

Efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Plantago major* L. en el crecimiento meristemático radicular de *Allium cepa* L.

Sandoval-Velasco, J.A. 

Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Adventista de Chile; Chillán, Chile

E-mail del autor: josandoval@ubiobio.cl

Efecto inhibitorio del extracto etanólico de *Plantago major* L. en el crecimiento meristemático radicular de *Allium cepa* L. El uso de productos naturales, como el extracto de Llantén (*Plantago major*), ha generado un aumento en la comercialización de sustancias, que en algunos casos no son estudiadas en lo referido a sus eventuales efectos tóxicos. Se estudió del efecto del extracto etanólico de Llantén (*P.major*) sobre el crecimiento radicular, mediante la técnica estandarizada de aplastamiento de células meristemáticas radiculares de *Allium cepa*. Se usó extracto comercial etanólico Knop® (30 mg/mL de concentración). Se estableció un sistema de crecimiento de raíces, bajo condiciones controladas de temperatura, oxigenación y oscuridad. Se establecieron 3 grupos (Control Negativo, Grupo Experimental con Tiempo creciente y Grupo con Dosis creciente de 0,75 mg/mL, 1,5 mg/mL, 7,5 mg/mL, 15 mg/mL y 30 mg/mL). Previamente se evaluó la dosis óptima para el estudio. Se utilizaron 18 bulbos de *Allium cepa*, con 3 bulbos para cada grupo de estudio. La exposición al extracto etanólico fue a las 24, 48, 72, 96 y 120 h. Se hicieron los aplastados y tinción con orceína acetoclorhídrica. Se observaron y contaron 1000 células por cada placa. Se analizaron los valores obtenidos mediante comparación de medias y test de ANOVA. Se discutió y analizó los resultados en función del efecto del *P.major*, sobre variaciones del ciclo celular e índice mitótico. Los resultados obtenidos indican que el extracto etanólico de *P.major* en concentraciones superiores a 7,5 mg/mL resulta ser citotóxico para los meristemas radiculares; y que a partir de las 48 h de exposición al extracto, la proliferación celular se reduce drásticamente.

Palabras claves: productos naturales, citotoxicología, meristema

Inhibitory ethanolic extract of *Plantago major* L. inhibitory effect on radicular meristematic growth of *Allium cepa* L. The use of natural products, such as plantain (*Plantago major*) extract, has generated an increase in the commercialization of substances, which in some cases are not studied for their possible toxic effects. The effect of the ethanolic extract of plantain (*P. major*) on root growth was studied using the standardized technique of crushing root meristematic cells of *Allium cepa*. Knop® commercial ethanolic extract (30 mg/mL concentration) was used. A root growth system was established under controlled conditions of temperature, oxygenation and darkness. Three groups were established (Negative Control, Experimental Group with increasing time and Group with increasing dose of 0.75 mg/mL, 1.5 mg/mL, 7.5 mg/mL, 15 mg/mL and 30 mg/mL). The optimal dose for the study was evaluated beforehand. Eighteen *Allium cepa* bulbs were used, with 3 bulbs for each study

Steviana, Vol. 14 (2), 2022 pp.17-26

Original recibido el 13/10/2022

Aceptado el 31/12/2022



Todo el contenido de esta revista está bajo una Licencia Creative Commons

group. The exposure to the ethanolic extract was at 24, 48, 72, 96 and 120 h. Crushing and staining with acetochlorohydric orcein were performed. A thousand cells per plate were observed and counted. The values obtained were analyzed through of mean comparison and ANOVA test. The results were discussed and analyzed in terms of the effect of *P.major* on cell cycle variations and mitotic index. The results obtained indicate that the ethanolic extract of *P. major* at concentrations higher than 7.5 mg/mL are cytotoxic to root meristems; and that after 48 h of exposure to the extract, cell proliferation is drastically reduced.

