


## Ácidos grasos y terpenos del extracto metanólico de *Artemisia cina* como posibles responsables del efecto ovicida sobre *Haemonchus contortus*



Luis David Arango-De la Pava <sup>a</sup>

Héctor Alejandro De la Cruz-Cruz <sup>a</sup>

Jorge Alfredo Cuéllar-Ordaz <sup>a</sup>

Alejandro Zamilpa <sup>b</sup>

Manasés González-Cortazar <sup>b</sup>

María Eugenia López-Arellano <sup>c</sup>

Rosa Isabel Higuera-Piedrahita <sup>a\*</sup>

Raquel López-Arellano <sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Estado de México, México.

<sup>b</sup> Instituto Mexicano del Seguro Social. Centro de Investigación Biomédica del Sur. Xochitepec, Morelos, México.

<sup>c</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad. Laboratorio de Helmintología. Morelos, México.

\*Autor de correspondencia: [lopezar@unam.mx](mailto:lopezar@unam.mx); [rhuera05@comunidad.unam.mx](mailto:rhuera05@comunidad.unam.mx)

### Resumen:

*Haemonchus contortus* es un nematodo hematófago con alta tasa de reproducción, considerado como el principal problema en pequeños rumiantes en pastoreo. Por tanto, se buscan alternativas de tratamiento con base en el uso de los extractos vegetales. El objetivo

de este estudio fue evaluar la actividad ovicida de *Artemisia cina* contra el parásito *Haemonchus contortus* y caracterizar químicamente el extracto con mayor actividad biológica a través de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-MS). La obtención de los extractos a evaluar, se realizó con la técnica de maceración utilizando metanol, acetato de etilo y n-hexano. Los extractos se llevaron a sequedad total y se desafiaron frente a los huevos de *H. contortus* utilizando la técnica de inhibición de la eclosión de huevos descrita por la Asociación Mundial para el Avance de la Parasitología Veterinaria (WAAVP, por sus siglas en inglés). El extracto metanólico (EM) mostró el 100 % de actividad ovicida a una concentración de 4.25 mg/ml, siendo el más activo a una baja concentración, por tanto se caracterizó con CG-MS. EL EM posee principalmente ácidos grasos y terpenos; de ellos, el ácido hexadecanoico y el 2-[4-metil-6-(2,6,6-trimetilciclohex-1-enil) exa-1,3,5-trienil][ciclohex]-1-en-carboxialdehído. Los compuestos caracterizados han mostrado actividad antihelmíntica previamente reportada, por lo que la actividad ovicida puede estar asociada a estos. En conclusión, el extracto metanólico de *A. cina* tuvo una mayor actividad ovicida a bajas concentraciones, esto se debe probablemente a la presencia de ácidos grasos y terpenos.

**Palabras clave:** *Artemisia cina*, *Haemonchus contortus*, Eclosión huevos, Antihelmíntico.

Recibido: 18/05/2023

Aceptado: 02/10/2023

La infección por *Haemonchus contortus* es uno de los mayores desafíos que enfrenta la producción de ovinos y caprinos en todo el mundo. Este parásito nematodo es altamente virulento y tiene un gran impacto económico debido a la pérdida de producción y la necesidad de controlar la infección<sup>(1)</sup>.

La resistencia a los antihelmínticos utilizados comúnmente ha sido un problema creciente en la lucha contra *H. contortus*<sup>(2)</sup>. Aunque las opciones para el manejo sostenible como las que contempla el control integrado de parásitos son una fuerte alternativa, aún se requieren más estudios que validen los métodos y coadyuven a la reducción de resistencia o la protección de las moléculas presentes en el mercado<sup>(3)</sup>.

La respuesta inmune del hospedador ante la presencia de *H. contortus* es un factor clave para contrarrestar la infección, de tal forma que permite clasificar a los individuos del rebaño en animales resistentes, resilientes o susceptibles. La resistencia se asocia a una nula carga parasitaria y bajo impacto sobre los parámetros productivos del rebaño<sup>(4)</sup>. Sin embargo, los individuos susceptibles, que en ocasiones son menor número, pero que se ven severamente

afectados por el daño de las nematodosis requieren tratamientos frecuentes, induciendo a problemas por resistencia antihelmíntica. Por ello, es necesario la identificación de nuevas moléculas con potencial antiparasitario<sup>(4)</sup>.

La identificación de nuevas moléculas y compuestos que tienen actividad contra parásitos es un área en constante evolución. Se ha demostrado que algunas plantas tienen propiedades antihelmínticas, incluyendo efectos contra *H. contortus*<sup>(5)</sup>. Actualmente el control antiparasitario debe centrarse en estrategias sostenibles y sustentables que tengan el menor impacto posible para el ambiente, además de disminuir la presión a las cepas de nematodos en constante mutación y selección a genes asociados a la resistencia. Los esfuerzos deben orientarse a buscar compuestos que puedan causar daño al parásito, reduciendo sus poblaciones o incluso revirtiendo la sobreexpresión de genes responsables de la resistencia antihelmíntica<sup>(6)</sup>.

