

Geles con acción espermicida a base de plantas, aplicación de la medicina tradicional en la anticoncepción

Herbal gels with spermicide effect, application of traditional medicine in contraception

QF. Vanessa Gallego Londoño, QF. Susana Arango Villa, QF. Daiana Cano Rojas, Microbiol. Jenniffer Puerta Suárez, PhD. Walter Cardona Maya.

Grupo Reproducción, Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Medicina. Medellín, Colombia.

RESUMEN

Introducción: entre los métodos anticonceptivos se incluyen los espermicidas; compuestos que causan la muerte o inactivación de los espermatozoides durante su paso por el tracto reproductivo femenino. En uso de la medicina tradicional se seleccionaron las plantas *Physalis peruviana* L. (Solanaceae), *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. (Poaceae), *Melicocca bijuga* (Jacq.) L. (Sapindaceae), *Dianthus caryophyllus* L. (Caryophyllaceae) y *Sapindus saponaria* L. (Sapindaceae).

Objetivos: evaluar el efecto espermicida y citotóxico de los extractos de las plantas y diseñar un preparado farmacéutico en gel.

Métodos: se evaluó el efecto sobre la movilidad y la viabilidad espermática de los extractos de cada planta. *P. peruviana*; tallos y hojas de *C. citratus*; fruta y cáscara de *M. bijuga*, además, de tallos y hojas de *D. caryophyllus* y *S. saponaria* previo, desecados en horno a

37 °C por 12-24 h. Después, se realizó una preparación farmacéutica tipo gel, a la cual se le adicionaron los extractos obtenidos de los tallos y las hojas de *D. caryophyllus* y *S. Saponaria*, y se evaluó su efecto sobre la calidad seminal.

Resultados: los extractos elaborados además, de reducir la movilidad y la viabilidad espermática, presentan bajo efecto citotóxico sobre la línea celular HeLa; es el clavel, el extracto con el mejor efecto sobre estos parámetros. Los geles elaborados como vehículo de la sustancia espermicida reducen la movilidad espermática, sin embargo, la viabilidad también se ve muy afectada cuando se incluye el extracto de clavel.

Conclusiones: la preparación farmacéutica tipo gel que incluía el extracto de los tallos y las hojas de la planta *Dianthus caryophyllus* L. (clavel), presentó efecto espermicida y bajo efecto citotóxico.

Palabras clave: espermatozoide, anticoncepción, gel espermicida, citotoxicidad, *Dianthus caryophyllus* L., *Physalis peruviana* L., *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf., *Melicocca bijuga* (Jacq.) L., *Sapindus saponaria* L.

ABSTRACT

Introduction: among contraceptive methods, the spermicides are compounds that kill or inactivation of spermatozoa during their passage through the female reproductive tract. Making use of traditional medicine, we selected the following plants *Physalis peruviana* L. (Solanaceae), *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. (Poaceae), *Melicocca bijuga* (Jacq.) L. (Sapindaceae), *Dianthus caryophyllus* L. (Caryophyllaceae), and *Sapindus saponaria* L. (Sapindaceae).

Objective: to evaluate the spermicidal and cytotoxicity effect of extracts of plants and design a pharmaceutical preparation in gel.

Methods: sperm motility and viability were evaluated after incubation with extract from each plant: fruit, stems and leaves of *P. peruviana*; stems and leaves of *C. citratus*; fruit and shell of *M. bijuga*; as stems and leaves of *D. caryophyllus* and *S. saponaria* previously dried at 37 °C for 12-24 hours. Finally, a pharmaceutical preparation in a gel form was used as a base to add the extracts of stems and leaves of *D. caryophyllus* and *S. saponaria* and the effect on motility and viability were evaluated.

Results: extracts reduce sperm motility and viability and have a lower cytotoxic effect on HeLa cell line. Carnation extract has the best effect on those parameters. Preparations of spermicidal gels reduce sperm motility; however also affect the viability when the extract of carnation was added.

Conclusions: the pharmaceutical preparation in gel form that includes the extract of the stems and leaves of the plant *Dianthus caryophyllus* L. (carnation) have spermicidal activity with lesser cytotoxic effect.

Key words: sperm, contraception, spermicide gel, cytotoxicity, *Dianthus caryophyllus* L., *Physalis peruviana* L., *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf., *Melicocca bijuga* (Jacq.) L. *Sapindus saponaria* L.

INTRODUCCIÓN

La planificación familiar según la Organización Mundial de la Salud (OMS), permite tanto a los hombres como a las mujeres determinar el intervalo y el número de hijos que desean; ponderar aspectos como el estado de salud de la mujer, los diferentes factores de riesgo reproductivo y los aspectos sociales que los rodean. Este objetivo se logra a través, de la aplicación de métodos anticonceptivos y el tratamiento de los problemas de fertilidad. Sin embargo, cada año se reportan alrededor de 87 millones de embarazos involuntarios en el mundo,¹ lo que demuestra la ineficacia de las políticas públicas establecidas en este tema.

Entre los factores que determinan la edad reproductiva de los adolescentes colombianos, prevalece el estrato socioeconómico, donde se observa que las adolescentes de estratos bajos, inician a más temprana edad sus relaciones sexuales y son madres con mucha mayor antelación y frecuencia que las adolescentes de estratos socioeconómicos más altos;^{2,3} incluso una de cada cinco mujeres en edades entre 15 y 19 años está embarazada y en la mayoría de los casos habrían preferido no estarlo en ese momento.⁴ Al indagar las causas de este fenómeno, el 20 % del total de las adolescentes manifiesta tener necesidades insatisfechas en anticoncepción,⁵ lo que conlleva al incremento de: abortos, suicidios, muertes maternas, abandono de menores y favorece el incremento de los índices de pobreza.⁶

Todos estos factores son un aliciente para prolongar la búsqueda de nuevos métodos anticonceptivos con características más atractivas para esta población de alto riesgo.