Key words: natural products, cytotoxicology, meristem

INTRODUCCIÓN

El uso masivo de sustancias en base a extractos de origen natural con propiedades antiinflamatorias, antihistamínicas y antisépticas se ha incrementado, principalmente con la finalidad de aliviar dolencias y enfermedades (Obregón, 2001; Gutiérrez, 2014). En la mayoría de los casos este tipo de sustancias se comercializan sin previos estudios de toxicidad, lo que pone en riesgo la salud de las personas que las utilizan (Alfredo et al., 2009; Luz et al., 2012). Sin embargo, la larga historia de la medicina tradicional demuestra el potencial de las plantas como fuente de compuestos bioactivos (Kaewpiboon et al., 2012). De acuerdo con, la Organización Mundial de la Salud, el 80% de la población del mundo usa plantas medicinales como una alternativa o procedimiento complementario para el tratamiento de sus enfermedades (Golberg, 2015).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) realizó un catastro de los productos naturales con efectos dañinos a la salud, donde las plantas aparecen indicadas en las farmacopeas de 73 países. Del total de ellas, *Plantago major* aparece citada en nueve de ellas (Sabag et al., 2010).

En Chile, uno de los extractos más comercializados con supuestas aplicaciones en la terapéutica de diversas patologías, es el *P. major* ya que posee propiedades antiinflamatorias, antibacterianas, astringentes y antihemorrágicas; también como cicatrizante de heridas, tanto internas como

externas. Indicándosele inclusive propiedades antitumorogénicas. Por lo que tiene un potencial de comercialización enorme y un impacto cultural tradicional (Albuquerque y Hurrell, 2010; Hernández et al., 2010; Hurrell y Albuquerque, 2012; Pensantes-Sangay et al., 2020).

El *P.major* es una herbácea perenne y anual, de tallos subterráneos no ramificados, perteneciente a la división Magnoliópsida, clase Magnoliópsida, orden Plantaginales y familia Plantaginaceae. Posee hojas arrosetadas, pecíolo largo con escapos florales de 0,10 – 0,40 m de alto. Crece en campos de cultivo húmedos, terrenos arcillosos-arenosos, riveras de acequias y riachuelos, ubicadas entre los 40–1.500 msnm. Popularmente, es conocida como “llantén mayor”, “llantén común” o “llantén grande”. Por ser una planta de fácil localización, no se cultiva, se considera una maleza. Existen especies relacionadas a *P. major*, como lo son *Plantago lanceolata* y *Plantago psyllium* (INBio, 1997). En estudios de aislamiento de principio activo, se ha encontrado mucílago, pectina, flavonoides, taninos, un glucósido cromogénico iridoide llamado aucubina, catalpol, acteroside, plantamajoside, baicalein, allantoin, hispidulina, ácido ursólico y ácido oleanólico, ácido salicílico y sales minerales de potasio y cinc y la aucubigemina, un derivado de la aucubina, que es el compuesto activo de mayor relevancia. Se cree que es responsable de la actividad antibacteriana de la planta (Bye, 2003; Pensantes-Sangay, et. al., 2020). Además, se han

realizado interesantes estudios *in vivo* e *in vitro*, en regeneración y proliferación celular del extracto de *P. major* usando modelos murinos (Garro-Monge et al., 2021).

De acuerdo con diversos estudios, *P. major* tiene una gran importancia como agente bactericida, antibacteriano (Alvarado y Moromi, 2010; Soto-Paredes, 2016) y como inhibidor *in vitro* de la proliferación celular fungal (Calderón-Pongo, 2018).

El objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto de la aplicación del extracto comercial etanólico de Llantén (*Plantago major*), sobre la proliferación de células en este caso sobre meristemáticas radiculares, usando como modelo de prueba a *Allium cepa*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para efectuar el estudio, se realizó el ensayo *Allium* (Fiskesjö, 1985). Fueron seleccionados bulbos de la variedad comercial común de *Allium cepa*, de 5 cm de diámetro aproximado, los cuales se colocaron en recipientes plásticos individuales, con condiciones controladas, bombeo permanente de aire y agua destilada. Estos recipientes, se dispusieron en una cámara de cultivo aislada de la luz y a una temperatura estable de 9°C a 10°C.

Para establecer la concentración del extracto de Llantén a utilizar en el grupo experimental, se debió preliminarmente conocer la concentración óptima. Para ello, se realizaron pruebas con las siguientes concentraciones: la concentración de uso comercial (30 mg/mL), soluciones diluidas a 15 mg/mL, a 7,5 mg/mL, a 1,5 mg/mL y a 0,75 mg/mL del extracto comercial. Definiendo finalmente la concentración óptima en 0,75 mg/mL del extracto comercial.

