	+	-	+	Glucano>>fructano	+	δ
b	+	+	+	+	+	+	+	+	Glucano>>fructano	-	γ
delf	+	+	+	+	+	+	-	+	Glucano>>fructano	-	γ
d/g	+	±	-	-	-	+	-	+	Glucano>>fructano	+	δ
<i>S. sanguis</i>											
A	-	-	-	+	+	+	+	-	Glucano	+	α
B	-	-	-	-	-	-	-	-	Glucano	+	α
<i>S. mitior</i>	-	-	-	±	±	-	-	-	±	+	α
<i>S. salivarius</i>	-	-	-	+	+	±	-	-	Fructano>>glucano	-	γ
<i>S. milleri</i>	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	α/γ

Fuente: Hamada S, Slade HD. Biology, immunology, and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiological reviews. 1980. Jun;44(2):331-84.

<sup>12</sup> Estudio clínico comparativo de recuento de *Streptococcus mutans* antes y después de la aplicación de sellante. Acuña Zepeda, Natalia Paz. Universidad de Chile, 2013.

## **Clasificación de *Streptococcus mutans***

Con base en la composición y los enlaces de los polisacáridos de la pared celular, estreptococos del grupo mutans se pueden clasificar en 8 serotipos: *Streptococcus mutans* (serotipos c, e, f y k), *Streptococcus sobrinus* (serotipos d y g), *Streptococcus cricetus* (serotipo a), *Streptococcus rattus* (serotipo b), *Streptococcus ferus* (serotipo c), *Streptococcus macacae* (serotipo c) y *Streptococcus downei* (serotipo h). Se sabe que el serotipo c de *S mutans* es el tipo predominante en la cavidad oral humana más que las cepas e, d, f y k.<sup>13</sup>

### **2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS**

**Metabolitos secundarios de las plantas** son los compuestos químicos sintetizados por las plantas que cumplen funciones no esenciales en ellas, de forma que su ausencia no es fatal para la planta, ya que no intervienen en el metabolismo primario de las plantas. Los metabolitos secundarios de las plantas intervienen en las interacciones ecológicas entre la planta y su ambiente, pueden ser divididos en 3 grandes grupos, con base en sus orígenes biosintéticos:

- 1. Terpenoides.** Todos los terpenoides, tanto los que participan del metabolismo primario como los más de 25000 metabolitos secundarios, son derivados del compuesto IPP (o "5-carbono isopentenildifosfato") que se forman en la vía del ácido mevalónico. Es un grupo grande de metabolitos con actividad biológica importante. Están distribuidos ampliamente en las plantas y muchos de ellos tienen funciones fisiológicas primarias. Unos pocos, como los que forman los aceites esenciales, están restringidos a solo algunas plantas.

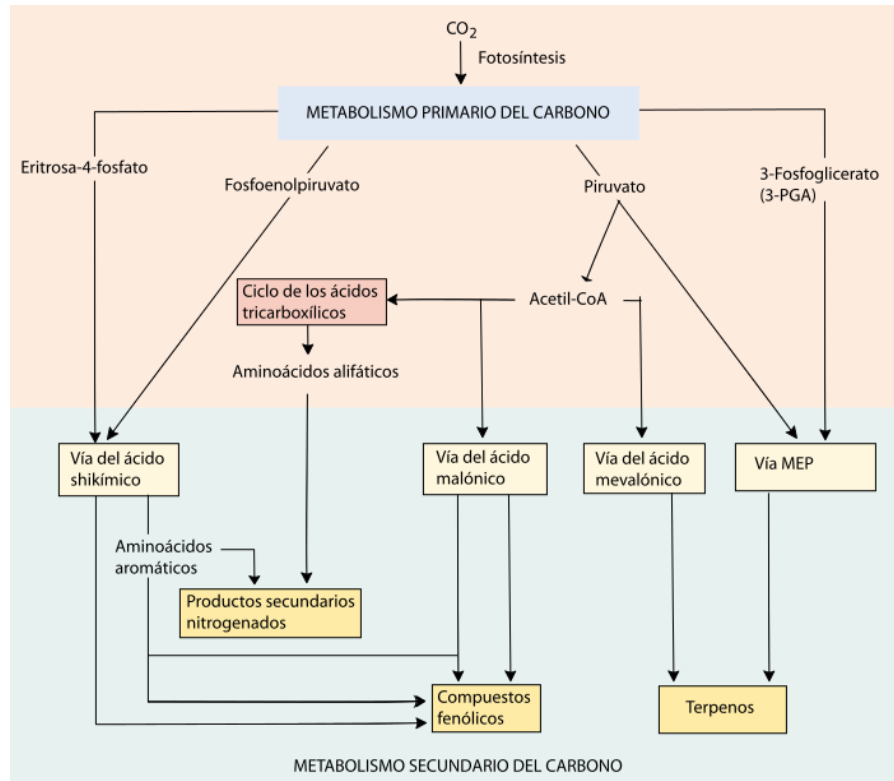
---

<sup>13</sup> *Streptococcus mutans* and dental caries  
*Streptococcus mutans* y caries dental  
Juan Carlos Ojeda-Garcés, Eliana Oviedo-García, Luis Andrés Salas

2. **Compuestos fenólicos y sus derivados**, los más de 8 000 compuestos fenólicos que se conocen están formados o por la vía del ácido shikímico o por la vía del malonato/acetato.
3. **Compuestos nitrogenados o alcaloides**, los alrededor de 12 000 alcaloides que se conocen, que contienen uno o más átomos de nitrógeno, son biosintetizados principalmente a partir de los aminoácidos. Los alcaloides poseen una gran diversidad de estructuras químicas. Son fisiológicamente activos en los animales, aún en bajas concentraciones, por lo que son muy usados en medicina. Ejemplos conocidos son la cocaína, la morfina, la atropina, la colchicina, la quinina.
4. **Fenoles** constituyen un grupo de compuestos estructuralmente relacionados que contienen un grupo hidroxilo (-OH) enlazados directamente a un grupo hidrocarburo aromático, y están presentes en muchos productos naturales, la fenoles en productos naturales varían desde moléculas simples, tales como el ácido fenólico grandes compuestos altamente polimerizados, polifenólicos como los taninos.<sup>14</sup>

---

<sup>14</sup> The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review  
Anne Berit Samuelsen, 2000



## Bactericida

**Etimología:** Del griego *baktheria*, y del latín *caedere*, matar.

**Que destruye las bacterias.**

Un efecto bactericida es aquel que produce la muerte a una bacteria. Un efecto bactericida está producido por sustancias bactericidas. Estas sustancias son secretadas por los organismos como medios defensivos contra las bacterias. antimicrobianos de efecto lísico o lítico (Lisis) en las bacterias, provocan una reducción en la población bacteriana en el huésped o en el uso de sensibilidad microbiana. Los bactericidas pueden ser desinfectantes, antisépticos o antibióticos.

