

Actividad espermicida y citotóxica del extracto de *Sapindus saponaria* L. (jaboncillo)

Evaluation of the spermicidal and cytotoxic activity of extracts of *Sapindus saponaria* L. (jaboncillo)

Dra. Luisa Ospina Medina, Dra. Ángela Álvarez Gómez, Dr. Víctor Arango Valencia, Dra. Ángela Cadavid Jaramillo, Prof. Walter Cardona Maya

Grupo de Reproducción. Universidad de Antioquia, Colombia.

RESUMEN

Introducción: los espermicidas están entre los métodos anticonceptivos que pueden inmovilizar o matar los espermatozoides.

Objetivo: evaluar la actividad espermicida y citotóxica de los extractos de *Sapindus saponaria* L., conocida como jaboncillo, sobre espermatozoides humanos y la línea celular HeLa, respectivamente.

Métodos: las muestras de semen donadas por individuos sanos se incubaron con los extractos de *Sapindus saponaria* L. y sus respectivas fracciones. La movilidad y la viabilidad espermática se evaluó antes y después de cada tratamiento. Adicionalmente, el efecto citotóxico del extracto se valoró sobre la línea celular HeLa mediante el ensayo 3-(4,5 dimetiliazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolio (MTS).

Resultados: el máximo efecto espermicida se observó cuando las muestras de semen se incubaron con la fracción polar del extracto de hojas de *Sapindus saponaria* L., luego de 5 min de tratamiento ($p < 0,05$). No se encontró efecto citotóxico en la línea celular HeLa luego de 6 y 12 h de tratamiento con la fracción polar del extracto de hojas.

Conclusión: el extracto de *Sapindus saponaria* L. puede ser una nueva opción como espermicida con menos efectos adversos.

Palabras clave: *Sapindus saponaria* L., espermatozoide, capacitación espermática, actividad espermicida.

ABSTRACT

Introduction: spermicides are contraceptive methods aimed at either immobilizing or killing spermatozoa.

Objective: evaluate the spermicidal and cytotoxic activity of extracts of *Sapindus saponaria* L. (*jaboncillo*) on human spermatozoa and the HeLa cell line, respectively.

Methods: semen samples from healthy individuals were incubated with extracts of *Sapindus saponaria* L. and their fractions. Sperm motility and viability were measured before and after each treatment. Additionally, the cytotoxic effect of the extract on the HeLa cell line was assessed by the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxy methoxy phenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium MTS assay.

Results: maximum spermicidal effect was observed when semen samples were incubated with the polar fraction of *Sapindus saponaria* L. leaf extract after 5 minutes of treatment ($p < 0.05$). No cytotoxic effect on the HeLa cell line was found after 6 and 12 hours of treatment with the polar fraction of the leaf extract.

Conclusion: the extract of *Sapindus saponaria* L. may be a new spermicidal option with fewer adverse effects.

Key words: *Sapindus saponaria* L., spermatozoon, sperm capacitation, spermicidal activity.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, a pesar que se encuentra una amplia variedad de espermicidas, es importante encaminar la investigación a la búsqueda de nuevas opciones que tengan una función preventiva frente a los embarazos no deseados y las infecciones de transmisión sexual, pero que adicionalmente no presenten un efecto citotóxico contra las células del epitelio vaginal.¹ En esa búsqueda se ha encontrado que diferentes extractos de plantas y frutos tienen capacidad de inmovilizar o matar los espermatozoides humanos,² como es el caso del extracto de *Passiflora edulis*, el cual además de su efecto espermicida, no presentó un efecto citotóxico sobre células epiteliales.³ Adicionalmente, se ha demostrado que el jugo del limón tiene efecto espermicida,⁴ así como el pigmento natural presente en la planta *Curcuma longa*, que además de tener efectos antitumorales y antiinflamatorios, aumenta a 100 % el porcentaje de espermatozoides inmóviles a los 60 min de exposición;⁵ los extractos de *Aloe barbadensis*⁶ y *Pongamia glabra*⁷ presentan también efecto espermicida.

Distribuida desde EE. UU. hasta Argentina^{8,9} se encuentra la planta *Sapindus saponaria* L., comúnmente conocida como jaboncillo o pepo, la cual tiene una abundante cantidad de saponinas,⁹ sustancias que conforman un grupo de glucósidos con amplias variedades estructurales que le otorgan propiedades biológicas como detergentes^{10,11} y surfactantes.¹² Las plantas del género *Sapindus* son conocidas por sus múltiples usos como antirreumáticos, antihelmínticos y por su utilización como tónicos.¹³ Paralelamente, se ha determinado que de las semillas de *Sapindus saponaria* L. se puede extraer aceite comestible que contiene omega 3, 6 y 9 y ácidos grasos insaturados.¹¹ Teniendo en cuenta estas propiedades, resulta interesante la evaluación del extracto de la planta como un método anticonceptivo. Los métodos anticonceptivos son definidos como sustancias o productos que

inhiben la producción o movilidad espermática, que previenen la formación de un oocito o que pueden alterar el endometrio para hacerlo no receptivo a un oocito fecundado.¹⁴ Específicamente, los espermicidas son agentes químicos diseñados para prevenir la fecundación porque causan la muerte o la inactivación de los espermatozoides,^{1,15} gracias a la acción biológica de su compuesto principal, el nonilfenoxi-polietilenoxietano, más conocido como nonoxinol-9 o N-9.^{16,17} Los espermicidas se encuentran ampliamente distribuidos, entre sus presentaciones se incluyen los óvulos y las cremas que por lo general deben ser acompañados con el uso de otro método anticonceptivo como el condón.¹⁸ Los espermicidas presentan varias ventajas respecto a otros métodos anticonceptivos, como son el bajo costo, la amplia disponibilidad,¹⁹ la discreción en su uso y la fácil adquisición²⁰ e incluso su evaluada y conocida acción como agentes microbicidas debido a su efecto lítico sobre la envoltura del virus de la inmunodeficiencia humana.²¹ Por esta razón se ha demostrado la capacidad *in vitro* para prevenir o evitar la transmisión de algunas infecciones de transmisión sexual;²² sin embargo, su uso frecuente está relacionado con irritaciones cervicovaginales²³ y con la interrupción del crecimiento de la flora bacteriana residente, en especial de *Lactobacillus acidophilus*,^{24,25} considerado como el grupo predominante de bacterias en el tracto vaginal normal de la mujer.²⁶ Adicionalmente, se ha demostrado que su uso frecuente (más de 3 usos en el día) puede incrementar el riesgo de infección por el virus de la inmunodeficiencia humana debido a un daño sobre el epitelio vaginal.²⁷

