

Actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Plantago major* frente a *Streptococcus mutans*
Antibacterial activity of *Plantago major* ethanolic extract against *Streptococcus mutans*

Marco Antonio Sánchez Tito^{1*} <https://orcid.org/0000-0001-5886-9372>

Antony Enrique Tello Salgado² <https://orcid.org/0000-0003-2314-6830>

¹Universidad Privada de Tacna. Escuela Profesional de Odontología. Tacna, Perú.

²Práctica Privada. Tacna, Perú.

*Correo electrónico: marcosanchez2183@gmail.com

RESUMEN

Introducción: Las propiedades antibacterianas de *Plantago major* frente a microorganismos orales no se ha estudiado ampliamente.

Objetivo: Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de *Plantago major* y determinar su actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans*.

Métodos: Se prepararon concentraciones del 25 %, 50 %, 75 % y 100 % de extracto etanólico (EE) de *Plantago major*. Se cargaron seis discos de papel con 10 µL, 15 µL, 20 µL y 25 µL de cada concentración, haciendo un total de 96 discos. Los discos fueron colocados en placas Petri con agar cerebro-corazón inoculadas con *Streptococcus mutans*, se empleó clorhexidina al 0,12 % como control positivo. Se calcularon seis repeticiones para cada concentración. Las placas fueron incubadas a 37 °C por 48 horas. La medición de los halos de inhibición se realizó con un compás digital. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba ANOVA de un factor seguido por la prueba *post hoc* de Tukey.

Resultados: El análisis químico del extracto etanólico de *Plantago major* identificó la presencia de terpenos, diterpenos, saponinas, terpenoidales y aceites esenciales. Las concentraciones del 25 % y 50 % no mostraron efecto antibacteriano, los volúmenes mayores de 20 µL de la concentración del 75 % y todas las del 100 % fueron efectivos para inhibir el crecimiento de *Streptococcus mutans* con halos de inhibición de 8,36 mm a 14,64 mm. La clorhexidina al 0,12 % inhibió el crecimiento de *Streptococcus mutans* con halos de inhibición de 17,77 mm en promedio, presentando diferencias significativas con todas las concentraciones del extracto etanólico de *Plantago major* (P < 0,05).

Conclusiones: El extracto etanólico de *Plantago major* presentó derivados de los terpenos y saponinas, y mostró actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* en volúmenes y concentraciones mayores a 20 µL/75 %.

Palabras claves: agentes antibacterianos; *Plantago major*; *Streptococcus mutans*.

ABSTRACT

Introduction: The antibacterial properties of *Plantago major* against oral microorganisms have not been widely studied.

Objective: Identify the secondary metabolites present in an ethanolic extract of *Plantago major* and determine their antibacterial activity against *Streptococcus mutans*.

Methods: The *Plantago major* ethanolic extract (EE) was prepared at concentrations of 25%, 50%, 75% and 100%. Six paper discs were loaded with 10 µl, 15 µl, 20 µl and 25 µl of each concentration, for a total 96 discs, which were then placed on Petri plates with brain heart agar inoculated with *Streptococcus mutans*. The positive control was 0.12% chlorhexidine. Six replicates were estimated for each concentration. The plates were incubated at 37°C for 48 hours. Inhibition haloes were measured with a digital caliper. Statistical analysis was based on one-factor ANOVA testing followed by Tukey's *post hoc* test.

Results: Chemical analysis of the *Plantago major* ethanolic extract identified the presence of terpenes, diterpenes, saponins, terpenoids and essential oils. The 25% and 50% concentrations did not display an antibacterial effect, whereas volumes above 20 µl of the 75% concentration and all 100% volumes were effective to inhibit *Streptococcus mutans* growth with inhibition haloes of 8.36 mm to 14.64 mm. 0.12% chlorhexidine inhibited *Streptococcus mutans* with inhibition haloes of 17.77 mm on average, presenting significant differences with all the concentrations of the *Plantago major* ethanolic extract ($p < 0.05$).

Conclusions: The *Plantago major* ethanolic extract was found to contain terpene and saponin derivatives, and displayed antibacterial activity against *Streptococcus mutans* at volumes and concentrations above 20 µl / 75 %.

Key words: antibacterial agents, *Plantago major*, *Streptococcus mutans*.

