

EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES BIOACTIVAS FRENTE A *HELICOBACTER PYLORI* DE UN EXTRACTO DE *ACHILLEA MILLEFOLIUM* L. Y SUS FRACCIONES OBTENIDAS POR FRACCIONAMIENTO SUPERCRÍTICO ANTISOLVENTE

Silván J.M.¹, Villalva M.¹, Alarcón-Cavero T.², Martínez-Rodríguez A.J.¹

1 Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL, CSIC-UAM), Departamento de Biotecnología y Microbiología de Alimentos, Grupo MICROBIO. C/ Nicolás Cabrera 9, Campus de Cantoblanco, 28049, Madrid.

2 Hospital Universitario de la Princesa, Departamento de Microbiología. C/ Diego de León 62, 28006, Madrid.

jm.silvan@csic.es

Achillea millefolium L., conocida tradicionalmente como milenrama, es una planta medicinal que se utiliza principalmente en Europa para el tratamiento de diversos problemas de salud. Debido a los conocidos beneficios de esta planta, el estudio de su composición y de sus actividades biológicas ha despertado un creciente interés en las industrias farmacéutica y alimentaria. Entre sus principales efectos beneficiosos para la salud destacan sus propiedades anti-inflamatorias, antioxidantes, antibacterianas, antitumorales y antidiabéticas [1]. Siendo sus principales compuestos bioactivos los compuestos fenólicos y los terpenos [2].

Helicobacter pylori (*H. pylori*) es uno de los principales patógenos humanos que se estima afecta al 50% de la población mundial [3]. La infección por *H. pylori* puede causar diversas enfermedades a nivel gástrico, que van desde la gastritis crónica, úlcera péptica, e incluso en fases muy avanzadas puede derivar en cáncer gástrico. Su tratamiento se basa en una terapia combinada de al menos dos antibióticos diferentes. Sin embargo, en los últimos años se han incrementado significativamente las cepas de *H. pylori* resistentes a los tratamientos con antibióticos [4], por lo que

es necesario buscar nuevas alternativas sostenibles para su tratamiento.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial efecto antibacteriano, anti-inflamatorio y antioxidante de un extracto de milenrama (YE) y de sus fracciones insoluble (YPF) y soluble (YSF) obtenidas por fraccionamiento supercrítico anti-solvente frente a tres cepas de *H. pylori*.

Como se observa en la Tabla 1, todas las muestras redujeron significativamente ($p < 0,05$) el crecimiento bacteriano de las tres cepas de *H. pylori* utilizadas en el estudio.

	Control	YE	YPF	YSF
<i>Hp48</i>	8,5 ± 0,3 ^c	<1,5 ^a	5,6 ± 0,7 ^b	<1,5 ^a
<i>Hp53</i>	8,4 ± 1,6 ^d	3,6 ± 0,5 ^b	6,3 ± 0,3 ^c	<1,5 ^a
<i>Hp59</i>	8,9 ± 0,9 ^d	2,1 ± 0,2 ^b	6,6 ± 0,6 ^c	<1,5 ^a

Tabla1: Actividad antibacteriana del extracto de milenrama (YE) y sus fracciones (YPF y YSF) (0,4 mg/mL) frente a *H. pylori* tras 48h de tratamiento. Los resultados se expresan como log UFC/mL ± DS (n=3). ^{a,b,c,d} Valores de una misma fila marcados con diferentes letras indican diferencias significativas (ANOVA) ($p < 0,05$). *Límite de detección 1,5 log UFC/mL.

El extracto YE, constituido principalmente por flavonoides y ácidos fenólicos, fue bactericida para una de las cepas utilizadas

(Hp48). La fracción YPF, enriquecida en compuestos fenólicos, mostró una moderada actividad antibacteriana reduciendo hasta en 2,9 unidades log UFC/mL el crecimiento bacteriano. Sin embargo, la fracción YSF, constituida principalmente por terpenos, resultó ser la muestra con mayor actividad antibacteriana mostrando capacidad bactericida frente a las tres cepas de *H. pylori* estudiadas.

