

Estudio de Biomoléculas con Actividad Inhibitoria sobre *Helicobacter pylori* en Pacientes Colombianos con Alto Riesgo de Cáncer Gástrico

Study of Biomolecules with Inhibitory Activity on *Helicobacter pylori* in Colombian Patients with High Risk of Gastric Cancer

Diana Marcela Burbano¹, Carlos David López², Lizeth Camila Maigual³, Yudi Banesa Legarda⁴, Oscar Arango⁵, Andrés Mauricio Hurtado⁶, Álvaro Jairo Pazos⁷

Resumen

Introducción. El cáncer gástrico en Nariño representa un problema de salud pública por su alta incidencia y mortalidad. La erradicación de *Helicobacter pylori* es una estrategia clave para prevenir esta enfermedad, pero el fracaso de algunos tratamientos ha impulsado la búsqueda de alternativas naturales. Entre ellos, destacan los extractos de *Brassica oleracea* var. *Italica* y de *Cannabis sativa* ricos en cannabidiol. **Objetivo.** Evaluar la actividad inhibitoria *in vitro* de extractos de *Brassica oleracea* var. *Itálica* y de *Cannabis sativa* rico en cannabidiol sobre el crecimiento de *Helicobacter pylori* aislado de pacientes con enfermedad gástrica de Nariño. **Metodología.** Se aisló *Helicobacter pylori* de biopsias gástricas de pacientes del Departamento de Nariño. Los extractos de *Brassica oleracea* var. *Itálica*, con alto contenido de sulforafano, se obtuvieron por rotaevaporación y liofilización.

1. Grupo Salud Pública, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia.
Google académico: <https://scholar.google.es/citations?user=JcRA0usAAAAJ&hl=es>
ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-5452-2166>
2. Grupo Salud Pública, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia.
Google académico: https://scholar.google.com/citations?view_op=list_works&hl=es&user=D3mau68AAAAJ
ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-8722-3587>
3. Grupo Salud Pública, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia.
Google académico: https://scholar.google.com/citations?view_op=list_works&hl=es&user=6MgIgn8AAAAJ
ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-4085-8357>
4. Grupo Tecnologías Emergentes en Agroindustria, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia.
Google académico: <https://scholar.google.es/citations?hl=es&user=n4ZJz4cAAAAJ>
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5603-7898>
5. Grupo Tecnologías Emergentes en Agroindustria, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia. Departamento de Procesos Industriales, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia.
Google académico: <https://scholar.google.com/citations?user=WBu45XYAAAAJ&hl=es>
ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-1905-0097>
6. Grupo Tecnologías Emergentes en Agroindustria, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia. Departamento de Procesos Industriales, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia.
Google académico: <https://scholar.google.es/citations?user=JLdm4DIAAAAAJ&hl=es&oi=ao>
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4693-2212>
7. Grupo Salud Pública, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia
Grupo Tecnologías Emergentes en Agroindustria. Departamento de Procesos Industriales, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia.
Google académico: <https://scholar.google.es/citations?hl=es&user=Idix94gAAAAJ>
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8898-8804>

Correspondencia: dianamarcela042799@gmail.com

► <https://doi.org/10.22490/24629448.9981>

Recibido: 02/12/2024
Aceptado: 27/02/2025

El extracto de *Cannabis sativa* se extrajeron con la técnica con CO₂ supercrítico. Se evaluó la actividad inhibitoria de los extractos mediante el método de dilución en agar, se contaron las unidades formadoras de colonias (UFC) con el software ImageJ y se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) para cada aislado. **Resultados.** La CMI de los extractos de *Brassica oleracea* var. *Italica* con alto contenido en sulforafano fue de 120 µg/mL. La CMI del extracto de *Cannabis sativa* fue de 55 µg/mL. **Conclusión.** Los extractos de *Brassica oleracea* var. *Itálica* y *Cannabis sativa* ricos en cannabidiol muestran un efecto inhibitorio sobre el crecimiento *in vitro* de *Helicobacter pylori* aislado de pacientes de Nariño, siendo el extracto de *Cannabis sativa* el más efectivo.

Palabras clave: Cáncer gástrico, *Helicobacter pylori*, extractos, *Cannabis sativa* L., cannabidiol, *Brassica oleracea*, sulforafano, concentración inhibitoria mínima.

Abstract

Introduction. Gastric cancer in Nariño represents a significant public health problem due to its high incidence and mortality rates. Eradicating *Helicobacter pylori* is a key strategy for preventing this disease, but the failure of some treatments has prompted the search for alternatives, such as the use of natural compounds. Among these, *Brassica oleracea* var. *Itálica* and *Cannabis sativa* extracts rich in cannabidiol stand out. **Objective.** To evaluate the *in vitro* inhibitory activity of broccoli and *Cannabis sativa* extracts rich in cannabidiol on the growth of *Helicobacter pylori* isolated from patients with gastric disease in Nariño. **Methodology.** *Helicobacter pylori* was isolated and purified from gastric biopsies of patients from the Department of Nariño. *Brassica oleracea* var. *Itálica* extracts, with high sulforaphane content, were obtained using rotaevaporation and lyophilization techniques. The *Cannabis sativa* extract was obtained using supercritical CO₂ extraction. The inhibitory activity of the extracts was evaluated using the agar dilution method, colony-forming units (CFU) were counted using ImageJ software, and the minimum inhibitory concentration (MIC) for each isolate was determined. **Results.** The MIC of *Brassica oleracea* var. *Itálica* extracts with high sulforaphane content was 120 µg/mL. The MIC of the *Cannabis sativa* extract was 55 µg/mL. **Conclusion.** *Brassica oleracea* var. *Itálica* and *Cannabis sativa* extracts rich in cannabidiol exhibit an inhibitory effect on the *in vitro* growth of *Helicobacter pylori* isolated from patients in Nariño, with the *Cannabis sativa* extract being the most effective.

