

FIGURA 1. Guayaba (*Psidium guajava*). Foto: B. Vanaclocha

# Propiedades anti-*Helicobacter pylori* de los extractos de *Psidium guajava* y *Coptis chinensis*

Xavier Lozoya <sup>a</sup>

Juan Agüero Agüero <sup>a</sup>

Maricela Gascón Muro <sup>a</sup>

Javier Torres <sup>b</sup>

Margarita Camorlinga <sup>b</sup>

Flor E. Vázquez Jimenez <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Phytomedicamenta S.A. de C.V.  
México D.F.

<sup>b</sup> Unidad de Investigación en  
Enfermedades Infecciosas del  
Hospital de Pediatría, del Centro  
Médico Nacional Siglo XXI, del  
Instituto Mexicano del Seguro Social  
(IMSS), México D.F.

Dirección de contacto:

Xavier Lozoya  
Phytomedicamenta S.A. de C.V.  
Calle Isla 31, Col. Los Alpes,  
Del. Álvaro Obregón, C.P. 01710  
México D.F., México.  
xlozoya@phytomedicamenta.com

## Resumen

Se postula y fundamenta la utilidad de una mezcla de extractos de plantas medicinales con propiedades sinérgicas compuesta por *Psidium guajava* L. estandarizado en su contenido de heterósidos flavónicos y *Coptis chinensis* Franch., estandarizado en su contenido de alcaloides benzofenantridínicos, para el desarrollo de un fitomedicamento útil para el tratamiento y prevención de la gastritis crónica provocada por *Helicobacter pylori*. El estudio explora el potencial que tiene la mezcla para inhibir el crecimiento *in vitro* de diversas cepas clínicas de *H. pylori* resistentes a los antibióticos convencionales, así como, su acción protectora del epitelio gástrico, al impedir la adherencia de la bacteria a las células AGS en cultivo.

## Palabras clave

*Psidium guajava*, *Coptis chinensis*, *Helicobacter pylori*, equibióticos, resistencia a antibióticos.

## Atividade anti-*Helicobacter pylori* de extratos de *Psidium guajava* e *Coptis chinensis*

### Resumo

Descreve-se e fundamenta-se a utilidade de uma associação de extratos de plantas medicinais com propriedades sinérgicas composta por *Psidium guajava* L., extracto padronizado em glicósidos flavónicos e *Coptis chinensis* Franch, extracto padronizado em alcalóides benzofenantridínicos, para o desenvolvimento de um medicamento à base de plantas para o tratamento e prevenção da gastrite crónica provocada por *Helicobacter pylori*. O estudo explora o potencial que tem esta associação para inibir o crescimento *in vitro* de diversas estirpes clínicas de *H. pylori* resistentes aos antibióticos convencionais, assim como, a sua acção protectora do epitélio gástrico, ao impedir a aderência das bactérias às culturas celulares de AGS.

### Palavras-chave

*Psidium guajava*, *Coptis chinensis*, *Helicobacter pylori*, equibióticos, resistência a antibióticos.

## Anti-*Helicobacter pylori* activity of extracts of *Psidium guajava* and *Coptis chinensis*

### Abstract

It is described the synergistic properties of a mixture of *Psidium guajava* L., extract standardized in its content of flavone glycosides and *Coptis chinensis* Franch, extract standardized in its content of benzofenantridinic alkaloids, for developing a phytodrug for the treatment and prevention of chronic gastritis induced by *Helicobacter pylori*. The study explores the properties of this combination of extracts by inhibiting *in vitro* growth of antibiotic-resistant clinical *H. pylori* strains and preventing adherence of the bacteria to human AGS cell cultures.

### Keywords

*Psidium guajava*, *Coptis chinensis*, *Helicobacter pylori*, equibiotics, antibiotic resistant strains.