El género *Artemisia* contiene diferentes especies con actividad antihelmíntica comprobada, entre ellas *A. cina* que se ha utilizado en la medicina tradicional como antiparasitario junto con plantas de su misma especie, tienen grandes efectos sobre parásitos intracelulares, nematodos o incluso cestodo<sup>(7)</sup>.

El género *Artemisia* biosintetiza diferentes metabolitos secundarios como: sesquiterpenos, diterpenos, esteroides, fenoxicromenos, fenilpropanos, flavonoides, cumarinas, isofenilcumarina, ácido cafeoilquínico, acetilenos y lignanos que son los responsables de la actividad antihelmíntica<sup>(8)</sup>. Dentro de las moléculas con actividad antiparasitaria reportada se encuentran artemisinina, santonina, norisoguaicina y 3'-demetoxi-6-O-dimetilisoguaiacina<sup>(9-11)</sup>; otros autores como Sakipova *et al*<sup>(10)</sup> han reportado la presencia de artemisinina y santonina<sup>(10)</sup>. *Artemisia cina* demuestra ser una planta con un alto potencial antihelmíntico sobre nematodos y cestodos de importancia veterinaria<sup>(8,12)</sup>. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad ovicida de *Artemisia cina* contra el parásito *Haemonchus contortus* y proponer las estructuras de las moléculas volátiles mayoritarias del extracto con mayor actividad antihelmíntica a través de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.

**Material vegetal:** Las partes aéreas previamente secas y molidas de *Artemisia cina* en estado de prefloración (40 a 60 cm de altura) fueron proporcionadas por laboratorios Hunab®, México, quienes producen la planta de forma comercial en las siguientes condiciones: humedad de 24.6 %, pH 8.7 y salinidad de 1.6 %. La planta con número de voucher No. 11967 fue identificada como *Artemisia cina* por Dr. Alejandro Torres-Montúfar del herbario de FES Cuautitlán, Cuautitlán, Estado de México.

**Obtención del extracto vegetal:** Se utilizaron muestras de 1 kg aproximadamente de material vegetal para realizar la extracción en solvente por medio de maceración por 72 h a

temperatura ambiente, utilizando metanol, acetato de etilo y *n*-hexano para obtener extractos de alta, mediana y baja polaridad respectivamente. Pasado el tiempo de maceración, se filtró usando gasa, algodón y papel filtro (Whatman® #4). El filtrado resultante fue concentrado a presión reducida a 40 °C y 100 rpm en un rotavapor DLAB RE-100 Pro®. El extracto resultante se secó al vacío y almacenado en un desecador a presión, reducida hasta su uso.

Análisis cromatográfico en capa fina (TLC): Se utilizaron cromatofolios de aluminio Merck® con las siguientes condiciones sílica gel 60 F254. La fase móvil que se utilizó para realizar la elución de los extractos fue 5:5 *n*-hexano:acetato de etilo. Para cada carril, se aplicaron 15 µl de una solución de 16 mg/ml de cada uno los extractos y la referencia, por tanto, la mayor intensidad de las bandas corresponde a una mayor concentración. La referencia, fue el extracto de *n*-hexano reportado por Higuera Piedrahita *et al*(21), del cual se encuentra reportada la actividad antihelmíntica de *A. cina* sobre huevos de *Haemonchus contortus*. Las placas de cromatografía fueron revisadas a dos longitudes de onda (254 y 365 nm) antes de su revelado con sulfato cérico. Se calculó el factor de retención ( $R_f$ ) con la siguiente ecuación:

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida del soluto}}{\text{Distancia recorrida del disolvente}} \quad (1)$$

Inhibición de la eclosión de huevos (IEH): Los huevos de *Haemonchus contortus* se obtuvieron de la cepa aislada y mantenida en la FES Cuautitlán. La IEH se realizó en placas ELISA de 96-pozos, el protocolo que se utilizó fue el reportado por Coles *et al*(13) en donde se utilizaron 100 huevos por pozo con cuatro repeticiones, los huevos expuestos a los tratamientos se incubaron en cámara húmeda durante 48 h previo a su lectura. La lectura de IEH se realizó utilizando una solución de yodo-lugol, que se agregó a cada pozo después de la incubación. El número de huevos sin eclosionar (muertos y larvados) y las larvas 1 fueron contabilizados para determinar el porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos utilizando un microscopio con aumento de 10 X (Olympus, modelo CK-2, Japón®). Como control positivo se usó ivermectina (5 mg/ml) y agua como control negativo. Las fotografías se tomaron en el objetivo de 40X, utilizando una cámara CMOS HK-10 y el software ISCapture V3.6.6

Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS): Los componentes volátiles presentes en el extracto crudo de mayor actividad en la inhibición de la eclosión de huevos de *H. contortus*, se analizaron por GC-MS utilizando un cromatógrafo de gases HP Agilent Technologies 6890 acoplado a un detector de masas cuadrupolo MSD 5973 (HP Agilent) y una columna capilar HP-5 MS. (longitud: 30 m; diámetro interior: 0.25 mm; espesor de película: 0.25 µM). Se ajustó un flujo constante de helio como gas portador a la columna a 1 ml/min. La temperatura de entrada se fijó en 250 °C, mientras que la temperatura del horno se mantuvo inicialmente a 40 °C durante 1 min y se aumentó a 280 °C a intervalos

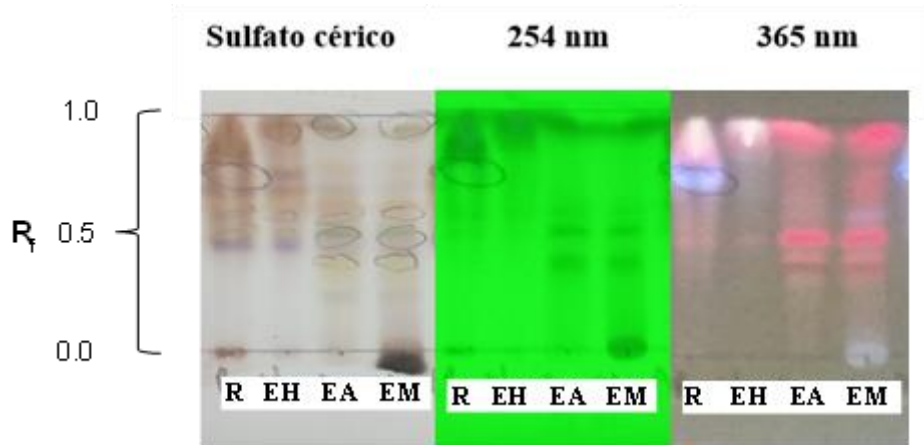
de 10 °C/min. El espectrómetro de masas se utilizó en modo de impacto de electrones positivos con una energía de ionización de 70 eV. La detección se realizó en modo de monitorización selectiva de iones. Las señales se identificaron y cuantificaron utilizando iones objetivo. Los compuestos se identificaron comparando sus espectros de masas con la biblioteca NIST versión 1.7a. Los porcentajes relativos se determinaron integrando las señales utilizando el software GC Chem Station, versión C.00.01. La composición se informó como un porcentaje del área total de la señal.

**Análisis estadístico:** se realizaron tres repeticiones por duplicado de cada extracto. Se calcularon las  $CL_{50}$  y  $CL_{90}$  por medio de un análisis PROBIT, utilizando el software SAS 9.0. Se obtuvo el promedio y error estándar de la media para cada extracto, se realizó una comparación múltiple de medias de Tukey al 95% de confianza por medio del programa Statgraphics.

La extracción por polaridad de los extractos de *Artemisia cina* permitieron obtener los siguientes porcentajes de rendimiento: el extracto de metanol (EM) presentó un porcentaje de rendimiento de 4.1 %, el de acetato de etilo (EA) 3.86 % y el extracto de *n*-hexano (EH) 1.09 %. Siendo el EM el que presentó el mayor rendimiento, seguido del EA y EH respectivamente.

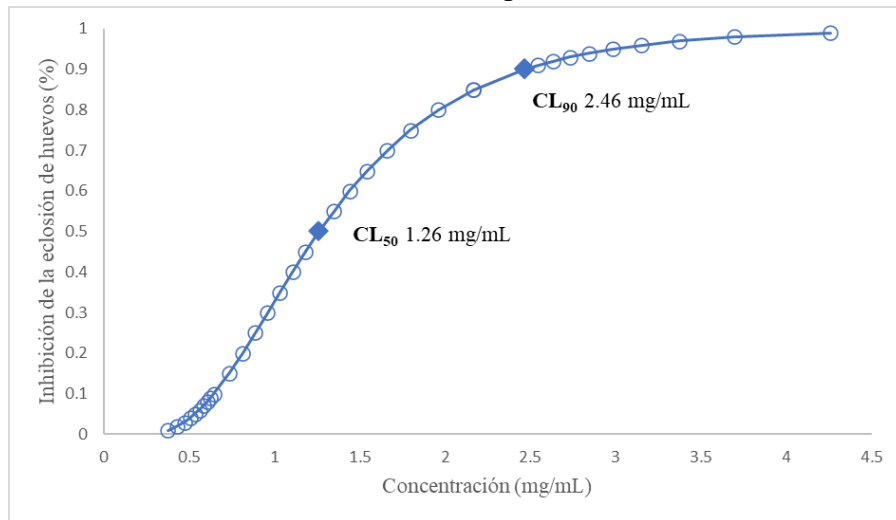
En la comparación del perfil químico de los diferentes extractos por medio de cromatografía en capa fina (TLC), se utilizó un sistema *n*-hexano:acetato de etilo (5:5), el cual permitió la separación de un mayor número de bandas con respecto a otros sistemas. En ese sistema se pudo observar la diferencia del perfil químico de cada uno de los extractos, donde el EH presenta la mayor concentración de compuestos entre los factores de retención ( $R_F$ ) 0.5 y 1.0, el EA entre 0.4 y 0.7 y el EM en 0.0. De acuerdo al  $R_F$  e intensidad de las bandas, los compuestos presentes en el EH son principalmente de baja polaridad, los del EA son de mediana polaridad y los del EM de mayor polaridad con respecto a los demás extractos (Figura 1). Los extractos resultantes fueron obtenidos por medio de una maceración simple usando diferente material vegetal para cada solvente evitando extracciones exhaustivas.