En la actualidad, entre los anticonceptivos disponibles se encuentran los métodos de barrera como los condones, sin embargo, existe cierto rechazo a su uso debido, a que es visto como un símbolo de desconfianza y disminución del placer durante la relación sexual.⁵ Otros tipos de anticonceptivos, muy difundidos son los de regulación hormonal, pero son empleados con recelo por los efectos secundarios que ocasionan como hipertensión, desequilibrio hormonal y aumento de riesgo de cáncer de útero y mama.⁷

También, se encuentran los espermicidas, agentes químicos diseñados para prevenir la fecundación y que causan la muerte o inactivación de los espermatozoides durante su paso por el tracto reproductivo femenino en busca del oocito,⁸⁻¹⁰ cuyo mecanismo de acción se basa en reducir la tensión superficial de la membrana del espermatozoide,¹¹ causa la pérdida de la movilidad, disminuye el poder fructolítico, altera la permeabilidad y disuelve el contenido lipídico.¹² Se debe aclarar que el término espermicida se usa indiscriminado, cuando lo más apropiado es emplear el término espermiostático, si el compuesto sólo tiene la capacidad de inmovilizar a la célula espermática¹³

Estas sustancias poseen características atractivas para su uso, como el control femenino del método, su disponibilidad, su bajo costo y el estar exentos de efectos hormonales o efectos en la lactancia además, de no requerir prescripción médica.^{14,15} Sin embargo, tienen como desventaja el daño al epitelio vaginal debido a que en su mayoría, el componente principal es el Nonoxinol-9 (N-9), que genera irritación vaginal¹⁶ y su uso continuo altera la microbiota, convirtiéndose en un factor de riesgo para la adquisición de ciertas ITS, incluida la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH),^{17,18} aunque algunos estudios *in vitro* han demostrado que el N-9 tiene actividad microbicida frente a este virus,¹⁹ por lo que es un punto aún controversial.¹⁰

El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto espermicida y citotóxico de los extractos de las plantas *Physalis peruviana* L. (uchuva), *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. (limoncillo), *Melicocca bijuga* (Jacq.) L. (mamoncillo), *Dianthus caryophyllus* L. (clavel) y *Sapindus saponaria* L. (jaboncillo). Además, de diseñar un preparado farmacéutico en gel, que cumpla con las características espermicidas y citotóxicas necesarias para proponer un nuevo método anticonceptivo.

MÉTODOS

Obtención de los extractos vegetales de las plantas

Las plantas empleadas en esta investigación se obtuvieron de un mercado de la ciudad de Medellín, se respetó los derechos de biodiversidad y fueron clasificadas por un biólogo experto del Herbario de la Universidad de Antioquia (HUA), colecciones testigo se encuentran disponibles en el Herbario Nacional Colombiano (HNC). Las plantas fueron clasificadas como:

- *Physalis peruviana* L. (Solanaceae), HNC (Bogotá, Colombia) COL000034951 (uchuva).
- *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. (Poaceae), HNC (Bogotá, Colombia) COL000255989 (limoncillo).
- *Melicocca bijuga* (Jacq.) L. (Sapindaceae), HNC (Bolívar, Colombia) COL000108670 (mamoncillo).
- *Dianthus caryophyllus* L. (Caryophyllaceae), HNC (Bogotá, Colombia) COL000066852 (clavel).
- *Sapindus saponaria* L. (Sapindaceae), HNC (Medellín, Colombia) COL000109089 (jaboncillo).

Para la preparación de cada extracto se pesó la cantidad de material vegetal previo, desecado en horno a 37 °C por 12-24 h y se licuaron con solución salina estéril al 0,85 % de acuerdo a las siguientes concentraciones: 50 g en 150 mL de tallos y hojas y 500 g de fruta sin solución salina de *P. peruviana*, 50 g en 200 mL de tallos y hojas de *C. citratus*, 75 g en 100 mL de fruta y 25 g en 50 mL de cáscara de *M. bijuga*, 120 g en 100 mL de las plantas completas de *D. caryophyllus* y *S. saponaria*. Posterior, se filtraron 2-3 veces con gaza, algodón y papel filtro. La solución recuperada se centrifugó a 1 500 rpm/5 min, se alicuotó y se almacenó el sobrenadante a -20 °C hasta su uso.

Obtención de las muestras de semen

Se emplearon 29 muestras de semen de voluntarios aparentes sanos, con edades entre 20 y 33 años, cada muestra fue obtenida por masturbación después de 2 a 5 días de abstinencia sexual. Después al proceso de licuefacción se les determinó el pH, el volumen, la movilidad y la viabilidad, se siguió los lineamientos establecidos por la OMS en su manual de procesamiento de semen de 2010.²⁰ La concentración espermática se determinó mediante la cámara de Makler.²¹ Cada individuo entendió el objetivo del proyecto y aceptó su participación en el estudio.

Ensayo sobre la movilidad y viabilidad espermática

El efecto del extracto de cada planta sobre la movilidad y la viabilidad espermática fue evaluado a las concentraciones de material vegetal seco de cada planta reportadas antes. Se realizó incubación de los extractos de las plantas con los espermatozoides humanos, se mezcló 30 µl del extracto a evaluar y 30 µl de la muestra de semen. Breve, para evaluar la movilidad, 10 µL de la mezcla de semen con el extracto de cada planta en un portaobjetos y se clasificó a los

espermatozoides, luego de su visualización en un microscopio óptico (Nikon eclipse E200) se empleó el objetivo de 40x, así:

- Tipo I, espermatozoides con movimiento progresivo.
- Tipo II, espermatozoides con movimiento no progresivo.
- Tipo III, espermatozoides inmóviles, a los 20 segundos, 3 y 5 minutos.