## Introducción

Ahora es ampliamente reconocida la relación de convivencia funcional que existe entre las células del cuerpo humano y los microbios del entorno. La evidencia sobre la presencia permanente de millones de microorganismos en el cuerpo de cada ser humano se obtuvo a partir de la investigación del genoma y dio paso a la definición del *microbioma humano*: conjunto de microorganismos que viven permanentemente en el cuerpo de todo individuo sano. La elevada concentración de microbios que utilizan al cuerpo humano como hábitat se presenta, fundamentalmente, en los tejidos que tienen contacto con la atmósfera, como son: la piel, las mucosas del tracto digestivo; las nasales, las de la tráquea y los bronquios en el aparato respiratorio, y las del aparato urogenital. En estos sitios de contacto del tejido humano con el entorno, se alojan millones de colonias de diversas especies de microbios que forman 'ecosistemas' o 'microbiotas' que resultan indispensables para el funcionamiento de dichos tejidos. La participación de la microbiota en el huésped humano se requiere, por ejemplo, en el tracto digestivo, para la adecuada transformación de los nutrientes, la apropiada adquisición de energía a partir de procesos de fermentación bacteriana, la regulación de los procesos anti-oxidativos y la activación y organización de defensas inmunológicas locales.<sup>(1,2)</sup>

Durante el siglo pasado, y de acuerdo con la visión médica

que se tenía entonces sobre la presencia microbiana en el cuerpo humano, el análisis de la relación entre ambos puso énfasis en los efectos nocivos que algunas especies causaban en el huésped. Por tal motivo, la terapéutica consistió en la aniquilación de los grupos patogénicos mediante el uso de antibióticos y antisépticos. Esta estrategia, que permitió el control de enfermedades infecciosas históricamente catastróficas, a la postre resultó contraproducente, ya que el uso indiscriminado de los antibióticos, pasado el tiempo, provocó la reaparición de procesos infecciosos que ya habían sido controlados, debido tanto a la capacidad de los microorganismos patogénicos de generar resistencia ante ellos, así como a la alteración del equilibrio formativo de las microbiotas normales. Esto último indujo la aparición de condiciones de inmunodeficiencia y de disfunción en la piel y en los aparatos digestivo, respiratorio y genitourinario del huésped y el acaecimiento de alteraciones genéticas en diversas cepas microbianas antes no patogénicas cuyas consecuencias no son, aún, del todo conocidas.<sup>(3,4)</sup>

Actualmente se busca la forma de evitar y resolver las infecciones más comunes con medicamentos que no alteren el microbioma humano. En este sentido, han surgido nuevos productos obtenidos de plantas medicinales denominados genéricamente *fitomedicamentos*, *medicamentos herbolarios* o *fitoterápicos*, dependiendo del léxico

y la normatividad sanitaria aplicada en cada país. Estos productos son desarrollados a partir de plantas con amplio uso en países de Oriente y Occidente, principalmente de aquéllos cuyas culturas son tradicionalmente herbolarias y de ancestral historia. En estos productos herbolarios modernizados, el fármaco o componente medicinal de la formulación farmacéutica es el extracto vegetal completo, estandarizado en su contenido de compuestos bioactivos, para lograr su control químico y precisar la dosificación adecuada al momento de producir los medicamentos. Algunos fitoterápicos se han convertido en fármacos para el tratamiento de algunos padecimientos infecciosos comunes debido a su amplia seguridad y comprobada eficacia clínica <sup>(5, 6)</sup>. Nuestro grupo se ha dedicado a la búsqueda de extractos de plantas con propiedades equibióticas, es decir, aquéllos con capacidad para equilibrar los ecosistemas alterados sin provocar efectos bactericidas generales sobre la microbiota <sup>(7)</sup>.

*Helicobacter pylori* es una bacteria que se encuentra habitualmente en la mucosa gástrica, la saliva, la placa dental y en las heces fecales, lo que confirma su pertenencia a la microbiota del tracto digestivo. Se estima que 70% de la población mundial es portadora asintomática de *Helicobacter pylori* pero se desconocen los factores que provocan su transformación en una entidad altamente patogénica. *H. pylori*, al adherirse al epitelio gástrico, replicarse y persistir en el ambiente ácido del estómago, desarrolla un proceso de colonización que provoca la inflamación del epitelio gástrico que, con el tiempo, se convierte en gastritis crónica ulcerativa. Se ha demostrado una estrecha relación entre esta gastritis crónica atrófica y el adenocarcinoma gástrico <sup>(8-10)</sup>.

