

Actividad antimicrobiana e irritabilidad vaginal y dérmica de extractos acuosos de hojas secas de *Solanum americanum* Mill.

Antimicrobial activity, vaginal and dermal irritability of aqueous extracts of dry leaves of *Solanum americanun* Mill.

María Julia Martínez Guerra^I; Marisol López Barreiro^{II}; Zulema Morejón Rodríguez^{III}; Elisa Boucourt Rodríguez^{IV}; Ana Ibis García Hernández^V

^I Licenciada en Biología. Investigadora Agregada. Laboratorio Central de Farmacología (LCF). Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Salvador Allende". Ciudad de La Habana, Cuba.

^{II} Licenciada en Bioquímica. Investigadora Agregada. LCF. Ciudad de La Habana, Cuba.

^{III} Licenciada en Química. Laboratorio Central de Farmacología (LCF). Ciudad de La Habana, Cuba.

^{IV} Técnica en veterinaria. Laboratorio Central de Farmacología (LCF). Ciudad de La Habana, Cuba.

^V Médico. Especialista de I grado en Farmacología. Aspirante a investigadora. Laboratorio Central de Farmacología (LCF). Ciudad de La Habana, Cuba.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: *Solanum americanum* Mill. (yerba mora) es usada de forma tradicional para el tratamiento de las úlceras en la piel, se utiliza además como antiinflamatorio y antiséptico en enfermedades de la piel y en cérvico-vaginitis. Sin embargo, existen pocos estudios preclínicos que validen su uso.

OBJETIVO: evaluar la actividad antimicrobiana, la irritabilidad vaginal y dérmica de 2 decocciones de hojas secas de *Solanum americanum* Mill.

MÉTODOS: se prepararon 2 extractos acuosos de: a) hojas secas al 20 % y se evaluó la actividad antimicrobiana mediante el método de difusión en agar, frente a los microorganismos *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella thyphymurium*; así como la irritabilidad en vagina de coneja por el método de Draize. b) hojas secas al 30 % y se determinó la irritabilidad en piel por el método de Draize en conejos.

RESULTADOS: se obtuvo con la decocción de hojas secas al 20 % un halo de inhibición del crecimiento de 15,5 mm con el microorganismo *Candida albicans*, no

hubo halo de inhibición con los otros microorganismos estudiados, se observó una irritabilidad vaginal mínima y no hubo eritema y edema en la piel de los animales con la decocción de hojas secas al 30 %.

CONCLUSIONES: la decocción de hojas secas de *S. americanum* mostró actividad antimicrobiana frente a *C. albicans* y no frente a los otros microorganismos, presentó irritabilidad mínima en vagina y clasificó como no irritante en piel, por lo que pueden ser empleadas en afecciones provocadas por *C. albicans* en piel y en vagina.

Palabras clave: *Solanum americanum*, antimicrobiana, irritabilidad dérmica, irritabilidad vaginal.

ABSTRACT

INTRODUCTION: *Solanum americanum* Mill (yerba mora) is used in a traditional way to treat skin ulcers, it is used also as antiinflammatory and antiseptic in skin diseases and in cervicovaginitis. However, there are few preclinical studies validating it.

OBJECTIVE: To assess antimicrobial activity, vaginal and skin irritability of 2 decoctions of dry leaves of *Solanum americanum* Mill.

METHODS: Two aqueous extracts were prepared from: a) dry leaves to 20% and antimicrobial activity was assessed by means of diffusion method in agar, versus microorganisms *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, and *Salmonella thyphymurium*; as well as irritability in rabbit vagina by Draize method. b) dry leaves to 30%, and skin irritability by Draize method in rabbits.

RESULTS: Using a decoction of dry leaves to 20%, we achieved a growing inhibition halo of 15.5 mm with *Candida albicans*; but not inhibition using other study drugs; there was a minimal vaginal irritability and not erythema and edema in skin of animals using a decoction of dry leaves to 30%.