Keywords: Gastric cancer, extracts, *Helicobacter pylori*, *Cannabis sativa* L., *Brassica oleracea*, sulforaphane, minimum inhibitory concentration.

Introducción

El cáncer gástrico (CG) es la quinta neoplasia más frecuente a nivel mundial (1) "ISSN": "0007-9235", "PMID": "38572751", "abstract": "This article presents global cancer statistics by world region for the year 2022 based on updated estimates from the International Agency for Research on Cancer (IARC. En Colombia constituye la principal causa de muerte por cáncer, no obstante, las cifras de riesgo e incidencia de la patología en diferentes regiones del país es variable. En la zona andina del departamento de Nariño la incidencia de CG es una de las más altas del mundo (150/100.000 habitantes), concomitante con el aumento en las tasas de mortalidad, 15,72 %, en contraste la zona costera de Nariño presenta una tasa de incidencia de CG de (6/100.0000 habitantes) para el año 2018 (2)(3).

La complejidad del CG radica en su naturaleza multifactorial, influenciada por una interacción compleja entre factores medioambientales, genéticos y agentes infecciosos, destacando entre estos últimos la presencia de *Helicobacter pylori* (*H. pylori*). Esta bacteria, al colonizar la mucosa gástrica, ha sido identificada como el principal agente etiológico del CG, desencadenando una secuencia de eventos que van desde la inflamación hasta la carcinogénesis gástrica (4).

En Colombia se presenta una elevada resistencia a los tratamientos convencionales

con antibióticos por parte de la bacteria, documentando una prevalencia de resistencia del 1.9, 3.8 y 9.5% a amoxicilina en diferentes zonas geográficas del país, 13.6% a claritromicina; 83% a metronidazol y 16% a levofloxacina (4)(5). *H. pylori* muestra una alta diversidad genética, permitiendo cambios rápidos microevolutivos que generan nuevas poblaciones, específicamente para Colombia, se propone el subtipo hspColombia, resultado de un corto periodo coevolutivo entre el huésped y la bacteria posterior a la colonización de las Américas (6).

En áreas montañosas del departamento de Nariño, Colombia, se observa una alta incidencia de CG, donde factores genéticos y ambientales complejos interactúan para aumentar la susceptibilidad a la enfermedad (7). La erradicación de *H. pylori* se considera la única estrategia efectiva para la prevención del CG en esta región, sin embargo, la resistencia a los antibióticos ha limitado la eficacia de los tratamientos convencionales, impulsando la búsqueda de alternativas novedosas.

Dentro de las alternativas terapéuticas en estudio, *Cannabis sativa* y *Brassica oleracea* han demostrado potencial en la inhibición de *H. pylori*. *C. sativa* contiene fitocannabinoides como el cannabidiol (CBD) y el tetrahidrocannabinol (THC), cuyos efectos antimicrobianos han sido reportados contra diversas bacterias patógenas (8). Se ha observado que el CBD, en particular,

puede actuar sinérgicamente con antibióticos, potenciando su actividad y ofreciendo una posible estrategia contra la resistencia bacteriana (9). Por otro lado, *B. oleracea* es rica en sulforafano, un compuesto bioactivo con propiedades antimicrobianas y antioxidantes. Ha demostrado tener una capacidad bactericida sobre el crecimiento *in vitro* de *H. pylori*, afectando la integridad de la membrana celular, limitando la colonización y el crecimiento de la bacteria al interferir la producción de ureasa (10).

Considerando estas propiedades, nuestra investigación se centró en evaluar la capacidad inhibitoria *in vitro* de extractos vegetales con alto contenido de sulforafano de brotes de *Brassica oleracea* var. *Italica* (*B. oleracea*), polifenoles extraídos del aguacate y extractos de *Cannabis sativa* (*C. sativa*), particularmente aquellos ricos en CBD sobre *H. pylori* aislado de pacientes en zonas de alto riesgo de CG en Nariño-Colombia.

Metodología

Activación y aislamiento primario de *Helicobacter pylori*

Se incluyeron cinco biopsias donadas por el grupo de investigación en Salud Pública de la Universidad de Nariño, que fueron obtenidas de pacientes provenientes del Departamento de Nariño con diagnóstico histopatológico de enfermedad gástrica.

Teniendo en cuenta los protocolos de descongelación y cadena de frío, las biopsias gástricas congeladas a -70°C se maceraron en solución salina al 0.89 % en un tubo estéril Eppendorff con un macerador eléctrico y un microbolillo desechable estéril (Peller Pestle–Mott Kontes). El macerado de la biopsia se sembró por triplicado en agar Columbia con 10% de sangre de corredo y suplemento Dent (Oxoid, *H. pylori* Selective Supplement SR0147E: vancomicina, trimetoprim, cefsulodin y anfotericina) por agotamiento con un asa calibrada estéril de 10 μL . Los aislamientos se incubaron en atmósfera microaerofílica: a 37°C , 10 % de CO_2 y 90 % de humedad, por 10 días (11). El macerado restante se preservó en una solución de tioglicolato (Merck®) con glicerol (Promega®) al 20% y se llevó al freezer a -80°C (12) toxic chemical products formed as secondary metabolites by a few fungal species that readily colonise crops and contaminate them with toxins in the field or after harvest. Ochratoxins and Aflatoxins are mycotoxins of major significance and hence there has been significant research on broad range of analytical and detection techniques that could be useful and practical. Due to the variety of structures of these toxins, it is impossible to use one standard technique for analysis and/or detection. Practical requirements for high-sensitivity analysis and the need for a specialist laboratory setting create challenges for routine analysis. Several existing analytical techniques, which offer flexible

and broad-based methods of analysis and in some cases detection, have been discussed in this manuscript. There are a number of methods used, of which many are lab-based, but to our knowledge there seems to be no single technique that stands out above the rest, although analytical liquid chromatography, commonly linked with mass spectroscopy is likely to be popular. This review manuscript discusses (a.