**Halo de inhibición**, zona alrededor de un disco de antibiótico en un antibiograma en el que no se produce un crecimiento bacteriano en una placa de agar (Mueller Hinton) inoculada con *Streptococcus mutans*. Es una medida de la potencia del antibiótico (extracto hidroalcohólico de llantén) frente al microorganismo de prueba.

**IN VITRO:** cuyo significado es dentro de vidrio. Es el conjunto de ensayos que se realizan en sistemas aislados, en tubos de ensayo o placas petri. Se trabajan con microorganismos, con órganos aislados.

**IN VIVO** (latín: dentro de lo vivo) significa “que ocurre o tiene lugar dentro de un organismo”. En ciencia se refiere a experimentación hecha dentro o en el tejido vivo de un organismo vivo, por oposición a uno parcial o muerto. Pruebas con animales y los ensayos clínicos son formas de investigación in vivo.

**Extractos Hidroalcohólicos** son extractos líquidos concentrados, obtenidos de la extracción de una planta o parte de ella, utilizando como solvente alcohol y agua. Presentan sedimento, color y aroma característicos de la planta de la cual se obtienen. Su concentración es 1:1, es decir, de un kilo de planta, se obtiene 1 litro de extracto.

Sistema disperso obtenido después de mantener la droga (material vegetal) en etanol durante 7 a 15 días. La concentración de alcohol puede variar, al igual que la temperatura de extracción. Generalmente se trabaja a temperatura ambiente y protegido de la luz.<sup>15</sup>

---

<sup>15</sup> The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review - Anne Berit Samuelsen, 2000



## CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

### 3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

El presente estudio es una investigación experimental, prospectiva, y transversal, donde se evalúa in vitro el efecto bactericida del extracto alcohólico de *Plantago major* frente a *Streptococcus mutans*.<sup>16</sup>

**Experimental:** se valora el efecto de una o más variables, donde el investigador manipula las condiciones de la investigación.

**Prospectivo:** los datos se analizan transcurridos un determinado tiempo. Los datos obtenidos son consecuencia de la investigación.

**Transversal:** se realiza entre los meses de marzo y julio 2016

### 3.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Investigación experimental - correlacional

---

<sup>16</sup> Hernández Sampier Roberto et al, Metodología de la Investigación 5 ed. DERECHOS RESERVADOS © 2010, 2006, 2003, 1998, 1991 respecto a la quinta edición por: McGRAW-HILL / INTERAMERICANA EDITORES, S.A. DE C.V. A Subsidiary of The McGraw-Hill Companies, Inc. Prolongación Paseo de la Reforma 1015, Torre A, Piso 17, Colonia Desarrollo Santa Fe, Delegación Álvaro Obregón, C.P. 01376, México D.F.

Se evaluará el poder bactericida del extracto hidroalcohólico (depende de la concentración de los metabolitos secundarios y se mide el halo de inhibición. Se evaluó cuáles de las soluciones hidroalcohólicas extractante extrae la mayor concentración de metabolitos secundarios.<sup>17</sup>

### **3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN**

#### **3.3.1 POBLACIÓN**

Plantas de llantén que crecen en el distrito de Vegueta, provincia de Huaura, Región Lima, país Perú, recogidas en el mes de marzo 2016.

#### **3.3.2 MUESTRA**

Se recolectó plantas de llantén. Se empleó las hojas secas de llantén las cuales fueron pulverizadas manualmente y con ellas se prepararon extractos hidroalcohólico a la concentración del 10% w/V. Las soluciones extractantes fueron de concentraciones del 10, 20, 30, 40 y 70% V/V de etanol (alcohol etílico).

### **3.4. VARIABLES, DIMENSIONES E INDICADORES**

#### **Variable independiente:**

Concentración de metabolitos en extracto hidroalcohólico de llantén al 10% w/V en soluciones hidroalcohólicas de distinta concentración.

---

<sup>17</sup> Hernández Sampier Roberto et al, Metodología de la Investigación 5 ed. DERECHOS RESERVADOS © 2010, 2006, 2003, 1998, 1991 respecto a la quinta edición por: McGRAW-HILL / INTERAMERICANA EDITORES, S.A. DE C.V. A Subsidiary of The McGraw-Hill Companies, Inc. LA INVESTIGACION EDUCATIVA. MARIA JOSE ALBERT GOMEZ. S.A. MCGRAW-HILL / INTERAMERICANA DE ESPAÑA, 2007

### Variable dependiente:

Actividad bactericida del extracto alcohólico de llantén, medido a través de los halos de inhibición.

<b>Variables</b>	<b>Dimensiones</b>	<b>Indicadores</b>
<b>Variable independiente:</b> Concentración de metabolitos en extracto hidroalcohólico de llantén al 10% w/V en soluciones hidroalcohólicas de distinta concentración.	Concentración de metabolitos en el extracto hidroalcohólico de llantén	Color de la solución extractante. Presencia de sedimentos.
<b>Variable dependiente:</b> Actividad bactericida del extracto alcohólico de llantén, medido a través de los halos de inhibición.	Actividad bactericida	Halo de inhibición

## 3.5. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

### 3.5.1 TÉCNICAS

#### Observación experimental

Se determinara el halo de inhibición (poder bactericida) de extracto hidroalcohólico de hojas de llantén. Esta variará en función a la concentración de metabolitos secundarios extraídos por la solución hidroalcohólica.

### **3.5.2 INSTRUMENTOS**

#### **Hoja o ficha de registro de datos**

Cuadro de doble entrada que registra el halo de inhibición, el número de experimento o repetición y la concentración del extracto.

### **3.6. PROCEDIMIENTOS**

#### **3.6.1. OBTENCION DE LA MUESTRA DE LLANTÉN**

Se recogió hojas de llantén adulto (con inflorescencia) de las plantas que crecen en las chacras del distrito de Vegueta. Estas hojas fueron secadas a la sombra, cubiertos con papel kraft, a temperatura ambiente (alrededor de 21°C).