CONCLUSIONS: Decoction of dry leaves of *S. americanum* showed antimicrobial activity versus *C. albicans* but not against other microorganism, with a minimal vaginal irritability, and was classified as non-irritant in skin; consequently, they may be used in affections provoked by *C. albicans* in skin and in vagina.

Key words: *Solanum americanum*, antimicrobial, skin irritability, vaginal irritability.

INTRODUCCIÓN

Solanum americanum Mill., conocido en Cuba como yerba mora, pertenece a la familia Solanaceae.¹ Es una planta nativa de Centroamérica y crece en todo el trópico americano. Es una hierba anual o perenne de vida corta, de hasta 1 m de alto. Tallos jóvenes pubescentes, pelos recurvados. Hojas solitarias o en pares desiguales, ovaladas a lanceoladas. El fruto es una baya lampiña, globosa, glabra, negra-lustrosa al madurar, con semillas pequeñas.^{2,3}

En las encuestas TRAMIL se reporta su uso tradicional para el flujo vaginal y para la "culebrilla" (herpes zoster). También se conoce que es utilizada en el tratamiento

de úlceras tópicas, como antiherpético, antiinflamatorio y antiséptico para enfermedades de la piel.^{2,3} Dentro de sus componentes químicos demostrados por tamizaje se encuentran alcaloides, esteroides policíclicos, saponinas y taninos.^{3,4} Además, contiene riboflavina, tiamina, ácido ascórbico y sales minerales.⁵

A la yerba mora se le han realizado algunos estudios en los que la decocción de hoja mostró actividad antimicrobiana *in vitro*, frente a *Staphylococcus aureus* y la decocción de hoja seca, *in vitro*, mostró actividad fungicida frente a *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum canis*, *M. gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *T. rubrum* con concentración inhibitoria mínima (CIM) de 100-300 mg/mL.⁶

Por todo lo anterior, el objetivo propuesto era evaluar la actividad antimicrobiana, la irritabilidad vaginal y dérmica de 2 decocciones de hojas secas de *S. americanum*.

MÉTODOS

Material vegetal

La planta fue colectada en la Estación Nacional de Frutales en Alquízar y depositada en la Estación Experimental de Plantas Medicinales «Dr. Juan Tomás Roig» con número de *voucher* ROIG-4653. Se prepararon 2 decocciones, una a 20 % y otra a 30 % de hojas secas.

Modelo biológico

Los animales empleados en el estudio fueron conejos albinos, 3 machos y 6 hembras de la línea New Zealand, con un peso promedio de 2 kg, procedentes del Centro Nacional de Producción de Animales de Laboratorios (CENPALAB). Se mantuvieron en salas a temperatura de 23 °C, humedad 60 % y ciclos luz/oscuridad de 12/12 h. Recibieron como alimento dieta comercial pelletizada EMO (Alyco[®], CENPALAB) con su correspondiente certificado de calidad. El agua era de calidad apta para consumo humano. El acceso a los alimentos y al agua fue *ad libitum*. Los animales fueron sometidos a cuarentena y observación clínica diaria durante 7 d antes del inicio de experimento.

El estudio se realizó cumpliendo las guías de buenas prácticas⁷ y para el cuidado y uso de animales de laboratorio.⁸

Métodos experimentales

Difusión en agar para evaluar actividad antimicrobiana

Se prepararon los medios de cultivo necesarios. Para la cepa de bacteria se utilizó Medio Antibiótico N^o 1 (Oxoid) y para la especie de levadura se empleó Medio Sabouroud-Dextrosa (Oxoid), ambos se prepararon según las instrucciones del fabricante y se esterilizaron en autoclave a 120 °C por 20 min.

Las cepas de microorganismos empleadas fueron: *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10278 y *Salmonella thyphimurum* ATCC 14028.