Las colonias pequeñas, convexas traslúcidas de 1 mm de diámetro como gotas de rocío se identificaron mediante las pruebas bioquímicas de catalasa, oxidasa, ureasa y mediante la tinción de Gram (13).

Con el fin de conservar los aislados de *H. pylori* obtenidos, se tomaron colonias con asa de argolla de las cajas Petri con agar sangre sin suplemento y se transfirieron a un tubo con caldo de tioglicolato (BBL®) más glicerol (Promega®) al 20 %, se homogenizaron y se almacenaron a -80 °C en un freezer REVCO (Thermo Scientific) (11).

Identificación molecular de *Helicobacter pylori*

Las colonias de *H. pylori* preservadas a -80°C se sometieron a un proceso de descongelación según los protocolos de cadena de frío, se extrajo ADN siguiendo el protocolo del Kit de extracción de ADN genómico “Bacterial DNA Preparation Kit (Jena Bioscience)”. La calidad y la pureza

del ADN se verificaron por espectrofotometría (NanoDrop ND 2000-Thermo Scientific™) (14). El gen esencial ureA se amplificó por PCR usando los iniciadores HPU1 (5'-GCCAATGGTAAATTAGTT-3') y HPU2 (5'-CTCCTTAATTGTTT-TTAC-3'), bajo las siguientes condiciones: Desnaturalización inicial a 95°C por 2 min, seguido por 45 ciclos de desnaturalización a 95°C por 1 min. Alineamiento a 50 °C por 1 min y a 72°C por 1 min junto al ciclo de extensión de la cadena a 72°C por 5 min, para asegurar una completa extensión de los productos de la PCR. Los resultados fueron evidenciados al realizar electroforesis en gel de agarosa al 1,5% con una corrida preliminar de 20 min a 30 V y una corrida final de 1 h y 40 min a 60 V. El gel se observó bajo luz ultravioleta UV en un transiluminador UV (LabNet, GENTECH) y se tomaron evidencias fotográficas que fueron almacenadas para su verificación y análisis.

Obtención de materia prima

Obtención de vástagos de *Brassica oleracea*: Se adquirió una libra de semillas de *Brassica oleracea* var. *Italica* de calidad comercial, estas se germinaron y posteriormente se cosecharon a los 3 días posteriores a la germinación de la planta (15).

Obtención de extractos de *Cannabis sativa* ricos en cannabidiol: se adquirió material vegetal seco y molido de flores de *C. sativa* no psicoactivo de la empresa Pharma

Indígena Misak Manasr SAS ubicada en la ciudad de Popayán – Cauca.

Obtención de extractos

Obtención de extractos con alto contenido en sulforafano: Se siguió la metodología descrita por Lv *et al.*(15) con modificaciones. 330 g vástagos de *B. oleracea* fueron sometidos a un proceso de escaldado por inmersión en agua a 55 °C por 15 minutos, enfriamiento inmediato en agua con hielo y se homogeneizó con la ayuda de un mortero de porcelana estéril. Posterior a la homogenización, se añadió Buffer fosfatado a pH 5,0 en relación 1:5 con ácido ascórbico y se incubó en un baño agitado a temperatura de 37 °C por 5 h. Para la extracción se añadieron 5 mL de etanol a la muestra y se centrifugó a 1540 gravedades en centrífuga durante 20 min. Los residuos se extrajeron con otros 5 mL de etanol, se repitió el proceso de centrifugación, y se mezcló el sobrenadante de las dos fuentes. La solución se rotaevaporó por 4 h a 30°C usando un evaporador rotatorio, el residuo se disolvió en 5 mL de etanol. El extracto etanólico se llevó a secar en horno por 24 h a 40°C con el fin de eliminar el solvente de extracción y posteriormente se liofilizó (15).

Obtención del extracto de *Cannabis sativa*: Este proceso se realizó por duplicado en un equipo de extracción con fluidos supercríticos Waters -Thar © (SFE - 500,

USA), teniendo en cuenta las condiciones óptimas de extracción de cannabinoides descritas por Delgado-Córdoba & Quiñones-Criollo, (16): 200 bar. 70°C de temperatura, 100 g de materia prima y 30 g/min de flujo de CO₂ por 150 min.

Preparación de diluciones de los extractos para *Helicobacter pylori*:

Las diluciones para los extractos con alto contenido en SFN de vástagos de *B. oleracea* se hicieron partiendo de una solución stock preparada a 2000 µg/mL. Se evaluaron concentraciones de 90 a 130 µg/mL para determinar el valor de la CMI.

Las diluciones para los extractos de *C. sativa* se prepararon partiendo de una solución stock de 1000 µg/mL, utilizando Tween 20 al 2% como emulsionante se utilizaron diluciones crecientes del extracto en un rango de 27 – 60 µg/mL.