**Figura 1:** Cromatografía en capa fina de referencia (R), los extractos de *n*-hexano (EH), acetato de etilo (EA) y metanol (EM) y Fase móvil:*n*-hexano:acetato de etilo 5:5, revelador: sulfato cérico



Una vez observada la diferencia en la composición química de los tres extractos, se evaluó la inhibición de la eclosión de huevos de *H. contortus*. En donde se observó una relación dosis-respuesta (Figura 2) en la IEH, lo que permitió utilizar el análisis Probit para calcular la CL<sub>50</sub> y CL<sub>90</sub> de los tres extractos.

**Figura 2:** Concentraciones letales CL<sub>50</sub> y CL<sub>90</sub> requeridas para inhibir la eclosión de huevos de *H. contortus* después de 48 h de incubación con un extracto metanólico de *Artemisia cina* determinado por análisis PROBIT



El EM presentó la mayor IEH (CL<sub>50</sub> 1.26 mg/ml y CL<sub>90</sub> 2.46 mg/ml), > seguida del EA (CL<sub>50</sub> 2.42 mg/ml y CL<sub>90</sub> 3.80 mg/ml) y > el EH (CL<sub>50</sub> 3.08 mg/ml y CL<sub>90</sub> 3.84 mg/ml). Es decir, que se observó un mayor efecto de EIH a medida que aumentó la polaridad de los extractos (Cuadro 1).

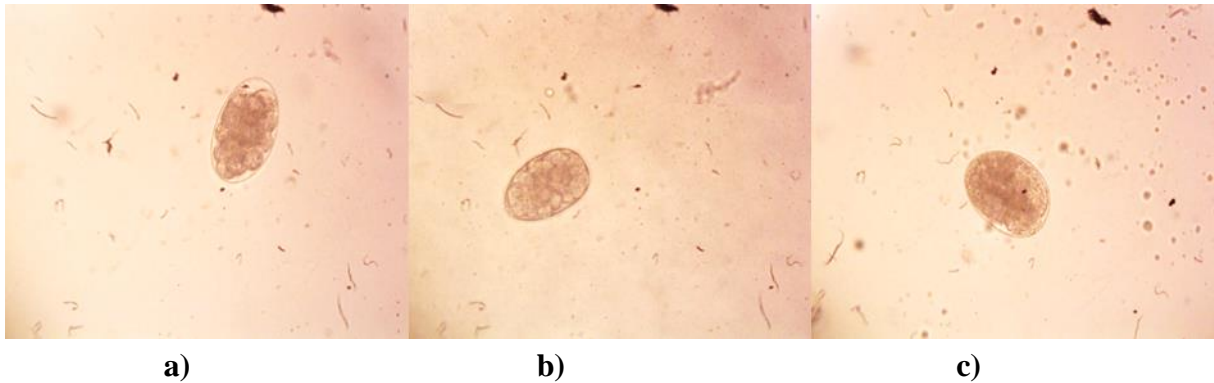
**Cuadro 1:** Porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos de *Haemonchus contortus* expuestos a los extractos *n*-hexánico, acetato de etilo y metanólico de *Artemisia cina*

Tratamiento	CL <sub>50</sub> (mg/ml)	CL <sub>90</sub> (mg/ml)
<i>n</i> - hexano	3.08 (2.96 – 3.18) <sup>a</sup>	3.84 (3.70 – 4.07) <sup>a</sup>
Acetato de etilo	2.42 (2.27 – 2.55) <sup>b</sup>	3.80 (3.64 – 4.10) <sup>a</sup>
Metanol	1.26 (1.18 – 1.34) <sup>c</sup>	2.46 (2.32 – 2.66) <sup>b</sup>

<sup>ab</sup> Letras iguales indican no diferencia significativa entre grupos. Duncan  $\alpha < 0.05$ .

Se tomaron fotografías de los huevos observados en el microscopio a 40X sometidos al EM, y se observó inhibición de la eclosión en el tratamiento con ivermectina y huevos larvados en el tratamiento con extracto metanólico (Figura 3). En la figura a se muestra un huevo morulado expuesto a agua destilada sin daño, antes de las 48 h de exposición a los tratamientos. Cabe aclarar que, a las 48 h, los huevos expuestos a agua destilada se convirtieron en larvas 1.