Desde el descubrimiento de esta bacteria y su asociación con la gastritis se han empleado combinaciones de fármacos para erradicarla del estómago; en general, se aplica una terapia que incluye: antagonistas de histamina en receptores  $H_2$  (ranitidina y cimetidina), inhibidores de la bomba de protones (omeprazol) y antibióticos (metronidazol, amoxicilina y claritromicina). Este abordaje de la infección ha topado con importantes límites ya que estos medicamentos modifican la acidez del jugo gástrico y reducen la capacidad defensiva ante otros microorganismos. Ello, sumado a la creciente resistencia de las bacterias a los antibióticos, compromete la eficacia del tratamiento <sup>(11-13)</sup>.

Por todo lo anterior, se ha intensificado la búsqueda de recursos de tipo fitofarmacéutico que puedan contribuir a

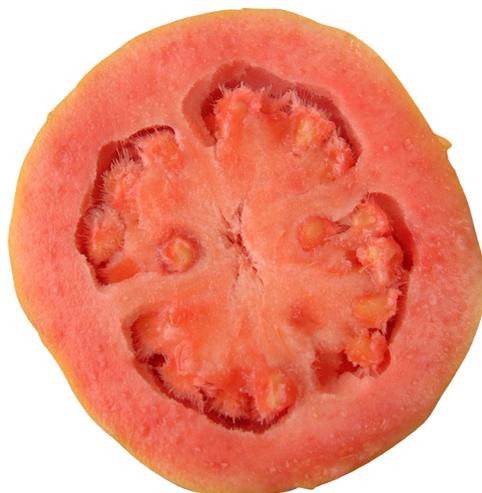


FIGURA 2. Fruto de guayaba. Foto: S. Cañigueral.

un mejor tratamiento y prevención de la gastritis por *H. pylori*.

En el presente trabajo se describen los resultados obtenidos del estudio de las propiedades de una mezcla de extractos de plantas medicinales con efecto inhibitor del crecimiento de cepas patogénicas de *Helicobacter pylori* resistentes a los antibióticos convencionales y con acción protectora de las células del epitelio gástrico humano evitando la adherencia de la bacteria. Se postula y fundamenta la utilidad de la mezcla para el desarrollo de un fitomedicamento para el tratamiento y prevención de la gastritis provocada por esta bacteria.

## Materiales y métodos

### Extractos vegetales

Se utilizó un extracto hidroglicólico obtenido de las hojas de *Psidium guajava* L., estandarizado en su contenido de glicósidos flavónicos y otro, seco, obtenido de las raíces de *Coptis chinensis* Franch., y estandarizado en su contenido de alcaloides benzofenantridínicos. Para la obtención del extracto de *Psidium guajava* (L.) la droga vegetal se sometió a un proceso de maceración en una mezcla hidroglicólica (propilenglicol/agua) durante 2 semanas; al finalizar el período de extracción la mezcla se filtró y se envasó en recipientes herméticos y de color opaco para ser sometido a estandarización en su contenido de

glicosilbenzocromonas a una concentración de 0,13% (p/v), valoradas como quercetina. Para la obtención del extracto de *Coptis chinensis* la droga vegetal se sometió a maceración hidroalcohólica (agua/etanol) durante 15 días; una vez finalizada la maceración, el sobrenadante se filtró, se evaporó totalmente el disolvente para obtener un extracto seco, el cual se estandarizó en su contenido de benzofenandridinas, valoradas al 6% (p/p) de berberina. La relación droga/extracto fue de 3:1 para el caso de *Psidium* y de 5:1 para el caso de *Coptis*. Para las pruebas biológicas, los extractos fueron disueltos en dimetilsulfóxido (DMSO), centrifugados y filtrados (0,22  $\mu\text{m}$ ) para garantizar su esterilidad; los ensayos fueron realizados con cada uno de los extractos por separado y con sus respectivas combinaciones en diferentes proporciones.