Una vez definida la concentración a utilizar, el diseño experimental consideró, el uso de 3 bulbos como Grupo Control (en recipientes con solo Agua destilada) y Grupos de Tratamiento

(con 3 bulbos por cada hora del tratamiento), en recipientes con solución 0,75 mg/mL extracto de *P. major*.

Después de 24 horas, se retiró los bulbos de sus recipientes y procedió a cortar entre 4 y 5 raíces de dos cm de longitud de cada cebolla, fijándolas con solución de Metanol-Ácido Acético (3:1). Se realizó hipotonía de las raíces en agua destilada por 20 minutos y luego tinción con Orceína-Acetoclorhídrica, se flameó hasta la emisión de vapores, evitando la ebullición. Se dejó enfriar y se repitió entre dos y tres veces durante 15 minutos. Posteriormente se realizó cortes finos del ápice de la raíz de la cebolla, se hace el “aplastado” del tejido y se sellan los bordes del cubreobjeto con barniz de uñas transparente para evitar la deshidratación celular y finalmente hacer el análisis al microscopio (Fiskesjö, 1985; Fiskesjö y Dutka, 1996).

Utilizando un microscopio óptico con 400X de aumento, se determinó el índice mitótico, mediante la siguiente fórmula:

$$\%IM = \frac{\text{Células en división}}{\text{Número total de células analizadas}} \times 100$$

El índice mitótico (IM), determinado como el número de células en alguna etapa de división (profase, metafase, anafase, telofase) fue dividido por el número total de células analizadas, en base a un recuento de 1000 células por cada tratamiento y recolectados mediante una ficha.

La comparación de los tratamientos se realizó mediante estadísticos para comparación de medias, Chi-cuadrado y Análisis de Varianza (considerando la significancia estadística en $p < 0.05$ y un nivel de confianza del 95%) mediante los programas estadísticos Epidat 3.0 (Santiago-Pérez et al., 2010), y el software IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. ® (Armonk, NY: IBM Corp).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los bulbos tratados con las concentraciones crecientes, se observó diversos efectos sobre el desarrollo radicular que resultaron en altos niveles de toxicidad para el bulbo, como ausencia de crecimiento radicular y escaso número de células meristemáticas obtenidas. Finalmente, a partir de los valores de concentración probados, se determinó la concentración óptima para trabajar de 0,75 mg/mL del extracto comercial de Llantén. Las células meristemáticas obtenidas se observan en las imágenes siguientes (Figura 1).

De acuerdo con el protocolo establecido, los resultados indican que los meristemas radica-

res obtenidos mediante tratamientos con solución 0,75 mg/mL del extracto de Llantén, presentan alteraciones en el índice mitótico estadísticamente significativos ($P < 0,0001$) con los observados en el control negativo.

En el grupo Control Negativo, se obtuvo un índice mitótico promedio (IM) de $11,4 \pm 4,82$ células. En forma similar, se evidenció que en los grupos de tratamiento con la concentración de 0,75 g/mL en volumen del extracto etanólico de *P.major*, el índice mitótico promedio (IM) fue superior al del grupo control negativo ($16,4 \pm 3,91$ células).

Los índices mitóticos medios y desviaciones estándar, se presenta en la siguiente tabla (Tabla 1).