La presión atmosférica en el distrito de Vegueta y Huacho se considera 760 mm Hg (a nivel del mar). El tiempo de secado fue de alrededor 7 días. Se tuvo cuidado cambiar de posición a las hojas para evitar su apelmazamiento y descomposición.

#### **3.6.2. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA**

Cuando las hojas estuvieron lo suficientemente secas se pulverizaron manualmente, empleando los guantes correspondientes para no contaminar.

Paralelamente se prepararon soluciones hidroalcohólicas de diferentes concentración a partir de alcohol de 96° GL. Las concentraciones fueron: 10%, 20%, 30%, 40% y 70% volumen / volumen.

### 3.6.3. OBTENCIÓN DE EXTRACCIÓN ALCOHÓLICA

Se utilizaron 5 frascos con tapa, en cada uno de ellos se colocó 10g. de hoja de Llantén previamente pulverizados.

Luego se agregó en cada frasco 10g. de hoja de Llantén más 100ml de alcohol al 10%.

En el segundo frasco se agregó 10g. de hoja de Llantén más 100ml de alcohol al 20%.

En el tercer frasco se agregó 10g. de hoja de Llantén más 100ml de alcohol al 30%.

En el cuarto frasco se agregó 10g. de hoja de Llantén más 100ml de alcohol al 40%.

En el quinto frasco se agregó 10g. de hoja de Llantén más 100ml de alcohol al 70%.

Se pesaron 10 g de las hojas y pulverizadas de Llantén y se colocaron en 5 frascos las soluciones correspondientes.

Se obtuvieron cinco frascos en total.

Se agitaron los frascos con frecuencia durante siete días.

Posteriormente se separaron el remanente (hojas) del sobrenadante (extracto) empleando un papel de filtro.

Todos los extractos exhibieron un color marrón oscuro, transparente y un olor "sui generis".

La preparación de las diversas soluciones hidroalcohólicas y los extractos al 10% V/V, 20% V/V, 30% V/V, 40% V/V y 70% V/V, de las hojas secas de Llantén se efectuaron en los laboratorios de la Universidad Alas Peruanas, filial Huacho.

Se procede a su evaluación microbiológica.

### 3.6.4. EVALUACIÓN DEL EFECTO BACTERICIDA IN VITRO

#### Recursos ambientales

Laboratorio de microbiología de la Universidad Alas peruanas - Huacho.

#### Materiales:

- Extracto etanólico de *Plantago major* "llantén"
- Agua destilada.
- Suero fisiológico
- Extracto etanólico de *Plantago major* de 10%, 20%, 30%, 40% y 70%
- Agar Mueller Hinton.
- Suspensión de bacteria *Streptococcus mutans* con una turbidez al tubo 0.5 de la escala de Mcfarlan

#### Materiales de laboratorio:

- Instrumentos para la obtención del extracto etanólico del llantén.
- Balanza de precisión.
- Instrumentos para la siembra microbiológica.
- Gradilla.
- Hisopos estériles
- Micropipetas.
- Placas Petri.
- Mechero de vidrio.
- Monodiscos de papel filtro Whatman N° 3
- Estufa de incubación.
- Varillas de vidrio.
- Viales estériles
- Papel kraft
- Mascarilla, gorro, guantes, gasas
- Vernier

## **Recursos humanos**

- Asesor
- Microbiólogo

## **Otros**

- Fichas u hojas de registro de datos

## **Procedimiento**

- Obtención del Extracto de *Plantago major* (llantén)
- Lavado, Empacado y Esterilización del Material
- Lavado
- Empacado
- Placas Petri
- Se corta el papel kraft, en forma de rectángulos adecuados para la cantidad de 2 a 3 cajas. Se coloca en la parte central y se envuelve. Se tomaron los extremos de Papel y se unen.
- Se hizo un nuevo dobléz recargando ligeramente en la caja para marcarlo.
- Los extremos se doblaron en forma triangular.
- Ya en forma triangular se doblan hacia atrás quedando listas.

## **Pipetas**

- Introducimos una pequeña porción de algodón en el cuello de la pipeta.
- Procurando que quede lo suficientemente apretada.
- Con tiras de papel de 3 cm de ancho se envolvió.
- Comenzamos por la punta y en forma de espiral, giramos hacia arriba hasta el final de la pipeta.

## **Esterilización**

- Colocamos el material dentro de la esterilizadora.
- Se encendió y se colocó los instrumentos a la temperatura y posición correcta (121°C) a 15-20 psi.
- Una vez alcanzado la temperatura correcta se prolongó 20 minutos de

exposición.

- Cuando acabo el tiempo de exposición del equipo dejamos un tiempo de enfriamiento.
- Retiramos los empaques y colocamos en lugares adecuados hasta ser usado.

### **Preparación del medio de cultivo Mueller Hinton.**

- La preparación del Agar Mueller Hinton se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Alas Peruanas.

## **COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL AGAR MUELLER**

Este medio de cultivo ha sido recomendado universalmente para la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos.

### **Fundamento**

El Clínica and Laboratory Standards Institute (CLSI), ex National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), recomendó su uso en forma rutinaria para la realización del antibiograma en medio sólido, debido a una serie de componentes, presenta buena reproducibilidad en las pruebas de sensibilidad, su contenido en inhibidores de sulfonamidas, trimetoprima y tetraciclina es bajo, la mayoría de los patógenos crece satisfactoriamente usando este medio de cultivo.



Fórmula (en gramos por litro)		Instrucciones
Infusión de carne	300.0	Suspender 37 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Dejar embeber de 10 a 15 minutos. Calentar con agitación frecuente y hervir durante 1 minuto. Esterilizar a 121°C durante 15 minutos. Enfriar a 45°-50°C y distribuir a cajas de Petri (o agregar los suplementos que se desee) hasta un nivel de 4 mm sobre una superficie horizontal (25-30 ml en placas de 9 cm de diámetro).
Peptona ácida de caseína	17.5	
Almidón	1.5	
Agar	15.0	
pH final: 7.3 ± 0.1		

- La cantidad de medio de cultivo que se coloca en cada placa es aproximadamente 20 mL cantidad necesaria para que los microorganismos puedan tener nutrientes necesarios para su crecimiento.
- Las placas, fueron almacenadas en un lugar oscuro a una temperatura entre 2 y 8 °C (parte más baja de la refrigeradora) envueltas en bolsas de polietileno para que no pierdan su humedad, hasta antes de usarlas. Evitar la congelación y el calentamiento excesivo. La fecha de duración del Agar Mueller Hinton es de 2 semanas, y el tiempo de incubación con el microorganismo inoculado es según recomendado en la literatura especializada.