#### Obtención de cepas de *H. pylori*

Se utilizaron cepas de *H. pylori* aisladas de pacientes con gastritis crónica y cáncer gástrico. Todas las cepas se obtuvieron de biopsias gástricas practicadas con anterioridad a adultos sometidos a endoscopia diagnóstica por indicación médica. Pequeñas porciones de la mucosa gástrica obtenida de las biopsias fueron homogenizadas e inoculadas en placas de agar con sangre de carnero al 10% e incubadas a 37°C en atmósfera de CO<sub>2</sub> a 9% durante 48 h; las colonias de *H. pylori* que se desarrollaron se identificaron por su morfología y el resultado de las pruebas bioquímicas de ureasa, catalasa y oxidasa; las cepas cosechadas se conservaron en tubos de vidrio conteniendo 1 mL del medio F-12 (GIBCO).

Se utilizaron las cepas aquí identificadas como: 2004-203; 2006-702; 2006-677; 2006-808; 2006-697 y 2011-130, para evaluar el efecto de los extractos sobre el crecimiento de cultivos *in vitro*.

Para los ensayos de interferencia de los mismos extractos con el proceso de adherencia de *H. pylori* en las células epiteliales gástricas (AGS) mantenidas en cultivo, se utilizaron la cepa 2011-147 aislada de un paciente con gastritis crónica, la cual muestra un patrón preferente de adherencia celular localizada y la 2010-2 aislada de un paciente con cáncer gástrico, caracterizada por un patrón de adherencia celular difusa.

#### Cultivo de células AGS

Para los ensayos de adherencia se utilizó la línea celular de epitelio gástrico AGS (Adenocarcinoma Gástrico Epitelial ATCC CRL-1739) que se propagó en botellas de 25 cm<sup>2</sup> con medio F-12 (GIBCO), agregando 10% de suero fetal bovino (SFB) e incubando durante 48 h a 37°C con 5% de CO<sub>2</sub>,

hasta que las células alcanzaran una confluencia de 90%. Para valorar la adhesión de la bacteria en las células y los efectos de los extractos sobre el proceso, se prepararon cámaras múltiples de cultivo (Lab-Tek) en cuyos pozos se colocaron 1x10<sup>5</sup> células AGS/mL (50.000 células /500  $\mu\text{L}$  F-12-10% SFB/pozo) que se incubaron durante 18 h a 37°C en 5% CO<sub>2</sub>. En todos los experimentos con cultivo de células AGS se inocularon las cepas de *H. pylori* en una proporción de infección de 1:100 (MOI de 100) correspondiente a 1x10<sup>7</sup> bacterias/mL.

#### Susceptibilidad de las cepas a los antibióticos

Se exploró la susceptibilidad de todas las cepas clínicas de *H. pylori* a la amoxicilina, el metronidazol y la claritromicina por el método de Epsilometer test (E- test) de acuerdo a la metodología convencional. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del antibiótico fue definida por el punto de intersección de la zona inhibida del crecimiento bacteriano con la de la tira de los antibióticos probados. Los valores de corte para la susceptibilidad fueron 4  $\mu\text{g}$ /mL para amoxicilina, 8  $\mu\text{g}$ /mL para metronidazol y 2  $\mu\text{g}$ /mL para claritromicina.

#### Susceptibilidad de *H. pylori* a los extractos

La susceptibilidad de la bacteria a los extractos se midió por el método de dilución en placa con un inóculo que se ajustó con el estándar 4 de Mac Farland y que corresponde a 1200x10<sup>6</sup> UFC/mL (50  $\mu\text{L}$ ). También se realizó el cultivo combinado de varias cepas de *H. pylori* de acuerdo a la metodología de infección múltiple consistente en mezclar varias de las cepas de *H. pylori* y evaluar su comportamiento. Las placas se incubaron durante 48 horas a 37°C y 10% de CO<sub>2</sub> en el medio Muller-Hinton con 5% de sangre de carnero. A los cultivos de la bacteria se aplicaron directamente los extractos y sus mezclas en concentraciones que se iniciaron con 2,0 mg/mL hasta encontrar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), definida como la mínima concentración requerida para obtener 100% de inhibición en el desarrollo del microorganismo; todos los ensayos se realizaron por triplicado.