**Figura 3:** Huevos de *Haemonchus contortus* observados a 40X en diferentes condiciones: a) control negativo con agua; b) control positivo de ivermectina (5 mg/ml); c) extracto metanólico de *Artemisia cina* a 2.46 mg/ml luego de 48 h post-exposición



El EM mostró la mayor inhibición de la eclosión de huevos a concentraciones menores con respecto a los otros extractos. Por tanto, se determinaron los compuestos volátiles mayoritarios del EM a través CG-MS, y se propusieron de acuerdo con el patrón de fragmentación la estructura de los compuestos mayoritarios, los cuales se compararon con la biblioteca NIST. Teniendo en cuenta lo anterior, se proponen alrededor de 15 compuestos volátiles diferentes, de los cuales tres son ácidos grasos y 12 terpenos (Cuadro 2).

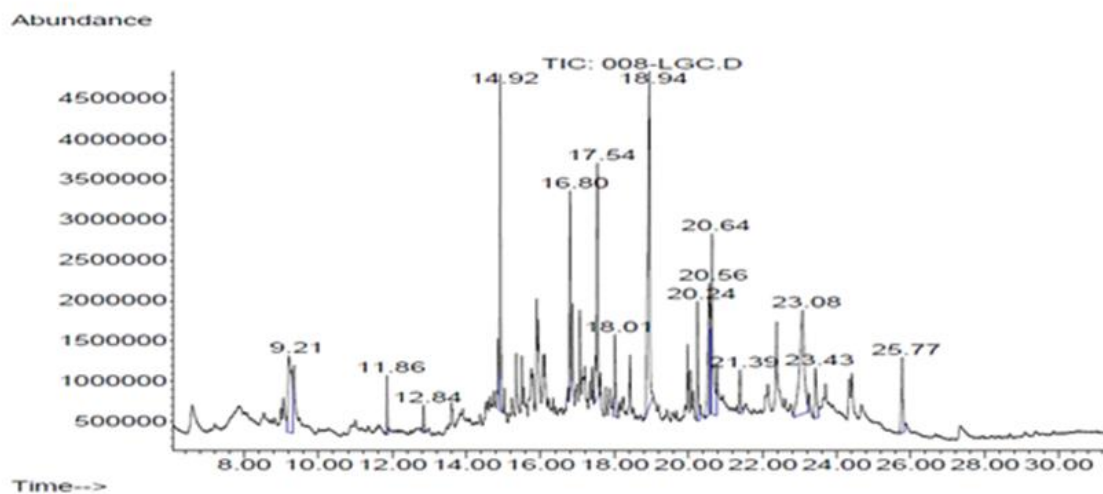
**Cuadro 2:** Compuestos volátiles presentes en el extracto metanólico de *Artemisia cina*

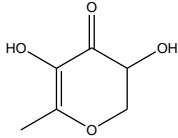
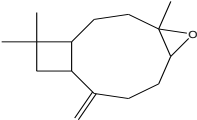
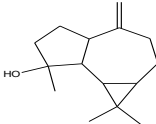
Compuesto	Tiempo de retención (min)	Nombre	Peso molecular (m/z)	% de área	Tipo de compuesto
(1)	9.20	4H-Piran-4-ona, 2,3-dihidro-3,5 dihidroxi-6-metil.	144	8.376	Hemiterpeno
(2)	11.85	Dihidro aromadendreno	202	1.519	Sesquiterpeno bicíclico
(3)	12.85	Cariofileno	204	0.891	Sesquiterpeno bicíclico
(4)	14.91	Óxido de cariofileno	220	9.601	Sesquiterpeno bicíclico
(5)	16.80	Espatulanol	220	5.256	Sesquiterpeno bicíclico
(6)	17.54	(-) Espatulanol	220	8.552	Sesquiterpeno bicíclico
(7)	10.80	Platambina	238	2.794	Sesquiterpeno bicíclico
(8)	18.94	Ácido hexadecanoico	256	19.185	Ácido graso saturado
(9)	20.241	Fitol	296	3.691	Diterpeno lineal
(10)	20.55	9-12 Ácido octadecanoico (Z,Z)	290	8.463	Ácido graso insaturado
(11)	20.63	9-12-15 Metil éster del ácido octadecatrienoico (Z,Z,Z)	292	9.736	Ácido graso insaturado

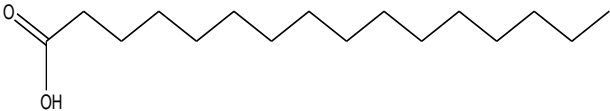
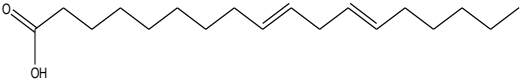
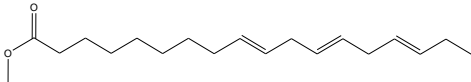
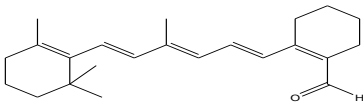