Para la viabilidad, a 10 µL de cada mezcla extracto-semen se les agregó 10 µL del colorante vital eosina-Y al 0,5 % (IHR Diagnóstica, Cali, Colombia) sobre un portaobjetos. Se clasificaron como espermatozoides muertos los que adquieren el color rojo. Se realizaron conteos de mínimo 200 espermatozoides por duplicado de acuerdo a los lineamientos de la OMS.²⁰ Como criterio de inclusión de la muestra de semen en el estudio se requería mínimo una movilidad tipo I y II mayor o igual al 40 % de los espermatozoides y una viabilidad superior al 58 %.

Concentración mínima efectiva (CME)

Si los extractos evaluados antes, presentaban actividad espermicida, se realizaron diluciones sucesivas con el fin de hallar la CME a la cual el extracto presentaba actividad espermicida. Se realizaron dos diluciones sucesivas hasta obtener concentraciones de 75 % y 50 % del extracto inicial de la planta con solución salina al 0,9 % (Corpaul, Medellín, Colombia). A cada dilución realizada se le evaluó el efecto sobre la movilidad y la viabilidad espermática en la forma descrita.

Elaboración de forma farmacéutica

Se elaboró un gel base de 25 g para incluir los extractos estudiados con la siguiente formulación:

- Carbopol Ultrez 21: 0,8 % (0,2 g)
- Glicerina: 5 % (1,25 g)
- Trietanolamina (TEA): 1 % (0,25 g)
- Bronidox: 0,2 % (0,05 g)
- Solución salina 0,9 %: 68 % (17 g)
- Extracto Polar: 25 % (6,25 g)

Para elaborar el gel se dispersó el polímero en la mitad de la solución salina, el conservante se disolvió en una alícuota de solución salina y se incorporó a la mezcla previa realizada. Luego se procedió a gelificar con el agente TEA antes disuelto, para posterior adicionar la glicerina y por último el extracto polar a la mezcla. Al finalizar se determinó y ajustó el pH y se empleó ácido fosfórico hasta obtener un pH finito entre 5,0-5,5.

Evaluación de la actividad citotóxica sobre la línea celular HELA, se usó el ensayo MTS

La citotoxicidad se evaluó y se utilizó un compuesto de tetrazolio [3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -5- (3-fenil carboximetil) -2- (4-sulfofenil) -2H-tetrazolio, sal interna; MTS] con 3 ensayos independientes, cada uno por triplicado. Este ensayo colorimétrico permite determinar el número de células viables basada 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). En platos de 96 pozos de fondo plano se sembraron 3×10^3 células/pozo de la línea celular epitelial HeLa en medio DMEM (Dulbecco's Modified Eagles Medium) con L-glutamina, suplementado con 10 % de Suero Bovino Fetal (SBF, GIBCO®, USA), 10 %, penicilina-estreptomocina (GIBCO®, USA) y 1 % gentamicina (GENFAR®, Colombia) se siguió el protocolo anterior, descrito por Shadeghi *et al.*²² Luego de 12 horas de incubación, el medio fue retirado y se agregaron 100 µL de los diferentes estímulos por triplicado: PBS (SIGMA®, Steinheim Germany) y nonoxinol 9, proveniente de un espermicida de venta comercial como control positivo, DMEM suplementado con SBF 10 % como control negativo de citotoxicidad y los extractos de las plantas y geles elaborados con las fracciones polares de las plantas, así como el gel base libre de extractos con incubaciones de 6, 12 y 24 h a 37 °C / 5 % CO₂. Finalizadas las incubaciones se retiraron los estímulos y se agregaron 20 µL de MTS a cada pozo seguido de una nueva incubación por 3 h y después 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 porcentaje de viabilidad celular se calculó usando la siguiente fórmula:²²

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

Análisis estadístico

Para evaluar el efecto de los extractos polares y los preparados farmacéuticos sobre los espermatozoides humanos y sobre las células epiteliales HeLa, se realizó una comparación entre grupos, se empleó una ANOVA no paramétrica de una sola vía (test de Friedman) y el post-test de Dunns; se asumió un intervalo de confianza del 95 % y se empleó el software Graph Pad Prism 5,0.

RESULTADOS

Se determinó el pH, el volumen, la viabilidad y la movilidad espermática de cada muestra de semen. Se calculó el promedio de los parámetros espermáticos: pH 8,1 (desviación estándar -DS- 0,3; Límite inferior de referencia -LIR- $\geq 7,2$); volumen 2,6 mL (DS 1,2 mL, LIR $\geq 1,5$ mL); movilidad tipo I + II 65,0 % (DS 10, 2 %, LIR ≥ 40 %); viabilidad 81,4 % (DS 5,9 %, LIR ≥ 58 %).

En el gráfico 1 se muestra el efecto de los extractos de cada una de las fracciones de las plantas mamoncillo, limoncillo, uchuva, clavel y jaboncillo sobre la movilidad de los espermatozoides humanos. Para cada extracto se evidencia aumento en la movilidad tipo III, espermatozoides inmóviles, con respecto al control, es el extracto de clavel el que presenta el mayor efecto sobre la movilidad espermática, se incrementó en 64 % con respecto al control luego de 5 minutos de incubación con el extracto ($p < 0,05$).