### **Prueba de actividad antimicrobiana**

- La prueba de susceptibilidad antimicrobiana se realizó por el método de difusión en discos.
- Se utilizó como medio de cultivo el agar Mueller Hinton.
- Se utilizó 7 placas Petri y se rotulo con números arábigos del 1 al 6 en relación a las repeticiones de la prueba. Se marcó en el borde de la placa con números debidamente rotulados que indican la posición de los discos y el porcentaje de solución para cada uno.
- Se procedió a utilizar la muestra del tubo donde está la bacteria

*Streptococcus mutans*, cuya turbidez de la suspensión se ajustó al estándar 0.5 de la escala de McFarland ( $1-2 \times 10^8$  UFC/ml).

- El inóculo utilizado para la siembra con un hisopo estéril embebido por 1 minuto en la suspensión del tubo preparado a la escala de McFarland y se sembró sobre la superficie del agar hasta obtener una distribución uniforme del inóculo.
- Se procedió colocar los monodiscos embebido en las concentraciones de 10, 20, 30 40 y 70% V/V, del extracto etanólico de *Plantago major* (llantén) y el control que fue embebido en agua.
- Se colocaron los monodiscos con la ayuda de una aguja estéril, en cada placa se distribuyeron 6 monodiscos.
- Se colocaron los monodiscos en un lapso de 5 minutos para evitar que la placa pierda su humedad.

#### **Medición de los Halos de Inhibición**

- Se midió el diámetro de los halos de inhibición con el calibrador Vernier debidamente milimetrado en la base de la placa, los crecimientos de los halos alrededor del halo de inhibición del crecimiento bacteriano fueron medianos y grandes, se registraron en una ficha de recolección de datos.

## BITÁCORA EXPERIMENTAL



Bachiller Sandy Soto sosteniendo la planta completa de llantén, fresca.



Hojas secas de *Plantago major*, secadas a la sombra a temperatura ambiente



Tesista pulverizando manualmente las hojas secas de *Plantago major*, llantén





Bachiller Sandy Soto preparando uno de los cinco extractos hidroalcohólicos de llantén







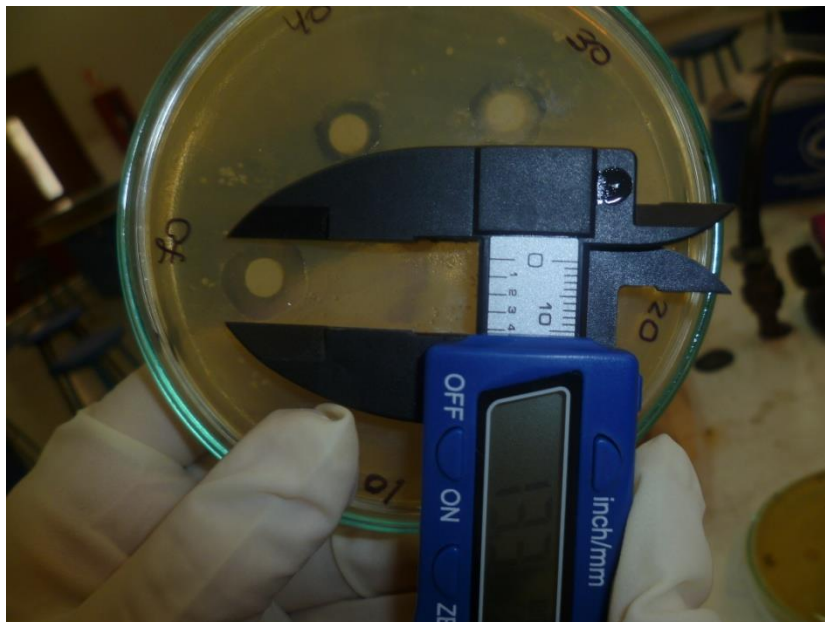
Bachiller Sandy Soto sosteniendo en su mano izquierda el extracto alcohólico de hojas secas de llantén



Se observa tres de los cinco extractos hidroalcohólicos de llantén con los cuales se va a embeber los discos, al fondo un recipiente conteniendo los cinco tubos, herméticamente cerrados conteniendo los extractos de llantén



Preparación de las placas petri con agar Mueller Hinton donde se ha incorporado la bacteria *Streptococcus mutans*



Medición del halo de inhibición empleando un Vernier

## CAPÍTULO IV: RESULTADOS

### 4.1. RESULTADOS

**HOJA DE REGISTRO DE DATOS N° 1**  
(Halos de inhibición)  
**Solución extractante, etanol al 10% V/V**  
*Plantago major*, "llantén"  
Microorganismo, *Streptococcus mutans*

Monodisco	Halo de Inhibición (mm)	Blanco
1	6,3	6,0
2	7,0	6,0
3	7,1	6,0
4	8,8	6,0
5	7,3	6,0
6	8,1	6,0
7	8,2	6,0

Fuente propia



**HOJA DE REGISTRO DE DATOS N° 2**  
 (Halos de inhibición)  
**Solución extractante, etanol al 20% V/V**  
*Plantago major, "llantén"*  
 Microorganismo, *Streptococcus mutans*

Monodisco	Halo de Inhibición (mm)	Blanco
1	6,2	6,0
2	7,8	6,0
3	7,5	6,0
4	8,6	6,0
5	7,0	6,0
6	8,3	6,0
7	7,3	6,0

Fuente propia

**HOJA DE REGISTRO DE DATOS N° 3**  
 (Halos de inhibición)  
**Solución extractante, etanol al 30% V/V**  
*Plantago major, "llantén"*  
 Microorganismo, *Streptococcus mutans*

Monodisco	Halo de Inhibición (mm)	Blanco
1	7,9	6,0
2	7,7	6,0
3	8,2	6,0
4	9,4	6,0
5	7,9	6,0
6	9,7	6,0
7	8,3	6,0

Fuente propia

**HOJA DE REGISTRO DE DATOS N° 4**  
 (Halos de inhibición)  
**Solución extractante, etanol al 40% V/V**  
*Plantago major, "llantén"*  
 Microorganismo, *Streptococcus mutans*