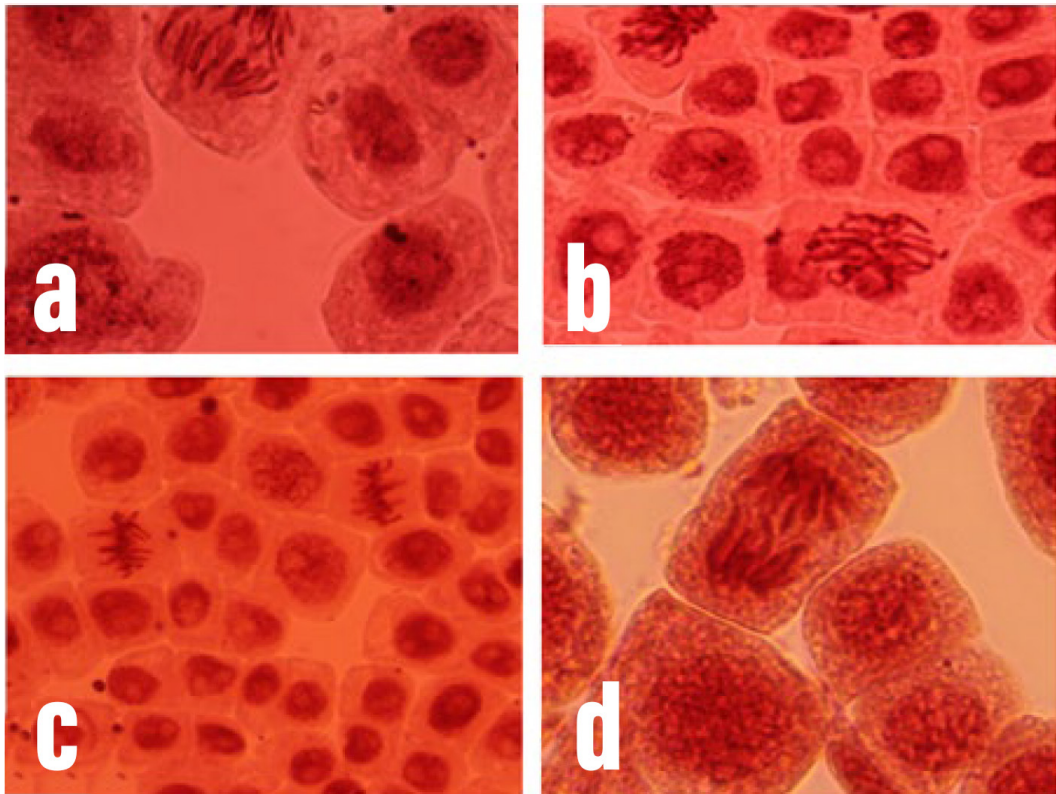


Fig. 1. Fotografías de células meristemas radiculares de *Allium cepa*, tratados con extracto de Llantén (*Plantago major*) a una concentración de 0,75 mg/mL, en el que se observan las diferentes etapas de la división celular. A) anafase, B) profase, C) metafase, D) anafase

TABLA 1. Índices mitóticos medios y desviaciones estándar

Tratamiento	N	Media	D.S.	Error Estándar
Control Negativo	3	11,40	4,827	2,158
Extracto de <i>P.major</i> (0,75 mg/mL)	15	16,40	3,912	1,749
Total	18	10,27	6,638	1,714

N: número de individuos muestreados

D.S.: desviación estándar

Al realizar análisis de varianzas, entre las medias obtenidas del grupo control negativo y los diferentes grupos de tratamiento con extracto de Llantén por 24, 48, 72, 96 y 120 h de exposición, se observan resultados estadísticamente significativos ($P < 0,0001$), tanto al comparar entre los grupos (inter-grupos) como al interior de cada uno de los grupos experimentales (intra-grupos). Los resultados se presentan en la Tabla 2.

El análisis Inter-grupos, compara las diferencias entre las medias de los grupos Control Negativo con los diferentes tiempos de exposición en el Grupo de Tratamiento. En cambio, el análisis Intra-grupos, permite comparar los resultados

obtenidos de los individuos de cada grupo de estudio. El resultado obtenido de estos análisis es altamente significativo ($P < 0,0001$).

Al analizar los resultados de las posibles variaciones en la cantidad de células meristemáticas de *Allium cepa*, que transitan por las diferentes etapas el ciclo celular en cada tratamiento; se observa que para cada etapa del ciclo los valores obtenidos fueron estadísticamente muy significativos ($p < 0,01$). Lo anterior se observa en la siguiente tabla de porcentajes de células contabilizadas por cada etapa del ciclo y de los tratamientos (Tabla 3).

TABLA 2. Análisis de varianzas entre medias obtenidas del control negativo y tratamiento, con extracto de Llantén, en diferentes tiempos de exposición

ANOVA	Suma Cuadrados	gl	X ²	F	Sig.
Inter-grupos: [Control Negativo y Grupos de Tratamiento (24, 48, 72, 96 y 120 h)]	458,533	2	229,267	17,369	0,0001
Intra-grupos	158,400	12	13,200		
Total	616,933	14			

gl: Grados de libertad

Sig.: $P < 0,0001$

TABLA 3. Comparación de la variación en los porcentajes de células meristemáticas radiculares de *A. cepa* contabilizadas para cada etapa del ciclo, entre control negativo y grupo experimental, según tiempo de exposición al extracto de *P. major*