% de movilidad tipo III

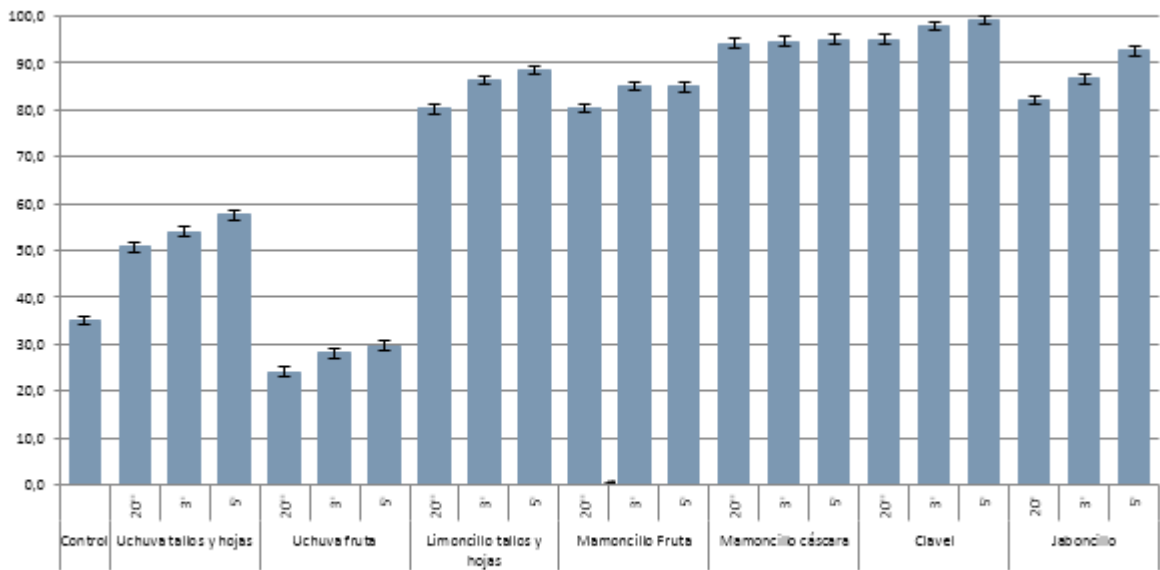


Fig. 1. Efecto de los extractos de las plantas sobre la movilidad espermática tipo III con respecto al tiempo.

En el gráfico 2 se observa el efecto de cada uno de los extractos de las plantas y sus fracciones sobre la viabilidad espermática.

El extracto de clavel induce una reducción del 68,1 %, 75,5 % y 76,6 % de la viabilidad espermática a los 20 segundos, 3 y 5 min, al respecto ($p < 0,01$).

% de viabilidad

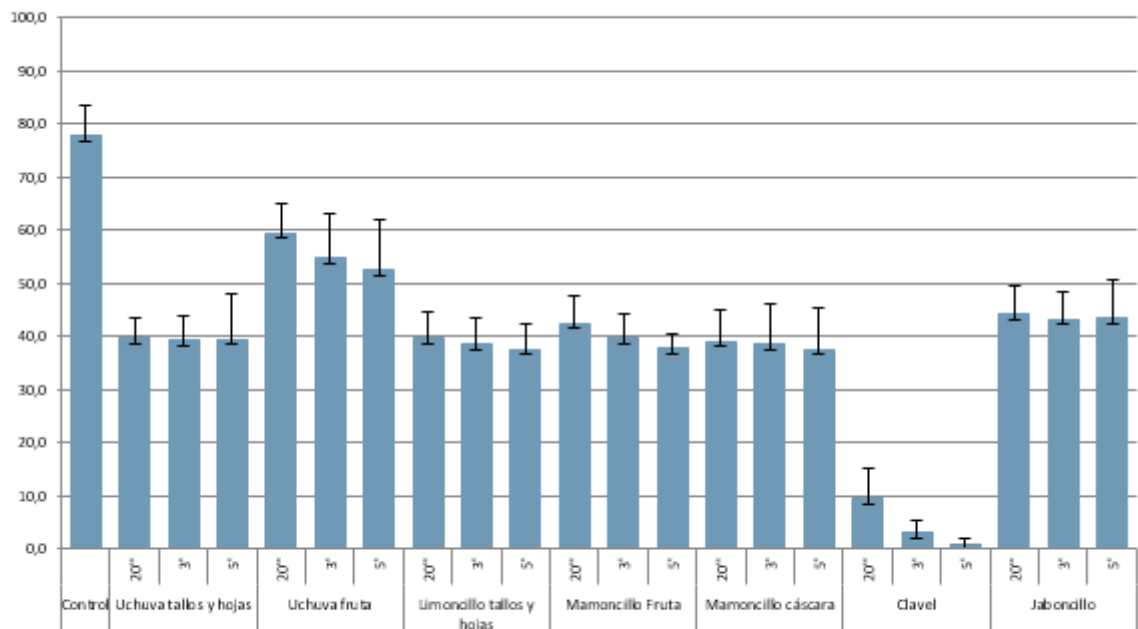


Fig. 2. Efecto de los extractos de las plantas sobre la viabilidad espermática con respecto al tiempo.

Con los resultados observados, se eligieron las plantas clavel y jaboncillo con la finalidad de realizar un preparado farmacéutico tipo gel al cual se le evaluó de nuevo el efecto sobre la movilidad (gráfico 3) y la viabilidad espermática (gráfico 4). Adicional, se valoró si la matriz del gel elaborado como vehículo para cada extracto podía tener algún efecto sobre estos parámetros seminales. En el gráfico 3 se observa que tanto la matriz del gel como el gel con cada uno de los extractos probados disminuyen la movilidad espermática en al menos un 67,1 % con respecto al control ($p < 0,05$). En cuanto a la viabilidad espermática (gráfico 4), este parámetro se reduce en un 77,2 %, 79,1 % y 82 % al incubar los espermatozoides con el gel con extracto de clavel a los 20 segundos ($p < 0,05$), 3 minutos y 5 minutos ($p < 0,01$) respecto al control.