Preparación de medios de cultivo

Se preparó agar Mueller Hinton suplementado con sangre de cordero al 10% e isovitalax al 1% al cual se le adicionaron diluciones crecientes de los extractos de *C. sativa* y *B. oleracea*. Estos cultivos fueron sembrados por triplicado utilizando la técnica de siembra masiva con un inóculo de 10 µL de colonias de *H. pylori* con menos de 72 horas e inmediatamente luego de su inoculación se ubicaron en condiciones microaerofílicas en incubadora de CO₂ a 37°C

por 6 días, realizando revisiones constantes para la determinación de la concentración mínima inhibitoria. Para cada aislamiento se tuvieron en cuenta controles negativos (medio de cultivo sin extracto inoculado por cada aislado de interés) y control de agente emulsionante para los ensayos con *C. sativa* (medio de cultivo con tween 20 inoculado por cada aislado de interés).

Se realizó el conteo de las colonias bacterianas (UFC) de *H. pylori* con el software ImageJ y registró la CMI como la menor concentración de cada extracto en la que se evidencie la inhibición total del crecimiento visible de la bacteria comparándola con el control negativo.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos de UFC se registraron y sometieron a pruebas estadísticas en el software Jamovi (versión 0.8.0.5). Los resultados de los ensayos de inhibición de *H. pylori* ante las distintas concentraciones del extracto de *C. sativa* fueron analizados mediante las pruebas de normalidad y homogeneidad: Shapiro Wilk y Levene. Al determinar que no se cumplieron los anteriores supuestos, se utilizó la prueba U-Mann Whitney para la comparación entre las UFC obtenidas del crecimiento de *H. pylori* aislado de pacientes según el tipo de extracto utilizado. El nivel de significancia establecido fue $\alpha = 0.5\%$.

Resultados

Activación, identificación y preservación de los aislamientos de *Helicobacter pylori*

A partir de las cinco biopsias seleccionadas se obtuvieron cultivos primarios de crecimiento abundante y puros de *H. pylori*. De los mismos, se realizaron repiques por triplicado y se generaron preservados por triplicado de *H. pylori* en caldo tioglicolato + glicerol al 20% que fueron almacenados a -80°C en freezer REVCO (Thermo Scientific®). El crecimiento de los aislados fue compatible con las características macroscópicas de *H. pylori*, colonias pequeñas, translúcidas, en forma de gotas de rocío con crecimiento abundante sobre el medio de cultivo y bajo el microscopio la tinción de Gram permitió identificar bacilos Gram negativos pleomórficos, curvos, abundantes, compatibles con *H. pylori*. También, se obtuvieron resultados positivos en las pruebas bioquímicas oxidasa, catalasa, ureasa y en la amplificación del gen *ureA* (figura 1).

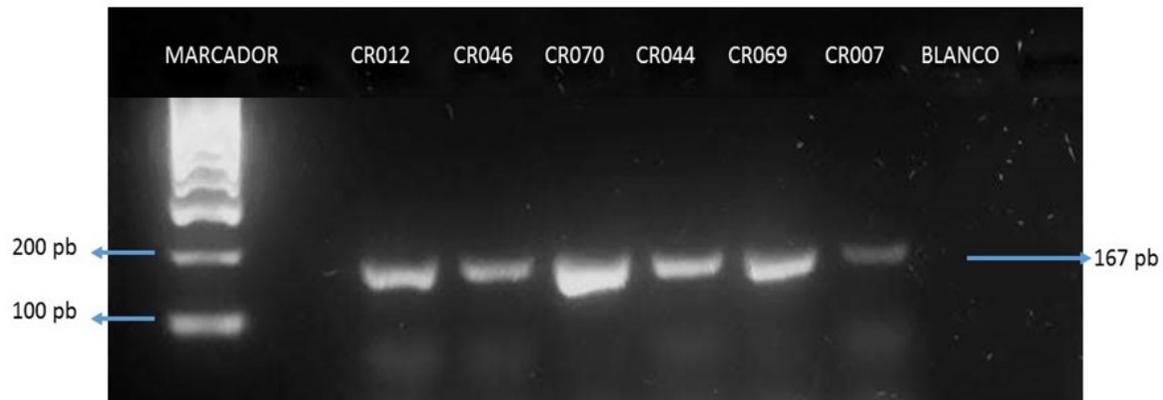


Figura 1. Electroforesis del gen estructural ureA de *Helicobacter pylori*.

Gel de agarosa al 1.5 %, teñido con SYBR Green y visualizado en transiluminador UV. Marcador molecular de referencia de 100 pb (Hyper Ladder™ 100 pb Bioline); blanco agua grado molecular MoBio™ (MiliQ). Región amplificada Gen *ureA* de *H. pylori* (167 pb).

Ensayos de inhibición in vitro del extracto de Brassica oleracea var. Italica sobre Helicobacter pylori

Para la determinación de la CMI se empleó el extracto con mejor efecto inhibitorio sobre 5 aislados provenientes de una zona

de alto riesgo de CG del departamento de Nariño. Después de realizar el conteo se encontró que el número de colonias de *H. pylori* en los diferentes aislados disminuye proporcionalmente al aumento de la concentración de extractos con alto contenido en SFN de vástagos de *B. oleracea*.

Los ensayos realizados permitieron establecer la CMI de cada aislado evaluado por la acción de los extractos con alto contenido en SFN, que estuvo en un rango de 105-120 µg/mL. Los resultados se presentan en la Tabla 1 y Figura 2.

Tabla 1. Concentración Mínima Inhibitoria del extracto con alto contenido en sulforafano frente al crecimiento *in vitro* de 5 aislados de *Helicobacter pylori*.