Recibido: 14/06/2020

Aceptado: 20/01/2021

Introducción

Plantago major es una planta que se distribuye ampliamente en América, Asia y África.⁽¹⁾ Es conocido popularmente como “llantén”.⁽²⁾ *Plantago major* se utiliza ampliamente como remedio natural ya que posee propiedades antiinflamatorias, antibacterianas, antihemorrágicas, astringentes y cicatrizante debido a sus componentes químicos.^(1, 2, 3)

Sus propiedades son resultado de la interacción de las distintas sustancias que pueden ser aisladas de las diversas partes de la planta como hojas, tallos y semillas. Se ha observado la presencia de flavonoides, alcaloides, terpenoides, derivados del ácido caféico, glucósidos iridoideos, ácidos grasos, polisacáridos, vitamina C y caratenoideos.^(2, 4) Pesantes-Sangay et al.⁽⁵⁾ identificaron la presencia de componentes fenólicos, flavonoides, triterpenos, esteroides, antocianidina, cumarinas, saponinas, alcaloides y taninos en un extracto etanólico de *Plantago major*. Mazzutti et al.⁽⁶⁾ identificaron como los principales constituyentes del extracto de *Plantago major*: ácido n-hexadecanóico (38,47 %), ácido 9,12-octadecadienóico (17,20 %) y α -sitosterol (40,18 %), por el método de extracción de fluidos supercríticos.

En el Perú existe una gran diversidad de plantas medicinales, incluida *Plantago major*, que crece de manera silvestre en gran parte de la geografía del país. Adicionalmente se sabe que los constituyentes químicos de las plantas y en consecuencia sus propiedades farmacológicas pueden ser afectadas por diversos factores como las condiciones geográficas, ambientales, de cosecha y procesamiento de las plantas,⁽⁷⁾ así mismo es interesante analizar los constituyentes de estas plantas y compararlas con las procedentes de otras regiones geográficas.

Uno de los principios activos más importantes de *Plantago major* es la aucubigenina, que es un derivado del grupo de glucósidos iridoideos, que posee actividad antibacteriana por un mecanismo que permite desnaturalizar las proteínas de superficie de ciertos microorganismos, principalmente los gram-positivos.⁽⁸⁾

Koohsari et al.⁽⁹⁾ evaluaron el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Plantago major* sobre especies como *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysentery*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Enterococcus faecalis*, demostrando que el extracto etanólico fue efectivo en una concentración de 62,5 mg/mL frente a *S. aureus* y *S. epidermidis*; mientras que el resto de especies fueron resistentes.

En la cavidad oral se han reportado más de 700 especies microbianas, que frente a la pérdida de equilibrio homeostático pueden desarrollar múltiples enfermedades de orden estomatognático. Así, el uso de extracto etanólico de *Plantago major* al 75 % y 100 % ha demostrado ser efectivo para inhibir el crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* con halos de inhibición de 5,2 mm y 6,2 mm, respectivamente, aunque el efecto fue menor que el registrado para clorhexidina al 0,12 % + 0,05 % de cloruro de cetil-piridinio (14,9 mm).⁽⁵⁾

Por otro lado, *Streptococcus mutans* es el principal agente bacteriano asociado a la formación de caries dental, *Streptococcus mutans* es un microorganismo gram positivo y anaerobio facultativo que tiene el potencial de sintetizar ácido láctico a partir del azúcar, generando un descenso del pH a niveles críticos

menores de 5,5 que promueve la desmineralizar del esmalte.⁽¹⁰⁾ La caries dental afectan cerca del 80 % de la población mundial,⁽¹¹⁾ por lo que los esfuerzos para su prevención y control son importantes. Chen et al.⁽¹²⁾ recomiendan que el uso de plantas naturales puede ayudar al desarrollo de nuevos productos efectivos y seguros como estrategias para el control de la caries dental. Al respecto experiencias previas han demostrado que el extracto hidroalcohólico de *Plantago major* con una concentración de 50 µg/mL generó halos de inhibición de 8,8 mm, que fue moderadamente efectivo frente a *Streptococcus mutans*, estos valores fueron menores que los registrados para clorhexidina al 0,12 % (22 mm), además, identificaron la presencia de flavonoides, fenoles y quinonas, a las que se le puede atribuir el efecto antibacteriano.⁽¹³⁾

