



Validación de la cromatografía líquida de alto rendimiento acoplada a espectrometría de masas para determinar albendazol sulfóxido en plasma humano

[Validation of high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry to determine albendazole sulfoxide in human plasma]

Jaime Rosales-Rimache^{1*}, Saúl Santiváñez², Luis Moreno-Exebio³, Miguel Grande³, María Flores-Rodríguez³, María Eguíluz², Hugo García^{4,5}

¹Facultad de Salud Pública y Administración, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú.

²Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Centro del Perú, Huancayo, Perú.

³Instituto Nacional de Salud, Centro Nacional de Control de Calidad, Lima, Perú.

⁴Centro de Salud Global, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú.

⁵Unidad de Cisticercosis, Instituto Nacional de Ciencias Neurológicas, Perú.

*E-mail: jaime.rosales@upch.pe, jaime.rosales.rimache@gmail.com

Abstract

Context: Albendazole is used in the treatment of cysticercosis and hydatid disease, and its prolonged administration can generate adverse effects attributed to the active metabolite, albendazole sulfoxide (ABZSO), whose measurement requires validated methods that help monitor patients under treatment.

Aims: To validate a high-performance liquid chromatography method with mass detection (HPLC-MS) for the determination of ABZSO in human plasma.

Methods: HPLC-MS was performed on C18 columns (100 × 4.6 mm × 3.5 μm) and mobile phase composed of methanol, water and ammonia solution (25%) (800:200:0.1 v/v/v) at a flow rate of 0.5 mL/minute. The calibration curve was built with an albendazole standard, and detection in a triple quadrupole system.

Results: The method was linear (1-1500 ng/mL, R² = 0.999) with a detection limit of 1 ng/mL. ABZSO concentrations at 1, 5, 50, 100, 200, 500, 1000, and 1500 ng/mL had relative standard deviations of 10.4, 8.4, 7.8, 2.9, 7.4, 3.2, 3.4 and 1.3%. It was highly precise with a mean coefficient of variation of 1.411%, and accurate with a bias of -14.7; 2.8 and -0.8% in ABZSO concentrations of 5, 500 and 1000 ng/mL. The average recovery was 89.2%, and the stability of ABZSO after refrigeration had an average coefficient of variation of 2.3%.

Conclusions: The HPLC-MS method is valid and reliable to determine ABZSO, and could be used in pharmacokinetic, bioequivalence, and other studies that evaluate the biological monitoring of patients receiving oral treatment with albendazole.

Keywords: albendazole; analytical validity; HPLC.

Resumen

Contexto: El albendazol es utilizado en el tratamiento de cisticercosis e hidatidosis, y su administración prolongada puede generar efectos adversos atribuidos al metabolito activo, albendazol sulfóxido (ABZSO), cuya medición requiere métodos validados que ayuden al monitoreo en pacientes en tratamiento.

Objetivos: Validar un método de cromatografía líquida de alto rendimiento con detección de masas (HPLC-MS) para la determinación de ABZSO en plasma humano.

Métodos: La HPLC-MS fue realizada en columnas C18 (100 × 4,6 mm × 3,5 μm) y fase móvil compuesta de metanol, agua y solución de amonio (25%) (800:200:0,1 v/v/v) a un flujo de 0,5 mL/minuto. La curva de calibración fue construida con un estándar de albendazol y la detección en un sistema de triple cuadrupolo.

Resultados: El método fue lineal (1-1500 ng/mL, R² = 0,999) con límite de detección de 1 ng/mL. Las concentraciones de ABZSO a 1, 5, 50, 100, 200, 500, 1000 y 1500 ng/mL tuvieron desviaciones estándar relativas de 10,4; 8,4; 7,8; 2,9; 7,4; 3,2; 3,4 y 1,3%. Fue altamente preciso con coeficiente de variación promedio de 1,411%, y exacto con sesgo de -14,7; 2,8 y -0,8% en concentraciones de ABZSO de 5, 500 y 1000 ng/mL. La recuperación promedio fue de 89,2%, y la estabilidad del ABZSO tras la refrigeración tuvo un coeficiente de variación promedio de 2,3%.

Conclusiones: El método HPLC-MS es válido y confiable para determinar ABZSO, y podría ser empleado en estudios de farmacocinética, bioequivalencia, y otros que evalúen el monitoreo biológico de pacientes que reciben tratamiento oral con albendazol.

