

Actividad toxocaricida de plantas cubanas

Anti-Toxocara activity of Cuban plants

Idalia Sariego Ramos,^I Adonis Pino Santos,^{II} Ramón Scull Lizama,^{III} Armando Cuéllar Cuéllar,^{III} Aymé Fernández-Caliénés Valdés,^I Lázara Rojas Rivero^I

^I Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". La Habana, Cuba.

^{II} Clínica Veterinaria del Sur. Buenos Aires, Argentina.

^{III} Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana. La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: solo unos pocos medicamentos son efectivos contra los nematodos que migran por los tejidos, como es el caso de *Toxocara canis*, por lo que se hace necesario que se desarrollen nuevas opciones terapéuticas.

Objetivo: determinar el efecto *in vitro* de extractos de plantas medicinales cubanas contra larvas de *T. canis*.

Métodos: se prepararon extractos hidroalcohólicos de cinco especies de plantas y un extracto enriquecido en alcaloides, de *Carica papaya*. Todas las especies se han reportado en la medicina tradicional como antiparasitarias. La actividad antihelmíntica se determinó en placas de 96 pozos, mediante el cálculo de la movilidad relativa de las larvas, en tres intervalos de 24 h. Se incluyeron como referencia principios activos de medicamentos usados para el tratamiento de la toxocariasis. Se determinó la actividad citotóxica sobre células MRC-5 de los extractos activos contra las larvas; se usó un ensayo con bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio.

Resultados: el extracto hidroalcohólico de *Argemone mexicana* y el de *C. papaya* enriquecido en alcaloides, provocaron movilidades relativas por debajo del 80 % a las 72 h. Se utilizó como dosis 100 µg/mL, por lo que se consideraron activos contra el parásito. Ambos extractos no provocaron citotoxicidad sobre células MRC-5. Los extractos de *Aloe vera*, *Artemisia vulgaris*, *Centrosema virginianum* y *Chenopodium ambrosioides* no mostraron actividad contra el parásito.

Conclusión: se demostró la actividad potencial de los extractos de *A. mexicana* y *C. papaya* contra el parásito, lo que apoya la continuidad de los estudios fitoquímicos y farmacológicos.

Palabras clave: *Toxocara canis*, actividad antihelmíntica *in vitro*, plantas medicinales, *Argemone mexicana*, *Carica papaya*.

ABSTRACT

Introduction: only a few drugs are effective against nematodes moving through tissues like *Toxocara canis*, a fact that makes it necessary to develop new therapeutic options.

Objective: to determine the in vitro effect of Cuban medicinal plants extracts against *Toxocara canis* larvae.

Methods: hydroalcoholic extracts of five plant species and a *Carica papaya* alkaloid-enriched extract were prepared. All species have been informed by traditional medicine as antiparasitic. The anthelmintic activity was determined in 96 ponds, by calculating the larvae relative mobility, in three 24-hour intervals. Action principles of drugs used for treating toxocariasis were included as reference. They were included as reference used for the treatment of drug toxocariasis. The cytotoxic activity on MRC-5 cells was determined of the extracts active against the larvae. An assay with bromide 3-(4.5-dimethylthiazol-2-yl) -2.5-diphenyltetrazolium was used.

Results: the *Argemone mexicana* and *Carica papaya* alkaloid-enriched hydroalcoholic extracts provoked relative mobilities less than 80% after 72 hours. The dose used was of 100 μ g/ml, so they were considered active against the parasite. Neither of the extracts caused any cytotoxicity on MRC-5 cells. *Aloe vera*, *Artemisia vulgaris*, *Centrosema virginianum* and *Chenopodium ambrosioides* extracts did not show any activity against the parasite.

Conclusion: the potential activity of *Argemone mexicana* and *Carica papaya* extracts against the parasite was demonstrated, supporting the continuity of the phytochemical and pharmacological studies.

Keywords: *Toxocara canis*, in vitro anthelmintic activity, medicinal plants, *Argemone Mexicana*, *Carica papaya*.