Etapas del ciclo en los grupos experimentales	% 24 h	% 48 h	% 72 h	% 96 h	% 120 h	Chi- cuadrado	p-Valor
a. Profase:							
Control Negativo	27%	31%	37%	29%	49%	33,8861	0,00001
Con Extracto de <i>P. major</i> (0,75 mg/ml)	35%	19%	30%	38%	34%		
b. Metafase:							
Control Negativo	59%	36%	32%	53%	47%	31,6292	0,0001
Con Extracto de <i>P. major</i> (0,75 mg/mL)	12%	32%	21%	24%	16%		
c. Anafase:							
Control Negativo	63%	46%	22%	8%	31%	95,1299	0,00001
Con Extracto de <i>P. major</i> (0,75 mg/mL)	25%	23%	28%	50%	23%		
d. Telofase:							
Control Negativo	73%	25%	54%	29%	33%	98,2496	0,00001
Con Extracto de <i>P. major</i> (0,75 mg/mL)	18%	38%	33%	57%	56%		

Se observa que, en varias etapas del ciclo, al aumentar el tiempo de exposición al extracto, el porcentaje de células meristemáticas que se encuentran transitando por dicha etapa, le ocurren alteraciones que resultan en una disminución. Estos resultados obtenidos, son estadísticamente muy significativos ($P < 0,0001$).

Los resultados obtenidos indican que la relación entre el grupo control negativo y los grupos con tratamientos, presentan diferencias altamente significativas estadísticamente ($P < 0,001$), demostrando que el efecto causado por el extracto etanólico de *Plantago major* sobre la proliferación celular de *A. cepa* tiene un impacto negativo. Lo que también se evidencia al comparar el porcentaje de células que transitan en los diferentes estadios del ciclo celular.

De acuerdo con lo observado, el extracto de Llantén (*Plantago major*), aplicado a una concentración del 0,75 mg/mL tiene un efecto citotóxico sobre la proliferación celular, si se lo compara con los valores obtenidos en el grupo control negativo. Para la concentración de uso comercial (30 mg/mL), las soluciones diluidas a 15 mg/mL, a 7,5 mg/mL y 1,5 mg/mL del extracto alcohólico

de *P. major*; el efecto obtenido fue la ausencia total de crecimiento radicular. Se concluye que las concentraciones utilizadas, tuvieron un efecto tóxico y citotóxico para las células meristemáticas, afectando drásticamente la proliferación celular.

Los resultados encontrados, son coincidentes a los obtenidos en otros artículos (Gutiérrez, 2014), ya que de acuerdo con los resultados se demuestra la toxicidad del extracto etanólico 30 mg/mL de *P. major* en meristemas radiculares de *A. cepa*, siendo entre las 24 y 48 horas, el mayor nivel de toxicidad presentando índices mitóticos más reducidos que el control negativo.

Entre las fases de división mitótica, la metafase y anafase fueron las que presentaron mayor reducción, siendo aún menores que el control negativo.

La explicación frente a estos resultados se podría atribuir a los efectos de ciertos agentes fitoquímicos que contiene *P. major*; los cuales han sido reportados en diversas investigaciones y con variados modelos biológicos en los que ha detectado la presencia de alcaloides moderada y abundante presencia de taninos, compuestos fenólicos y especialmente abundante presencia de flavonoides (Fiestas, I. y Huanca, F, 2018). Es, por lo tanto, que se vuelve interesante el analizar en estudios futuros la influencia citotóxica de alguno de estos fitoquímicos. Post y Varma (1992), Ryu (1994) y Le Bai (1998) ya demostraron la importancia de la acción citotóxica de alguno de estos agentes presentes en *P. major*.

Entre los compuestos que la fitoquímica ha encontrado en extractos de *P. major*; son diversos, entre los que se encuentran flavonoides (Yuting, et al., 1990; Kawashty, et al., 1994; Sanz, et al., 1994; Nishibe, et al., 1995), alcaloides (Schneider, 2009), terpenoides (Pailer y Haschke-Hofmeister, 1969; Hiltibrán, et al., 1953; Ringbom, et al., 1998). Por otra parte, Adom et al. (2017), identifica diversos agentes fitoquímicos de importancia por su efecto citotóxico y anticancerígeno.