Con base en las experiencias previas y considerando que las propiedades antibacterianas de los derivados de las plantas se deben a sus principales constituyentes y estos pueden variar en función de su procedencia, el objetivo del estudio fue identificar los metabolitos secundarios presentes del extracto etanólico de *Plantago major* proveniente de la región sur del Perú y determinar su actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Métodos

Se diseñó un estudio experimental *in vitro*, transversal, analítico y prospectivo. La investigación fue inscrita y aprobada por la Unidad de Investigación de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Privada de Tacna con el número de registro 4772. El cálculo de las repeticiones del ensayo microbiológico fue realizado con el programa libre EPIDAT versión 4.2, comparando las medias de un estudio previo,⁽¹³⁾ con un nivel de confianza del 95 % y una potencia del 80 %, estableciendo seis repeticiones para cada concentración y para cada volumen del extracto etanólico de *Plantago major*, para lo que se emplearon un total de 96 discos de papel Whatman No. 3. Adicionalmente se emplearon seis repeticiones para la clorhexidina al 0,12 % y seis repeticiones para el agua destilada como controles positivo y negativo respectivamente.

Recolección de la planta

Se obtuvieron 2 kg de llantén durante el mes de marzo del 2020, en el Mercado Mayorista Grau de la ciudad de Tacna, Perú. Una muestra completa de la planta fue remitida al Departamento de Botánica de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, bajo el registro No. 2011. La muestra fue identificada como *Plantago major*. Se seleccionaron las hojas de las plantas, removiendo los tallos u otros elementos. Las plantas fueron transportadas al laboratorio de microbiología de la Universidad Privada de Tacna y fueron colocadas sobre una rejilla para ser

secadas en una estufa a 35 °C durante tres días. Posteriormente las hojas fueron pulverizadas y el producto se almacenó en un recipiente estéril.

Preparación del extracto etanólico

Para obtener el extracto etanólico de *Plantago major* se utilizó 100 g de hojas secas, pulverizadas y tamizadas colocadas en un frasco de vidrio. Se agregaron 350 mL de alcohol al 70°. El frasco fue cubierto con papel aluminio y almacenado a temperatura ambiente. La mezcla se dejó reposar por 15 días, agitándolo dos veces por día durante 15 min. El macerado fue filtrado por medio de papel filtro Whatman No. 42 y No. 1. Se reservaron 5 mL del extracto etanólico en un vial de vidrio para la identificación química de sus componentes; el resto del extracto fue desecado en una estufa a 60 °C por tres días para obtener el extracto en seco.

Preparación de las concentraciones del extracto etanólico

Se obtuvieron 4,2 g de extracto etanólico seco que fue reconstituido en 30 mL de alcohol al 70 %, obteniendo un extracto madre (extracto etanólico de *Plantago major* al 100 %). Una vez obtenida la concentración se procedió a dividir la mezcla en cuatro frascos ámbar con cantidades de 2,5 mL, 5 mL, 7,5 mL y 10 mL. A los tres primeros frascos se le agregó 7,5 mL, 5mL y 2,5mL de agua destilada, respectivamente. Obteniendo concentraciones al 25 %, 50 %, 75 % y 100 %. Los extractos etanólicos de *Plantago major* fueron almacenados a 4 °C hasta su uso.

Caracterización química del extracto etanólico

La determinación de metabolitos secundarios del extracto etanólico de *Plantago major* se realizó según la metodología de cromatografía en capa fina (CCF), empleando acetato de metanol-agua como fase móvil (4:0,5: 0,40) y como revelador: vainilla (1 %) y ácido sulfúrico (5 %) bajo condiciones de temperatura a 100 °C. Finalmente, la cromatoplaca fue revelada bajo una lámpara de luz ultravioleta a 365 nm. La cromatografía en capa fina se realizó en el laboratorio de ensayo y control de calidad de la Universidad Católica de Santa María.