(12)	21.390	Azuleno [6,5-b] furan -2,5-diona, decahidro-4a,8 dimetil-3-metileno, [3aR-(3a $\alpha$ , 4a $\beta$ , 7a $\alpha$ , 8 $\beta$ , 9a $\alpha$ )]	248	1.497	Sesquiterpeno lactónico
(13)	23.07	2-[4-metil-6-(2,6,6-trimetilciclohex1-enil) exa-1,3,5-trienil][ciclohex-1-en-carboxialdehido	280	13.677	Diterpeno bicíclico
(14)	23.42	Espiro [7H-ciclohepta[b]furan 7,2'(5H')-furan]-2,5'(3H)-diona, octahidro-8-hidroxi-6,8-dimetil-3-metileno, [3aS-(3a $\alpha$ , 6 $\beta$ , 7a $\alpha$ , 8a,8a $\alpha$ )]	280	2.772	Sesquiterpeno lactónico
(15)	25.77	Azuleno [6,5-b] furan -2,5-diona, decahidro-4a,8 dimetil-3-metileno, [3aR-(3a $\alpha$ , 4a $\beta$ , 7a $\alpha$ , 8 $\beta$ , 9a $\alpha$ )]	248	3.989	Sesquiterpeno lactónico

De manera general, los compuestos volátiles del EM son principalmente terpenos y algunos ácidos grasos, siendo los sesquiterpenos los de mayor diversidad química. En la Figura 4 se pueden observar siete compuestos que de acuerdo con el porcentaje del área bajo la curva del total de compuestos ( $\geq 8\%$ ), podrían considerarse como mayoritarios. De acuerdo al patrón de fragmentación de los siete compuestos volátiles mayoritarios del EM de *Artemisia cina*, las estructuras propuestas se muestran en el Cuadro 3.

**Figura 4:** Cromatograma de CG-MS de los compuestos químicos presentes en el extracto metanólico de *Artemisia cina***Cuadro 3:** Compuestos volátiles mayoritarios del extracto metanólico de *Artemisia cina* determinados a través de CG-MS

Compuesto	TR	Estructura propuesta
(1)	9.20	
(4)	14.92	
(6)	17.54	

(8)	18.94	
(10)	20.55	
(11)	20.63	
(13)	23.07	

TR= tiempo de retención (min).

De acuerdo al Cuadro 2, los posibles compuestos volátiles mayoritarios son terpenos y ácidos grasos. De los terpenos, están presentes: el compuesto (1) un hemiterpeno, (4) un sesquiterpeno bicíclico y (6) tricíclico, (13) un diterpeno bicíclico. De los ácidos grasos: (8) un ácido graso saturado, (10) ácido graso insaturado y (11) insaturado y esterificado. El ácido hexadecanoico (8) es el más abundante en el EM, seguido del 2-[4-metil-6-(2,6,6-trimetilciclohex-1-enil) hexa-1,3,5-trienil][ciclohex-1-en-carboxialdehído (13).

La inhibición de la eclosión de huevos (IEH) del EM se puede atribuir a la presencia de ácidos grasos saturados e insaturados como el ácido hexadecanoico el cual es el más abundante en el EM de *Artemisia cina*. Pineda-Alegría *et al*<sup>(14)</sup>, evaluaron el ácido pentadecanoico  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{COOH}$ , ácido hexadecanoico  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$  (8) y ácido esteárico  $(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH})$ , y encontraron un aumento de la IEH al aumentar el número de carbonos de los ácidos grasos insaturados, siendo los más activos el palmítico y esteárico a una dosis de 20 mg/ml, donde obtuvieron el 100 % de IEH de *H. contortus*. Teniendo en cuenta que el EM presentó  $\text{CL}_{100}$  en la IEH de 4.25 mg/ml y que uno de sus compuestos mayoritarios es el ácido hexadecanoico, se podría pensar que existe un sinergismo con los demás compuestos químicos presentes en EM. Por la naturaleza de estos ácidos grasos podrían ser los potenciales compuestos con actividad ovicida del EM.

La presencia de metabolitos secundarios en las plantas es consecuencia de la interacción de éstas con el medio que la rodea. Estas interacciones son propias de los factores bióticos y

abióticos del lugar donde se encuentre la planta. Respecto al perfil fitoquímico del EM de *A. cina* utilizado en este estudio y a la concentración, es respuesta a las condiciones controladas del cultivo, ya que el material vegetal fue obtenido de un invernadero<sup>(15)</sup>.