#### Evaluación del efecto de los extractos sobre la adherencia de *H. pylori* a células AGS en cultivo

Las células AGS en cultivo fueron inoculadas con cepas de *H. pylori* en dos condiciones diferentes:

a) Los extractos fueron añadidos a los cultivos al momento de infectar las células AGS y a continuación fueron incubados durante 6 horas a 37°C con 5% de CO<sub>2</sub>;

b) Las células AGS fueron infectadas previamente e incubadas durante 3 horas para permitir la total adherencia de las bacterias, después de lo cual se adicionaron los extractos y los cultivos fueron incubados durante 3 horas más. Al finalizar los ensayos se eliminó el medio de las cámaras de cultivo y se lavaron las células con PBS estéril; a continuación las células fueron fijadas con metanol absoluto frío, se agregó Giemsa por 15 minutos y se lavaron con PBS para eliminar el exceso del colorante. Finalmente, las células AGS se observaron en un microscopio de campo claro (Olympus BX44) a un aumento de 40x, se determinó el grado de inhibición de la adherencia (difusa y localizada), los cambios morfológicos celulares, el porcentaje de células con bacterias adheridas y se fotografiaron los cultivos. En todos los ensayos se incluyeron células AGS sin infectar como control de viabilidad, células AGS infectadas como control de adherencia y controles de los vehículos y disolventes usados.

## Resultados

Al evaluar la sensibilidad a los antibióticos comúnmente utilizados para tratar la gastritis por *H. pylori*, se encontró que todas las cepas clínicas seleccionadas fueron poco sensibles a la claritromicina y la amoxicilina y totalmente resistentes al metronidazol. En su caso, los valores CMI obtenidos resultaron altos y oscilaron entre 0,01 y 0,3mg/mL (TABLA 1).

### Sensibilidad de las cepas a los extractos

Los dos extractos aplicados por separado mostraron capacidad anti-*H. pylori* desde las primeras horas de incubación, impidiendo el crecimiento de los cultivos de todas las cepas. El extracto de *Psidium* produjo el 100%

de inhibición en los cultivos de las diferentes cepas en un rango de CMI entre 0,21 y 0,42 mg/mL; por su parte el extracto de *Coptis* inhibió 100% de los cultivos en un rango de 0,42 a 0,83 mg/mL. En forma de mezcla, las concentraciones requeridas para obtener 100% de inhibición disminuyeron notablemente. Así, en las proporciones de *Psidium* respecto a *Coptis* de 1/35 y 1/15 la Concentración Mínima Inhibitoria requerida de *Psidium* se redujo a 0,09 µg/mL, mientras que en las proporciones de *Coptis* respecto a *Psidium* de 1/50 y 1/6 la CMI obtenida fue de 0,2µg/mL. Para los dos extractos, utilizados como mezclas, se logró disminuir la Concentración Mínima Inhibitoria 2 x 10<sup>3</sup> veces, es decir, las mezclas ensayadas demostraron poseer efecto sinérgico, con un valor de Concentración Fraccional Inhibitoria (CFI) de 0,0009, muy por debajo del valor 0,5 establecido como parámetro mínimo para demostrar sinergia. La potencialización del efecto de inhibición sobre el crecimiento de las cepas fue muy alta ya que, en la práctica, el valor de la CMI se redujo de 500 a 1000 veces en comparación con la de los extractos por separado (TABLA 2).

### Inhibición de la adherencia

Los patrones de adherencia localizada para la cepa 2011-147 y de adherencia difusa para la cepa 2010-2, fueron observados según lo esperado. Todos los extractos ensayados produjeron en mayor o menor grado inhibición de la adherencia de la bacteria *H. pylori* a las células AGS. Tanto las mezclas como los extractos por separado disminuyeron la presencia de las bacterias una vez que se encontraban adheridas, pero también previnieron la adhesión a las células durante la inoculación, como se puede observar en los ejemplos de la FIGURA 2 y la TABLA 3.

Cepa de <i>H. pylori</i>	Antibiótico		
	Amoxicilina mg/mL	Metronidazol mg/mL	Clindamicina mg/mL
2004-203	0,016	R	0,016
2006-677	0,025	R	0,38
2006-808	0,016	R	0,016
2006-697	0,25	R	0,25
2006-702	0,016	R	0,32
2011-130	0,25	R	0,016

TABLA 1. Prueba de susceptibilidad de las cepas clínicas de *Helicobacter pylori* a los antibióticos convencionales. Los valores de la tabla corresponden a la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y se expresan en mg/mL. (R) resistente.