Aislado	Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)
CR-007	120 µg/mL
CR-046	110 µg/mL
CR-044	105 µg/mL
CR-012	115 µg/mL
CR-070	120 µg/MI

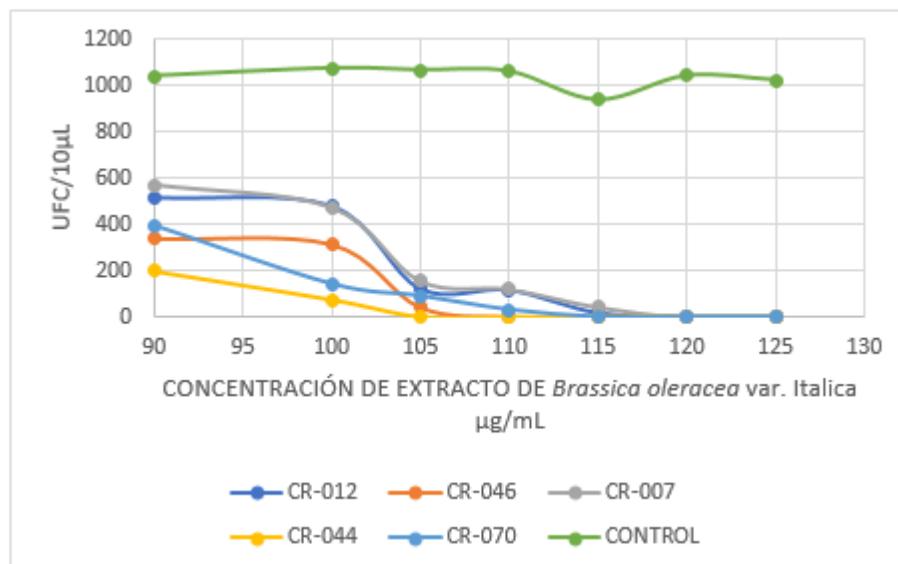


Figura 2. Descenso del número de Unidades Formadoras de Colonias de aislamientos seleccionados de *Helicobacter pylori* en función del aumento de la concentración del extracto de *Brassica oleracea*.

Efecto del extracto de *B. oleracea* sobre el crecimiento de *H. pylori*. Se muestra la reducción en la carga bacteriana (UFC/10µL) en cinco aislados clínicos (CR-012, CR-046, CR-007, CR-044 y CR-070) en función de la concentración del extracto (90-125 µg/mL). El control sin tratamiento (línea verde) mantiene una carga bacteriana constante, mientras que los aislados tratados presentan una disminución progresiva en el número de UFC, alcanzando una inhibición total alrededor de 115-120 µg/mL.

Ensayos de inhibición in vitro del extracto de *Cannabis sativa* sobre *Helicobacter pylori*

Tras realizar el conteo de las UFC de *H. pylori* se observó que el extracto de *C. sativa* rico en CBD presentó un efecto inhibitorio sobre el microorganismo, en comparación al crecimiento obtenido en los controles. La CMI se ubicó en un rango de 35–55 µg/mL (tabla 2 y figura 3).

Tabla 2. Concentración Mínima Inhibitoria del extracto de *Cannabis sativa* rico en CBD frente al crecimiento *in vitro* de cinco aislados de *Helicobacter pylori*.

Aislado	Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)
CR-069	37 µg/mL
CR-046	35 µg/mL
CR-044	55 µg/mL
CR-012	37 µg/mL
CR-070	35 µg/mL

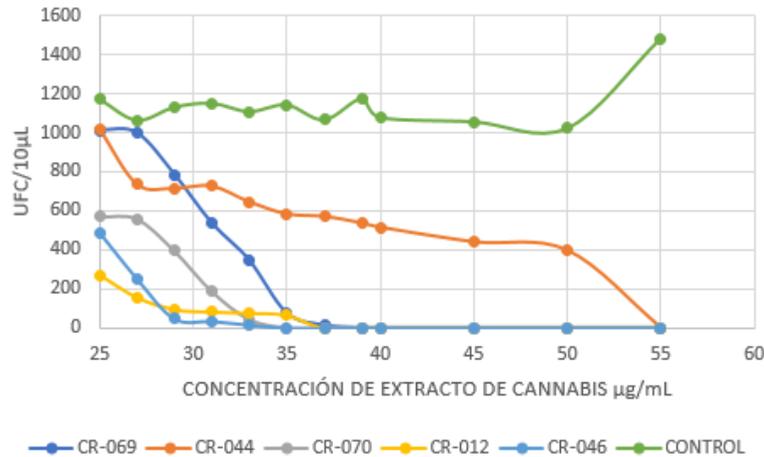


Figura 3. Descenso del número de Unidades Formadoras de Colonias de aislamientos seleccionados de *Helicobacter pylori* en función del aumento de la concentración del extracto de *Cannabis sativa*.

Efecto del extracto de *C. sativa* rico en CBD sobre el crecimiento de *H. pylori*. Se muestra la disminución en la carga bacteriana (UFC/10µL) en cinco aislados clínicos (CR-069, CR-044, CR-070, CR-012 y CR-046) en función de la concentración del extracto (25-55 µg/mL). Se observa una reducción progresiva en la viabilidad bacteriana con el aumento de la concentración del extracto, alcanzando una inhibición total en concentraciones de 35, 37 y 55 µg/mL. El control sin tratamiento (línea verde) mantiene una carga bacteriana estable.

Análisis estadístico

Las pruebas de Shapiro Wilk y Levene presentaron un p valor <0,05, por lo cual se realizaron las pruebas no paramétricas, U-Mann Whitney y Kruskal-Wallis. El resultado del estadístico U-Mann Whitney ($p \leq 0.05$) demostró que existen diferencias estadísticamente significativas entre el efecto inhibitorio *in vitro* de los extractos de *B. oleracea* y *C. sativa* al comparar las medianas del conteo de UFC de cada aislamiento de *H. pylori* (figura 4).