Se prepararon los precultivos de las cepas de bacterias y de *Candida albicans* en medio antibiótico y medio Sabouroud líquido (sin agar), respectivamente, y se dejaron crecer por 14 h en agitación a 37 °C. A partir de estos se inocularon los microorganismos en los medios con agar antes fundido y mantenido a 45 °C. La cantidad de inóculo añadido a estos medios de cultivo permitió obtener un crecimiento en césped a una concentración aproximada de 10⁸ células/mL.

Una vez solidificado el medio de cultivo previamente inoculado con los microorganismos, se realizaron 5 perforaciones por placa de 1 cm de diámetro y se añadieron 100 µL del extracto acuoso de hojas secas a 20 % de *S. americanum* y agua como control negativo. Se utilizaron un total de 10 réplicas por tratamiento.

Las placas se incubaron a 37 °C por 24 h, al cabo de este tiempo se evaluaron los resultados mediante la lectura en milímetros del diámetro del halo de inhibición del crecimiento de los microorganismos.⁹

Irritabilidad vaginal

Se utilizaron 6 conejos adultos jóvenes, albinos de la línea New Zealand (hembras) con un peso promedio de 2 kg, procedentes de CENPALAB. Los animales fueron distribuidos en 2 grupos de 3 cada uno, un grupo control (agua destilada) y un grupo tratado (extracto acuoso de hojas secas a 20 %).

Se colocó un catéter flexible de 6 cm de largo a una jeringuilla con capacidad para 2 mL del material de ensayo que va a ser administrado. El animal se colocó en el cepo de forma tal que permitiera el acceso a la vagina. El catéter fue lubricado antes de la introducción, se colocó en la vagina y se depositaron 2 mL de extracto acuoso de hojas secas a 20 %. Este procedimiento se repitió cada 24 h por 5 d. Se registró y anotó la apariencia de la apertura vaginal y el perineo para signos de descarga, eritema y edema, 24 h antes de la aplicación inicial e inmediatamente antes de cada tratamiento.

Los animales fueron sacrificados por inhalación de una atmósfera saturada de éter, después de 24 h de la última dosificación.

Se limpió la vagina y se abrió longitudinalmente para observar signos de algún daño, se colocó en un fijador para su posterior procesamiento histopatológico y hallar el índice de irritación vaginal (IIV), mediante la fórmula: $IIV = \frac{\text{Grupo tratado}}{\text{Grupo control}}$.

Las escalas de evaluación de irritabilidad se muestran en las tablas [1](#) y [2](#).

Irritabilidad dérmica primaria

Se utilizaron 3 conejos albinos (machos) de la línea New Zealand con un peso promedio de 2 kg procedentes del CENPALAB.

Se removieron los pelos del tronco de los animales, 24 h antes del ensayo, con cuidado de no erosionar la piel. Se utilizaron 0,6 mL del extracto acuoso de hojas secas a 30 % para cada animal, se aplicó en un área de aproximadamente 6 cm² de la piel y se cubrió con un parche de gasa, sostenido en el lugar mediante un esparadrapo no irritante, que fue separado en cajas de retención, para evitar que estuviera en contacto con el parche. Al final del período de exposición de 4 h, se removió la sustancia remanente con agua destilada, para evitar el daño a la epidermis.

Las lesiones se evaluaron de acuerdo con las escalas establecidas (tablas 3 y 4) para eritema y edema.

Tabla 3. Escala evaluación de irritabilidad de *Draize*

No irritante	$0,0 \leq X < 0,4$	Se aprueba el producto
Ligeramente irritante	$0,4 \leq X < 2,0$	
Moderadamente irritante	$2,0 \leq X < 5,0$	Se rechaza
Irritante severo	$5,0 \leq X < 8,0$	

Las lecturas para eritema y edema se hicieron a las 24, 48 y 72 h.