Valores de CMI de los extractos y sus mezclas						
Cepas <i>H. pylori</i>	P (mg/mL)	C (mg/mL)	Mezcla P1/C35 $\mu\text{g/mL}$	Mezcla P1/C15 $\mu\text{g/mL}$	Mezcla C1/P50 $\mu\text{g/mL}$	Mezcla C1/P6 $\mu\text{g/mL}$
2004-203	0,21	0,21	0,09/3,12	0,18/3,20	0,8/25	4,0/25
2006-702	0,42	0,42	0,09/3,12	0,18/3,20	0,8/25	4,0/25
2006-677	0,42	0,83	0,09/3,12	0,18/3,20	0,8/25	4,0/25
2006-808	0,42	0,83	0,09/3,12	0,18/3,20	0,8/25	4,0/25
2006-697	0,42	0,83	0,09/3,12	0,18/3,20	0,8/25	4,0/25
2011-130	0,21	0,42	0,09/3,12	0,18/3,20	0,8/25	4,0/25
Múltiple	0,42	0,83	0,09/3,12	0,18/3,20	0,8/25	4,0/25

TABLA 2. Inhibición del crecimiento de *Helicobacter pylori* producida por los extractos de *Psidium guajava* (P) y *Coptis chinensis* (C) y cuatro de sus correspondientes mezclas. Los valores de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se expresan en mg/mL para los extractos solos y en  $\mu\text{g/mL}$  para las mezclas.

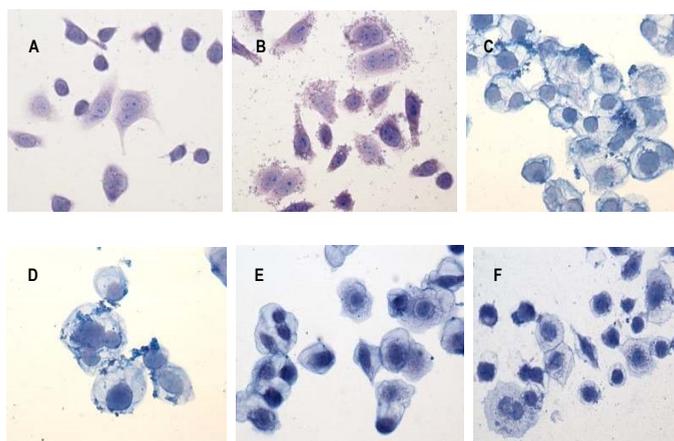


FIGURA 2. Efectos de los extractos y sus mezclas sobre la adherencia de *H. pylori* en células AGS a las 6 horas de incubación. A) Control celular AGS, B) Control de adherencia, C) Disminución de la adherencia por el extracto de *Psidium*; D) Disminución de la adherencia por el extracto de *Coptis*; E) Disminución de la adherencia por la mezcla P1/C15; F) Disminución de la adherencia por la mezcla C6/P1. Imágenes tomadas a 40 aumentos.

## Discusión

Las propiedades antimicrobianas del extracto de hojas de *Psidium guajava* sobre una amplia gama de microorganismos han sido descritas con anterioridad y se atribuyen, principalmente, a los glicósidos flavónicos (guajaverina, aviculatina, quercitrina, 3-O- $\alpha$ -L-lixopiranósil-morina y 3-O- $\alpha$ -L-arabinosil-morina). La capacidad del extracto para evitar la adherencia de algunos microbios

patogénicos como *Streptococcus mutans* ha sido también reportada y es particularmente atribuida a la guajaverina.<sup>(14-16)</sup> A los extractos de raíces de *Coptis chinensis* también se les reconocen propiedades antiinflamatorias y antimicrobianas adjudicadas a su contenido en alcaloides benzofenantridinicos (berberina y coptisina)<sup>(17-19)</sup>. La molécula de berberina que es un catión amfipático se acumula en el interior de la bacteria, provocando la