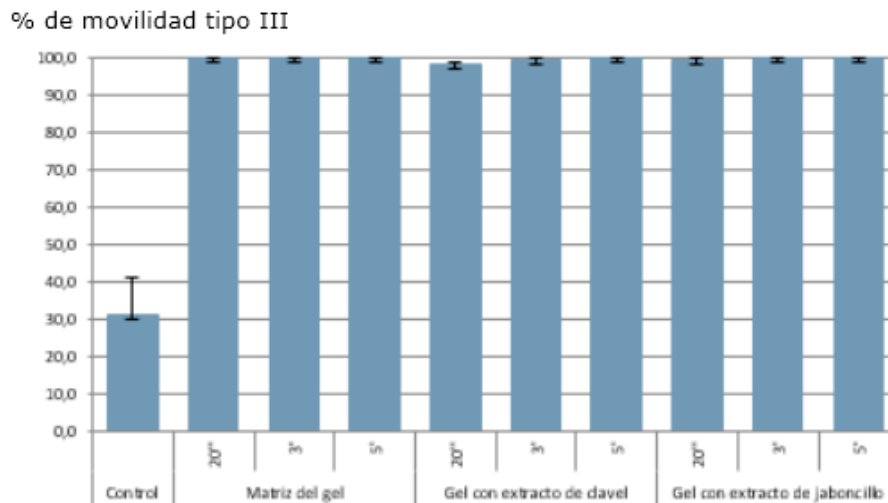


Fig. 3. Efecto de los preparados farmacéuticos tipo gel y de la matriz base de preparación del gel sobre la movilidad espermática tipo III con respecto al tiempo.

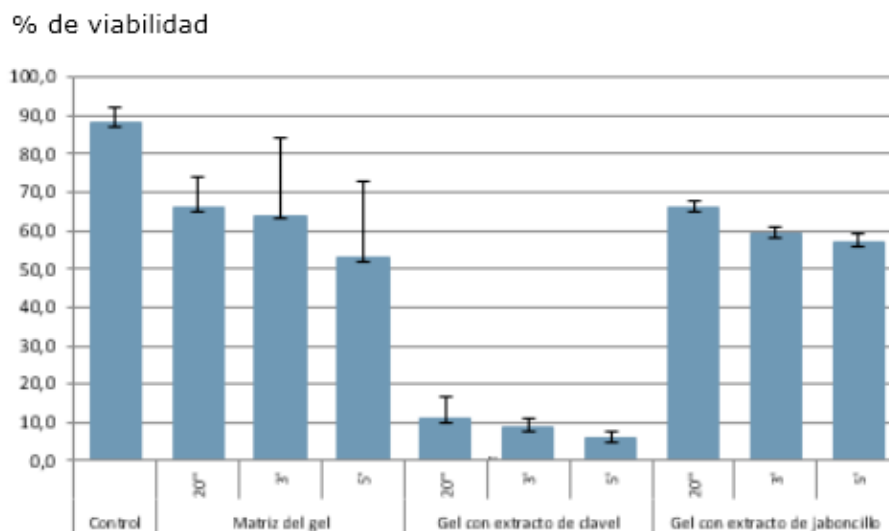


Fig. 4. Efecto de los preparados farmacéuticos tipo gel y de la matriz base de preparación del gel sobre la viabilidad espermática con respecto al tiempo.

Después de realizar el preparado farmacéutico y verificar sus efectos sobre los parámetros seminales, se realizó evaluación de la viabilidad celular al incubar cada gel con células epiteliales de la línea celular HeLa, con la finalidad de determinar el efecto citotóxico que pudieran presentar los extractos o preparados farmacéuticos sobre el epitelio vaginal (gráfico 5). Como control positivo de proliferación se empleó el medio DMEM y como control negativo se utilizó PBS, luego de determinar que una dilución de 1:80 es la concentración mínima efectiva del Nonoxinol 9, se comparó el efecto de la matriz del gel y de los geles con extracto y los extractos de clavel y jaboncillo con este producto de venta comercial. El extracto de clavel mostró estimular la proliferación celular, luego de su incubación por 24 h con las células HeLa; sin embargo, este efecto se redujo al emplear el gel base como vehículo de aplicación. Aunque los resultados de proliferación celular entre el nonoxinol 9 diluido 1:80, el extracto de jaboncillo, la matriz y los geles con extracto de clavel y jaboncillo son similares, se afirmó que el nonoxinol 9 sigue más tóxico que los preparados farmacéuticos a base de extractos de plantas ya que éste se encontraba a una concentración 80 veces menor a la que se emplea habitual.

% de viabilidad células HeLa

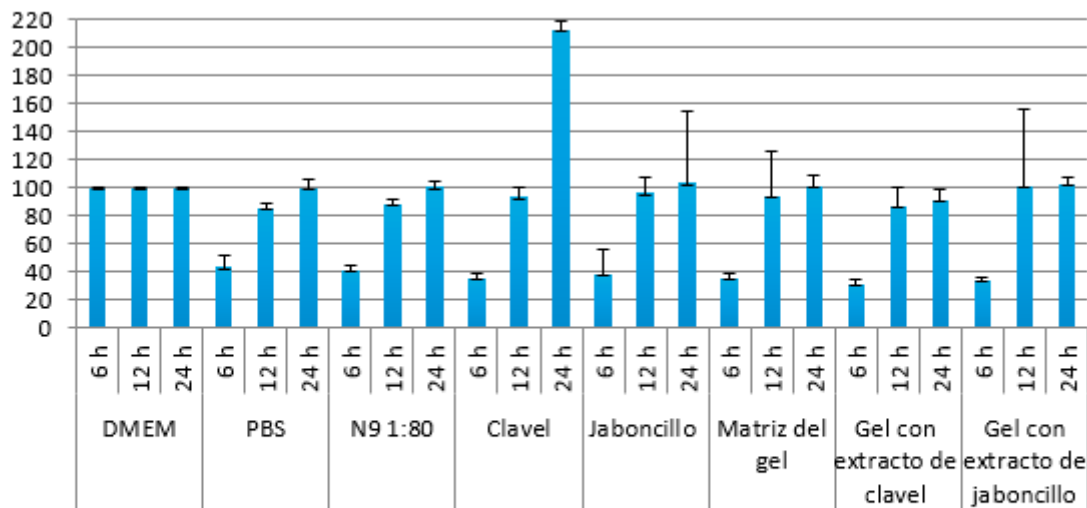


Fig. 5. Porcentaje de viabilidad celular en células HeLa en relación con el tiempo después de la incubación con nonoxinol 9 dilución 1:80, la matriz del gel, los extractos y los geles de las plantas clavel y jaboncillo.