Prueba de sensibilidad antibacteriana

Para analizar el efecto antibacteriano de las concentraciones del extracto etanólico de *Plantago major*, se empleó el método de difusión de disco en agar. Se reactivó una cepa liofilizada de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) en placas Petri con agar cerebro-corazón (BHA) e incubada a 37 °C por 48 h bajo condiciones de microaerofilia en una jarra de anaerobiosis y un sistema GasPack™ EZ Campy Container System. Posteriormente, se transfirieron cinco colonias con un asa bacteriológica y fueron colocadas en un tubo conteniendo 8 mL de caldo cerebro-corazón (BHI) e incubadas por 7 horas hasta alcanzar su

crecimiento logarítmico. Se ajustó el medio a una escala 0,5 de McFarland, la absorbancia se midió a una longitud de onda de 625 nm que equivale a una concentración de 10^8 UFC/mL. Se sembraron las placas Petri con la técnica de hisopado.

Para la prueba de difusión de disco se emplearon discos de papel Whatman No. 3 de 5 mm de diámetro. Se embebieron seis discos de papel con cada concentración de los extractos en los siguientes volúmenes: 10 μ L, 15 μ L, 20 μ L y 25 μ L. se empleó agua destilada como control negativo y clorhexidina al 0,12 % como control positivo. Las placas Petri fueron incubadas a 37 °C por 48 horas. La formación de halos de inhibición de crecimiento bacteriano se midió tres veces por el mismo observador con un compás Vernier digital (Ubermann©, Chile) para controlar la reproducibilidad de las mediciones, el promedio de las tres medidas se empleó para el análisis de los datos.

Análisis de los datos

Los datos fueron analizados con el programa SPSS en su versión 23.0 para Windows. Los datos descriptivos se muestran como media y desviación estándar. Para comprobar la distribución de los datos y el supuesto de homogeneidad de varianzas se realizó la prueba de Shapiro wilk y prueba de Levene, respectivamente. Con la comprobación de la distribución normal de los datos y la homogeneidad de las varianzas, se decidió emplear la prueba de análisis de la varianza de un factor (ANOVA) para la comparación de las medias. Para realizar las comparaciones de los halos de inhibición entre todos los grupos se eligió la prueba *post hoc* de Tukey. Se adoptó un nivel de significancia estadística del 5 %.

Resultados

La caracterización química del extracto etanólico de *Plantago major* por cromatografía en capa fina reveló la presencia de metabolitos secundarios como terpenos, di-terpenos, saponinas, terpenoidales y aceites esenciales (Fig. 1).



| | |
|-------------|---|
| Fase móvil | Acetato de etilo Metanol agua (4:0,5: 0,40) |
| Revelador | Vainilla (1%) Ácido sulfúrico (5%) |
| Temperatura | 100 °C |
| Metabolitos | Terpenos Di-terpenos Saponinas Terpenoidales Aceites esenciales |

Fig. 1. Determinación de metabolitos secundarios por cromatografía en capa fina (cromatoplaca).

En la tabla 1 se muestra el efecto antibacteriano de las diversas volúmenes y concentraciones del extracto etanólico de *Plantago major* frente a *Streptococcus mutans*. Los resultados mostraron que los volúmenes mayores de 20 μL y una concentración del 75 % poseen efecto antibacteriano, al compararlos con volúmenes y concentraciones menores ($p < 0,05$). Cuando se aplicó la prueba *post hoc* de Tukey para las comparaciones entre los grupos no se observaron diferencias significativas entre los volúmenes de 20 $\mu\text{L}/100\%$ y 25 $\mu\text{L}/25\%$ ($p = 0,991$), 20 $\mu\text{L}/100\%$ y 25 $\mu\text{L}/50\%$ ($p = 0,349$), 25 $\mu\text{L}/50\%$ y 25 $\mu\text{L}/75\%$ ($p = 0,754$). En todos los casos estos valores fueron significativamente menores que los registrados para CHX al 0,12 % ($p < 0,05$) (Tabla 2) (Fig. 2).

Tabla 1. Halos de inhibición (mm) generados por los distintos volúmenes y concentraciones del extracto etanólico de *Plantago major* y controles frente a *Streptococcus mutans* (Prueba ANOVA)

| Volumen/concentración extracto etanólico y controles | N | Media | Desviación estándar | Error estándar | Intervalo de confianza 95 % | | Valor P |
|--|---|-------|---------------------|----------------|-----------------------------|-----------------|---------|
| | | | | | Límite inferior | Límite superior | |
| 10 μL (25 %) | 6 | - | - | - | - | - | 0,000 |
| 10 μL (50 %) | 6 | - | - | - | - | - | |
| 10 μL (75 %) | 6 | - | - | - | - | - | |
| 10 μL (100 %) | 6 | - | - | - | - | - | |
| 15 μL (25 %) | 6 | - | - | - | - | - | |
| 15 μL (50 %) | 6 | - | - | - | - | - | |