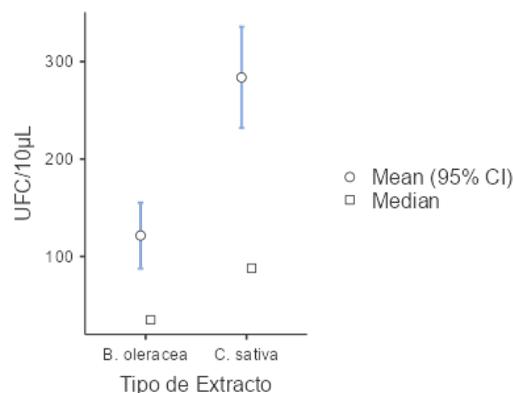


Figura 4. Comparación del conteo de UFC entre cada ensayo de inhibición con extracto de *Brassica oleracea* y *Cannabis sativa*.

Comparación del efecto del extracto de *B. oleracea* y *C. sativa* sobre el crecimiento de *H. pylori*. Se presentan los valores de la media (círculos blancos) con su intervalo de confianza del 95% (barras azules) y la mediana (cuadrados blancos) de la carga bacteriana (UFC/10 μ L) tras el tratamiento con cada extracto. Se observa que el extracto de *B. oleracea* presenta una menor carga bacteriana en comparación con *C. sativa*, indicando una mayor eficacia inhibitoria.

Discusión

En el presente estudio los extractos con alto contenido en SFN inhibieron *in vitro* a los aislados de *H. pylori*, obteniendo una CMI promedio de 115 μ g/mL y un 100% de inhibición de la bacteria a 120 μ g/mL. Estos resultados pueden ser comparados con el estudio realizado por Fahey *et al.*, (17) donde se demostró la capacidad inhibitoria del SFN (>95% de pureza) frente a *H. pylori*, aunque su CMI fue menor a la reportada en el presente estudio (4 μ g/ml a pH 5.8), debido posiblemente a que nuestros extractos con alto contenido en SFN no fueron purificados, se evidencia un efecto bactericida que puede atribuirse a la presencia de este compuesto en mayor proporción respecto a lo extractos crudos (17).

Evidencias en ratones y humanos sugieren que el SFN puede tener un efecto bactericida directo sobre *H. pylori*, Fahey *et al.*,

(2013) encontraron que el SFN es capaz de inactivar de manera irreversible la enzima ureasa, sintetizada en grandes cantidades por *H. pylori* y que contribuye de manera importante a las consecuencias inflamatorias de su infección en la mucosa gástrica, gracias a que al producir amoníaco a partir de la urea del huésped, la ureasa neutraliza la acidez gástrica y permite que el patógeno proliferen en este medio (10). El mecanismo detrás de la acción anti *H. pylori* del SFN se relaciona con la afección de la integridad de la membrana celular, inhibiendo enzimas involucradas en el equilibrio redox y el metabolismo bacteriano que a su vez induce la muerte bacteriana (18).

Por otro lado, se puede atribuir el efecto inhibitorio a la presencia de compuestos que pueden presentar actividad anti-*H. pylori* de forma sinérgica con el SFN, ya que en los brotes de *B. oleracea* se reporta la presencia de compuestos fenólicos siendo los más comunes los derivados de los ácidos hidroxicinámicos, flavonoles (derivados de quercetina) y antocianinas, que han sido estudiados por a su efecto protector contra el estrés oxidativo en las células (19). Estudios como el de Le *et al.* (20) presentan un análisis de compuestos fenólicos en vástagos de *B. oleracea*, reportándose al ácido cafeico, ácido clorogénico, ácido p-cumarico y flavonoles (quercetina) con características antibacterianas.

El resultado de la CMI encontrada del extracto de *C. sativa* rico en CBD de 55 µg/mL sobre los aislados de *H. pylori* está dentro del rango descrito por Jokić *et al.* (21), quienes evaluaron 13 extractos de *C. sativa* ricos en CBD sobre *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* y *S. aureus*, cuyos valores de CMI estuvieron entre 10.42 – 66.03 µg/mL.

En comparación a la actividad anti-*H. pylori* de otros extractos de origen natural, los resultados de CMI obtenidos con *C. sativa* (35–55 µg/mL) son mejores a los obtenidos con el extracto etanólico de *Punica granatum* donde se encontró una CMI de 156 µg/mL sobre *H. pylori* aislado de 12 biopsias gástricas y una cepa de referencia NCTC 11916 (22). El extracto metanólico de *Allium ascalonicum* exhibió una CMI entre 100 y 200 mg/mL sobre 42 aislados clínicos de *H. pylori* y la cepa ATCC 43504 de la bacteria (23). Extractos de *Corydalis cheilanthifolia* y *Chelidonium majus* revelaron tener actividad antibacteriana sobre *H. pylori* ATCC 8064 a una CMI de 64 µg/mL y 128 µg/mL respectivamente (24). La acción de biomoléculas como los polifenoles extraídos de *Persea americana* var. Hass revelaron una CMI sobre *H. pylori* de 1500 µg/mL valor superior a la CMI descrita en nuestro estudio (25).

Aunque, la CMI obtenida en la presente investigación para el extracto de *C. sativa* rico en CBD (55 µg/mL) es relativamente baja al contrastarse con otros extractos na-

turales, su valor puede considerarse alto en comparación con los antibióticos comerciales utilizados para el tratamiento de la infección por *H. pylori*, como claritromicina, amoxicilina y metronidazol. Por ejemplo, se ha informado que la CMI de la claritromicina es de 0.06 – 0.5 µg/mL, mientras que la amoxicilina y el metronidazol tienen una CMI de 0.25 – 4 µg/mL y 0.125 – 1 µg/mL, respectivamente (26). No obstante, el estudio de Wassmann *et al.*, (9) informa que al utilizar el CBD como adyuvante junto a la bacitracina contra *Staphylococcus sp*, *L. monocytogenes* y *E. faecalis* se potencia el efecto del antibiótico reduciendo su CMI al menos 64 veces.