Extractos y Mezclas	Adherencia localizada		Adherencia difusa	
	Prevención (%)	Inhibición (%)	Prevención (%)	Inhibición (%)
<i>Psidium</i> (P)	60	50	50	65
<i>Coptis</i> (C)	60	55	60	60
P1/C35	80	80	75	70
P1/C15	100	95	100	90
P1/C6	97	90	95	85
C1/P50	96	70	90	80
C1/P6	95	85	93	80

TABLA 3. Efecto de los extractos de *Psidium* y *Coptis* y sus mezclas sobre la adherencia de *Helicobacter pylori* en cultivos de células AGS. Los valores se expresan en porcentaje de inhibición con relación a los controles.

formación de 5'-metoxihidrocarpina (5'-MHC), que actúa como un inhibidor de las bombas de eflujo de las bacterias, lo que explica la acción antimicrobiana de la berberina a concentraciones muy bajas<sup>(20-21)</sup>. Resulta particularmente interesante que la 5'-MHC tenga una analogía estructural con la quercetina, el principal componente de los glicósidos flavónicos del extracto de *Psidium guajava*, la otra matriz fitoquímica con propiedades antimicrobianas del presente trabajo.

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio, la mezcla de los extractos de hojas de *Psidium guajava* y de raíces de *Coptis chinensis* adquieren propiedades sinérgicas con una intensa actividad anti-*Helicobacter pylori* en dosis extremadamente bajas. El estudio del efecto de la mezcla para: inhibir el crecimiento *in vitro* de la bacteria e impedir el proceso de su adherencia a las células del epitelio gástrico, sugiere la manifestación de diversas propiedades. Por una parte, está una posible acción sobre las bombas de eflujo de la bacteria y sobre el mecanismo de comunicación inter-bacteriana que controla la expresión génica en las cepas altamente resistentes a los antibióticos (Quorum Sensing QS); de hecho, ya ha sido demostrada la capacidad anti-QS de algunos extractos de plantas medicinales con reconocidas propiedades antimicrobianas<sup>(22-24)</sup>. Por otra parte, el potencial que demostró la mezcla para frenar la adherencia de *H. pylori* a las células epiteliales del estómago, siendo éste el mecanismo básico para la formación de las biopelículas, plantea la posibilidad de que la mezcla de extractos aquí estudiada pueda tener una aplicación preventiva en el proceso de colonización infecciosa. Estudios ulteriores

ampliarán la comprensión del mecanismo de acción involucrado por la combinación de los distintos principios activos presentes en la mezcla de extractos descrita.

Finalmente, la eficaz sinergia que ofrece la combinación de estos dos extractos en concentraciones sumamente bajas resulta un dato atractivo para el diseño de un fitomedicamento que pueda ser sometido a una ulterior evaluación de su seguridad y eficacia en la clínica de la gastritis crónica.

#### Referencias bibliográficas

1. Patrick R. Murray, Ken S. Rosenthal, Michael A. Pfaller. El Microbioma humano. En: Microbiología Médica. 2009, Elsevier-Mosby, España, pp. 73-76.
2. Kumate J, Gutiérrez G, Muñoz O, et al. Microbiota normal. En: Infectología Clínica. 2009, Méndez Editores, México, pp. 13-21.
3. Brooks Geo F, Carroll Karen C, Butel Janet S, et al. La microflora normal del cuerpo humano. En: Microbiología médica. 2011, McGraw-Hill-Lange, Estados Unidos, pp. 159-164.
4. Frank DN, Pace NR. Gastrointestinal microbiology enters the metagenomics era. Curr Opin Gastroenterol 2012 ; 24 (1): 4-10.
5. Mahady G.B. medicinal plants for the prevention and treatment of bacterial infections. Current Pharmaceutical Design, 2005; 11:2405-2427.
6. Savoia Dianella. Plant derived antimicrobial compounds: alternatives to antibiotics. Future Microbiology 2012; 7(8): 979-990.
7. Lozoya X, Gascón-Muro M, Agüero Agüero J, Rivera-Arce E, Faci P. Los equibioticos: ni combate ni resistencia. Revista de Fitoterapia 2012; 12 (2):145-148.
8. Kusters JG, Van Vliet AHM, Kuipers EJ. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* Infection. Clin Microbiol Rev 2006; 19 (3): 449-490.

