

Toxicidad sub-crónica y prueba de irritabilidad ocular del extracto acuoso de las hojas de *Plantago major* (Plantaginaceae)

Mildred García González^{1,2,3} Teresita Coto Morales,^{1,3} Gerardo A. Soto Rodríguez¹ & Liliana Pazos^{1,2}

1 Laboratorio de Ensayos Biológicos, Vicerrectoría de Investigación,

2 Escuela de Medicina, Universidad de Costa Rica, San José 2060, Costa Rica.

3 Programa de Investigación Científica Aplicada (TRAMIL).

Recibido 28-XI-2002. Corregido 11-VII-2003. Aceptado 01-VIII-2003.

Abstract: For the sub-chronic toxicity an aqueous preparation of *Plantago major* leaves was tested in 20 male NGP mice, with an average weight of 20.15 g and separated in two groups of ten individuals each. The dose used was 2000 mg/kg and the control group received 0.5 ml of distilled water. The extract administration was done daily during five days at week for a total period of 40 days. Signs of sub-chronic toxicity were observed in the days two and 12 of treatment. No significant change in corporal weight was observed. The ocular irritation was tested in five New Zeland male rabbits, with an average weight of 3.640 kg. The dose used was a 200 μ l the preparation (100 mg/ml) of *Plantago major* leaves, instill into the right eye and the control was used the left eye instill 200 μ l of distilled water. The administration was done daily during five days. The extract shows no significant irritation during the observation period.

Key words: *Plantago major*, Plantaginaceae, sub-chronic toxicity, irritation ocular, herbal medicine, llantén.

Una de las plantas utilizadas en la medicina popular en Costa Rica es *Plantago major*, conocida como "llantén". Esta planta pertenece a la familia Plantaginaceae y se caracteriza por tener una baja altura, de 10 a 60 cm, con rizoma corto, grueso y fibroso. Las hojas son glabras, de color verde, basales, con siete nervaduras y dispuestas en roseta. Del medio de ésta, surgen varios escapos floreales simples y erectos, cada uno de los cuales lleva una espiga verde-amarillenta y se conocen cerca de 260 especies en el género (Alonso 1998).

Plantago major es oriunda de Europa, Asia y norte de África, ampliamente distribuida en todo el mundo (Anónimo 1998), es una de las pocas especies del género que ocurre en las tierras bajas del trópico húmedo (Gupta *et al.* 1995). En Costa Rica crece principalmente en la Meseta Central, como Alajuela, San José y Cartago, aunque se ha observado culti-

vada en la región Atlántica (Ocampo y Maffioli 1987).

Fue una planta muy utilizada desde la antigüedad, junto al llantén menor. La denominación de *psyllum* a las semillas, proviene de la palabra griega *psylla* que significa pulga, en alusión a la forma y tamaño de las mismas, en la antigüedad se utilizó sobre todo en casos de tos, diarreas y heridas (Alonso 1998).

Los principales componentes químicos y principios activos presentes en las hojas son los mucílagos (arabinogalactana, ramno-galacturonana y glucomanana); flavonoides (apigenol y luteolósido); cumarinas (esculetinalos); pectina, taninos, ácidos fenolcarboxílicos (clorogénico, neoclorogénico, gentísico, protocatequico), sales minerales (Si, Zn, K); (Anónimo 1998) alcaloides (indicaína, plantagonina); manitol, sorbitol, emulsina, invertina y saponinas (Alonso 1998).

La decocción de la hoja ha demostrado poseer efecto diurético suave en animales de laboratorio (Cáceres *et al.* 1987). A la hoja y la raíz se le atribuye actividad antiespasmódica sobre el íleon aislado de cobayo y propiedad analgésica en el modelo de dolor inducido por inyección de carragenina (Quiroz y Reis 1989) y los extractos acuoso y metanólico de las hojas mostraron actividad antiulcerogénica en el modelo de úlcera inducida por estrés de inmersión en ratas (Yesilada *et al.* 1993).

En entrevistas etnobotánicas realizadas en el Valle Central de Costa Rica, se menciona el uso de las hojas en cocimiento o restregadas en agua fría para aliviar afecciones hepática, diarrea y vómito. En gargarismo para dolor de garganta. El jugo de las hojas dentro del ojo se utiliza como colirio, en las cataratas y las nubes de los ojos, como también en conjuntivitis (Ocampo y Maffioli 1987). El zumo de la hoja o su infusión tiene un uso significativo en países del Caribe para la conjuntivitis (Robineau 1995).