Dentro de las sustancia extraídas desde extractos de *P. major*; se ha encontrado el flavonoide baicaleina, la que se ha visto tiene una acción inhibitoria en el crecimiento de líneas celulares del hepatoma humano (Motoo y Sawabu, 1994). La baicaleina puede inducir muerte de células de carcinoma, y ha mostrado un fuerte efecto anti-proliferativo en células hepáticas de rata. Otras investigaciones, que han usado la baicaleina en conjunto con otras sustancias para el tratamiento de células tumorales de vejiga, han mostrado un potente efecto inductor de la apoptosis (hasta 30 % mayor que en drogas como la catequina, genisteína, quercetina y rutina) (Jiménez, 2012). Se demostró que los extractos de *P. major* inhibían el crecimiento celular y tenían efecto citotóxico de líneas celulares de adenocarcinoma de mama (Ozaslam et al., 2007). Las antocianinas, pertene-

cientes al grupo de los flavonoides, son también otros compuestos presentes en *P. major*; y han demostrado ser un potente antioxidante y un capturador excepcionalmente potente de radicales libres de oxígeno, los cuales tienen un rol crítico en la patogénesis de la enfermedad hepática (Bell y Gochenaur, 2006).

De acuerdo a los antecedentes aportados por este trabajo, se puede afirmar que el extracto alcohólico comercial de *P. major*; en una concentración de 0,75 mg/mL puede tener un efecto negativo sobre el crecimiento meristemático radicular en *A. cepa*. Estos resultados serían interesantes para evaluar mecanismos más precisos sobre el posible efecto protector que pudiera ejercer *P. major* sobre otros agentes químicos con efectos citotóxicos. Galves et al. (2004), han demostrado también el efecto citotóxico del extracto metanólico de *Plantago major* a concentraciones de 14,5% y 18,1 % (p/p), en células tumorogénicas del disco radicular de *Solanum tuberosum* L. debido a la presencia de flavonoides, cumarinas, triterpenos e iridoides de *Plantago*.

Estos estudios permitirán usar, el mismo modelo de investigación, para comprobar los efectos medicinales, positivos o negativos de esta planta. Por consiguiente, es necesario considerar nuevos estudios de esta planta medicinal en la población expuesta. En base a estudios citogenéticos, es posible obtener respuestas en el ámbito de la salud pública para regular el consumo masivo e indiscriminado de las plantas medicinales.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados experimentales, se concluye que: según las condiciones experimentales diseñadas, el crecimiento de los meristemas radiculares de *A. cepa*, se ven afectados de forma negativa (efecto citotóxico), al encontrarse expuestos al extracto etanólico de *P. major* a una concentración de 0,75 mg/mL.

En esta investigación, se encontró también

que el tiempo de exposición es una variable importante, ya que la proliferación celular se reduce progresivamente, alcanzando su valor menor entre las 24 y 48h.

Estos resultados entregan, información relevante para futuras investigaciones del efecto provocado por el *P.major*, en el meristema radicular de la especie *A.cepa*, por ejemplo, en evaluaciones de potenciales efectos genotóxicos o mutagénicos de algún compuesto químico determinado, tanto en bioensayos de células vegetales o animales.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la colaboración del Dr. Enrique Zamorano y al Sr. Gerardo Quezada, del Laboratorio de Genética Toxicológica, Facultad de Ciencias, Universidad del Bío-Bío, por el apoyo brindado para la realización de las actividades experimentales y a la Dirección de Investigación de la Universidad Adventista de Chile, por el apoyo financiero del Proyecto de Investigación N77_01_2017.

CONFLICTO DE INTERÉS

El autor declara que no mantiene ningún vínculo contractual ni económico con Laboratorios Knop© propietarios del producto Extracto Etanólico de Llantén.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adom M.B., Taher M, Mutalabisin M.F., Amri M.S., Abdul Kudos M.B., Wan Sulaiman M.W.A., Sengupta P & Susanti, D. (2017). Chemical constituents and medical benefits of *Plantago major*. *Biomed Pharmacother. Dec*, 96,348-360.

Albuquerque, U.P. y Hurrell, J.A. (2010). *Ethnobotany: one concept and many interpretations*. In Albuquerque UP, Hanazaki N:

Recent developments and case studies in Ethnobotany. UPEEA, Recife, Brasil.