El eritema se estableció por visualización y el edema por palpación ligera.¹⁰

Si se necesita clarificar alguna duda, es posible hacer histopatología

Se obtuvo el índice de irritación primaria (IIP).

$$\Sigma = \frac{\text{Eritema} + \text{edema}}{n.t}$$

donde:

n= animales, t= tiempo

RESULTADOS

El extracto acuoso a 20 % de hojas secas de yerba mora mostró actividad antimicrobiana y formó un halo de inhibición del crecimiento frente al microorganismo *C. albicans* de 14 a 16 mm de diámetro con una media de 15,5 mm (tabla 5). No mostró actividad antimicrobiana frente a los microorganismos *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella thyphimurum*, demostrado por la ausencia de halo de inhibición de crecimiento.

El resultado de la irritabilidad vaginal del extracto acuoso 20 % de hojas secas de *S. americanum*, fue mínimo, los datos se muestran en la tabla 6, donde los animales tratados muestran valores de mínimo a medio, de infiltración leucocitaria, congestión vascular y edema, con un índice de irritación vaginal de 3,6.

En la evaluación de la irritabilidad dérmica con el extracto acuoso 30 % de hojas secas del *S. americanum*, los animales en estudio no presentaron eritema ni edema en la piel. Se obtuvo un índice de irritación primaria de cero.

DISCUSIÓN

En otros estudios realizados, la decocción de hojas secas presentó *in vitro*, actividad fungicida con CIM de 100-300 mg/mL frente a *E. floccosum*, *M. canis*, *M. gypseum*, *T. mentagrophytes* y *T. rubrum*,⁶ lo que coincide con nuestros resultados al evaluar el extracto acuoso de hojas secas 20 % de yerba mora, que mostró actividad antimicótica frente a la levadura *Candida albicans* y pudiera actuar por un mecanismo de acción al nivel celular.¹¹ Otros autores han establecido relación entre la presencia de flavonoides y su acción sobre los tubos germinativos de *C. albicans*.¹²

En relación con la ausencia de actividad antibacteriana del extracto frente a las bacterias gramnegativas: *E. coli*, *K. pneumoniae* y *S. typhimurium*, pudiese estar dado porque estas bacterias presentan una compleja estructura de su pared celular, constituida solo por 5 a 10 % de muranilpéptidos, lo que llevaría a obtener una menor sensibilidad al extracto, esta membrana externa que actúa como barrera para muchas sustancias¹³, incluidos los antibióticos.¹⁴⁻¹⁶

El resultado de irritabilidad vaginal mínima con el extracto acuoso a 20 % de hojas secas de *S. americanum* y la evaluación de la irritabilidad dérmica con el extracto acuoso a 30 % de hojas secas con irritación primaria de cero está en correspondencia con otros estudios realizados,² lo que se pudiera explicar en parte por la presencia de taninos entre otros compuestos químicos, demostrada por tamizaje,^{2,3} estos son polifenoles con acción astringente, antimicrobiana, antifúngica e inhibitoria enzimática. Además de conocerse la utilización tradicional de esta planta medicinal para el tratamiento de úlceras tópicas, como antiherpético, antiinflamatorio y antiséptico en enfermedades de la piel.³

Se concluye que la decocción de hojas secas de *S. americanum* mostró actividad antimicrobiana frente a *Candida albicans* y no frente a los otros microorganismos, presentó irritabilidad mínima en vagina y clasificó como no irritante en piel, por lo que pueden ser empleadas en afecciones provocadas por *C. albicans* tanto en piel como en vagina.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Roig JT. Yerba mora. En: Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. 2da ed. La Habana: Editorial Científico-Técnica; 1988. p. 974-6.
2. Tramil. Enda-caribe. Hacia una farmacopea caribeña: *Solanum americanum*. 7 ed. Santo Domingo: UAG & Universidad de Antioquia; 1995. p. 591-4.
3. Acosta L, Rodríguez C. *Solanum americanum* (hierba mora). En: Plantas medicinales. Bases para su producción sostenible. La Habana: Editorial Agrinfor; 2006. p. 155-6.
4. Girón L. Investigación de la inhibición de *Candida albicans* por preparaciones de plantas usadas en la medicina popular [Tesis Magistral]. Guatemala: Universidad de San Carlos; 1983
5. Duke J, Atchley A. Handbook of proximate analysis tables of higher plants. Boca Ratón, Florida: CRS Press; 1986.