Aunque el extracto obtenido en este estudio presentó un alto contenido de CBD, este compuesto no fue purificado, por lo que la actividad antimicrobiana observada podría estar influenciada por la presencia de otros cannabinoides y compuestos bioactivos. Se ha documentado que el *efecto séquito* definida como la interacción sinérgica entre los diferentes fitocannabinoides y terpenos presentes en *C. sativa* puede potenciar la actividad antibacteriana del extracto en su conjunto (27). Estudios previos han demostrado que cannabinoides como el cannabigerol (CBG), el cannabicromeno (CBC) y el tetrahidrocannabinol (THC) poseen actividad antimicrobiana y en este estudio podrían estar contribuyendo al efecto inhibitorio sobre *H. pylori* (8). Nuestros resultados resaltan la importancia de evaluar

la contribución de otros cannabinoides en futuras investigaciones para comprender mejor su papel anti-*H. pylori*.

Dado que *H. pylori* presenta una notable capacidad de adaptación a ambientes hostiles y alta resistencia a los antibióticos en regiones de alto riesgo de cáncer gástrico, asociado a diferentes mutaciones presentes en la bacteria en aislados propios del departamento de Nariño, la exploración de nuevas estrategias terapéuticas es fundamental (28) South America has one of the world's highest burdens of *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. While multidrug antibiotic regimens can effectively eradicate *H. pylori*, treatment efficacy is being jeopardized by the emergence of antibiotic-resistant *H. pylori* strains. Moreover, the spectrum of and genetic mechanisms for antibiotic resistance in Colombia is underreported. In this study, 28 *H. pylori* strains isolated from gastric biopsy specimens from a high-gastric-cancer-risk (HGCR) (29). El análisis estadístico U-Mann Whitney evidenció diferencias en la eficacia inhibitoria de los extractos evaluados, mostrando que *C. sativa* rico en CBD presentó una mayor potencia que *B. oleracea*. No obstante, ambas opciones podrían representar enfoques complementarios en la búsqueda de alternativas para el control de *H. pylori*, particularmente en poblaciones con alta prevalencia de resistencia antimicrobiana.

Estos hallazgos aportan información que pueda guiar futuras investigaciones sobre el uso de compuestos naturales en el tratamiento de infecciones por *H. pylori*, especialmente en poblaciones con alto riesgo de desarrollar cáncer gástrico.

Conclusión

Los extractos ricos en CBD de *Cannabis sativa* L. presentan el mejor efecto inhibitorio contra el crecimiento *in vitro* de *Helicobacter pylori* aislado de pacientes con alto riesgo de cáncer gástrico en Nariño Colombia, seguido de los extractos con alto contenido de sulforafano de brotes de *Brassica oleracea* var. *italica*.

Agradecimientos

A la vicerrectoría de investigación e interacción social de la Universidad de Nariño por su financiación y valiosa colaboración.

Declaración de conflictos de intereses

Declaramos que no existe conflicto de intereses entre los autores de este artículo.