El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar las propiedades espermicida y citotóxica de las fracciones obtenidas del extracto de los tallos, hojas y total (hojas más tallos) de la planta *Sapindus saponaria* L. sobre espermatozoides humanos y la línea celular epitelial HeLa, respectivamente. Los resultados con el desarrollo de este estudio permitirán en el futuro generar una herramienta para la prevención de embarazos no deseados, teniendo como una de sus ventajas la libre decisión de cuándo utilizarlo, al no estar sujeto a un uso continuo como sucede con otros métodos de planificación.

MÉTODOS

Muestras de semen

Las muestras de semen fueron donadas por voluntarios aparentemente sanos en edad reproductiva ($26,9 \pm 6,7$) mediante masturbación, después de una abstinencia sexual de 3 a 5 días ($3,8 \pm 0,8$), como lo sugiere la Organización Mundial de la Salud en su manual para el análisis seminal de 1999.²⁸

Análisis de las muestras de semen

Luego de cumplido el tiempo de licuefacción de la muestra de semen normalmente establecido entre 30 y 60 min, se realizó un análisis de los parámetros espermáticos por medio de un espermograma, siguiendo los lineamientos establecidos por la Organización Mundial de la Salud en su manual para análisis seminal de 1999.²⁸ En el examen macroscópico se analizaron el volumen, el pH, y la consistencia; luego se realizó un examen microscópico en el que se evaluaron la movilidad, la viabilidad y la concentración espermática. Brevemente, la evaluación de los distintos tipos de movilidad espermática se realizó de la manera siguiente: movilidad a: $> 25 \mu\text{m/s}$, movilidad b: $5-25 \mu\text{m/s}$, movilidad c: $< 5 \mu\text{m/s}$ (movilidad sin desplazamiento) y movilidad d: inmóviles. En este estudio, los datos de movilidad progresiva a y b se analizaron de forma conjunta. Posteriormente, se

realizó la determinación del porcentaje de viabilidad, mezclando 10 μ L de la muestra seminal con 10 μ L de eosina-Y 0,5 % (IHR[®] Cali, Colombia) y se consideraron como espermatozoides vivos aquellos que no tenían su cabeza teñida con el colorante; finalmente, se evaluó la concentración espermática utilizando la cámara de *Makler*.²⁹

En la tabla se resumen los valores mínimos que debían tener las muestras en el momento de su evaluación inicial para ser incluidas en el estudio.

Tabla. Valores de referencia para los parámetros espermáticos

Parámetro	Valor de referencia ²⁷
Volumen	$\geq 2,0$ mL
pH	$\geq 7,2$
Consistencia	Normal
Concentración	$\geq 20 \times 10^6$ espermatozoides/mL
Movilidad	≥ 50 % movilidad a + b
Viabilidad	≥ 60 %

Obtención del extracto y las fracciones de Sapindus saponaria L.

De la parte aérea de la planta sin desecar se tomaron 10 g de hojas, 10 g de tallos y 10 g de hojas más tallos (Voucher 1895, Fernando Alzate, 1985, Herbario de la Universidad de Antioquia). A cada componente se le adicionaron 50 mL de solución salina al 0,85 % y se mezclaron en una licuadora entre 2 y 4 min, posteriormente se filtraron 2 veces con gaza estéril para eliminar la mayor cantidad posible de detrito vegetal, con el fin de obtener el extracto de cada parte de la planta. Los extractos obtenidos (hojas, tallos y hojas más tallos) se filtraron de nuevo por duplicado con papel filtro para eliminar las partículas de material vegetal sólido más pequeñas y se les realizó una extracción líquido-líquido utilizando acetato de etilo para obtener la fase acuosa o polar y la fase orgánica o no polar.

Las fases orgánicas obtenidas se llevaron a sequedad en una cámara de extracción hasta completar la evaporación del acetato de etilo y fueron redisueltas en una solución de dimetil sulfóxido (DMSO) más solución salina 0,85 %, en proporción 1:9 v/v. Posteriormente, se evaluó la actividad espermicida de las 6 fracciones, una acuosa y una orgánica de cada parte de la planta. La fracción que presentó la mayor actividad espermicida se sometió a una cromatografía en capa fina en sílica gel (Merck 60 F₂₅₄ 0,2 mm) utilizando como fase móvil una mezcla de diclorometano: acetona en proporción 4:1 para obtener 2 fracciones, una con los compuestos que tuvieran un valor de Rf mayor que 0,5 (Rf: relación entre la distancia recorrida por el soluto y la distancia recorrida por el solvente) y otra con los compuestos con un Rf menor que 0,5; así como la realización de 2 diluciones, a 50 y 25 % para ser mezcladas con las muestras de semen y obtener concentraciones de 25 y 12,5 % del extracto y de esta manera poder determinar la concentración mínima efectiva (CME) sobre la movilidad a + b, d y la viabilidad espermática. Todos los extractos y las fracciones se almacenaron protegidos de la luz a 4 °C hasta su uso.