| | | | | | | |
|------------------|---|--------|--------|-------|--------|--------|
| 15 µL (75 %) | 6 | - | - | - | - | - |
| 15 µL (100 %) | 6 | - | - | - | - | - |
| 20 µL (25 %) | 6 | - | - | - | - | - |
| 20 µL (50 %) | 6 | - | - | - | - | - |
| 20 µL (75 %) | 6 | 8,361 | 0,282 | 0,115 | 8,065 | 8,657 |
| 20 µL (100 %) | 6 | 12,046 | 0,460 | 0,188 | 11,563 | 12,530 |
| 25 µL (25 %) | 6 | 11,626 | 1,171 | 0,478 | 10,397 | 12,856 |
| 25 µL (50 %) | 6 | 12,841 | 1,200 | 0,490 | 11,581 | 14,101 |
| 25 µL (75 %) | 6 | 13,470 | 0,149 | 0,609 | 13,313 | 13,626 |
| 25 µL (100 %) | 6 | 14,645 | 1,068 | 0,436 | 13,524 | 15,765 |
| CHX (0,12 %) | 6 | 17,776 | 0,4152 | 0,169 | 17,340 | 18,212 |
| H ₂ O | 6 | - | - | - | - | - |

Tabla 2. Comparaciones múltiples entre los grupos (volumen/concentración) que demostraron actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* (prueba *post hoc* de Tukey)

| Grupos Volumen/concentración | 20 µL (75 %) | 20 µL (100 %) | 25 µL (25 %) | 25 µL (50 %) | 25 µL (75 %) | 25 µL (100 %) | CHX (0,12 %) |
|---------------------------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|
| 20 µL (75 %) | - | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| 20 µL (100 %) | 0,000 | - | 0,991 | 0,349 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| 25 µL (25 %) | 0,000 | 0,991 | - | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| 25 µL (50 %) | 0,000 | 0,349 | 0,006 | - | 0,754 | 0,000 | 0,000 |
| 25 µL (75 %) | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,754 | - | 0,000 | 0,000 |
| 25 µL (100 %) | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | - | 0,000 |
| 15 µL (CHX 0,12 %) | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | - |

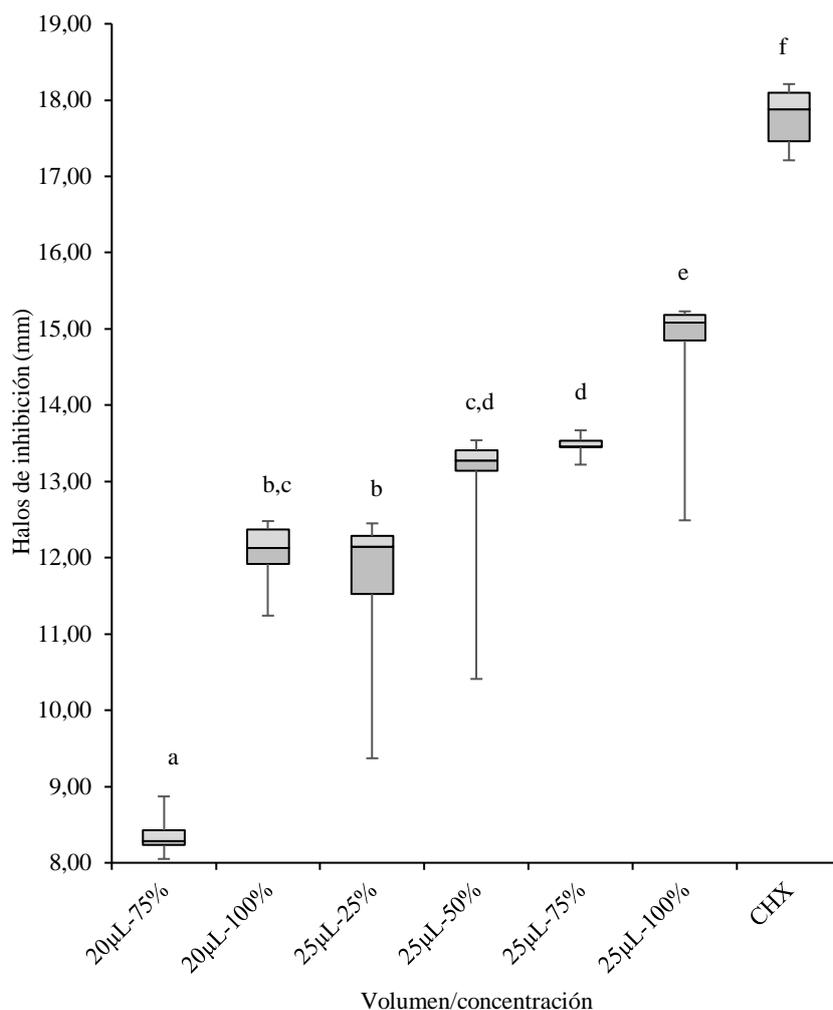


Fig. 2. Gráfico de cajas y bigotes de los volúmenes y concentraciones efectivos del extracto etanólico de *Plantago major* frente a *Streptococcus mutans*. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los grupos.

Discusión

Plantago major es una planta medicinal que pertenece a la familia *Plantaginaceae* y es reconocida por sus propiedades antiinflamatorias, cicatrizantes y antibacterianas.⁽¹⁾ Estas propiedades son atribuidas a sus componentes químicos; principalmente los flavonoides, terpenoides y glucósidos iridoides.⁽⁸⁾

En el estudio, el análisis de CCP del extracto etanólico de *Plantago major* reveló la presencia de terpenos, diterpenos, saponinas, terpenoidales y aceites esenciales. El método de la CCP permitió una valoración cualitativa de los principales constituyentes de esta planta; sin embargo, es necesario realizar ensayos más completos como la cromatografía de gases acoplada a espectroscopia de masas o técnicas de fraccionamiento para determinar de

manera cuantitativa el porcentaje de los principales compuestos químicos. Los metabolitos secundarios encontrados en el presente estudio son similares a los reportados por otros estudios,^(2, 4, 5) aunque no fue posible su cuantificación.

En cuanto a la actividad antibacteriana, los resultados mostraron que los volúmenes mayores a 20 µL del extracto etanólico de *Plantago major* en todas las concentraciones presentaron un importante efecto sobre la inhibición de crecimiento de *Streptococcus mutans*, aunque menores que los datos registrados para clorhexidina al 0,12 %. Los halos de inhibición del crecimiento bacteriano variaron desde 8 mm hasta 14 mm, mientras que para la clorhexidina se reportó halos de inhibición de 17 mm en promedio. Los resultados del estudio fueron mayores a los registrados en estudios previos; así Alvarado y Moromi⁽¹³⁾ encontraron halos de inhibición de 7,6 mm y 8,8 mm para las concentraciones de 25 µL/mL y 50 µL/mL de un extracto hidroalcohólico de *Plantago major* frente a *Streptococcus mutans*, estos resultados fueron significativamente menores que los registrados para la clorhexidina (22 mm). Valverde⁽¹⁴⁾ encontró que el extracto hidroalcohólico de *Plantago major* al 100 % generó halos de inhibición de 5,4 mm, significativamente menores a los registrados para la clorhexidina (18 mm). Las diferencias entre los resultados de los estudios previos y los encontrados en el estudio pueden deberse a las distintas propiedades de los principios activos de las plantas, ya que se sabe que el origen geográfico de las muestras puede influenciar en sus propiedades antibacterianas, al respecto, en el caso del estudio de Alvarado y Moromi la muestra de *Plantago major* fue recolectada de una provincia de Lima y se pudo identificar la presencia de flavonoides, fenoles y quinonas, a diferencias de los hallazgos en el este estudio donde principalmente se identificaron terpenos como metabolitos secundarios. Mientras que en el estudio de Valverde no se identificaron con compuestos del extracto de *Plantago major*.