El EM de *A. cina* posee un alto contenido de terpenos los cuales se han reportado a su vez con una alta actividad ovicida de nematodos gastroentéricos de rumiantes. Estos terpenos son el óxido de cariofileno (**3**) y espatulenol (**5**), los cuales hacen parte de los compuestos mayoritarios (15.4 % y 5.1 % respectivamente) del aceite esencial de *Achyrocline satureioides*<sup>(16)</sup>, los cuales tienen una EC<sub>50</sub> de 10.42 mg/ml en la IEH sobre *H. contortus*. En comparación con el CE<sub>50</sub> de 1.42 mg/ml en la IEH del EM de *Artemisia cina*, en el cual está presente (**3**) y (**5**) en 9.60 % y 5.25 %.

Teniendo en cuenta lo anterior, se plantea como hipótesis que los ácidos grasos y terpenos tienen diferente mecanismo de acción y podrían estar trabajando en conjunto, generando así una interacción farmacodinámica<sup>(15)</sup>, en este caso un sinergismo. El sinergismo se presenta cuando el efecto o respuesta de la mezcla es mayor que la suma de la combinación de los fármacos por separado<sup>(15)</sup>. Aunque no es común encontrar interacciones farmacológicas entre compuestos químicos, es deseable encontrar sinergismos entre los mismos, ya que podrían ser la base para implementar una terapia de combinación de fármacos, lo que podría reducir los efectos secundarios que normalmente se presentan en la monoterapia de medicamentos<sup>(17)</sup>, lo cual podría ser una excelente alternativa al uso de antihelmínticos, debido a la resistencia que se presenta actualmente. Ya que una particularidad de los metabolitos secundarios, es que son multiblanco debido a la presencia de diferentes grupos funcionales<sup>(18)</sup>. Este efecto sinérgico debe ser comprobado en futuros trabajos.

Aunque los terpenos y ácidos grasos son comunes para el género *Artemisia*, en la planta *A. cina* solo se ha reportado la presencia de santonina, pectolarigenina<sup>(10)</sup>, 3'-demetoxi-6-O-demetilisoguaiacina, norisoiguacina<sup>(19)</sup>, artemisinina y derivados<sup>(20)</sup>. Por tanto, este trabajo reporta la presencia de tres ácidos grasos y doce terpenos diferentes a la artemisinina en *A. cina* de los cuales no se tiene reporte. La actividad antihelmíntica de *A. cina* se le ha adjudicado principalmente al extracto *n*-hexánico<sup>(19-21)</sup>, para el caso específico de la IEH se encontró que la actividad aumenta conforme la polaridad de los extractos incrementa, por lo que abre una nueva perspectiva para diseñar un fitomedicamento con efecto antihelmíntico.

Todos los extractos evaluados de *Artemisia cina* presentaron actividad inhibitoria de eclosión de huevos de *Haemonchus contortus*, siendo el extracto metanólico (EM) el que presentó mayor actividad. El EM contiene 15 compuestos volátiles diferentes, de los cuales tres son ácidos grasos y 12 terpenos. Siendo el ácido hexadecanoico y el 2-[4-metil-6-(2,6,6-trimetilciclohex-1-enil) hexa-1,3,5-trienil][ciclohex-1-en-carboxialdehído los compuestos mayoritarios, de los cuales se presume son los responsables de la actividad ovicida.

### Agradecimientos

Este trabajo forma parte de la estancia posdoctoral del Dr. Luis David Arango de la Pava financiado por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) de la Universidad Nacional Autónoma de México bajo la dirección de la Dra. Raquel López-Arellano y la Dra. Rosa Isabel Higuera Piedrahita.

### Financiamiento

Proyecto PAPIIT IA204822 denominado "Evaluación del efecto tóxico del extracto *n*-hexánico de *Artemisia cina* y cinaguaiacina sobre los parámetros bioquímicos en sangre y alteraciones anatomopatológicas en ratas Wistar después de su administración oral" de la Universidad Nacional Autónoma de México.

### Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

### Literatura citada:

1. Mohamed HI, Arafa WM, El-Dakhly KM. Prevalence and associated risk factors of gastrointestinal helminths and coccidian infections in domestic goats, *Capra hircus*, in Minya, Egypt. Beni Suef Univ J Basic Appl Sci 2023;12(1):29. doi:10.1186/s43088-023-00369-6.
2. Jackson F, Coop RL. The development of anthelmintic resistance in sheep nematodes. Parasitology 2000;120(7):95-107. doi:10.1017/S0031182099005740.
3. Dolinská MU, Königová A, von Samson Himmelstjerna G, Várady M. Variation in allele frequencies in benzimidazole resistant and susceptible isolates of *Haemonchus contortus* during patent infection in lambs. Sci Rep 2023;13(1):1296. doi:10.1038/s41598-023-28168-0.
4. Sabatini GA, de Almeida Borges F, Claerebout E, *et al.* Practical guide to the diagnostics of ruminant gastrointestinal nematodes, liver fluke and lungworm infection: interpretation and usability of results. Parasit Vectors 2023;16(1):58. doi:10.1186/s13071-023-05680-w.