INTRODUCCIÓN

La toxocariasis humana es causada por la migración larval a través de órganos y tejidos, de dos especies de nematodos (*Toxocara canis* y *Toxocara cati*), cuyos hospederos definitivos son el perro y el gato domésticos.¹ En el humano, la infección ocurre al ingerir de forma accidental huevos que han embrionado en el ambiente.² Dentro del cuerpo humano, las larvas que emergen de los huevos, llegan a la circulación sistémica y se diseminan por tejidos y órganos, sin diferenciación, ni reproducción. La migración larval causa una reacción inflamatoria que puede matar a la larva, o forzarla a entrar en un estado hipobiótico, en el que puede sobrevivir durante años. Determinados estímulos pueden provocar la reactivación de la larva, que comenzará a migrar nuevamente.³

Aunque la toxocariasis humana puede transcurrir de manera asintomática, también pueden presentarse cuadros clínicos que van desde la toxocariasis encubierta, con síntomas y signos inespecíficos y de importancia menor, hasta síndromes más graves como el de larva *migrans* visceral, causado por la migración a través de órganos importantes como hígado y pulmones y el de larva *migrans* ocular, motivado por la migración a través de las estructuras de los ojos⁴. *T. canis* ha sido reportado en Cuba como la segunda especie de helminto que parasita canes callejeros y domésticos, y la contaminación del suelo con huevos embrionados del parásito, en parques y zonas públicas de La Habana.⁵⁻⁷ Reciente, se demostró que escolares de los municipios San Juan y Martínez y Fomento, de las provincias Pinar del Río y Sancti Spíritus, se encontraban muy expuestos al parásito.⁸

Los medicamentos usados para el tratamiento de la toxocariasis humana, se caracterizan por poseer poca solubilidad lo que ocasiona baja biodisponibilidad en los tejidos, lo que conlleva a la administración de dosis altas por períodos de tiempo prolongados.⁹ Además, se ha informado que en algunos pacientes el cuadro clínico no remite en su totalidad luego del tratamiento.¹⁰ Esto hace necesario que se desarrollen nuevas opciones terapéuticas.

Al tener en cuenta que numerosas plantas medicinales han sido usadas desde tiempos antiguos por el hombre, para tratar las helmintiasis, se considera este grupo de plantas como una posible fuente de nuevos compuestos que pudieran ser útiles para el tratamiento de la toxocariasis humana. En Cuba numerosas especies vegetales han sido usadas desde tiempos antiguos por la población para combatir los vermes.¹¹ Esto unido al llamado realizado por el Ministerio de Salud Pública (MINSAP) de Cuba, para impulsar el estudio de la flora medicinal del país, motivó el desarrollo de la presente investigación, para evaluar el efecto de extractos de plantas medicinales cubanas contra larvas de *T. canis*. En el caso de *Carica papaya*, a diferencia del resto de las especies vegetales estudiadas, de las cuales se prepararon extractos hidroalcohólicos, se preparó un extracto enriquecido en alcaloides, pues estos ya han mostrado un efecto antiparasitario.¹²

MÉTODOS

Antihelmínticos

Se usaron como referencia albendazol (Chagzhou Yabang, China) y tiabendazol (Hikald Limited Company(LTD), China) y mebendazol (Parth Overseas, India), donados por el Laboratorio Farmacéutico "Reinaldo Gutiérrez".

Parásitos

Parásitos adultos de *T. canis* se colectaron de cachorros de *Canis familiaris* infectados de manera natural, a los que se les realizó eutanasia en el Centro de Control y Observación Canina del MINSAP, situado en La Lisa, La Habana. Los huevos se extrajeron del útero de las hembras adultas, mediante disección y se embrionaron en H₂SO₄ 1M, a temperatura ambiente. Los huevos embrionados se incubaron durante 10 min, en una solución de hipoclorito de sodio al 5 %, que permitió disolver la cubierta externa. Luego de lavados sucesivos con solución salina tamponada con fosfatos, las larvas se liberaron mediante homogenización mecánica. Por último, las larvas se

suspendieron en medio *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI (SIGMA)) y se transfirieron a un aparato de Baermann en condiciones de esterilidad, para separarlas de huevos no embrionados u otros restos. Las larvas se mantuvieron en medio RPMI, suplementado con L-glutamina (2mM), a 37 °C, en atmósfera de CO₂al 5 %, hasta su uso posterior.