6. Cáceres A, López BR, Girón MA, Logemann H. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. I Screening for antimycotic activity of 44 plant extracts. *J Ethnopharmacol.* 1999;31(3):263-76.
7. Para la Protección de la Salud Pública. Principios de las Buenas Prácticas de Laboratorio no Clínico de Seguridad Sanitaria y Medioambiental: Regulación 39/2004. La Habana: El Buró Regulatorio; 2004.
8. EE.UU. National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Washington DC: National Academy Press; 2001. p. 21-79.
9. Duarte MC, Leme EE, Delarmelina C, Soares AA, Figueira GM, Sartoratto A. Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*. *J Ethnopharmacol.* 2007;111(2):197-201.
10. ISO. Biological Evaluation of Medical Devices. Part 10. Test for irritation and sensitization. International Organization for Standardization; 1992.
11. Cáceres A. Plantas antimicrobianas de Mesoamérica. En: Primer Congreso Internacional Fito 2000. 1er Congreso Peruano de Plantas Medicinales y Fitoterapia. 1ra ed. Lima 11. Perú: Editorial Instituto de Fitoterapia Americano; 2000. p. 41-4.
12. Borsetti HM, Hernández N, Kestelman IB de, Abdala LR. Acción de flavonoides sobre tubos germinativos de *Candida albicans*. En: Primer Congreso Internacional Fito 2000. 1er Congreso Peruano de Plantas Medicinales y Fitoterapia. 1ra ed. Lima 11 Perú: Editorial Instituto de Fitoterapia americano; 2000. p. 126.
13. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. Microbiology: An Introduction. San Francisco: Benjamin Cummings; 2001. p. 88.
14. Peña MA. Generalidades de la quimioterapia antimicrobiana. En: Farmacología General. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2002. p. 179-94.
15. Chambers HF. Antimicrobianos. Consideraciones generales. En: Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. México DF: Editorial Mc Graw-Hill Interamericana; 2001. p. 1161-87.
- 16 Mediavilla A, Florez J, García-Lobo JM. Farmacología de las enfermedades infecciosas: Principios generales, selección y asociaciones de antibióticos. En: Farmacología humana. 4ta ed. Barcelona: Editorial Masson; 2003. p. 1081-103.

Recibido: 25 de noviembre de 2008.

Aprobado: 12 de enero de 2009.

Lic. *María Julia Martínez*. Laboratorio Central de Farmacología (LCF). Facultad de Ciencias Médicas «Dr. Salvador Allende» Carvajal entre Agua Dulce y A, Cerro.

Tabla 1. Evaluación de la reacción de los tejidos vaginal, rectal, oral y pene

Reacción				Valor
Epitelio	Infiltración leucocitaria	Congestión vascular	Edema	
Normal intacto	Ausente	Ausente	Ausente	0
Degeneración celular	Mínima < 25	Mínima	Mínimo	1
Metaplasia	Media 26.a 50	Media	Media	2
Erosión focal	Moderada 51.a 100	Moderada	Moderado	3
Erosión generalizada	Marcada > 100	Marcada, ruptura de vasos	Marcado	4

Tabla 2. Clasificación según el índice de irritación

Resultado (valor promedio)	Clasificación de la irritación	
0	Ninguna	Se aprueba el producto
1-4	Mínima	
5-8	Media	
9-11	Moderada	Se rechaza
12-16	Severa	

Tabla 4. Escala de las lesiones

Eritema y escaras	Formación de edemas	
Muy ligero eritema	Muy ligero edema(escasamente perceptible)	1
Eritema bien definido	Ligero edema (bordes del área bien definido por una elevación definida)	2
Moderado a severo eritema	Moderado edema (elevación de aproximadamente 1 mm)	3
Severo o formación de escaras	Severo edema (elevación más de 1mm, se extiende fuera del sitio de exposición)	4