La actividad antibacteriana de los derivados de *Plantago major* son mayoritariamente atribuidos a la aucubigenina, un derivado del grupo de glucósidos iridoideas presente en las hojas de la planta,⁽⁸⁾ el mecanismo de acción sobre las bacterias de este constituyente está asociado con el incremento de la permeabilidad de la membrana de la pared celular bacteriana, este efecto se ve potenciado por la presencia de componentes lipofílicos como las saponinas identificadas en la muestra estudiada, que contienen agliconas esteroides o triterpenoides con de potencial de incrementar la permeabilidad de la membrana sin destruirla.⁽¹⁵⁾

Por otro lado, los flavonoides y los terpenoides también poseen actividad antibacteriana, asociado a la pérdida de la integridad de la membrana celular y de la función de la célula bacteriana,⁽¹⁶⁾ especialmente sobre bacterias gram positivas. Sharifa et al.⁽¹⁷⁾ verificaron el efecto de extractos metanólicos y etanólicos a base de *Plantago major* sobre especies gram positivas como *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis* y una gram negativa como *Escherichia*

coli, demostrando que en las bacterias gram positivas se producía un colapso de la membrana celular, mientras que en la gram negativa ocurría la formación de indentaciones sobre su pared celular. Al respecto no existen estudios de microscopia electrónica que valoren el efecto del extracto etanólico de *Plantago major* sobre las estructuras de *Streptococcus mutans*, pero al tratarse de una bacteria gram positiva los mecanismos de acción reportados para otras especies pueden tener un comportamiento similar sobre esta bacteria. Como se mencionó previamente, la cromatografía en capa fina identificó la presencia de derivados de los terpenoides y saponinas, sin embargo, no es posible afirmar que el efecto antibacteriano se debe a la presencia individual de estos compuestos, es posible que se deba a un sinergismo entre ellos, además, se requiere métodos más específicos para el aislamiento y cuantificación de los constituyentes químicos, esto no fue posible en el estudio.

La investigación asumió un diseño *in vitro* que permitió una simplificación en el manejo de las variables, enfocándose en la evaluación de la actividad antibacteriana de distintas concentraciones y volúmenes del extracto etanólico de *Plantago major* frente a una cepa estandarizada de *Streptococcus mutans*. Sin embargo, a partir de este diseño es difícil extrapolar los resultados al comportamiento que se puede observar en un modelo *in vivo*, por lo que es necesario continuar con investigaciones que evalúen el efecto antibacteriano de los derivados de esta planta en modelos que empleen *biofilm* bacteriano proveniente de muestras clínicas, así como el análisis cuantitativo de los metabolitos secundarios, su aislamiento, identificación y valoración de las propiedades antibacterianas.

Con base en los resultados obtenidos en el estudio, se puede señalar que en el extracto etanólico de *Plantago major* se identificó la presencia de metabolitos secundarios como terpenos, diterpenos, saponinas, terpenoidales y aceites esenciales. Por otro lado, el extracto etanólico de *Plantago major* posee actividad antibacteriana en volúmenes y concentraciones mayores a 20 μ L/75 % frente a una cepa estandarizada de *Streptococcus mutans*.

Referencias bibliográficas

1. Najafian Y, Hamedi SS, Farshchi MK, Feyzabadi Z. *Plantago major* in traditional Persian medicine and modern phytotherapy: A narrative review. *Electron Physician* [Internet]. 2018;10(2):6390-6399 [acceso: 10/03/2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5878035/>
2. Adom MB, Taher M, Mutalabisin MF, Amri MS, Kudus MBA, Sulaiman MWA, et al. Chemical constituents and medical benefits of *Plantago major*. *Biomedicine and Pharmacotherapy* [Internet]. 2017;96:348-360 [acceso: 10/03/2020]. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0753332217322746>