Selección de las plantas y preparación de los extractos

Se realizó una selección de plantas medicinales cuyo uso antiparasitario se encuentra recogido en un texto clásico de la etnobotánica en Cuba "Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba", escrito por Juan Tomás Roig.¹¹ Las plantas se colectaron e identificaron por especialistas del Jardín Botánico Nacional y del Instituto de Ecología y Sistemática. Las especies de plantas colectadas, las partes usadas para obtener los extractos, el lugar de colecta, así como su número de entrada en herbarios reconocidos, se muestran en la [tabla 1](#).

Tabla 1. Criterios para evaluar el efecto *in vitro* de los extractos vegetales o de los medicamentos de referencia, sobre las larvas de *T. canis* (Kiuchi F y col, 1987)

Estado de la larva	Puntuación (n)
En movimiento	3
En movimiento usando solo una parte del cuerpo	2
Inmóvil pero no muerta	1
Muerta	0

Índice de movilidad (IM) = $\Sigma nNn / \Sigma Nn$, donde Nn: número de larvas con una puntuación n.

Movilidad relativa (MR) = $MImuestra / MIcontrol \times 100$.

Para la preparación de los extractos hidroalcohólicos, las plantas se sometieron a un proceso de secado y pulverización y los extractos se obtuvieron por maceración, se utilizó etanol al 80 %, por 7 días. Transcurrido ese periodo de tiempo el solvente se evaporó y finalmente las soluciones se llevaron a sequedad mediante liofilización. En el caso de la *Carica papaya* se preparó un extracto enriquecido en alcaloides, para el cual el material seco y molido se maceró durante 21 días con metanol, luego se filtró y se concentró hasta la tercera parte de su volumen y se lavó con éter de petróleo. La fracción metanólica se concentró a sequedad y se añadió ácido sulfúrico al 1 %. La fracción ácida se lavó con cloroformo y la fracción clorofórmica se concentró.¹³ Para los ensayos se preparó una solución inicial de cada extracto a 20 mg/mL, para la cual se usó dimetilsulfóxido (DMSO) como solvente.

Ensayo de actividad contra larvas de *T. canis*

La actividad antihelmíntica se determinó con la ayuda del procedimiento descrito por Márquez-Navarro Aycolaboradores¹⁴ con algunas modificaciones. De manera abreviada, el ensayo se realizó en placas de 96 pozos de fondo plano. En cada pozo, se depositaron 25 larvas de *T. canis* que se incubaron con las soluciones problema, a concentraciones finales de 0,01; 0,05 y 0,1 mg/mL, en un volumen final de 200 µl/pozo. Se incluyeron controles de solvente y larvas sin tratar. El estado de las larvas se comprobó cada 24h bajo el microscopio invertido, hasta transcurrir 72 h.

La actividad larvicia se midió en términos de movilidad relativa (MR), se utilizó el sistema de puntuación que desarrollaron Kiuchi y colaboradores,¹⁵ como aparece en la [tabla 2](#). Menor valor de MR indica una actividad nematicida superior. Se consideraron activos aquellos extractos que a una concentración de 0,1 mg/mL provocaron una movilidad relativa por debajo del 80% a las 72h.¹⁶ Los ensayos se realizaron en triplicado y se confirmaron en tres experimentos independientes.

Tabla 2. Datos de las especies vegetales evaluadas

Especie (Familia)	Nombre común	Usos de interés ¹	Lugar de colecta	Parte colectada	Número de registro ²
<i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f. (Xanthorrhoeaceae)	sábila	antihelmíntico	Ceiba del Agua, Artemisa	hojas	HAC42671
<i>Argemone mexicana</i> L. (Papaveraceae)	cardo santo	antimalárica	JBN	follaje	HFC87090
<i>Artemisia absinthium</i> L. (Asteraceae)	incienso	expulsar lombrices	Ceiba del Agua, Artemisa	follaje	HAC42673
<i>Carica papaya</i> L. (Caricaceae)	papaya o fruta bomba	cura de tricocéfalos, contra gusanos intestinales y vermicida	Instituto de Farmacia y Alimentos, La Habana	hojas	HAC43049
<i>Centrosema virginianum</i> (L.) Benth. (Papilionaceae)	papito de la reina	contra las lombrices	La Chata, La Habana	partes aéreas	HAC43030
<i>Chenopodium ambrosioides</i> L. (Chenopodiaceae)	apasote	Vermífugo, antiparasitario	Ceiba del Agua, Artemisa	partes aéreas	ROIG4639

¹Roig y Mesa JT. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. La Habana: Editorial Científico-Técnica; 1974.