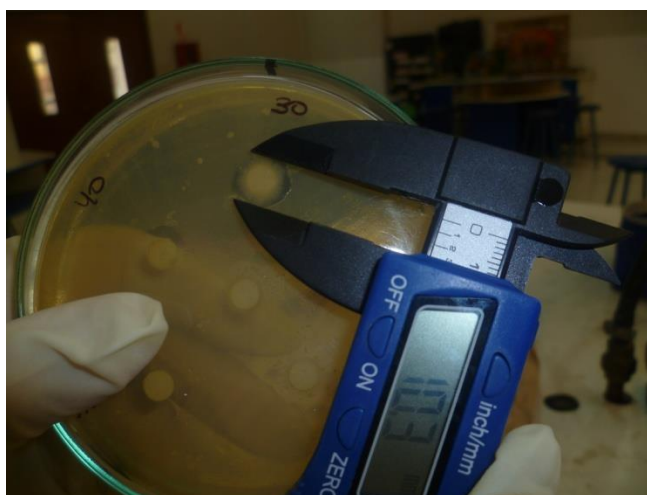
Monodisco	Halo de Inhibición (mm)	Blanco
1	9,3	6,0
2	8,1	6,0
3	8,7	6,0
4	9,6	6,0
5	9,0	6,0
6	9,3	6,0
7	9,1	6,0

Fuente propia

**HOJA DE REGISTRO DE DATOS N° 5**  
 (Halos de inhibición)  
**Solución extractante, etanol al 70% V/V**  
*Plantago major*, "llantén"  
 Microorganismo, *Streptococcus mutans*

Monodisco	Halo de Inhibición (mm)	Blanco
1	13,6	6,0
2	12,9	6,0
3	13,3	6,0
4	14,5	6,0
5	13,4	6,0
6	12,6	6,0
7	14,3	6,0

Fuente propia



Procedimiento para la medición de los halos de inhibición empleando un Vernier

**HOJA DE REGISTRO DE DATOS N° 6**  
 (Halos de inhibición, promedios)  
*Plantago major*, "llantén"  
 Microorganismo, *Streptococcus mutans*

Solución extractante (hidroalcohólica)	Halo de Inhibición (mm)	Blanco
10%	7,38	6,0
20%	7,43	6,0
30%	8,72	6,0
40%	9,08	6,0
70%	13,39	6,0

Fuente propia

### HOJA DE REGISTRO DE DATOS N° 7

Diámetro de los halos de inhibición en mm en función de cinco concentraciones del extracto etanólico de *Plantago major* "llantén" sobre *Streptococcus mutans*.

MEDICIÓN DE HALOS DE INHIBICIÓN						
Número de repeticiones	Concentración de extracto etanólico (%) de <i>Plantago major</i>					Control Agua
	10	20	30	40	70	
1	6,3	6,2	7,9	9,3	13,6	6,0
2	7,0	7,8	7,7	8,1	12,9	6,0
3	7,1	7,5	8,2	8,7	13,3	6,0
4	8,8	8,6	9,4	9,6	14,5	6,0
5	7,3	7,0	7,9	9,0	13,4	6,0
6	8,1	8,3	9,7	9,3	12,6	6,0
7	8,2	7,3	8,3	9,1	14,3	6,0
Promedio	7,38	7,43	8,72	9,08	13,39	6,0

Se sometió a evaluación microbiológica, empleando la bacteria *Streptococcus mutans* como microorganismo sensible o marcador los extractos hidroalcohólicos de las hojas secas de llantén, estabilizadas a temperatura ambiente.

La concentración de hojas fue al 10 % peso / volumen.

Se emplearon cinco soluciones hidroalcohólicas diferentes: 10, 20, 30, 40 y 70% volumen /volumen para verificar su capacidad extractante de los metabolitos secundarios de la hoja de llantén.

Los resultados fueron los siguientes:

**Blanco o control:** se empleó agua (inicialmente fue alcohol) pero como durante el proceso los discos se sometían a esterilización y toda el agua o el alcohol se evaporaba completamente, se prescindió del uso de alcohol. Alrededor de estos discos no hubo halo de inhibición.

**Extracto alcohólico al 10%:** se observa un halo de inhibición con un mínimo de 6,3 mm y un máximo de 8,8 mm, con un halo promedio de **7,38 mm**

**Extracto alcohólico al 20%:** se observa un halo de inhibición con un mínimo de 6,2 mm y un máximo de 8,6 mm, con un halo promedio de **7,43 mm**

**Extracto alcohólico al 30%:** se observa un halo de inhibición con un mínimo de 7,7 mm y un máximo de 9,9 mm, con un halo promedio de **8,72 mm**

**Extracto alcohólico al 40%:** se observa un halo de inhibición con un mínimo de 8,1 mm y un máximo de 9,8 mm, con un halo promedio de **9,08 mm**

**Extracto alcohólico al 70%:** se observa un halo de inhibición con un mínimo de 12,5 mm y un máximo de 14,5 mm, con un halo promedio de **13,39 mm**

De los resultados se concluye que la mejor solución extractante de los principios activos del llantén, con propiedades bactericidas frente a *Streptococcus mutans* es al 70% V/V., y la que continúa con estas características fue la de 40% V/V. esto se deduce en base al aumento de los halos de inhibición. La solución al 40% muestra 9,08 mm de halo y la de 70% exhibe 13,39mm en promedio.

Las investigaciones referidas a las propiedades del llantén indican que cuando se calientan o hierven las hojas (costumbre de nuestra población se pierden sus propiedades farmacológicas). Por eso la extracción hidroalcohólica de los metabolitos de las hojas de llantén se realizaron en frío (a temperatura ambiente)

## 4.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados experimentales muestran que el llantén tiene propiedades bactericidas frente a cepas de *Streptococcus mutans*.

El blanco no muestra halo de inhibición, lo que indica que no tiene propiedades bactericidas.

Los halos de inhibición indican que la mayor concentración de metabolitos secundaria se encuentra en la solución hidroalcohólica de 70% V/V y le continúa la solución al 40%, (tiene los mayores halos de inhibición respectivamente).

Las mejores soluciones extractantes son las soluciones hidroalcohólicas del 70% V/V y 40% V/V. Siendo la mejor o "ideal" la concentración de 70%, que es la misma del "alcohol medicinal" que se expenden en las farmacias y boticas del Perú. La concentración al 40% V/V es una buena alternativa, más aún teniendo en cuenta que es la misma de las bebidas destiladas que se expenden en nuestro país.