DISCUSIÓN

Existe una necesidad creciente de mejorar los métodos anticonceptivos existentes y de buscar nuevos compuestos, de preferencia de origen natural que posean todas las ventajas de los espermicidas, sin alterar la flora microbiana ni la estructura vaginal.⁸

Las investigaciones adelantadas han demostrado que las plantas pueden ser buenos candidatos para reemplazar el Nonoxinol 9 de los espermicidas comerciales²³⁻²⁷ y de esta forma reducir los efectos adversos de este compuesto sobre el epitelio vaginal; especial aquellas plantas que posean entre sus compuestos químicos saponinas, moléculas que se han reportado como responsables del efecto espermicida en otras plantas que no se cultivan en el país.²⁸⁻³⁰ Este estudio contribuye no sólo al problema de la anticoncepción, sino que además, otorga características especiales a la flora colombiana.

El impacto que esta investigación ofrece no sólo involucra a las mujeres, quienes son las potenciales usuarias de preparados farmacéuticos espermicidas ya que cada vez se ven más involucrados a los hombres en los temas de planificación familiar; hecho que se logró verificar en investigaciones previas del Grupo Reproducción mediante un estudio descriptivo realizado en 500 hombres del Valle de Aburrá, en el cual se logró evidenciar que la edad de inicio de las relaciones sexuales en los habitantes de esta población es entre los 13 y los 18 años de edad.³¹ Cada día la salud sexual de los adolescentes recobra mayor importancia debido al efecto negativo que tienen las prácticas sexuales iniciadas a temprana edad y las potenciales repercusiones que éstas podrían ocasionar en el bienestar de los adolescentes.³²

Según los reportes de la literatura sobre las saponinas aisladas de *Mollugo pentaphylla* y de *Madhuca latifolia*, plantas provenientes de otro continente a las que se les atribuye actividad espermicida²⁷ y los resultados propios del grupo se evaluó el efecto espermicida *in vitro* de plantas como maracuyá,³³ piña,³⁴ jaboncillo,²⁷ caléndula, toronjil y eneldo,²⁶ las cuales presentan entre sus metabolitos saponinas, sustancias anfipáticas con capacidad de disolver la membrana lipídica de los espermatozoides y después de identificar que el tipo de núcleo presente en la aglicona de la saponina influye en la actividad espermicida de las plantas, donde se encontró que aquellas que poseen núcleo triterpénico presentan un mejor comportamiento como espermicidas,²⁶ surge la necesidad de crear una formulación que pueda ser útil en anticoncepción.

Sin embargo, para poner a disposición del mercado estos extractos, se hace necesario un vehículo con condiciones idóneas de osmolaridad, concentración y pH, que garantice que la actividad del extracto no sea modificada.³⁵ Además, de disminuir el efecto citotóxico sobre el epitelio vaginal de las preparaciones comerciales; esto debido a que la vagina ha sido usada como una ruta para la administración de fármacos, usual con el propósito de obtener un efecto farmacológico local, con ventajas como evitar el metabolismo de primer paso y reducir la incidencia y severidad de los efectos gastrointestinales.³⁶

Existe una amplia variedad de formas farmacéuticas que utilizan la vía vaginal como ruta de administración, entre los que encontramos a los geles, que presentan ventajas sobre los otros sistemas de administración vaginal tales como mayor biodisponibilidad, seguridad, versatilidad y ahorro.³⁷ Éstos son sistemas semisólidos de suspensiones preparadas con pequeñas partículas inorgánicas o con grandes moléculas orgánicas interpenetradas por un líquido. Las bases de geles están compuestas por: gelificante, agente humectante, medio de dispersión, conservante, colorante.³⁷ Las preparaciones farmacéuticas tipo gel, son además, de mayor preferencia entre las mujeres³⁸ y esto se puede atribuir a las propiedades lubricantes que poseen, las cuales pueden ser percibidas durante las relaciones sexuales.³⁶

Previo a la elaboración del gel como preparado farmacéutico vehículo, se realizó evaluación del efecto espermicida de los extractos de cada planta, con la finalidad de poder atribuirle la actividad espermicida a los extractos polares y no a la formulación. Sin embargo; el vehículo empleado para el estudio demostró efecto espermioestático y sólo su combinación con el extracto de clavel logró convertirlo en espermicida. En cuanto al gel con extracto de jaboncillo, los resultados muestran una potenciación de la actividad espermicida del extracto al ser mezclado con la matriz del gel. Con respecto a la movilidad, la viscosidad propia del gel puede generar un ambiente poco apto para el desplazamiento de los espermatozoides, con lo cual podemos inferir el efecto espermioestático que éste preparado farmacéutico presentó. De otro lado, la evaluación de la actividad citotóxica en la línea celular

HeLa evidenció que a las 6 h de exposición los diferentes estímulos empleados reducen la viabilidad celular, pero que luego de las 12 y 24 h, éstas células proliferan de nuevo e incluso el extracto de clavel, potencia la viabilidad a las 24 h de incubación superando el 100 % del control positivo. El resultado sugiere que contrario al uso de espermicidas de venta comercial que requieren ser eliminados de la vagina luego de pasadas 6 h, el preparado farmacéutico elaborado podría permanecer dentro de la misma sin generar ningún tipo de efecto adverso.