²HFC: Herbario del Jardín Botánico nacional, serie de flora cubana, HAC: Herbario del Instituto de Ecología y Sistemática, ROIG: Herbario de la estación experimental de plantas medicinales "Dr. Juan Tomás Roig"

Ensayo de citotoxicidad

Células MRC-5 (fibroblastos humanos de pulmón) se incubaron en Medio Mínimo Esencial, que se suplementó con L-glutamina (20 mM), 16,5 mM de hidrógeno carbonato de sodio y suero fetal bovino al 5%, a 37 °C en atmósfera de CO₂ al 5 %.¹⁷ Para el ensayo se depositaron 100 µl de la suspensión, que contenía 15 000 células, en cada pozo de una placa de 96 pozos para cultivo. Luego de la formación de la monocapa, se retiró con cuidado el medio de cultivo y se añadieron los extractos diluidos en el medio de cultivo, en un rango desde 1,56 hasta 200 µg/mL. Los fibroblastos se mantuvieron durante 72 h, en atmósfera de CO₂ al 5 %. Dimetil sulfóxido al 0,1 % y cultivos sin tratar se incluyeron como controles. La citotoxicidad se determinó mediante el ensayo con bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT, SIGMA, St. Louis, MO, EUA).¹⁸ De forma abreviada, luego del período de incubación, el medio se sustituyó por uno fresco al que se añadió MTT (0,5 mg/mL) y las placas se incubaron a 37 °C durante 4 h. Transcurrido ese periodo de tiempo el medio se extrajo y se adicionaron 100 µl de DMSO.

La cantidad de formazan formada se detectó mediante la determinación de la densidad óptica en un lector de ELISA (MRX Revelation, Dynex Technology) a 560 nm, se utilizó la lectura a 630 nm como referencia. Los ensayos se realizaron por triplicado y se confirmaron en doce experimentos. Para finalizar se calculó el porcentaje de inhibición para determinar mediante interpolación lineal, la concentración citotóxica media (CC50).

RESULTADOS

Una vez colectadas las plantas, se prepararon extractos hidroalcohólicos y se determinó el efecto de los mismos sobre el cultivo *in vitro* de larvas de *T. canis*. Los resultados de la actividad larvicida se muestran en la [tabla 3](#). El valor del control se fijó a 100% y se correspondió con un máximo de movilidad. La MR en el control de solvente fue del 100 %, lo que indicó que el DMSO no interfiere con la determinación de la actividad larvicida. De los extractos ensayados, el extracto de *Argemone mexicana* y el extracto de *C. papaya* enriquecido en alcaloides resultaron activos contra las larvas de *T. canis* (MR a las 72h: $56,1 \pm 11,6\%$ y $67,1 \pm 0,99\%$). El efecto larvicida comenzó a manifestarse desde las primeras 24h, incrementándose el valor de la MR con el tiempo de incubación. Los extractos de *Aloe vera*, *Artemisia vulgaris*, *Centrosema virginianum* y *Chenopodium ambrosioides* no mostraron actividad larvicida.

Tabla 3. Actividad *in vitro* de especies de plantas medicinales cubanas o medicamentos de referencia contra larvas de *Toxocara canis*. Media de la movilidad relativa determinada en el tiempo para tres concentraciones de cada extracto vegetal o medicamento, en tres intervalos de tiempo

Principios activos de medicamentos usados en el tratamiento de la toxocariasis, se ensayaron para comparar la actividad larvicida de los extractos. Albendazol, mebendazol y tiabendazol, resultaron activos contra el parásito, provocó valores de MR similares entre ellos, pero no ocasionaron la mortalidad de todas las larvas, ni a la dosis mayor ensayada, transcurridas 72h. En este caso el efecto inhibitorio de la movilidad se comenzó a manifestar una vez transcurridas las 48 h.

A los extractos activos contra el parásito se les determinó la citotoxicidad sobre células MRC-5. No se encontró toxicidad para el extracto de *C. papaya*, enriquecido en alcaloides, ni para el extracto de *A. mexicana*, a la dosis mayor ensayada de 200 μ g/mL.