9. Clyne M, Dolan B, Reeves EP. Bacterial factors that mediate colonization of the stomach and virulence of *Helicobacter pylori*. *FEMS Microbiol Lett* 2007; 268:135-143.
10. Ernst PB, Gold BD. The disease spectrum of *Helicobacter pylori*: the immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. *Annu Rev Microbiol* 2000; 54:615-640.
11. Megraud F, Coenen S, Versporten A, Kist M, Lopez-Brea M, Hirschl AM, Andersen LP, Goossens H, Glupczynski Y. *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics in Europe and its relationship to antibiotic consumption. *Gut* 2013; 62 (1):34-42.
12. Torres J, Carmorlinga-Ponce M, Pérez-Pérez G, Madrazo-De la Garza A, Dehesa M, González-Valencia G, et al. Increasing multi-drug resistance in *Helicobacter pylori* strains isolated from children and adults in Mexico. *J Clin Microbiol* 2001; 39 (7): 2677-80.
13. Camargo MC, García A, Riquelme A, Otero W, Camargo CA, Hernandez-García T, Candia R, Bruce MG, Rabkin CS. The problem of *Helicobacter pylori* resistance to antibiotics: a systematic review in Latin America. *Am J Gastroenterol* 2014; 109 (4):485-95.
14. Arima H, Ashida H, Danno G. Rutin-enhanced antibacterial activities of flavonoids against *Bacillus cereus* and *Salmonella enteritidis*. *Biosci. Biotechnol Biochem* 2002a; 66:1009-1014.
15. Arima H, Danno G. Isolation of antimicrobial compounds from guava (*Psidium guajava* L.) and their structural elucidation. *Biosci Biotechnol Biochem* 2002b; 66: 1727-1730.
16. Qadan F, Thewaini AJ et al. The antimicrobial activities of *Psidium guajava* and *Juglans regia* leaf extracts to acne developing organisms. *Am. J. Chinese Medicine* 2005; 33(2):. 197-204.
17. Yan D, Jin C, Xiao XH, Dong XP. Antimicrobial properties of berberine alkaloids in *Coptis chinensis* by microcalorimetry. *J. Biochem Biophys. Methods* 2008; 70(6):845-849.
18. Park EK, Rhee HJ, Jung Hs et al. Antiinflammatory effects of a combined herbal preparation of *Phellodendron amurense* and *Coptis chinensis* in animal models of inflammation. *Phytotherapy Research* 2007; 8: 746-750.
19. Kazunari Tominaga, Kazuhide Higuchi et al. In vivo action of novel alkylmethylquinolone alkaloids against *Helicobacter pylori*. *J. Antimicrobial Chemotherapy* 2002; 50:547-552.
20. Stermitz FR1, Lorenz P, Tawara JN, Zenewicz LA, Lewis K. Synergy in a medicinal plant: antimicrobial action of berberine potentiated by 5'-methoxyhydrnocarpin, a multidrug pump inhibitor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000; 97(4): 1433-1437.
21. Ball AR, Casadei G, Samosorn S, Bremner JB, Ausubel FM, Moy TI, Lewis K. Conjugating Berberine to a Multidrug Resistance Pump Inhibitor Creates an Effective Antimicrobial. *ACS Chemical Biology* 2006; 1(9): 594-600.
22. Díaz DM, de la Sen AS. Sistemas de Quorum Sensing en Bacterias. *Reduca (Biología)*. Serie Microbiología. 2010; 3(5): 39-55.
23. VattemK DA, Mihalik K., Crixell SH, McLean RJC. Dietary phytochemicals as quorum sensing inhibitors. *Fitoterapia* 2007; 78(4): 302-310.
24. Thomas B. Rasmussen, Quorum sensing inhibitors as anti-pathogenic drugs. *International Journal of Medical Microbiology*. 2006; 296(2-3): 149-161.



## Sociedad Asturiana 25 años de Fitoterapia



Oviedo, 6-8 de mayo de 2016