Nuestro resultado coincide con el trabajo experimental de **Verónica Alvarado Villanueva, Hilda Moromi Nakata, realizado en la Facultad de Odontología de la UNMSM, 2010, titulado, Plantas medicinales: "Efecto antibacteriano *in vitro* de *Plantago major* L, *Erythroxylum novogranatense*, *Plowman var truxillense* y *Camellia sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica"**. Ellos evaluaron la actividad del extracto etanólico de llantén en una concentración de 25 ug/mL y determinaron actividad bactericida sobre *Strptococcus mutans*.

Nuestro resultado es similar al realizado por Ivana T. Stanisavljević,<sup>1</sup> Sasa S. Stojic̃evic̃, Dragan T. Velic̃kovic̃, Miodrag L. Lazic̃, and Vlada B. Veljkovic̃ Faculty of Technology, Leskovac, **Serbia**. Zdravlje-Actavis, Leskovac, Serbia, publicado en el 2008, titulado: **Screening the**

**Antioxidant and Antimicrobial Properties of the Extracts from Plantain (Plantago Major L.) Leaves.** Ellos ensayan los extractos metanólicos y etanólicos al 96% sobre bacterias Gram-positivas (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*), dos Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) dos levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*), y un hongo (*Aspergillus niger*) y también encuentran actividad bactericida para las hojas de llantén, aunque una mayor actividad en el extracto etanólico.

## CONCLUSIONES

1. La mejor solución hidroalcohólica para extraer los metabolitos de las hojas secas de llantén lo constituye la solución al 70% V/V, ya que es la que exhibe los mayores halos de inhibición.
2. Inclusive se podría usar como medio de extracción la solución alcohólica al 40%, sin embargo, debido a su elevado porcentaje de agua (actividad de agua), podría ocurrir la descomposición bacteriana de los metabolitos secundarios y la pérdida de la actividad farmacológica (bactericida) observada en el presente trabajo de investigación.
3. La estabilidad del extracto alcohólico al 70% es superior a los dos meses.
4. El extracto acuoso de las hojas de llantén contiene una pequeña fracción de los metabolitos secundarios (principios activos) y además tiene una estabilidad muy baja comparada al extracto alcohólico al 40 y 70%.

## RECOMENDACIONES

1. Se recomienda continuar con el estudio de las propiedades bactericidas de las hojas de llantén debido al potencial farmacológico de las mismas. En esta investigación sólo se usó a la bacteria *Streptococcus mutans*, pero puede usarse otros microorganismos, tales como *Staphilococos aureus* e inclusive algunos hongos saprofitas de la piel, para verificar su actividad farmacológica y posiblemente generar formas farmacéuticas nuevas y de bajo costo.
2. Se otorguen mayores facilidades a los bachilleres para realizar la investigación conducente a la obtención de su título profesional.
3. También se recomienda realizar investigaciones donde se mezcle o combine el poder medicamentoso de otras plantas con el extracto de llantén para así lograr un producto con un efecto sinérgico de ser posible y completamente natural.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Blanco, B. Descripción anatómica, propiedades medicinales y uso potencial de *Plantago major*(*Ilantén mayor*) *Tecnología en Marcha*, Vol. 21-2, Abril-Junio 2008, P. 17-24
2. Alvarado V. Efecto antibacteriano in vitro de *Plantago Major L. Erythroxyllum Novogranatense*, *Plowman Var truxillense* y *Camellia sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica. UNMSM. Perú. 2010.
3. Berit A. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major L.* 2005.
4. Paz M. Manual de uso de hierbas medicinales en Paraguay. 2005
5. Cambar P. Evaluación de la actividad gastroprotectora de los extractos de *Ilantén (Plantago major)* Cochabamba, Bolivia 2012.
6. Pinto J. Efectos farmacológicos de los extractos acuosos de hojas de *Ilantén (Plantago major)* Bolivia. 2008.
7. Rodríguez A. Actividad anti fúngica in vitro de una crema de *Plantago major L.* 2012.
8. Muhamed Z. Genetic and environment effects on polyphenols in *Plantago major*. Swedish university of Agricultural Sciences Balsgard 2010.
9. Mohamed, I. Biochemical studies on *Plantago major L.* and *Cyamopsis tetragonoloba L.* *International Journal of Biodiversity and Conservation* Vol. 3(3), pp. 83-91, March. Egipto. 2011.

10. Jamilah, J A.A. GC-MS Analysis of Various Extracts from Leaf of *Plantago major* Used as Traditional Medicine *World Applied Sciences Journal* 17: 67-70, Malasia. 2012.
11. Basma M. The Study of Antibacterial Activity of *Plantago major* and *Ceratonia siliqua*. *The Iraqi Postgraduate Medical Journal*, VOL.11, N° 1, 2012

#### OTRAS REFERENCIAS

12. Major H. Structure and antibacterial activity of plantamajoside, a caffeic acid sugar ester from *Plantago major* sub sp. *Royal Danish School of Pharmacy, Department of Pharmacognosy and Botany, 2 Umversitetsparken, DK-2100 Copenhagen 0, Denmark. 1988*
13. Teles, D.G.<sup>1</sup>; Costa, M.M. Estudo da ação antimicrobiana conjunta de extratos aquosos de Tansagem (*Plantago major* L., Plantaginaceae) e Romã (*Punica granatum* L., Punicaceae) e interferência dos mesmos na ação da amoxicilina in vitro. *Brasil. 2014*
14. Silvia M. Llantén Funcional. [biblioagro@yahoo.com.ar](mailto:biblioagro@yahoo.com.ar) Santa Cruz, Argentina. 2012.
15. Saffidine K. Antioxidant and antimicrobial activities of *plantago major*. 2012.  
<http://innovareacademics.in/journals/index.php/ijpps/article/view/5032>
16. Kafkas D.  
*Antibacterial\_Effects\_of\_Ethanol\_and\_Acetone\_Extract\_of\_Plantago\_major\_L\_on\_Gram\_Positive\_and\_Gram\_Negative\_Bacteria. 2012*  
DOI:10.9775/kvfd.2011.5824
17. El uso del Llantén, una hierba milenaria, <http://mejorconsalud.com/el-uso-del-llanten-una-hierba-milenaria/>