DISCUSIÓN

La importancia de los productos naturales en la medicina moderna ha sido reconocida.¹⁹ Varios medicamentos se han originado de productos naturales, en especial antiparasitarios. Por ejemplo, dos de las principales drogas antimaláricas, la quinina y la artemisinina, se derivaron de plantas medicinales.²⁰ Recién, se señaló la necesidad de encontrar nuevos antihelmínticos.²¹ Esto es válido de manera particular en el caso de la toxocariasis humana, pues los medicamentos recomendados, que pertenecen al grupo de los carbamatos benzimidazólicos, se caracterizan por poseer baja biodisponibilidad en los tejidos, debido a su baja solubilidad, lo que provoca un incremento en las dosis usadas y la prolongación del tratamiento.⁹ A pesar de esto, se han publicado pocos reportes acerca de la evaluación del efecto *in vitro* de productos sintéticos o naturales sobre las larvas de *T. canis*.

De las especies estudiadas, solamente *C. papaya* y *A. mexicana* resultaron activas contra el parásito. Según la búsqueda realizada en la literatura internacional es la primera vez que se evalúan contra el parásito. Sin embargo, de la primera especie se ha reportado que posee proteinasas de tipo cisteína con actividad nematicida. Por ejemplo, una dosis única de 450 μ mol de esas proteinasas proveen mayor eficacia contra la infección por *Trichuris suis* en cerdos, que una dosis oral de 400 mg de albendazol. Este hallazgo sugirió a los autores la posibilidad de obtener y validar una formulación oral para aplicación humana.²² Por otra parte, también se ha descrito actividad antiprotozoaria para extractos de esta planta, pero asociados a la presencia de alcaloides extraídos de las hojas. Una investigación, basada en informes etnobotánicos provenientes de Indonesia, señalaron a la carpaína como contribuyente a la alta actividad antiplasmoidal *in vitro*, pero que no se mantuvo en el modelo murino *in vivo*.¹² En la presente investigación se ensayó de manera especial una fracción enriquecida en alcaloides, entre los que se encontraba la carpaína, que se identificó mediante estudios de resonancia magnética nuclear.¹³

En cuanto a *A. mexicana*, el resultado sorprendió desde el punto de vista etnobotánico, al ser esta la única especie incluida en la investigación, para la cual no se había descrito el uso como antihelmíntica en Cuba. Al revisar la literatura internacional solo encontramos un reporte del estudio *in vitro* de algunas especies de la flora mexicana contra larvas de cuarto estadio de *Haemonchus contortus*, pero esta especie no se encontró entre las activas.²³ Un nuevo fitofármaco con propiedades antimaláricas derivado de la medicina tradicional denominado decocción de *A. mexicana* estaba en proceso de ser aprobado en Mali.²⁴

Anterior a eso se había demostrado la actividad antimarialaria *in vitro* para extractos preparados en solventes polares o acuosos preparados mediante decocción.²⁵

Contrasta con nuestros resultados, el reporte de actividad toxocaricida de dos extractos de *C. ambrosiooides* que fueron preparados, usando diclorometano y hexano. Este estudio fue desarrollado en Japón y los extractos resultaron efectivos *in vitro* contra las larvas, aún a la concentración más baja ensayada de 0,01 mg/mL.²⁶ La discrepancia pudiera deberse a la diferencia en los métodos de extracción, que pudiera redundar en diferencias en la composición química de los extractos, tanto en cantidad, como en calidad de los metabolitos. Las propiedades antihelmínticas de *C. ambrosiooides* se consideran históricamente debidas al monoterpeno ascaridol.²⁷ Sin embargo más cercano a los días MacDonald y colaboradores verificaron que infusiones libres de ascaridol retenían las propiedades antinematódicas contra *Caenorhabditis elegans*.²⁸ Lo que indica la presencia dentro de los metabolitos igual de importantes.