Evaluación del efecto de los extractos y las fracciones sobre las muestras de semen

Se mezclaron 30 μ L de cada extracto o fracción con 30 μ L de semen para obtener una concentración de 50 % del extracto o fracción (proporción 1:1 v/v);

posteriormente se tomaron 10 µL de la mezcla para determinar la movilidad y 10 µL para la viabilidad, usando un microscopio de luz Olympus® CH20 en alto poder (40X), en tiempos de 20 s, 3 y 5 min. Todos los ensayos se hicieron por duplicado y como mínimo 3 veces.

Tanto la movilidad y viabilidad espermática fueron determinadas antes y después de la incubación con cada extracto o fracción.

Evaluación de la actividad citotóxica de la fracción o extracto de Sapindus saponaria L. con mayor actividad espermicida sobre la línea celular HeLa utilizando el ensayo 3-(4,5 dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolio (MTS)

En platos de 96 pozos de fondo plano se sembraron 3×10^3 células/pozo de la línea celular epitelial HeLa en medio RPMI-1640 (GIBCO®, USA) con L-glutamina, suplementado con suero bovino fetal (SBF, GIBCO®, USA) al 10 %, penicilina-estreptomicina (GIBCO®, USA) al 1 % y gentamicina 1 % (GENFAR®, Colombia) previamente esterilizado con filtros de 0,22 µm siguiendo el protocolo anteriormente descrito.³⁰ Luego de 12 h de incubación, el medio fue retirado y se agregaron 100 µL de los diferentes estímulos por triplicado: PBS (SIGMA®, Steinheim Germany) como control positivo porque no promueve la proliferación celular, medio suplementado con SBF 10 % como control negativo de citotoxicidad, medio sin SBF como control de medio o blanco y la fracción o extracto con mayor actividad espermicida de *Sapindus saponaria* L. diluida en RPMI a una concentración de 50 %. Los platos se incubaron por 6, 12 y 24 h a 37 °C, 5 % CO₂. Posteriormente se agregaron 20 µL de MTS a cada pozo, se incubaron por 3 h y se determinó la absorbancia en un lector universal de platos (*ELx 800NB Universal Microplate*, BIO-TEK Instruments Inc., Winooski, V, USA) a 490 nm.

El efecto citotóxico de la fracción polar del extracto de hojas de la planta se determinó por un ensayo colorimétrico para establecer el número de células viables; este se basa en la bioreducción de un compuesto de tetrazolio en uno coloreado (formazan, Cell Titer 96® Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay, Promega Corporation, Madison Wisconsin, USA). El porcentaje de viabilidad celular se calculó sobre la base de la fórmula siguiente:³⁰

$$\text{Viabilidad celular} = \frac{\text{Media de las absorbancias de las células expuestas}}{\text{Media de las absorbancias de las células no expuestas}} \times 100$$

Se realizaron 2 ensayos independientes, cada uno por triplicado.

Marcha fitoquímica

Una marcha fitoquímica permite determinar de forma cualitativa la presencia o ausencia de algunos compuestos en el extracto de una planta.³¹ En este caso, se realizó la determinación de la presencia de flavonoides, aminoácidos, compuestos fenólicos, taninos, alcaloides y saponinas, siguiendo los protocolos establecidos en el laboratorio del Grupo de Productos Marinos de la Universidad de Antioquia.

Para la determinación de flavonoides se llevaron 10 mL de la fracción con mayor actividad espermicida de la planta a un rotoevaporador para desecar la muestra y obtener finalmente un concentrado, luego fue redisuelta en etanol puro y se agregó

magnesio y HCl concentrado; la formación de una espuma y un compuesto coloreado rojo indicó positividad para la presencia de estos compuestos.

En el caso de la prueba para aminoácidos, una tirilla de papel filtro se impregnó con unas gotas de la fracción polar del extracto de hojas y una vez seca se agregó ninhidrina hasta dejar secar de nuevo; la formación de un sombreado violeta indicaba positividad. Para determinar la presencia de compuestos fenólicos se tomó 1 mL de la fracción con mayor actividad espermicida de la planta y se agregó 1 gota de cloruro férrico, en este caso la formación de un compuesto verde o marrón indicaba positividad.

Para la determinación de taninos se tomaron 3 mL de la fracción en estudio y se agregó 1 mL del reactivo de gelatina-sal, con la cual se espera la formación de un precipitado en caso de ser positivo. La prueba para alcaloides consistió en tomar 12 mL de la fracción que presentó una actividad espermicida más marcada y agregar HCl al 5 % y luego agregar unas gotas del revelador de *Dragendorf* seguido de la adición del reactivo de Meyer. En caso de ser positivo se observará la formación de un precipitado. Por último, para la determinación de saponinas se aplicó la fracción con una mayor actividad espermicida en una placa de sílica gel y se agregó butanol: ácido acético: agua en proporciones 4:1:5, con el fin de permitir la migración de los compuestos por la placa durante 2 h aproximadamente; por último se agregó anisaldehído como revelador y la formación de manchas violeta indicaba positividad. Todas las pruebas se realizaron y compararon con sus respectivos controles positivos y negativos.