Aunque falta verificar si los efectos de las plantas a las cuales no se les realizó preparación farmacéutica se potencian al estar incluidos en este tipo de preparados farmacéuticos; es de recalcar que la idea de proponer extractos de plantas como métodos de planificación familiar contribuye a la caracterización de la flora otorgándole nuevas propiedades. Además, de impulsar el conocimiento acerca de los valores medicinales de las plantas, que ha sido objeto de estudio de casi todas las sociedades de la tierra,³⁹ y en la cual entre el 70-80 % de la población mundial confía para el cuidado primario de la salud, debido a la seguridad y familiaridad que ofrecen.⁴⁰ Las plantas elegidas en esta investigación se han empleado en la medicina tradicional, por ejemplo: *el limoncillo* se ha usado como antiespasmódico, en el tratamiento de las úlceras y para tratar afecciones gastrointestinales como la diarrea, la disentería y el vómito; y respiratorias como el asma y la bronquitis.⁴¹ *La uchuva* se ha practicado para aliviar problemas de garganta, fortificar el nervio óptico y en el tratamiento contra las amebiasis.⁴² *El momoncillo* se ha empleado en infusiones para calmar las afecciones intestinales.⁴³

Podemos concluir que los espermicidas a base de plantas como en este caso a base de clave, son una interesante alternativa al problema de la anticoncepción. El clavel demostró inmovilizar e incluso matar a los espermatozoides humanos sin afectar el epitelio vaginal.

Se espera que este tipo de investigaciones intervenga en la problemática actual del embarazo no deseado en adolescentes, el cual parece ir en aumento pese a la existencia de una amplia gama de métodos anticonceptivos, para los cuales se reporta poco uso por la falta de acceso o miedo a efectos secundarios.

AGRADECIMIENTOS

A la Estrategia de Sostenibilidad 2013/2014 de la Universidad de Antioquia y a Colciencias (proyecto 111556933373).

APOYO FINANCIERO

Estrategia de Sostenibilidad 2014/2015 de la Universidad de Antioquia y Colciencias (proyecto 111556933373).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. No todos los embarazos son causa de alegría;2005.
2. Flórez CE. Factores socioeconómicos y contextuales que determinan la actividad reproductiva de las adolescentes en Colombia. Revista Panamericana de Salud Pública. 2005;18(6):388-402.

3. El Espectador. Alarma en Colombia por aumento de embarazos en adolescentes. 2012 [citado 12 Jun 2012]. Disponible en: <http://www.elespectador.com/noticias/politica/articulo-377179-alarma-colombia-aumento-de-embarazos-adolescentes>.
4. Torres P, Walker D, Gutiérrez J, Bertozzi S. Estrategias novedosas de prevención de embarazo e ITS/VIH/sida entre adolescentes escolarizados mexicanos. *Salud Pública de México*. 2006;48(4):308-16.
5. Álvarez Gómez AM, Cardona Maya WD, Castro Álvarez JF, Jiménez S, Cadavid A. Nuevas opciones en anticoncepción: posible uso espermicida de plantas colombianas. *Actas Urológicas Españolas*. 2007;31(4):372-81.
6. García O. 210 millones de embarazos no deseados en el mundo (OMS). 2012 [cited 10 agos 2012]. Disponible en: <http://www.infored.com.mx/a/210-millones-de-embarazos-no-deseados-en-el-mundo--oms-.html>.
7. Singh KK, Parmar S, Tatke PA. Contraceptive efficacy and safety of HerbOshield vaginal gel in rats. *Contraception*. 2012;85(1):122-7.
8. Gupta G. Microbicidal spermicide or spermicidal microbicide? *The European Journal of Contraception & Reproductive Health Care*. 2005;10(4):212-8.
9. Hillier SL, Moench T, Shattock R, Black R, Reichelderfer P, Veronese F. *In vitro* and *in vivo*: the story of nonoxynol 9. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. 2005;39(1):1-8.
10. 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.
11. Jain RK, Jain A, Kumar R, Verma V, Maikhuri JP, Sharma VL, et al. Functional attenuation of human sperm by novel, non-surfactant spermicides: precise targeting of membrane physiology without affecting structure. *Human Reproduction*. 2010;25(5):1165-76.
12. Grimes D, López I, Raymond E, Halpern V, Nanda K, Schulz K, et al. Uso de espermicida solo para anticoncepción. 2008 [citado 12 de Dic 2013]. Disponible en: <http://www.update-software.com/pdf/CD005218.pdf>
13. Ospina L, Cardona Maya W. Espermicida y espermiostático: ¿hacen referencia a lo mismo? *Revista Chilena de Obstetricia y Ginecología*. 2013;78(4):325-8.
14. Lech MM. Spermicides 2002: an overview. *Eur J Contracep Repr*. 2002;7(3):173-7.
15. Yadav S, Gaur L, Gupta N, Roy M, Saxena N. Nonoxynol-9 vaginal pessary: a preliminary Indian experience. *The National Medical Journal of India*. 2006;19(3):133-6.
16. Wilkinson D, Ramjee G, Tholandi M, Rutherford G. Nonoxynol-9 for preventing vaginal acquisition of HIV infection by women from men. *Cochrane Database of systematic reviews*. 2002(4):CD003936.
17. Van Damme L, Ramjee G, Alary M, Vuylsteke B, Chandeying V, Rees H, et al. Effectiveness of COL-1492, a nonoxynol-9 vaginal gel, on HIV-1 transmission in female sex workers: a randomised controlled trial. *Lancet*. 2002;360(9338):971-7.