- Alvarado-Villanueva, V. y Moromi Nakata, H. (2010). Plantas medicinales: efecto antibacteriano *in vitro* de *Plantago major L*, *Erythroxylum novogranatense*, *Plowman var truxillense* y *Camellia sinensis* sobre bacterias de importancia estomatológica. *Odontol Sanmarquina*, 13(2) ,21-5.
- Alfredo, P.P., Anaruma, C.A., Pião, A.C., João, S.M. y Casarotto, R.A. (2009). Effects of phonophoresis with *Arnica montana* onto acute inflammatory process in rat skeletal muscles: An experimental study. *Ultrasonics*,49(4-5), 466-471.
- Bell D.R., Gochenaur, K. (2006). Direct vasoactive and vasoprotective properties of anthocyanin-rich extracts. *J Appl Physiol*, 100(4),1164-70.
- Bye, R. (2003). *Plantas popularmente utilizadas para afecciones del aparato digestivo, diarrea y parásitos en México*. Bioactive Agents from Dryland Biodiversity of Latin America.
- Cabrera A., Mach, N. (2012). Flavonoides como agentes quimiopreventivos y terapéuticos contra el cáncer de pulmón. *Rev Esp. Nutr. Hum. Diet*, 17(2), 91–92.
- Calderón Pongo, B. (2018). Evaluación del extracto etanólico del *Plantago major* y nistatina para inhibir el crecimiento in vitro de *Candida albicans*. Juliaca.
- Fiestas, I. y Huanca, F. (2018). *Extracto hidroalcohólico de Plantago major L. y su efecto antibacteriano sobre cultivos de Streptococcus pyogenes estudios in vitro*. [Tesis. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica, Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Lima. Perú]
- Fiskesjö, G. (1985). The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*, 102, 99-112.
- Fiskesjö, G. & Dutka, B. (1996). Toxicological monitoring of drinking waters in developing

- countries. Proceedings of WaterTox [Workshop]. Ottawa: Burlington National Water Research Institute.
- Garro Monje, G., Jimenes, Q. K., Castro, P. S. y Montero, C. V. (2021). *Optimización del protocolo de establecimiento de cultivos celulares de Plantago major (llantén) para la comprobación de la actividad cicatrizante de un producto farmacéutico y determinación efecto biológico contra la infección de H. pylori en modelos in vitro*. [Proyecto de Investigación (Código: 1510044). Instituto Tecnológico de Costa Rica, Vicerrectoría de Investigación y Extensión, Dirección de Investigación].
- Gálvez, M., López-Lázaro, M., Navarro, E., Mederos, S., Martín-Cordero, C. y Ayuso, M.J. (2004). Citotoxicidad de *Plantago major* L. *Canarias Médica y Quirúrgica I*, 2(4).
- Golberg, D. (2015). *La importancia actual de las hierbas medicinales. Agroconsultora Plus*. <http://www.agroconsultoraplus.com/cursos-fitoterapia>.
- Gutiérrez, C. (2014). *Cuantificación de alteraciones cromosómicas en meristemas radiculares de Allium cepa expuestos a extractos etanólico y acuoso de Plantago major*. [Tesis de Grado. Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de Ciencias Biológicas].
- Hernández M.P., Civitella S.M., y Rosato, V.G. (2010). Uso medicinal popular de plantas y líquenes de la Isla Paulino, Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Bol Latinoam Caribe Plant. Med. Aromat.* 9, 258–268.
- Hiltibrán, R. C., Wadkins, C. L., & Nicholas, H. J. (1953). The distribution of triterpenes in rugel's plantain1. *Journal of the American Chemical Society*, 75(20), 5125-5126.
- Hurrell, J.A. y Albuquerque, U.P. (2012). *Is ethnobotany an ecological science? Steps towards a complex*. Ethnobot. Ethnobiol. Conserv.
- IBM Corp. Released (2015). IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- INBio. (1997). Jerarquía taxonómica. <http://www.inbio.ac.cr/bims/k03/p13/c045/o0139/f01349/g008585/s027112.htm>.
- Jiménez, J. (2012). *Péptidos bioactivos de la leche. Ponencia presentada en el 1er Congreso Nacional Producción, Calidad, Transformación, Comercialización y Nutrición de Leche y Derivados*. Acapulco-México.
- Kaewpiboon, C., Lirdprapamongkol, K., Srisomsap, C., Winayanuwattikun, P., Yongvanich, T., Puwapisrisisan, P., Svasti, J. & Assavalapsakul, W. (2012). Studies of the *in vitro* cytotoxic, antioxidant, lipase inhibitory and antimicrobial activities of selected Thai medicinal plants. *BMC Complement and Alternat Med* 12: 217.
- Kawashty, S. A., Abdalla, M. F., & Saleh, N. A. M. (1994). Flavonoids of *Plantago* species in Egypt. *Biochemical Systematics and Ecology*, 22(7), 729-733.
- Le Bail, C., Varnat, F., Nicolas, J. C. & Habrioux, G. (1998). Estrogenic and antiproliferative activities on MC F-7 human breast cancer cells by flavonoids. *Cancer Lett.* 130, 209-216.
- Luz, A.C., Pretti, I.R., Dutra, J.C.V., Batitucci, M.C.P. (2012). Avaliação do potencial citotóxico e genotóxico de *Plantago major* L. em sistemas teste *in vivo*. *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu*, 14(4), 635-642.
- Motoo, Y. & Sawabu, N. (1994). Antitumor effects of saikosaponins, baicalin and baicaleina on human hepatoma cell lines. *Cancer Lettera*, 86, 91-95.
- Nishibe, S., Tamayama, Y., Sasahara, M., & Andary, C. (1995). A phenylethanoid glycoside from *Plantago asiatica*. *Phytochemistry*, 38(3), 741-743.
- Obregón, L. (2001). *Fitoterapia: perspectivas de la fitoterapia para el nuevo milenio*. [Ponencia]. Primer Congreso Internacional de