18. Aliaga M. Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de hojas de *aloesia triphylla* p. "cedrón" frente a *escherichia coli* attc 25922 y *Staphylococcus aureus* 25923. Tacna, 2013.
19. Bastos M. Actividad antimicrobiana de aceite esencial de *Origanum vulgare* L. ante bacterias aisladas en leche de bovino. *Rev Cubana Plant Med.* 2011; 16(3): 260-266.
20. Borboa-F. Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de aceites esenciales contra *Clavibacter michiganensis* subespecie *michiganensis*. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 12 (2010): 539 – 547.
21. Cosco D. Actividad inhibitoria del crecimiento de *Streptococcus mutans* y de flora mixta salival por acción de aceite esencial de la *Matricaria chamomilla* manzanilla. [Tesis, para optar al título de Cirujano Dentista]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2010.
22. Coy BCA, Eunice AG. Antibacterial activity and chemical composition of essential oils of rosemary (*Rosmarinus officinalis*), thyme (*Thymus vulgaris*) and turmeric (*Curcuma longa*) from Colombia. *Rev Cubana Plant Med* vol.18 no.2 Ciudad de la Habana abr.-jun. 2013.
23. Maraví I. "Efecto antibacteriano y antifúngico del aceite esencial de: *Menta piperita* (menta), *Origanum vulgare* (orégano) y *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 10746 y *Cándida albicans* ATCC 90028". Universidad Wiener, 2012.
24. Vanesa A. Formulación de un fitomedicamento con actividad gastroprotectora a partir de extractos de llantén (*Plantago major*) *Formation of a phytomedicine from llanten (Plantago major) extract with gastroprotective activities* Bolivia. 2010

25. Juan C. Streptococcus mutans and dental caries Streptococcus mutans y caries dental. Cuba. 2010
26. Acuña Z. Estudio clínico comparativo de recuento de Streptococcus mutans antes y después de la aplicación de sellante. Universidad de Chile, 2013.
27. Hernández S. Metodología de la Investigación 5 ed. Derechos Reservados © 2010, 2006, 2003, 1998, 1991 respecto a la quinta edición por: McGRAW-HILL / Interamericana Editores, S.A. de C.V. A Subsidiary of The McGraw-Hill Companies, Inc.
28. Albert M. La investigación educativa. S.A. Mcgraw-hill / Interamericana de España, 2007
29. Enlaces de Internet (LINKS)
30. [https://www.ecured.cu/lant%c3%a9n\\_mayor](https://www.ecured.cu/lant%c3%a9n_mayor)
31. <http://www.boletinagrario.com/ap-6,bactericida,294.html>
32. [http://www.esacademic.com/dic.nsf/es\\_mediclopedia/11114/halo](http://www.esacademic.com/dic.nsf/es_mediclopedia/11114/halo)
33. <http://www.significados.com/in-vitro/>
34. [http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/cfmc/bioquimica\\_iii/in\\_vivo\\_e\\_in\\_vitro.pdf](http://sgpwe.izt.uam.mx/files/users/uami/cfmc/bioquimica_iii/in_vivo_e_in_vitro.pdf)
35. <http://redsa.com.mx/extractos-hidroalcoholicos.html>
36. <http://www.britanialab.com/productos/b23137%20rev%2001-mueller%20hinton%20agar.pdf>

# **ANEXOS**

## MATRIZ DE CONSISTENCIA

TITULO DEL ESTUDIO: Efecto bactericida del extracto hidroalcohólico de *Plantago major*, "llantén" frente a *Streptococcus mutans*.

PROBLEMAS	OBJETIVOS	MARCO TEORICO	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGIA
<p>¿El extracto hidroalcohólico de <i>Plantago major</i>, "llantén", tendrá efecto bactericida in vitro?</p> <p><b>Problemas Específicos</b></p> <p>¿Tendrá efecto bactericida <b>in vitro</b> el extracto hidroalcohólico de <i>Plantago major</i>, "llantén", al 10% sobre la cepas de <i>Streptococcus mutans</i>?</p> <p>¿Cuál será la <b>concentración adecuada</b> de la solución hidroalcohólica que permita una mayor extracción de metabolitos secundarios de <i>Plantago major</i>, "llantén" con mayor efecto bactericida sobre las cepas de <i>Streptococcus mutans</i>?</p>	<p>Determinar el efecto bactericida <b>in vitro</b> del extracto hidroalcohólico de <i>Plantago major</i>, "llantén" sobre las cepas de <i>Streptococcus mutans</i>.</p> <p><b>Objetivos específicos</b></p> <p>Evaluar el efecto bactericida in vitro del extracto hidroalcohólico de <i>Plantago major</i>, "llantén" al 10%</p> <p>Determinar la concentración de la solución hidroalcohólica que permita una mejor extracción de metabolitos secundarios de <i>Plantago major</i>, "llantén" con mayor efecto bactericida sobre las cepas de <i>Streptococcus mutans</i></p>	<p><i>Plantago major</i></p> <p><i>Streptococcus mutans</i></p> <p>Efecto bactericida</p> <p>Prueba in vitro</p> <p>Solución hidroalcohólica.</p>	<p>El extracto hidroalcohólico de <i>Plantago major</i>, "llantén" tiene efecto bactericida "in vitro" sobre las cepas de <i>Streptococcus mutans</i></p> <p><b>Hipótesis Específicas</b></p> <p>El extracto hidroalcohólico de <i>Plantago major</i>, "llantén" al 10% muestra efecto bactericida al ser evaluado "in vitro" frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i>.</p> <p>El extracto hidroalcohólico de <i>Plantago major</i>, "llantén" al 10% obtenido con la solución hidroalcohólica de mayor concentración volumen/volumen tiene un mayor efecto bactericida frente a cepas de <i>Streptococcus mutans</i>.</p>	<p><b>Variable Independiente:</b></p> <p>Concentración de metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de <i>Plantago major</i>, "llantén"</p> <p><b>Variable Independiente</b></p> <p>Actividad bactericida del extracto hidroalcohólico de <i>Plantago major</i>, "llantén".</p>	<p><b>Población</b></p> <p>Plantas de <i>Plantago major</i>.</p> <p><b>Muestra</b></p> <p>Hojas secas de <i>Plantago major</i>.</p> <p><b>Método</b></p> <p>Método de extracción, acuoso y etanólico</p> <p>Antibiograma</p> <p><b>Tipo</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Experimental</li> <li>- Prospectivo</li> <li>- Transversal</li> </ul> <p><b>Diseño</b></p> <p>Investigación experimental – correccional.</p>

## ANEXO 1



“AÑO DE LA CONSOLIDACIÓN DEL MAR DE GRAU”

### **CERTIFICADO DE EJECUCIÓN DEL PROCESO MICROBIOLÓGICO DE LA TESIS EFECTO BACTERICIDA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *PLANTAGO MAJOR*, "LLANTÉN" FRENTE A *STREPTOCOCCUS MUTANS***

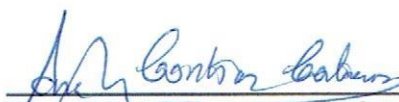
#### **CONSTANCIA**

Yo Ana Melva Contreras Contreras con DNI 17895446, de profesión Bióloga con N° de colegio de Biólogos 2850, Maestra en Ciencias Mención: Microbiología Clínica.