18. Baptista M, Ramalho-Santos J. Spermicides, microbicides and antiviral agents: recent advances in the development of novel multi-functional compounds. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 2009;9(13):1556-67.
19. Halpern V, Rountree W, Raymond EG, Law M. The effects of spermicides containing nonoxynol-9 on cervical cytology. *Contraception*. 2008;77(3):191-4.
20. World Health Organization. *Laboratory manual for the examination and processing of human semen* 5th ed. Geneva: WHO Press; 2010.
21. Cardona-Maya W, Berdugo J, Cadavid A. Comparación de la concentración espermática usando la cámara de Makler y la cámara de Neubauer. *Actas Urológicas Españolas*. 2008;32(4):443-5.
22. Sadeghi-Aliabadi H, Ghasemi N, Kohi M. Cytotoxic effect of *Convolvus arvensis* extracts on human cancerous cell line. *Research in Pharmaceutical Sciences*. 2008;3(8):31-4.
23. Álvarez Gómez A, Cardona Maya W, Castro Álvarez J, Jiménez S, Cadavid A. Nuevas opciones en anticoncepción: posible uso espermicida de plantas colombianas. *Actas Urológicas Españolas*. 2007;31(4):372-81.
24. Álvarez Gómez A, Cardona Maya W, Forero J, Cadavid A. Human Spermicidal Activity of *Passiflora edulis* Extract. *Journal of Reproduction*. 2010;21(2):95-100.
25. Gallego G, Henao D, Ospina L, Álvarez Gómez A, Arango V, Cardona Maya W, et al. Evaluación del efecto de cinco extractos de plantas colombianas sobre espermatozoides humanos. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2012;17(1):84-92.
26. Puerta Suárez J, Cardona Duque D, Álvarez Gómez A, Arango V, Cadavid A, Cardona Maya W, et al. Efecto del extracto de *Anethum graveolens*, *Melissa officinalis* y *Calendula officinalis* sobre espermatozoides humanos. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2012;17(4):420-30.
27. Ospina L, Álvarez Gómez A, Arango V, Cadavid A, Cardona Maya W. Evaluación de la actividad espermicida y citotóxica del extracto de la planta jaboncillo (*Sapindus saponaria*). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2013;18(2).
28. Sparg SG, Light ME, van Staden J. Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004;94(2-3):219-43.
29. Rajasekaran M, Nair A, Hellstrom W, Sikka S. Spermicidal activity of an antifungal saponin obtained from the tropical herb *Mollugo pentaphylla*. *Contraception*. 1993;47(4):401-12.
30. Saha P, Majumdar S, Pal D, Pal BC, Kabir SN. Evaluation of spermicidal activity of MI-saponin A. *Reproductive Sciences*. 2010;17(5):454-64.
31. Ospina L, Alvarez-Gomez A, Cadavid A, Cardona-Maya W. ¿Qué saben los hombres del valle de Aburrá acerca de la salud reproductiva? *IATREIA*. 2012;25(2):120-6.
32. González J. Conocimientos, Actitudes y Prácticas sobre la Sexualidad en una Población Adolescente Escolar. *Revista de Salud Pública*. 2009;11(1):14-26.
33. Alvarez-Gómez A, Cardona-Maya W, Forero J, Cadavid A. Human Spermicidal Activity of *Passiflora edulis* Extract. *Journal of Reproduction and Contraception*. 2010;21(2):95-100.

34. Uribe Clavijo M, Álvarez Gómez Á, Arango V, Cortés Mancera F, Cadavid Jaramillo A, Cardona Maya W, et al. Efecto in vitro del extracto vegetal de Ananas comosus sobre espermatozoides humanos. *Tecnológicas*. 2012;(28):55-70.
35. Dezzutti C, Brown E, Moncla B, Russo J, Cost M, Wang L, et al. Is Wetter Better? An Evaluation of Over-the-Counter Personal Lubricants for Safety and Anti-HIV-1 Activity. *PLoS ONE*. 2012;7(11):e48328.
36. Neves J, Bahia M. Gels as vaginal drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006:1-4.
37. Archbold Joseph R, Holguín G. Manual del laboratorio de Farmacotecnia 2. Universidad de Antioquia; 2007.
38. Coggins C, Blanchard K, Alvarez F, Brache V, Weisberg E, Kilmarx PH, et al. Preliminary safety and acceptability of a carrageenan gel for possible use as a vaginal microbicide. *Sexually Transmitted Infections*. 2000;76(6):480-3.
39. Marwat S, Rehman F, Khan M, Ahmad M, Zafar M, Ghulam S. Medicinal folk recipes used as traditional phytotherapies in district Dera Ismail Khan, KPK, Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*. 2011;43(3):1453-62.
40. Ogbuewu IP, Unamba Oparah IC, Odoemenam VU, Etuk IF, Okoli IC. The potentiality of medicinal plants as the source of new contraceptive principles in males. *North American Journal of Medical Sciences*. 2011;3(6):255-63.
41. Adeneye AA, Agbaje EO. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of fresh leaf aqueous extract of *Cymbopogon citratus* Stapf. in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007;112(3):440-4.
42. Arun M, Asha VV. Preliminary studies on antihepatotoxic effect of *Physalis peruviana* Linn. (Solanaceae) against carbon tetrachloride induced acute liver injury in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2007;111(1):110-4.
43. López Sáez J, Pérez Soto J. Etnobotánica medicinal y parasitosis intestinales en la isla de Ometepe, Nicaragua. *Polibotánica*. 2010;30:137-61

Recibido: 24 de abril de 2014.
Aprobado: 9 de marzo de 2015.

Walter Cardona Maya. Calle 52 # 6130, Laboratorio 534. Grupo Reproducción, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.
Teléfono: 57 4 2196476.
Correos electrónico: wdario.cardona@udea.edu.co; wdcmaya@gmail.com