En el presente estudio se informan y discuten los resultados obtenidos a partir de la administración vía oral, del extracto acuoso de las hojas de *P. major* en ratones albinos y su efecto al ser instilado en el ojo de conejos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección del material botánico: El material botánico fue recolectado por el Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio) en noviembre de 1995, en las siguientes coordenadas: 9°54'45" N – 84°05'55" W, altitud 1100-1200 m.s.n.m. Del material recolectado se depositó una muestra del material en el Herbario del INBio bajo el número testigo 402 VR.

Preparación del extracto: Se recibió 1.039 kg de hojas frescas congeladas, se licuaron en 1.3 L de agua destilada, se llevó a 80°C por espacio de 30 min, se filtró a través de gasa y se obtuvo 20.93 g de liofilizado de color ceniza claro. Se preparó una solución de 10 g de liofilizado disuelto en 50 ml de agua desti-

lada para un preparado con una concentración de 200 mg/ml.

Preparación de los animales

Prueba de toxicidad subcrónica por vía oral: Se utilizaron 20 ratones albinos, machos, de la cepa NGP. Los animales fueron distribuidos en dos grupos de diez ratones, el promedio de peso corporal fue de 20.15 ± 0.059 g para el grupo que recibió el tratamiento de 2000 mg/kg de peso y de 21.62 ± 0.03 g para el grupo que recibió 0.5 ml de agua destilada como control, ambas administraciones por vía oral.

Los tratamientos fueron suministrados diariamente por 5 días consecutivos por semana durante un período total de 40 días. Las observaciones de los parámetros utilizados fueron realizadas utilizando el esquema polidimensional de Irwin (Anónimo 1995).

Prueba de irritabilidad ocular: Se utilizaron 5 conejos de la cepa New Zeland, machos con peso promedio de 3640 ± 167.33 g. Se instiló el ojo derecho con 200 μ l del preparado acuoso filtrado y el ojo izquierdo con 200 μ l de agua destilada. La instilación se realizó diariamente por un período de 5 días consecutivos y las observaciones se realizan diariamente.

RESULTADOS

Prueba de toxicidad sub-crónica por vía oral: No se presentó mortalidad con la dosis administrada de 2000 mg/kg del liofilizado del extracto acuoso de las hojas de *P. major*, sin embargo, a partir del segundo día de la administración del tratamiento, los animales presentaron disminución del reflejo de enderezamiento, a partir del día 12 disminución en la reacción de alarma y de la actividad prensil anterior y posterior, manteniéndose estos efectos hasta el final del ensayo. Al final del tratamiento (40 días) el peso promedio del grupo que recibió el tratamiento fue de 31.19 ± 4.74 g y de 31.14 ± 4.37 g para el grupo control.

Prueba de irritabilidad ocular: No se observó irritabilidad ocular en ninguna de las 5 administraciones del extracto acuoso obtenido por decocción e instilado sobre el ojo de conejos albinos.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos por la administración vía oral del extracto acuoso de las hojas de *P. major* en ratones, presentó una leve actividad depresora sobre el sistema nervioso central, manifestándose a través de una disminución del reflejo de enderezamiento, de la actividad prensil anterior y posterior y de la reacción de alarma, sin manifestarse cambios en el peso corporal de los animales, más que los esperados de aumento de peso.

Estos resultados coinciden con otros estudios que han demostrado, que el extracto acuoso de esta planta produce efectos centrales en ratas, manifestándose a través de la pérdida del reflejo auricular, pasividad, bradipnea y enoftalmos, además de hipotensión arterial (Rosa-Pinto y Varahona 1986).

Otros trabajos han señalado el efecto hipotensor de ésta planta, tal es el caso del extracto acuoso de hojas de llantén, que administrado en dosis acumulativas (80, 160, 320 y 640 mg/kg) por vía intragástrica en ratas Wistar produjo un ligero descenso de la presión arterial, mientras que por vía intravenosa (10, 20, 40 y 80 mg/kg) mostró hipotensión arterial, efecto que fue bloqueado por difenhidramina. (Cambar *et al.* 1983). Este efecto hipotensor puede estar relacionado con las manifestaciones depresoras del sistema nervioso central encontradas en el presente estudio durante la administración sub-crónica.

Es importante mencionar que el uso oral de las partes aéreas de llantén, no provocó efecto nefrotóxico en el ratón infante (Bergeon y Goulet 1980), ni el extracto hidroalcohólico crudo de las hojas posee actividad hipoglicémica, efecto demostrado en ratas normoglicémicas (Cáceres *et al.* 1987), estos da-

tos son relevantes, al considerarse el aspecto toxicológico y de posibles efectos secundarios, respectivamente, en el uso de algunas plantas medicinales.