Dejo constancia y doy fe que, Sandy Fiorella Soto Paredes egresada de la Universidad Alas Peruanas de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica, ha ejecutado el procedimiento Microbiológico indicado en la Metodología del trabajo de investigación para obtener el título profesional de Químico Farmacéutico, el procedimiento Microbiológico en mención consta en: siembra por difusión en placas con Agar Mueller Hinton, aplicación en monodiscos de las concentraciones (10 mg/ml, 20 mg/ml, 30 mg/ml, 40 mg/ml, 70mg/ml) del extracto etanólico de *Plantago major* (Llantén) y posterior lectura de los resultados de medición de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano, el procedimiento se desarrolló en los ambientes del laboratorio de Microbiología de Ciencias de la Salud de la Universidad Alas Peruanas Huacho.

En ejercicio de mi profesión extendiendo la presente constancia para fines de investigación.

Huacho, 01 de julio del 2016

  
Bigo. Ms. C. Ana Melva Contreras Contreras  
C.B.P. N° 2850

## ANEXO 2



UNIVERSIDAD PERUANA  
CAYETANO HEREDIA

### CONSTANCIA

Quien suscribe hace constar que: **SANDY SOTO PAREDES**, Bachiller de la Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica, de la Universidad Alas Peruanas –sede Huacho– ha adquirido microorganismos de *Streptococcus mutans*<sup>\*</sup>, reactivados en el laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Ciencias y Filosofía del Departamento de Ciencias Celulares y Moleculares de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Se expide la presente al interesado para los fines que crea conveniente.

Atentamente.-

MSc. Dora Meurtua Torres  
Docente Microbiología – FCF – UPCH  
CBP 776

LIMA, 30 de junio, 2016



## ANEXO 3

### EVALUACIÓN FITOQUÍMICA

Luego de la preparación de los extractos hidroalcohólicos de Berro y Llantén se realizó diferentes ensayos con reacciones químicas de identificación, mediante cambios de color o formación de precipitados, para determinar la presencia de metabolitos secundarios: flavonoides (Shinoda), compuestos fenólicos (cloruro férrico), alcaloides (Dragendorff y Mayer), triterpenos y esteroides (Liebermann-Buchard), quinonas (Bornträger), compuestos lactónicos y cumarinas (Baljet), antocianidinas (Rosemhein) y azúcares reductores (Fehling), presentes en ambos extractos, cuyo propósito es contribuir, con base científica, de los componentes presentes en ellos.

#### **Ensayo de Shinoda (Flavonoides)**

Se coloca 20 gotas del extracto en un tubo de ensayo, se agrega de 2 a 3 virutas de Magnesio y unas gotas de ácido clorhídrico concentrado. Observe el cambio de coloración de rojo a magenta. "Se debe tomar en cuenta que si el extracto está disuelto en solvente orgánico, este debe evaporarse en baño de agua y el residuo disolver en 1mL de HCl al 1 %. Si se trata de un extracto acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de HCl concentrado."

#### **Ensayo de Mayer, Dragendorff y/o Wagner.(Alcaloides)**

La solución acuosa ácida se filtra hasta que el filtrado sea completamente transparente. Se toma una alícuota del filtrado para cada ensayo con los reactivos para alcaloides: Mayer, Dragendorff, Wagner. Se considera como positiva las pruebas en las que aparecen precipitados.

#### **Ensayo de Liberman- Buchard (Triterpenos y/o Esteroides)**

Para realizar este ensayo, si la alícuota no se encuentra en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo disolverse en 1mL de cloroformo. Se adiciona 1mL de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayo se dejan resbalar 2-3gotas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración. Rosado – azul muy rápido Verde intenso- visible aunque rápido Verde oscuro-negro-final de la reacción Para realizar este ensayo no puede haber agua en el medio

de reacción pues ésta con el ácido sulfúrico reacciona de forma violenta y puede ocurrir un accidente.

### **Ensayo de Borntrager (Quinonas)**

Si la alícuota no se encuentra en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo disolverse en 1mL de cloroformo. Se adiciona 1mL de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o amoníaco al 5 %. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación. El ensayo es positivo cuando la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado, en este caso se reporta (++) o rojo, para lo cual se reporta (+++).

### **Ensayo de Baljet (Cumarinas)**

Si la alícuota de la muestra a probar no está en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolviendo en 1mL de alcohol. Seguidamente, se añade 1mL del reactivo. La prueba es positiva, cuando aparece una coloración o precipitado de color rojo (++ y +++) respectivamente.

### **Ensayo de espuma (Saponinas)**

Si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10min. El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2mm de altura y persistente por más de 2 min.

### **Ensayo de Cloruro Férrico (Taninos)**

Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. A una alícuota del extracto alcohólico se le adiciona 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9% en agua). Si el extracto es acuoso el ensayo determina fundamentalmente taninos. A una alícuota del extracto se añade acetato de sodio para neutralizar y 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede dar la siguiente información: -4

- Coloración rojo-vino compuestos fenólicos general.
- Coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos
- Coloración azul, taninos tipo pirogalotánicos.

## **Ensayo de Resinas**

Para detectar este tipo de compuestos se adiciona a 2mL., de la solución alcohólica, 10mL., de agua destilada. La aparición de un precipitado, indica un ensayo positivo.

## **Ensayo de Antocianidinas**

Permite conocer en los extractos vegetales la presencia de estas estructuras de secuencia C6-C3-C6 del grupo de los flavonoides. Se calienta 2mL del extracto etanólico por 10min., con 1mL., de HCl concentrado. Dejar enfriar y luego adicionar 1mL., del agua y 2mL., de alcohol amílico. Agitar y dejar separar las 2 fases. La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica, indica ensayo positivo.

**Formulación de un fitomedicamento con actividad gastroprotectora a partir de extractos de llantén (Plantago major)**

**Formation of a phytomedicine from llanten (Plantago major)extract with gastroprotective activities**

**Vanesa Andrea Sabag Asfura, Jenny Pinto Dávalos, Silvia Zabalaga Vía, Marco Camacho Aramayo**