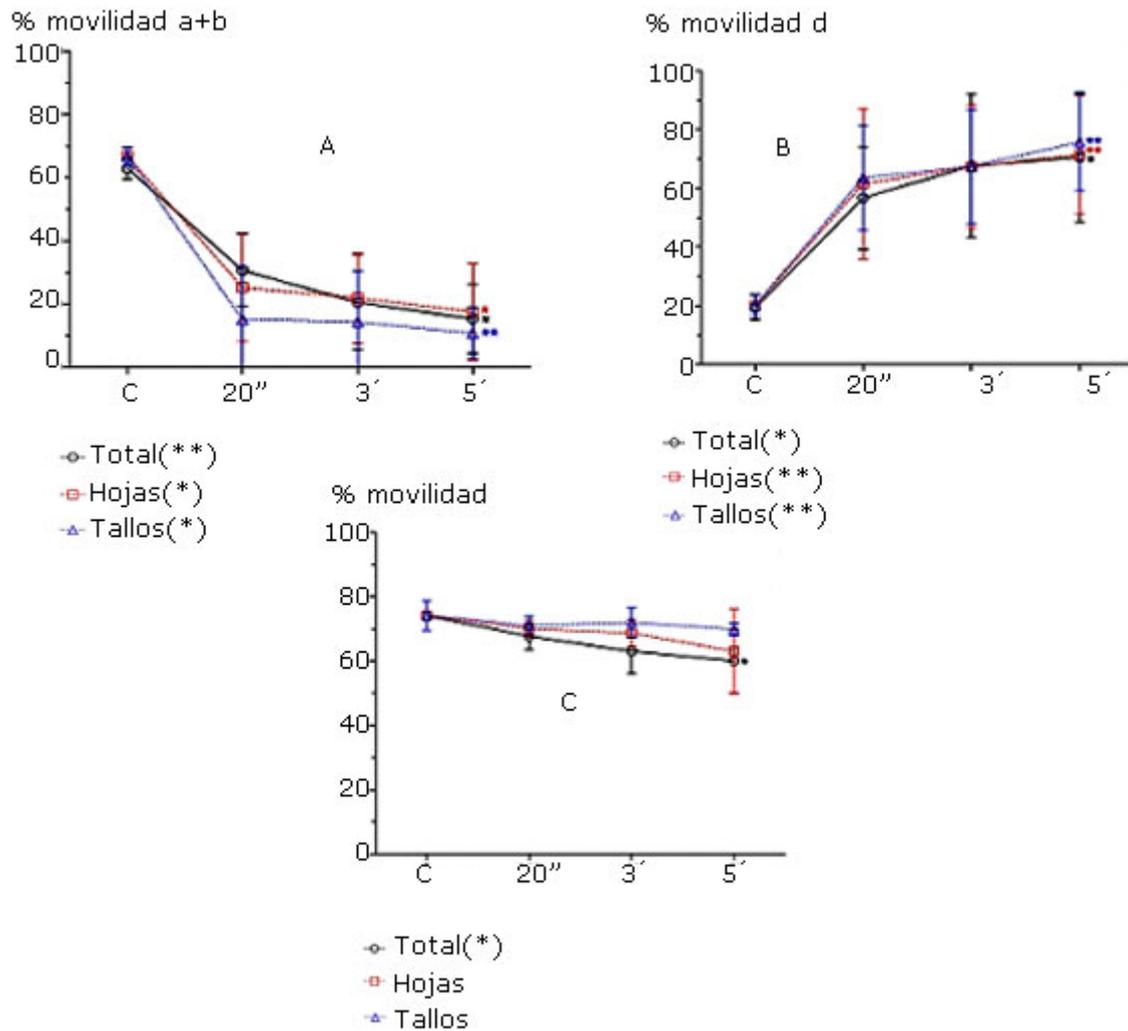
Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo determinando los valores de la media y la desviación estándar de la movilidad y la viabilidad espermática, antes y después de la incubación con cada extracto en función del tiempo. Adicionalmente, se compararon los valores de cada grupo, las muestras sin tratamiento y tratadas con los extractos y sus fracciones, usando la prueba Anova no paramétrica *Friedman test* y el *test* posterior de Dunns mediante el programa estadístico Prism 5.0[®].

RESULTADOS

Todas las muestras de semen usadas en este estudio presentaban parámetros seminales superiores a los límites inferiores establecidos por la OMS: volumen 2,7 mL \pm 1,0; pH 7,4 \pm 0,43; movilidad a + b, 64 % \pm 5,0; movilidad d, 22 % \pm 6,0; viabilidad, 77 % \pm 4,84 y concentración 44×10^6 espermatozoides/mL \pm 18,79.

En el tratamiento de los espermatozoides con los extractos de *Sapindus saponaria* L., tanto el total como las hojas y los tallos, inducen una disminución significativa de la movilidad a + b ($p < 0,05$ para total y hojas; $p < 0,01$ para tallos) (Fig. 1A). Así mismo inducen un aumento estadísticamente significativo de la movilidad d luego de 5 min de contacto con los extractos ($p < 0,05$ para total y hojas; $p < 0,01$ para tallos) (Fig. 1B); en el caso de la viabilidad espermática, solo se evidenció una disminución significativa ($p < 0,05$) a los 5 min de tratamiento con el extracto total (Fig. 1C).



C: muestras sin tratamiento (control), *: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, $n = 3$.

Fig. 1. Evaluación del efecto de los extractos total (hojas más tallos), de hojas y de tallos de *Sapindus saponaria* sobre la movilidad a + b (A), movilidad d (B) y sobre la viabilidad espermática (C) en función del tiempo (20 s, 3 min, 5 min).

El siguiente paso fue la evaluación del efecto de las fracciones polares provenientes del extracto total, de hojas y de tallos de *Sapindus saponaria* L. sobre los espermatozoides humanos en términos de movilidad a + b (Fig. 2A), movilidad d (Fig. 2B) y la viabilidad espermática (Fig. 2C) en función del tiempo, 20 s, 3 y 5 min. Ese tratamiento disminuyó el porcentaje de movilidad a + b ($p < 0,05$ para el extracto total y de tallos; $p < 0,01$ para hojas) y aumentó el porcentaje de movilidad d ($p < 0,05$ en todos los casos), adicionalmente, se observó una disminución de la viabilidad espermática ($p < 0,05$ para las fracciones polares del extracto total y de tallos; $p < 0,01$ para la fracción polar del extracto de hojas) respecto a las muestras sin tratamiento pasados 5 min de contacto con esas fracciones.