La DL_{50} obtenida a partir de extractos totales de "llantén", administrados a ratas por vía intraperitoneal fue de 1 g/kg y administrado por vía oral mayor a 4 g/kg. En todos los casos, el resultado fue un indicador de muy baja toxicidad (Marcov *et al.* 1980). El "Food and Drug Administration" (FDA) ha clasificado esta especie como una hierba de seguridad no definida (Duke 1985).

La ausencia de irritabilidad ocular, con la administración del preparado acuoso sobre el ojo de conejos albinos, sugiere que este preparado es relativamente seguro para su aplicación como colirio.

RESUMEN

Se utilizaron 20 ratones albinos de la cepa NGP, machos, distribuidos en dos grupos de diez ratones cada uno con peso promedio de 20.15 ± 0.059 g los animales que recibieron el tratamiento (2000 mg/kg) y de 21.62 ± 0.03 g los animales que recibieron el control (0.5 ml de agua desionizada). Todos los tratamientos fueron administrados diariamente durante 5 días consecutivos por semana durante un período total de 40 días. No se presentó mortalidad con la dosis administrada por vía oral, sin embargo los animales presentaron disminución del reflejo de enderezamiento, de la actividad prensil anterior y posterior y de la reacción de alarma. Para la prueba de irritabilidad ocular se utilizaron 5 conejos de la cepa New Zeland, machos con peso promedio de 3.640 Kg. Se inoculó el ojo derecho con 200 μ l del preparado acuoso (100 mg/ml) y el ojo izquierdo se instiló con 200 μ l de agua destilada. La inoculación se realizó diariamente por un periodo de 5 días consecutivos, no se observó ninguna manifestación de irritabilidad ocular en el ojo de los conejos.

AGRADECIMIENTOS

Los fondos para realizar la presente investigación fueron recibidos de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica y del CIID de Canadá, a través del Programa TRAMIL-Centroamérica de Enda-Caribe.

REFERENCIAS

- Anónimo 1995. Manual de Técnicas de Investigación. Subprograma X. Química Fina Farmacéutica. Proyecto X-1. Búsqueda de Principios Bioactivos en Plantas de la Región. CYTED. 226 p.
- Anónimo 1998. Vademécum de prescripción. Plantas Medicinales. Fitoterapia. Masson, Barcelona. 1148 p.
- Alonso, A. 1998. Tratado de fitomedicina. Bases clínicas y farmacológicas. ISIS Ediciones SRL. Buenos Aires. 1039 p.
- Bergeron, J. & M. Goulet. 1980. Etude des effets phytoestrogéniques de la végétation de milieux ouverts sur la souris de laboratoire. Can. J. Zool. 58: 1575-1581.
- Cáceres, A., L. Girón & A. Martínez. 1987. Diuretic activity of plants used for the treatments of urinary ailments in Guatemala. J. Ethnopharmacol. 19: 233-245.
- Cambar, P., J. Alger & A. Santos. 1983. Efectos farmacológicos de los extractos acuosos de las hojas de Llantén (*Plantago major*). XXVII Congreso Médico de Honduras & I Semana Científica de la Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Tegucigalpa, Rev. Méd. Hon. 53: 96.
- Duke, J. 1985. Handbook of medicinal herbs. CRC, Boca Raton, Florida. 677 p.
- Gupta, M. 1995. 270 Plantas Medicinales Iberoamericanas. Santa Fé de Bogotá. 617 p.
- Marcov, M. *et al.* 1980. Pharmacologic study of the influence of the dispersed substance extracted from *Plantago major* on bronchial smooth muscles. Prob. Vatr. Med 8: 132-9.
- Ocampo, R.A. & A. Maffioli. 1987. El uso de algunas plantas medicinales en Costa Rica. Vol. 1. San José, Costa Rica. 100 p.
- Queiroz, I. & S. Reis. 1989. Antispasmodic and analgesic effects of some medicinal plants. Simpósio Brasil-China de Química e Farmacologia de Productos Naturais, Abstr. No. 180.
- Robineau, L. 1991. Farmacopea Caribeña. Enda Caribe, Santo Domingo.
- Rosa Pinto, V. & C. Varahona. 1986. Estudio hipocrático de extractos acuosos de algunas plantas medicinales de Honduras. Sus efectos en ratas. Tesis doctoral. Universidad Nacional Autónoma de Honduras.
- Yesilada, E., E. Sezik, T. Fujita, S. Tanaka & M. Tabata. 1993. Screening of some Turkish medicinal plants for their antiulcerogenic activities. Phytother. Res. 7: 263-265.