Las tres cepas de *H. pylori* estimularon la producción de citoquina IL-8 en las células gástricas (control) tras su infección (Figura 1). Sin embargo, tanto el extracto de milenrama (YE), como sus fracciones (YPF y YSF), inhibieron significativamente ($p < 0,05$) la producción de IL-8, independientemente de la cepa infectiva utilizada, alcanzando porcentajes de inhibición en un rango entre 53-68%. Las fracciones YPF e YSF, mostraron mejores potenciales anti-inflamatorios que el extracto original de milenrama para cada una de las cepas de *H. pylori*.

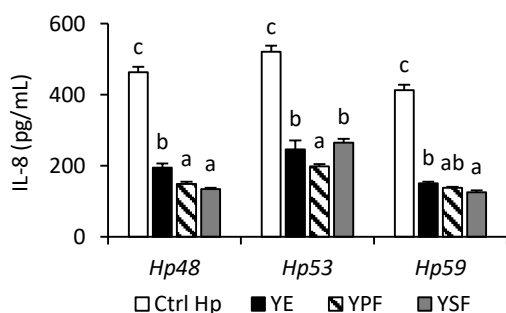


Figura1: Efecto del extracto de milenrama (YE) y sus fracciones (YPF y YSF) (0,08 mg/mL; pretratamiento 2h) en la producción de IL-8 en células gástricas infectadas por *H. pylori* (24h). Los resultados se expresan en pg/mL de IL-8 (media \pm DS) (n=3). El control muestra la producción de IL-8 en células gástricas infectadas sin extractos. ^{a,b,c} Barras marcadas con diferentes letras indican diferencias significativas (ANOVA) ($p < 0,05$).

Por último, en cuanto a la actividad antioxidante (Figura 2), la muestra YE y la fracción YPF inhibieron significativamente ($p < 0,05$) la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) en un rango entre 16-40%, independientemente de la cepa infectiva de *H. pylori* utilizada. Cabe destacar que la fracción YPF, enriquecida en compuestos

fenólicos, fue la que mostró los mejores potenciales antioxidantes, reduciendo en un 40% la producción de ROS independientemente de la cepa de *H. pylori* infectiva. Sin embargo, la fracción YSF, solo mostró actividad antioxidante durante la infección celular con la cepa Hp48.

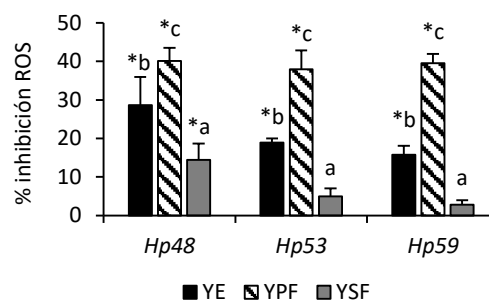


Figura2: Efecto del extracto de milenrama (YE) y sus fracciones (YPF y YSF) (0,08 mg/mL; pretratamiento 2h) en la producción de ROS intracelular en células gástricas infectadas por *H. pylori* (3h). Los resultados se expresan como % de inhibición en la producción de ROS (media \pm DS) (n=3). *Barras marcadas con asterisco indican diferencias significativas en comparación con el control celular infectado (*t*-test) ($p < 0,05$). ^{a,b,c} Barras marcadas con diferentes letras indican diferencias significativas entre las muestras para una misma cepa (ANOVA) ($p < 0,05$).

Estos resultados demuestran la potencial eficacia del uso de extractos procedentes de milenrama frente a *H. pylori*, contribuyendo así al desarrollo y obtención de nuevas estrategias para el control de este patógeno humano.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue desarrollada en el marco del proyecto HELIFOOD (AGL2017-89566-R) financiado por el MINECO.

REFERENCIAS

- [1] S. Dall'Acqua, C. Bolegob, A. Cignarellab, R.M. Gaionb, G. Innocentia. *Phytomedicine*, **2011**, *18*, 1031-1036.
- [2] M. Villalva, L. Jaime, D. Villanueva-Bermejo, B. Lara, T. Fornari, G. Reglero, S. Santoyo. *Food Res. Int.* **2019**, *115*, 128-134.
- [3] J.G. Kusters, A.H.M. van Vliet, E.J. Kuipers. *Clin. Microbiol. Rev.* **2006**, *19*, 449-490.
- [4] A. Savoldi, E. Carrara, D.Y. Graham, M. Conti, E. Tacconelli. *Gastroenterology*, **2018**, *155*, 1372-1382.