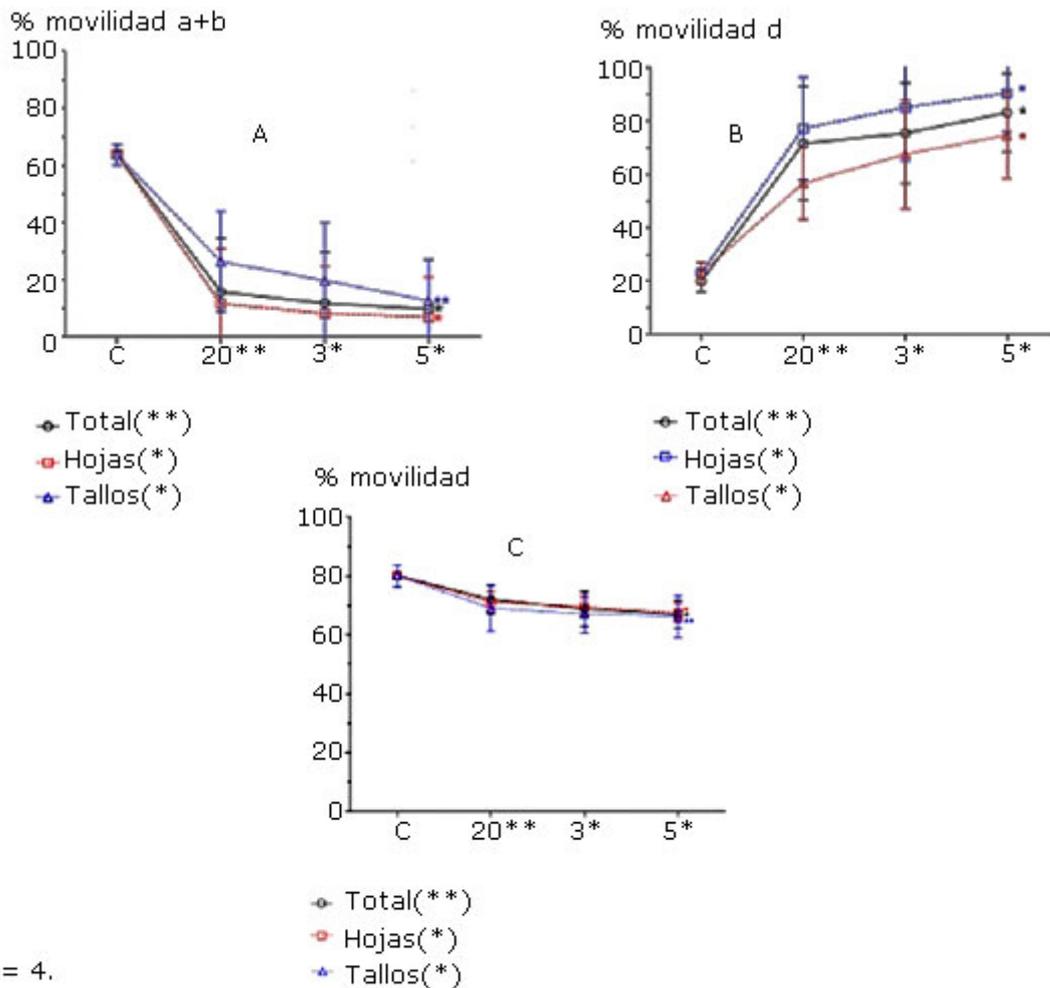


Fig. 2. Evaluación del efecto de las fracciones polares provenientes del extracto total, de hojas y de tallos de *Sapindus saponaria* sobre la movilidad a + b (A), movilidad d (B) y sobre la viabilidad espermática (C) en función del tiempo (20 s, 3 min, 5 min).

Con la finalidad de verificar que la solución de DMSO más solución salina en la que fueron redisueltas las fracciones no polares de los extractos *per se*, no afectara la movilidad o la viabilidad espermática, se realizó la cuantificación de éstas en tiempos de 20 s, 3 y 5 min del contacto de los espermatozoides con la solución. No se afectó de forma significativa la movilidad espermática a + b, la movilidad d ni la viabilidad espermática.

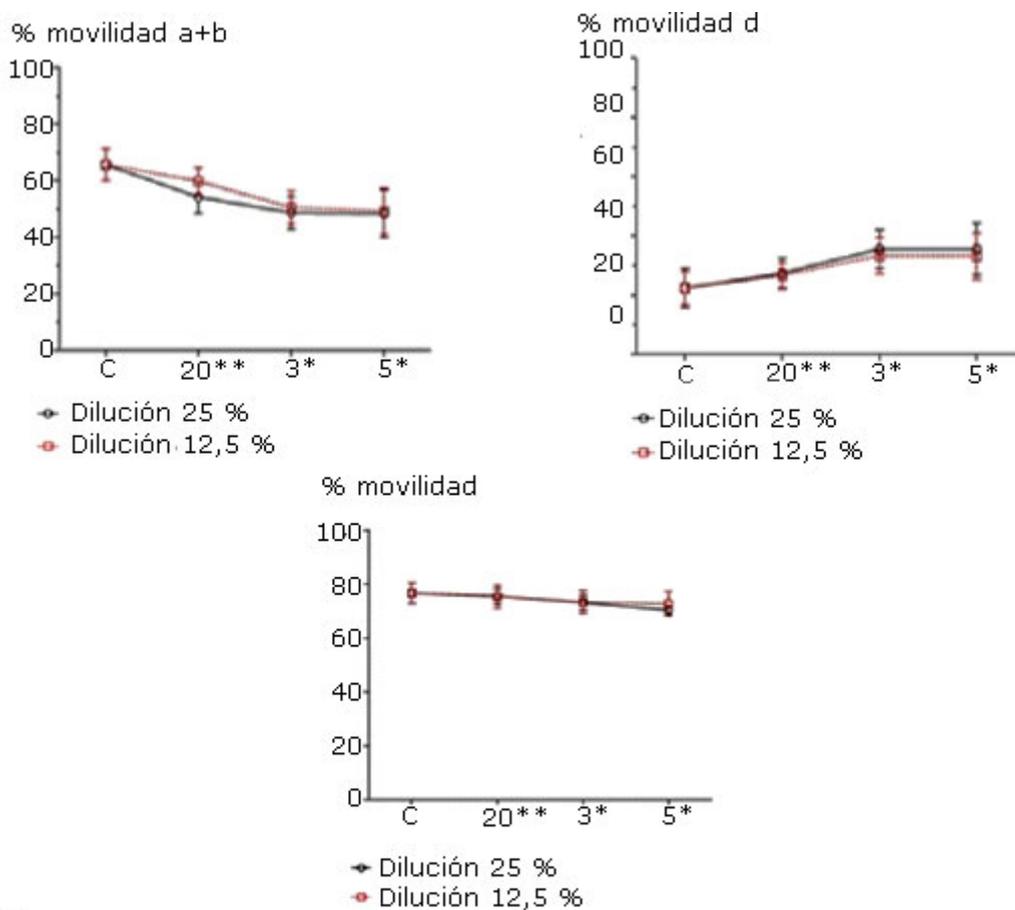
Posteriormente, se hizo la evaluación de las fracciones no polares provenientes del extracto total, de tallos y de hojas de *Sapindus saponaria* L. sobre la movilidad espermática a + b, d y la viabilidad espermática. La movilidad espermática a + b, tuvo una disminución significativa a los 5 min de tratamiento con la fracción no polar proveniente del extracto total y de tallos ($p < 0,05$), así como un aumento significativo de la movilidad d ($p < 0,05$). Estas fracciones también afectaron la viabilidad espermática luego de 5 min de tratamiento ($p < 0,05$).