No se encontró informes de actividad antihelmíntica para *C. virginianum*, *A. vera*, ni para *A. vulgaris*. Esta última pertenece a la familia Asteraceae, que comprende especies con actividad toxocaricida. Por ejemplo, el extracto metanolico de *Artemisia capillaris*, a concentración de 0,1 mg/mL, redujo la movilidad de las larvas por debajo del 80 %, acompañado de baja toxicidad a células J774.1.²⁹ Por otro lado, la administración oral del aceite de *Artemisia absinthium* a mascotas felinas, infectadas de manera natural por *T. cati*, produjo una reducción del número de huevos excretados/gramos de heces.³⁰

Aunque no existe consenso en la droga para el tratamiento de la toxocariasis humana, albendazol es el medicamento más usado,^{3,4} seguido de tiabendazol y mebendazol. Sin embargo, como ha sido comprobado por varios autores, los dos primeros presentan una débil acción *in vitro* contra las larvas del parásito.^{14,16,26} Hecho que también fue corroborado en los experimentos. Similares resultados se obtuvieron para el mebendazol. Es de destacar que cuando estas drogas han sido ensayadas *in vivo* en modelos murinos de infección experimental, producen una marcada inhibición de la migración larvaria en los tejidos.³¹⁻³³

En el presente trabajo se identificaron dos especies de plantas medicinales cubanas como promisorias debido no solo al efecto contra las larvas *in vitro*, sino también a la ausencia de toxicidad sobre fibroblastos humanos. Son necesarios experimentos *in vivo*, en el modelo de infección experimental murino, como hospedero paraténico del parásito, para verificar el efecto sobre la carga larvaria en los tejidos. De confirmarse la actividad, el fraccionamiento guiado por bioensayos, permitirá aislar e identificar los metabolitos responsables.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fisher M. *Toxocara cati*: an underestimated zoonotic agent. Trends in Parasitology. 2003;19(4):167-70.
2. Dunsmore JD, Thompson RC, Bates IA. Prevalence and survival of *Toxocara canis* eggs in the urban environment of Perth, Australia. Veterinary Parasitology. 1984;16(3-4):303-11.

3. Magnaval JF, Glickman LT, Dorchies P, Morasson B. Highlights of human toxocariasis. *Korean Journal of Parasitology*. 2001;39(1):1-11.
4. Pawlowski Z. Toxocariasis in humans: clinical expression and treatment dilemma. *Journal of Helminthology*. 2001;75(4):299-305.
5. Hernández R, Núñez FA, Pelayo L. Potencial zoonótico de las infecciones por helmintos intestinales en perros callejeros de Ciudad de La Habana. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 2007;59(3):234-40.
6. Duménigo B, Lau N, Bravo JR. Prevalencia de *Toxocara canis* en perros caseros de Ciudad de La Habana. *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 1994;46(2):99-102.
7. Laird RM, Carballo D, Reyes EM, García R, Prieto V. *Toxocara* sp. en parques y zonas públicas de Ciudad de La Habana, 1995. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*. 2000;38(2):112-6.
8. Sariego I, Kanobana K, Junco R, Vereecken K, Nunez FA, Polman K, et al. Frequency of antibodies to *Toxocara* in Cuban schoolchildren. *Tropical Medicine & International Health*. 2012;17(6):711-4.
9. Hrckova G, Velebny S. Treatment of *Toxocara canis* infections in mice with liposome-incorporated benzimidazole carbamates and immunomodulator glucan. *Journal of Helminthology*. 2001;75(2):141-6.
10. Othman AA. Therapeutic battle against larval toxocariasis: are we still far behind? *Acta Tropica*. 2012;124(3):171-8.
11. Roig y Mesa J. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. La Habana: Editorial Científico-Técnica; 1974.
12. Julianti T, De Mieri M, Zimmermann S, Ebrahimi SN, Kaiser M, Neuburger M, et al. HPLC-based activity profiling for antiplasmodial compounds in the traditional Indonesian medicinal plant *Carica papaya* L. *Journal of Ethnopharmacology*. 2014;155(1):8.
13. Cuellar-Cuellar A, Scull-Lizama R, Martínez Armenteros Y, Fernández-Calienes A, Monzote L. Evaluación preliminar de la composición química de las hojas de *Carica papaya* L y del efecto antiprotozoario de un extracto enriquecido en alcaloides a partir de la misma. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*. 2012;4(2):364-76.
14. Marquez Navarro A, Nogueda Torres B, Hernandez Campos A, Soria Arteche O, Castillo R, Rodriguez Morales S, et al. Anthelmintic activity of benzimidazole derivatives against *Toxocara canis* second-stage larvae and *Hymenolepis nana* adults. *Acta Trópica*. 2009;109(3):232-5.
15. Kiuchi F, Miyashita N, Tsuda Y, Kondo K, Yoshimura H. Studies on crude drugs effective on visceral larva migrans. I. Identification of larvical principles in betel nuts. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*. 1987;35(7):2880-6.