● ● ● **Sandoval-Velazco, J.A Inhibición del crecimiento radicular en *Allium*, por extracto de *Plantago major***

- Plantas Medicinales y Aromáticas. Cali, Colombia.
- Ozaslam, M., Karagoz, D., Kilic, H., Sari, I. & Karagoz, A. (2007). *In vivo* antitumoral effect of *Plantago major* L. extract on Balb/C Mouse with Erlich Tumor". *The American Journal of Chinese Medicine*, 35(5), 841-851
- Pailer M., Haschke-Hofmeister E. (1969). Contents from *Plantago major*. *Planta Med*, 17 (2), 139-145.
- Post, F.M., Varma, R.S. (1992). Growth inhibitory effects of bioflavonoids and related compounds on human leukemic CEM-C1 and CEM-C7 cells. *Cancer Lett.*, 67, 207-213.
- Pensantes-Sangay, S. J., Calla-Poma, R. D., Requena-Mendizabal, M. F., Alvino-Vales, M. I., & Millones-Gómez, P. A. (2020). *Chemical composition and antibacterial effect of Plantago major extract on periodontal pathogens*. *Pesquisa Brasileira Em Odontopediatria E Clínica Integrada*, 20, e0012.
- Ringbom, T., Segura, L., Noreen, Y., Perera, P., & Bohlin, L. (1998). Ursolic acid from *Plantago major*; a selective inhibitor of cyclooxygenase-2 catalyzed prostaglandin biosynthesis. *Journal of natural products*, 61(10), 1212-1215.
- Ryu, S.Y., Choi, S.U., Lee, C.A., Lee, S.H., Ahn, J.W., & Zee, O. P. (1994). Antitumor activity of some phenolic components in plants. *Arch. Pharmacol. Res.*, 17, 42-44.
- Sabag, V.; Pinto, J.; Zabalaga, S. y Camacho, M. (2010). Formulación de un fitomedicamento con actividad gastroprotectora a partir de extractos de llantén (*Plantago major*). *BIO-FARBO*, 18 (2), 44-52.
- Santiago Pérez, M. I., Hervada Vidal, X., Naveira Barbeito, G., Silva, L. C., Fariñas, H., Vázquez, E., ... y Mújica, O. J. (2010). El programa epidat: usos y perspectivas. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 27, 80-82
- Sanz, M. J., Ferrandiz, M. L., Cejudo, M., Terencio, M. C., Gil, B., Bustos, G., ... & Alcaraz, M. J. (1994). Influence of a series of natural flavonoids on free radical generating systems and oxidative stress. *Xenobiotica*, 24(7), 689-699.
- Schneider G. (2009). *Arzneidrogen, ein kompendium für pharmazeuten, biologen und chemiker*. Wissenschaftsverlag, Mannheim, Germany.
- Yuting, C., Rongliang, Z., Zhongjian, J., & Yong, J. (1990). Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 9(1), 19-21.