3. Genc Y, Dereli FTG, Saracoglu I, Akkol EK. The inhibitory effects of isolated constituents from *Plantago major* subsp. *major* L. on collagenase, elastase and hyaluronidase enzymes: Potential wound healer. *Saudi Pharm J* [Internet]. 2020;28(1):101-106 [acceso: 13/04/2020]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319016419301604>
4. Samuelsen AB. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2000;71(1-2):1-21 [acceso: 13/04/2020]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874100002129>
5. Pesantes-Sangay SJ, Calla-Poma RD, Requena-Mendizabal MF, Alvino-Vales MI, Millones-Gómez PA. Chemical composition and antibacterial effect of *Plantago major* extract on periodontal pathogens. *Pesqui Bras Odontopediatria Clín Integr* [Internet]. 2020;20:e0012 [acceso: 12/08/2020]. Disponible en: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1983-46322020000100368&lng=en&nrm=iso
6. Mazzutti S, Riehl CAS, Ibañez E, Ferreira SRS. Green-based methods to obtain bioactive extracts from *Plantago major* and *Plantago lanceolata*. *The Journal of Supercritical Fluids* [Internet]. 2017;119:211-220 [acceso: 22/08/2020]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0896844616303291>
7. Chen SL, Yu H, Luo HM, Wu Q, Li CF, Steinmetz A. Conservation and sustainable use of medicinal plants: problems, progress, and prospects. *Chin Med* [Internet]. 2016;11:37 [acceso: 27/07/2020]. Disponible en: <https://cmjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13020-016-0108-7>
8. Blanco B, Saborío A, Garro G. Descripción anatómica, propiedades medicinales y uso potencial de *Plantago major* (llantén mayor). *Tecnología en Marcha* [Internet]. 2008;21(2):17-24 [acceso: 12/08/2020]. Disponible en: https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/107/106
9. Koohsari H, Ghaemi EA, Sadegh Sheshpoli M, Jahedi M, Zahiri M. The investigation of antibacterial activity of selected native plants from North of Iran. *J Med Life* [Internet]. 2015;8(Spec Iss 2):38-42 [acceso: 15/08/2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5327717/>
10. Lemos JA, Palmer SR, Zeng L, Wen ZT, Kajfasz JK, Freires IA, Abranches J, Brady LJ. The Biology of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Spectr*

- [Internet].;7(1):10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-20182019 [acceso: 15/08/2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6615571/>
11. Moynihan P. Sugars and Dental Caries: Evidence for Setting a Recommended Threshold for Intake. *Adv Nutr* [Internet]. 2016;7(1):149-56 [acceso: 10/08/2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4717883/>
 12. Chen X, Daliri EB, Kim N, Kim JR, Yoo D, Oh DH. Microbial etiology and prevention of dental caries: exploiting natural products to inhibit cariogenic biofilms. *Pathogens* [Internet]. 2020;9(7):569 [acceso: 17/08/2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7400585/>
 13. Alvarado VV, Moromi NH. Plantas medicinales: Efecto antibacteriano in vitro de *Plantago major* L, *Erythroxyllum novogranatense*, *Plowman* var *truxillense* y *Camellia sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica. *Odontol Sanmarquina* [Internet]. 2010;13(2):21-5 [acceso: 21/08/2020]. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odont/article/view/2853>
 14. Valverde MJN. Efecto Inhibitorio, in vitro, del extracto de *Plantago major* (llantén) frente a las cepas de *Streptococcus mutans*, Trujillo, año 2018 [Tesis]. Universidad Católica Los Ángeles Chimbote; 2018. Disponible en: <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/13442>
 15. Saboor A, Sajjadi S, Mohammadi P, Fallahi Z. Antibacterial activity of different composition of aglycone and glycosidic saponins from tuber of *Cyclamen coum* Miller. *Industrial Crops and Products* [Internet]. 2019;140 [acceso: 17/07/2020]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669019306727>
 16. Guimarães AC, Meireles LM, Lemos MF, Guimarães MCC, Endringer DC, Fronza M, Scherer R. Antibacterial activity of terpenes and terpenoids present in essential oils. *Molecules* [Internet]. 2019;24(13):2471 [acceso: 12/08/2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6651100/>
 17. Sharifa AA, Neoh YL, Iswadi MI, Khairul O, Abdul Halim M, Jamaludin M, et al. Effects of methanol, ethanol and aqueous extract of *Plantago major* on gram positive bacteria, gram negative bacteria and yeast. *Annals of Microscopy* [Internet]. 2008;8:42-44 [acceso: 17/08/2020]. Disponible en: <https://www.semanticscholar.org/paper/EFFECTS-OF-METHANOL-%2C-ETHANOL-AND-AQUEOUS-EXTRACT-OF-Sharifa-Neoh/0606c857702acd7355789874ab6d2038fa27fd9d>

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Contribución de autoría

Marco Sánchez Tito: Conceptualización, curación de datos, análisis formal, investigación, metodología, supervisión, visualización, borrador original, redacción, revisión y edición.

Antony Tello Salgado: Curación de datos, investigación, metodología, recursos, redacción, revisión y edición.