16. Satou T, Horiuchi A, Akao N, Koike K, Fujita K, Nikaido T, et al. *Toxocara canis*: search for a potential drug amongst beta-carboline alkaloids: *in vitro* and mouse studies. *Experimental Parasitology*. 2005;110(2):134-9.
17. Cos P, Vlietinck A, Berghe D, Maes L. Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger *in vitro* 'proof-of- concept'. *Journal of Ethnopharmacology*. 2006;106: 290-302.
18. Mossman T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay. *Journal of Immunological Methods*. 1983;65(1-2):55-63.
19. Chin YW, Balunas MJ, Chai HB, Kinghorn AD. Drug discovery from natural sources. *AAPS Journal*. 2006;8(2):E239-53.
20. Saxena S, Pant N, Jain DC, Bhakuni RS. Antimalarial agents from plant sources. *Current Science*. 2003;85(9):1314-29.
21. McCarty TR, Turkeltaub JA, Hotez PJ. Global progress towards eliminating gastrointestinal helminth infections. *Current Opinions in Gastroenterology*. 2014;30(1):18-24.
22. Levecke B, Buttle DJ, Behnke JM, Duce IR, Vercruyse J. Cysteine proteinases from papaya (*Carica papaya*) in the treatment of experimental *Trichuris suis* infection in pigs: two randomized controlled trials. *Parasite Vectors*. 2014;7:255.
23. Aguilar HH, De Gives PM, Sánchez DO, Arellano ME, Hernández EL, Aroche UL, et al. *In vitro* nematocidal activity of plant extracts of mexican flora against *Haemonchus contortus* fourth larval stage. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2008;1149:158-60.
24. Willcox ML, Graz B, Falquet J, Diakite C, Giani S, Diallo D, et al. A "reverse pharmacology" approach for developing an anti-malarial phytomedicine. *Malaria Journal*. 2011;10(Suppl 1):S8.
25. Diallo D, Diakite C, Mounkoro PP, Sangare D, Graz B, Falquet J, et al. Knowledge of traditional healers on malaria in Kendi (Bandiagara) and Finkolo (Sikasso) in Mali. *Mali Medicine*. 2007;22(4):1-8.
26. Reis M, Trinca A, Ferreira MJ, Monsalve-Puello AR, Gracio MA. *Toxocara canis*: potential activity of natural products against second-stage larvae *in vitro* and *in vivo*. *Experimental Parasitology*. 2010;126(2):191-7.
27. Nelson EK. The composition of oil of *Chenopodium* from various sources. *Journal of the American Chemical Society*. 1920;42(6):1204-8.
28. MacDonald D, VanCrey K, Harrison P, Rangachari PK, Rosenfeld J, Warren C, et al. Ascaridole-less infusions of *Chenopodium ambrosioides* contain a nematocide(s) that is(are) not toxic to mammalian smooth muscle. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004;92(2-3):215-21.

29. Satou T, Akao N, Koike K, Watanabe I, Fujita K, Nikaido T, et al. A new method for identifying potential remedies for larva *migrans* using crude extracts (I). Natural Medicines. 2003;57(1):7-11.
30. Yildiz K, Basalan M, Duru O, Gokpinar S. Antiparasitic efficiency of *Artemisia absinthium* on *Toxocara cati* in naturally infected cats. Turkiye Parazitolojii Dergisi. 2011;35(1):10-4.
31. Fok E, Kassai T. *Toxocara canis* infection in the paratenic host: a study on the chemosusceptibility of the somatic larvae in mice. Veterinary Parasitology. 1998;74(2-4):243-59.
32. Abdel-Hameed AA. Effect of thiabendazole on the migration of *Toxocara canis* larvae in the mouse. The Journal of Parasitology. 1984;70(2):226-31.
33. Bardon R, Cuellar C, Guillen JL. Evaluation by larval recovery of mebendazole activity in experimental murine toxocariasis. International Journal for Parasitology. 1995;25(5):587-92.

Recibido: 6 de enero de 2015.

Aprobado: 10 de junio de 2015.

Idalia Sariego Ramos . Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”. Autopista Novia del Mediodía Km 6 ½, Apartado Postal 601. La Lisa, La Habana, Cuba.

Correo electrónico: idalia@ipk.sld.cu