El tratamiento de las muestras de semen con la fracción polar del extracto de hojas permitió evidenciar un aumento significativo de los espermatozoides inmóviles (movilidad tipo d) hasta un promedio de 90 % pasados 5 min de tratamiento ($p < 0,05$), respecto a las muestras sin tratamiento que tenían un promedio de 23 % y una disminución de espermatozoides con movilidad a + b luego de 5 min de

tratamiento, hasta un promedio de 7 % respecto a las muestras sin tratamiento (promedio de 64 %). Así se muestra que es el tratamiento más efectivo como espermicida, por tal motivo la fracción polar del extracto de hojas se seleccionó para realizar una cromatografía en capa fina y separar los compuestos según su Rf.

Los tratamientos con las soluciones que contenían los compuestos con un Rf tanto menor como mayor que 0,5; permitieron evidenciar una disminución estadísticamente significativa de los espermatozoides con movilidad a + b ($p < 0,05$) luego de 5 min de contacto con estas, así como un aumento de los espermatozoides con movilidad d ($p < 0,05$) y la disminución de la viabilidad espermática ($p < 0,05$).

A pesar de que los compuestos con distintos valores de Rf afectan de forma significativa la movilidad y la viabilidad espermática, la fracción polar del extracto de hojas demostró ser la fracción con una mayor actividad espermicida.



n=3.

Fig. 3. Tratamiento de los espermatozoides con las diluciones de la fracción polar provenientes del extracto de hojas de *Sapindus saponaria* 25 % y 12,5 % sobre la movilidad a + b (A), movilidad d (B) y viabilidad espermática (C), en función del tiempo (20 s, 3 min, 5 min).

A esta fracción se le realizó la marcha fitoquímica y se encontró que era positiva para flavonoides, aminoácidos, compuestos fenólicos y saponinas; y era negativa para taninos y alcaloides. Adicionalmente esta fracción se utilizó para realizar los

ensayos de citotoxicidad sobre la línea celular epitelial HeLa, una vez determinada su concentración mínima efectiva.

Bajo el tratamiento de las muestras de semen con las diluciones a 25 y 12,5 % de la fracción polar proveniente del extracto de hojas, no hubo ninguna diferencia significativa sobre las movibilidades espermáticas a + b (Fig. 3A) o d (Fig. 3B) ni en la viabilidad espermática (Fig. 3C) respecto a las muestras sin tratamiento.

En los ensayos de citotoxicidad sobre la línea celular epitelial HeLa, se encontró un porcentaje de viabilidad celular de 62 y 60 % luego de 6 y 12 h de incubación con la fracción polar proveniente del extracto de hojas de *Sapindus saponaria* L. respectivamente; después de ese tiempo, una nueva determinación de la viabilidad celular a las 24 h muestra una depleción de la misma hasta 20 % (Fig. 4).

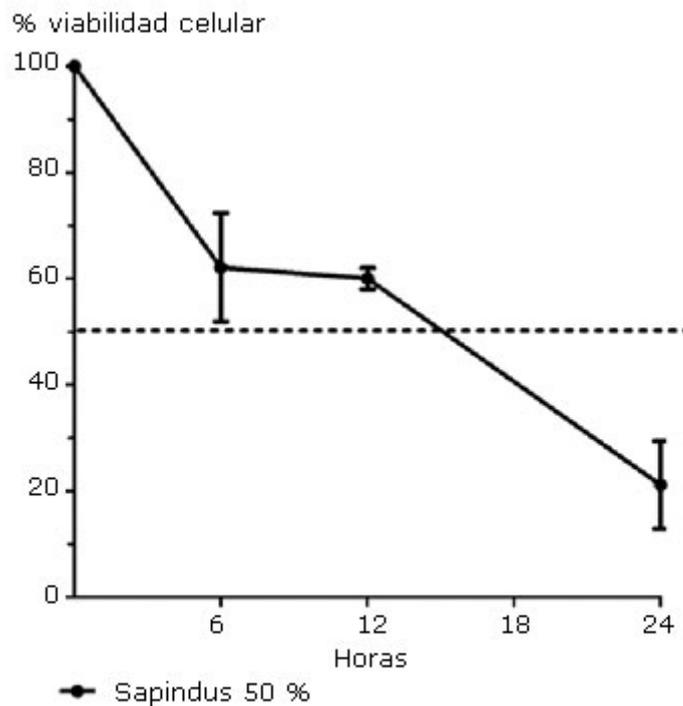


Fig. 4. Efecto de la fracción polar del extracto de hojas de *Sapindus saponaria* sobre la viabilidad celular en la línea celular HeLa durante 6, 12 y 24 h.