5. Badar SN, Sajid MS, Rizwan HM, *et al.* *In vitro* and *in vivo* anthelmintic response of the seeds of *Amomum subulatum* roxb and *Vitex negundo*. *Brazilian J Biol* 2024;84. doi:10.1590/1519-6984.261768.
6. George MM, Vatta AF, Howell SB, *et al.* Evaluation of changes in drug susceptibility and population genetic structure in *Haemonchus contortus* following worm replacement as a means to reverse the impact of multiple-anthelmintic resistance on a sheep farm. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist* 2021;15:134-143. doi:10.1016/j.ijpddr.2021.02.004.
7. Irum S, Ahmed H, Mukhtar M, *et al.* Anthelmintic activity of *Artemisia vestita* Wall ex DC. and *Artemisia maritima* L. against *Haemonchus contortus* from sheep. *Vet Parasitol* 2015;212(3-4):451-455. doi:10.1016/j.vetpar.2015.06.028.
8. Turi CE, Shipley PR, Murch SJ. North American *Artemisia* species from the subgenus *Tridentatae* (Sagebrush): A phytochemical, botanical and pharmacological review. *Phytochemistry* 2014;98:9-26. doi:10.1016/j.phytochem.2013.11.016.
9. Higuera-Piedrahita RI, Dolores-Hernández M, Cruz-Cruz HA de la, *et al.* 3'-Demethoxy-6-O- Demethylisoguaiacin and Norisoguaiacin Nematocidal Lignans from *Artemisia cina* against *Haemonchus contortus* Infective Larvae. *Plants* 2023;12(4):820. doi:10.3390/plants12040820.
10. Sakipova Z, Giorno TBS, Bekezhanova T, *et al.* Pharmacological evaluation of *Artemisia cina* crude CO<sub>2</sub> subcritical extract after the removal of santonin by means of high speed countercurrent chromatography. *Molecules* 2020;25(12):2728. doi:10.3390/molecules25122728.
11. Meng Y, Ma N, Lyu H, *et al.* Recent pharmacological advances in the repurposing of artemisinin drugs. *Med Res Rev* 2021;41(6):3156-3181. doi:10.1002/med.21837.
12. Montes Zaragoza LA. Propiedades terapéuticas del género *artemisia* presente en Tijuana, uso y alternativa económica en población de escasos recursos [tesis maestría]. Tijuana, Baja California. Universidad Autónoma de Baja California, 2015.
13. Coles GC, Bauer C, Borgsteede FHM, *et al.* World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet Parasitol* 1992;44(1-2):35-44. doi:10.1016/0304-4017(92)90141-U.
14. Pineda-Alegría JA, Sánchez JE, González-Cortazar M, *et al.* *In vitro* nematocidal activity of commercial fatty acids and  $\beta$ -sitosterol against *Haemonchus contortus*. *J Helminthol* 2020;94:e135. doi:10.1017/S0022149X20000152.

15. Cascorbi I. Arzneimittelinteraktionen: Prinzipien, Beispiele und klinische Folgen. Dtsch Arztebl Int 2012;109(33-34):546-556. doi:10.3238/arztebl.2012.0546.
16. Fantatto RR, Chagas AC de S, Gainza YA, *et al.* Acaricidal and anthelmintic action of ethanolic extract and essential oil of *Achyrocline satureioides*. Exp Parasitol 2022;236-237. doi:10.1016/j.exppara.2022.108252.
17. Liu J, Zhu J, Xue J, *et al.* *In silico*-based screen synergistic drug combinations from herb medicines: A case using *Cistanche tubulosa*. Sci Rep 2017;7(1). doi:10.1038/s41598-017-16571-3.
18. Wink M. Modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites. Medicines 2015;2(3):251-286. doi:10.3390/medicines2030251.
19. Higuera-Piedrahita RI, López-Arellano ME, López-Arellano R, Cuenca-Verde C, Cuéllar-Ordaz JA. Evaluación del efecto de las artemisininas provenientes del extracto etanólico de *Artemisia cina* sobre L3 de *Haemonchus contortus* en una técnica de explantes abomasales. Ciencia y Agricultura 2016;13(1):107-116. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=560062814009>.
20. Higuera-Piedrahita RI, Dolores-Hernández M, Jiménez-Pérez LG, *et al.* *In vitro* nematocidal effect and anthelmintic activity of *Artemisia cina* against *Haemonchus contortus* in gerbils and relative expression of hc29 gene in transitional larvae (I3-I4). Acta Parasitol 2021;66(3):938-946. doi:10.1007/s11686-021-00364-w.
21. Higuera-Piedrahita RI, Dolores-Hernández M, de la-Cruz-Cruz HA, *et al.* An *Artemisia cina* n-hexane extract reduces the *Haemonchus contortus* and *Teladorsagia circumcincta* fecal egg count in naturally infected periparturient goats. Trop Anim Health Prod 2022;54(2). doi:10.1007/s11250-022-03103-z.