Referencias

1. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, *et al.* Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2024;74(3):229–63.
2. ONC Colombia. Observatorio Nacional de Cáncer. Guía Metodológica [Internet]. Bogotá: Ministerio de Salud; 2018. Available from: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/GCFI/guia-ross-cancer.pdf>
3. Correa P, Piazuelo MB. Cáncer gástrico: el enigma colombiano. *Rev Colomb Gastroenterol.* 2010;25(4):334–7.
4. Correa P. Cáncer gástrico: una enfermedad infecciosa. *Rev Colomb Cir.* 2011;26:111–7.
5. Atehortua Rendon JD, Pérez Cala TL, Martínez A. Descripción de la resistencia de *Helicobacter pylori* a seis antibióticos de uso frecuente en Colombia. *Rev Colomb Gastroenterol.* 2020;35(3):351–61.
6. Gutiérrez-Escobar AJ, Méndez-Callejas G, Acevedo O, Bravo MM. Rapid evolution of the *Helicobacter pylori* *AlpA* adhesin in a high gastric cancer risk region from Colombia. *PeerJ.* 2018;6:e4846.
7. Bedoya-Urresta Á, Yépez Y, Calvache D, Cifuentes Y, Lucero N, González P, *et al.* Proyecto Urkunina 5000-Investigación de la prevalencia de lesiones precursoras y del efecto de la erradicación de *Helicobacter pylori* como prevención primaria del cáncer gástrico en el departamento de Nariño. *Rev Colomb Cir.* Pasto: INC, Universidad de Nariño; 2018;33(4):345–52.
8. Niyangoda D, Aung ML, Qader M, Tesfaye W, Bushell M, Tsai D, *et al.* Cannabinoids as Antibacterial Agents: A Systematic and Critical Review of In Vitro Efficacy Against *Streptococcus* and *Staphylococcus*. *Antibiotics* [Internet]. 2024;13(1023). Available from: <https://doi.org/10.3390/antibiotics13111023> 9.
9. Fahey JW, Stephenson KK, Wade KL, Talalay P. Urease from *Helicobacter pylori* is inactivated by sulforaphane and other isothiocyanates. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013 May 24;435(1):1–7.
10. Figueroa M, Cortés A, Pazos Á, Bravo LE. Sensibilidad *in vitro* a amoxicilina y claritromicina de *Helicobacter pylori* obtenido de biopsias gástricas de pacientes en zona de bajo riesgo para cáncer gástrico. *Biomedica* 2012;32(1):32–42.
11. Bayona Rojas MA. Condiciones microbiológicas para el cultivo de *Helicobacter pylori*. *Rev Colomb Gastroenterol* [Internet]. 2013;28(2):94–99. Available from: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=337731609002>
12. Thirunavukkarasu P, Asha S, Kumarreddy R, Ramanathan T, Sudhakar N. Survey, isolation, biochemical characterization, and identification of *Helicobacter pylori* from gastric patient biopsy. *Asian J Pharm Clin Res.* 2017;10(6):411–6.
13. Eraso-Escobar P. Polifenoles del aguacate *Persea americana* y su efecto sobre el crecimiento de *Helicobacter pylori* aislado de una población de alto riesgo de cáncer gástrico de Nariño-Colombia. [Tesis de pregrado]. Pasto: Universidad de Nariño; 2018.
14. Lv X, Meng G, Li W, Fan D, Wang X, Espinoza-Pinochet CA, *et al.* Sulforaphane and its antioxidative effects in broccoli seeds and sprouts of different cultivars. *Food Chem.* 2020;316(January):1–8.
15. Delgado-Córdoba X, Quiñones-Criollo F. Optimización de la Extracción de Cannabinoides de *Cannabis sativa* Utilizando CO₂ Supercrítico. [Tesis de pregrado]. Pasto: Universidad de Nariño; 2020
16. Fahey JW, Haristoy X, Dolan PM, Kensler TW, Scholtus I, Stephenson KK, *et al.* Sulforaphane inhibits extracellular, intracellular, and antibiotic-resistant strains of *Helicobacter pylori* and prevents benzo[a]pyrene-induced stomach tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(11):7610–5.
17. Mangla B, Javed S, Sultan MH, Kumar P, Kohli K, Najmi A, *et al.* Sulforaphane: A review of its therapeutic potentials, advances in its nanodelivery, recent patents, and clinical trials. *Phytother Res.* 2021;35(10):5440–58.
18. Baenas N, Moreno D, García-Viguera C. Estudio de la bioactividad *in vitro* e *in vivo* de brotes de brócoli ricos en glucosinolatos/isotiocianatos. *Nereis. Revista Iberoamericana Interdisciplinaria de Métodos, Modelización y Simulación.* 2018;10:69–78.

19. Le TN, Chiu CH, Hsieh PC. Bioactive compounds and bioactivities of *Brassica oleracea* L. Var. *Italica* sprouts and microgreens: An updated overview from a nutraceutical perspective. *Plants*. 2020;9(8):1–23.
20. Jokić S, Jerković I, Pavić V, Aladić K, Molnar M, Kovač MJ, *et al.* Terpenes and Cannabinoids in Supercritical CO₂ Extracts of Industrial Hemp Inflorescences: Optimization of Extraction, Antiradical and Antibacterial Activity. *Pharmaceuticals*. 2022;15(9):1081
21. Mayyas A, Abu-Sini M, Amr R, Akasheh R, Zalloum W, Khdair A, *et al.* Novel *in vitro* and *in vivo* anti-*Helicobacter pylori* effects of pomegranate peel ethanol extract. *Vet World*. 2021;14(1):162-167.
22. Lawal TO, Igbokwe CO, Adeniyi BA. Antimicrobial activities and the Bactericidal Kinetics of *Allium ascalonicum* Linn. (Whole plant) against standard and clinical strains of *Helicobacter pylori*: Support for Ethnomedical Use. *Journal of Natural Sciences Research*. 2014;4(8):48–57.
23. Krzyżek P, Junka A, Słupski W, Dołowacka-Józwiak A, Płachno B, Sobiecka A, *et al.* Antibiofilm and antimicrobial-enhancing activity of *Chelidonium majus* and *Corydalis cheilanthifolia* extracts. *Pathogens*. 2021;10(1):29.
24. Pazos AJ, Eraso P, Martinez V. Polyphenolic biofractions extracted from avocado (*Persea americana* var. *Hass*) on the growth of *Helicobacter pylori* in S-572. *Gastroenterology* [Internet]. 2020;158(6):S-572. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085\(20\)32139-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-5085(20)32139-9)
25. Malferteiner P, Megraud F, Morain CAO, Gisbert JP, Kuipers EJ, Axon AT, *et al.* Management of *Helicobacter pylori* infection: Maastricht V / Florenceconsensus report. *Gut*. 2017;66(1):6–30.
26. Russo EB. Taming THC: Potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *Br J Pharmacol*. 2011;163(7):1344–64.
27. Mannion A, Dzink-Fox JA, Shen Z, Blanca Piazuelo M, Wilson KT, Correa P, *et al.* *Helicobacter pylori* antimicrobial resistance and gene variants in high- and low-gastric-cancer-risk populations. *J Clin Microbiol*. 2021;59(5):1–13.
28. Matta A, Zambrano D, Pazos A. Punctual mutations in 23S rRNA gene of clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* in Colombian populations. *World J Gastroenterol*. 2018;24(4):172–179.

© 2025 – Diana Marcela Burbano, Carlos David López, Lizeth Camila Maigual, Yudi Banesa Legarda, Oscar Arango, Andrés Mauricio Hurtado, Álvaro Jairo Pazos



Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la Licencia Creative Commons Attribution (CC BY). Se permite el uso, distribución o reproducción en otros foros, siempre que se acredite al autor original y al propietario del copyright y se cite la publicación original en esta revista, de acuerdo con la práctica académica aceptada. No se permite ningún uso, distribución o reproducción que no cumpla con estos términos.