DISCUSIÓN

Los resultados indican que el extracto de la planta *Sapindus saponaria* L., y aún más la fracción polar proveniente del extracto de hojas presentan un efecto inmovilizante pero no letal sobre los espermatozoides humanos, debido a que en su mayoría los extractos o fracciones tuvieron un efecto mucho más marcado sobre la movilidad (disminución de la movilidad progresiva o aumento de la inmovilidad) que sobre la viabilidad espermática, aunque en algunos casos esta disminuyó de forma significativa. Este hallazgo, sin embargo, se incluye en la definición del término «espermicida», porque es considerado como tal todo compuesto responsable de la inactivación o muerte de los espermatozoides.^{1,15}

Sapindus saponaria L. es una planta con alto contenido de saponinas,⁹ esta característica se confirmó con el análisis fitoquímico, y es coherente con un estudio previo en el cual se demostró que las saponinas aisladas de varias plantas medicinales nativas de India también tuvieron un efecto espermicida.³² Sin embargo, en este estudio, en la misma fracción que presentó un efecto espermicida también se confirmó la presencia de otros compuestos como flavonoides y compuestos fenólicos, y estos podrían potenciar el efecto que tienen las saponinas sobre la movilidad espermática. Es necesario, por lo tanto, la realización de más estudios que confirmen si las saponinas (moléculas a las que se les ha atribuido un sinnúmero de propiedades físico-químicas debido a su naturaleza anfipática como detergentes y emulsificantes),³³ al ser purificadas o aisladas de este extracto, son las directamente implicadas en el efecto inmovilizante sobre los espermatozoides humanos, porque de lo contrario existiría una acción sinérgica con los demás compuestos presentes en la fracción polar proveniente del extracto de hojas.

A pesar de un amplio conocimiento actual sobre las propiedades espermicidas de varios productos naturales, en nuestro medio ninguno ha sido desarrollado a nivel farmacéutico para finalmente ser comercializado y este es un agravante frente a la necesidad de tener métodos anticonceptivos de bajo costo y accesibilidad para la población. Un espermicida, como una de las tantas alternativas en anticoncepción, debe ser una sustancia que no tenga efectos nocivos sobre el epitelio,³⁴ y a pesar de eso, la mayoría se fabrican a base Nonoxinol-9, un agente químico que induce la fragmentación del DNA celular en explantes endometriales³⁵ y afecta de forma significativa la estructura del endometrio y la expresión de algunas citoquinas.³⁶ Es a partir de estos hallazgos que se acrecienta el interés en la búsqueda de compuestos de origen natural con propiedades espermicidas, pero que tengan mínimos o incluso ningún efecto adverso sobre el epitelio vaginal. En ese orden de ideas, habiendo demostrado en este estudio la propiedad espermicida del extracto de *Sapindus saponaria* L. y, adicionalmente, que este no mostró un efecto tóxico para las células HeLa durante 6 y 12 h de tratamiento, podría pensarse además en la evaluación de la fracción polar del extracto de hojas sobre la microbiota vaginal. En un estudio realizado por *Aslim* y otros,²⁶ demostraron que el extracto de una planta del mismo género, *Sapindus mukorosii* no afectaba el crecimiento de colonias de *Lactobacillus acidophilus*, uno de los microorganismos presentes en el ambiente vaginal que actúa como barrera protectora, porque impide la colonización de otros microorganismos de carácter patógeno,²⁶ además participa en la producción de ácido láctico y conocido como uno de los principales responsables del mantenimiento del pH vaginal normal que debe mantenerse aproximadamente en 4,5.

Teniendo en cuenta estos aspectos, la fracción polar del extracto de hojas de *Sapindus saponaria* L., luego de algunos estudios complementarios podría llegar a ser un producto anticonceptivo promisorio, porque no presenta un efecto citotóxico sobre una línea celular epitelial en un tiempo rápido, lo que podría junto a otros métodos como el condón llegar a ser una gran herramienta para la prevención de embarazos no deseados, e impactar principalmente en poblaciones vulnerables como los adolescentes y en aquellas personas que no desean utilizar métodos de uso continuo como los hormonales.

AGRADECIMIENTOS

Por el apoyo económico a la Universidad de Antioquia, Programa Sostenibilidad 2011-2012 y al Instituto Tecnológico Metropolitano (ITM). Ángela María Álvarez y Walter Cardona Maya fueron becarios de Colciencias. Luisa Ospina Medina es joven investigadora de Colciencias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gupta G. Microbicidal spermicide or spermicidal microbicide? Eur J Contracept Reprod Health Care. 2005;10(4):212-8.
2. Álvarez-Gómez AM, Cardona-Maya WD, Castro-Alvarez JF, Jimenez Silvia, Cadavid A. Nuevas opciones en anticoncepción: posible uso espermicida de plantas colombianas. Actas Urol Esp. 2007;31(4):372-81.
3. Álvarez Gómez AM, Cardona Maya W, Forero J, Cadavid A. Human Spermicidal Activity of Passiflora edulis Extract. J Reproduction Contraception. 2010;21(2):95-100.
4. Clarke GN, McCoombe SG, Short RV. Sperm immobilizing properties of lemon juice. Fertil Steril. 2006;85(5):1529-30.
5. Rithaporn T, Monga M, Rajasekaran M. Curcumin: a potential vaginal contraceptive. Contraception. 2003 Sep;68(3):219-23.
6. Fahim MS, Wang M. Zinc acetate and lyophilized *Aloe barbadensis* as vaginal contraceptive. Contraception. 1996;53(4):231-6.
7. Bandivdekar A, Moodbidri S. Spermicidal activity of seed oil of *Pongamia glabra*. Arch Androl. 2002;48(1):9-13.
8. Sánchez de Lorenzo Cáceres J. *Sapindus saponaria* L. L. L. [cited Jun 2011]. Disponible en: <http://www.arbolesornamentales.es/Sapindussaponaria.htm>
9. García Barriga H. Flora medicinal de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales. Bogotá: Universidad Nacional de Bogotá; 1974. p. 1-561.
10. Sparg SG, Light ME, van Staden J. Biological activities and distribution of plant saponins. J Ethnopharmacol. 2004;94(2-3):219-43.
11. Sanches Buitrago J, Silva Herrera L. Estudio silvicultural de la especie *Sapindus saponaria* L. L. L. (jaboncillo) como base para su aprovechamiento silvoindustrial. Revista Colombiana Forestal. 2008;11:71-81.
12. Oleszek W, Bialy Z. Chromatographic determination of plant saponins-An update (2002-2005). J Chromatography. 2006;1112:78-91.
13. Orlando A, Guirado A. Potencial medicinal del género *Sapindus* L. (Sapindaceae) y de la especie *Sapindus saponaria* L. L. L. Rev Cubana Plant Med. 2005;10(4).
14. Unny R, Chauhan AK, Joshi YC, Dobhal MP, Gupta RS. A review on potentiality of medicinal plants as the source of new contraceptive principles. Phytomedicine. 2003;10(2-3):233-60.
15. Grimes D, Lopez L, Raymond E, Halpern V, Nanda K, Schulz K. Spermicide used alone for contraception. Cochrane Database Syst Rev. 2008;19(4):CD005218.
16. Hillier SL, Moench T, Shattock R, Black R, Reichelderfer P, Veronese F. *In vitro* and *in vivo*: the story of nonoxynol 9. J Acquir Immune Defic Syndr. 2005;39(1):1-8.

17. White DR, Clarkson JS, Ratnasooriya WD, Aitken RJ. Complementary effects of propranolol and nonoxynol-9 upon human sperm motility. *Contraception*. 1995;52(4):241-7.
18. Lech MM. Spermicides 2002: an overview. *Eur J Contracept Reprod Health Care*. 2002;7(3):173-7.
19. Cook RL, Rosenberg MJ. Do spermicides containing nonoxynol-9 prevent sexually transmitted infections? A meta-analysis. *Sex Transm Dis*. 1998;25(3):144-50.
20. French RS, Cowan FM. Contraception for adolescents. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2009;23(2):233-47.
21. Witter FR, Barditch-Crovo P, Rocco L, Trapnell CB. Duration of vaginal retention and potential duration of antiviral activity for five nonoxynol-9 containing intravaginal contraceptives. *Int J Gynaecol Obstet*. 1999;65(2):165-70.
22. Wilkinson D, Ramjee G, Tholandi M, Rutherford G. Nonoxynol-9 for preventing vaginal acquisition of sexually transmitted infections by women from men. *Cochrane Database Syst Rev*. 2002(4):CD003939.
23. Halpern V, Rountree W, Raymond EG, Law M. The effects of spermicides containing nonoxynol-9 on cervical cytology. *Contraception*. 2008;77(3):191-4.
24. McGroarty JA, Tomczek L, Pond DG, Reid G, Bruce AW. Hydrogen peroxide production by *Lactobacillus* species: correlation with susceptibility to the spermicidal compound nonoxynol-9. *J Infect Dis*. 1992;165(6):1142-4.
25. Ojha P, Maikhuri JP, Gupta G. Effect of spermicides on *Lactobacillus acidophilus in vitro*-nonoxynol-9 vs. *Sapindus saponins*. *Contraception*. 2003;68(2):135-8.
26. Aslim B, Kilic E. Some probiotic properties of vaginal lactobacilli isolated from healthy women. *Jpn J Infect Dis*. 2006;59(4):249-53.
27. Dayal MB, Wheeler J, Williams CJ, Barnhart KT. Disruption of the upper female reproductive tract epithelium by nonoxynol-9. *Contraception*. 2003;68(4):273-9.
28. World Health Organization. Laboratory Manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4th ed. Switzerland: WHO; 1999.
29. Cardona-Maya W, Berdugo J, Cadavid A. Comparación de la concentración espermática usando la cámara de Makler y la cámara de Neubauer. *Actas Urol Esp*. 2008;32(4):443-5.
30. Shadeghi A, Ghasemi N, Kohi M. Cytotoxic effect of *Convolvus arvensis* extracts on human cancerous cell line. *Research in Pharmaceutical Sciences*. 2008;3(1):31-4.
31. Sharapin N. Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. Santa Fe de Bogotá D.C: Convenio Andrés Bello; 2000. p. 1-247.
32. Settya B, Kamboja V, Garga H, Khanna N. Spermicidal potential of saponins isolated from Indian medicinal plants. *Contraception*. 1976;14(5):571-8.
33. Guclu-Ustundag O, Mazza G. Saponins: properties, applications and processing. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2007;47(3):231-58.

34. Lee CH. Review: *in vitro* spermicidal tests. Contraception. 1996;54(3):131-47.
35. Jain JK, Li A, Nucatola DL, Minoos P, Felix JC. Nonoxynol-9 induces apoptosis of endometrial explants by both caspase-dependent and -independent apoptotic pathways. Biol Reprod. 2005;73(2):382-8.
36. Jain JK, Li A, Minoos P, Nucatola DL, Felix JC. The effect of nonoxynol-9 on human endometrium. Contraception. 2005;71(2):137-42.

Recibido: 22 de septiembre de 2011.

Aprobado: 29 de julio de 2012.

Walter Cardona Maya. Carrera 53 # 61-30, lab 534, A.A. 1226, Grupo Reproducción, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Correo electrónico: wdcmaya@medicina.udea.edu.co