Palabras Clave: albendazol; HPLC; validez analítica.

ARTICLE INFO

Received: May 23, 2022.

Accepted: August 14, 2022.

Available Online: August 22, 2022.

AUTHOR INFO

ORCID: [0000-0002-1665-2332](https://orcid.org/0000-0002-1665-2332) (JRR)

INTRODUCCIÓN

La cisticercosis (Moyano et al., 2016; Rodríguez et al., 2018) e hidatidosis (Reyes et al., 2012; Santivañez et al., 2010), zoonosis producidas por los estadios larvarios de los helmintos *Taenia solium* y *Echinococcus granulosus*, respectivamente, son consideradas problemas de salud pública por los efectos debilitantes asociados (Brunetti and White, 2012). El tratamiento farmacológico se basa en el uso del albendazol (ABZ); sin embargo, el ciclo de tratamiento de estas dos zoonosis es diferente. Para la cisticercosis son periodos cortos (hasta un mes) con dosis que varían entre 800 a 1200 mg/día (García et al., 2002), mientras que para la hidatidosis son periodos más prolongados (hasta seis meses), con dosis que varían entre 600 y 800 mg/día (Horton, 2003). El ABZ actúa a nivel sistémico a través de su metabolito activo, el albendazol sulfóxido (ABZSO), el cual debe alcanzar niveles óptimos en sangre para ejercer la acción escolicida, por lo que se requiere utilizar dosis altas por tiempos prolongados (Dehkordi et al., 2019). A la fecha, la técnica de mayor confiabilidad para cuantificar ABZSO en sangre es la cromatografía líquida de alto rendimiento acoplado a espectroscopía de masas (HPLC-MS). Estas evaluaciones son complejas y puede implementarse con diferentes metodologías, pero todas requieren áreas especialmente acondicionadas, haciendo difícil su implementación en zonas endémicas.

Previamente se han empleado diferentes metodologías para cuantificar el ABZSO en matrices biológicas, entre las que destacan la HPLC con detección de fluorescencia (Belaz et al., 2008), ultra LC-MS (Li et al., 2014), electroforesis capilar (Procházková et al., 2000) e incluso espectrofotometría en luz visible (Swamy and Basavaiah, 2014). Sin embargo, los sistemas de detección son muy variables y los protocolos presentan claras diferencias, sobre todo en el pretratamiento de las muestras (Aguilera-Luiz et al., 2008; Bonato et al., 2003; González-Hernández et al., 2012; Shaw et al., 2012). La baja hidrosolubilidad del ABZSO dificulta su cuantificación, pese a la importancia del monitoreo de la eficacia del tratamiento de pacientes con hidatidosis y neurocisticercosis, dos zoonosis que son tratadas con altas concentraciones de ABZ (Jung et al., 2011). En consecuencia, a la fecha no existe consenso sobre cuál es la metodología ideal para la cuantificación del ABZSO en plasma humano. Esto dificulta la implementación de metodologías válidas, limitando el estudio de la biodisponibilidad, fármaco vigilancia, e incluso la seguridad y eficacia del ABZ en ensayos clínicos, sea sólo o combinado a otros fármacos antiparasitarios.

El presente estudio tuvo por objetivo implementar y validar una metodología de HPLC-MS para la cuantificación de ABZSO en plasma humano. Esta metodología es crucial para implementar ensayos clínicos que involucren el tratamiento con albendazol, sobre todo en personas con zoonosis parasitarias como la cisticercosis e hidatidosis. En estas dolencias, el seguimiento y monitoreo del paciente es fundamental para lograr un tratamiento efectivo y reducir la probabilidad de desarrollar eventos adversos asociados al uso de este fármaco.

MATERIALES Y MÉTODOS

Insumos químicos y materiales

Albendazol sulfóxido ácido clorhídrico liofilizado (pureza $\geq 99\%$, Batch 61113003) procedente de la empresa Changzhou Yaband-Qh Pharmachem Co., LTD., China; hidróxido de amonio al 35% (CAS 1336-21-6, grado HPLC masas) y metanol (CAS 67-56-1, grado HPLC masas) de la empresa Merck, Alemania; isopropanol (CAS 353800010002, grado HPLC masas) provisto por Alcopharma, Perú; y el acetonitrilo (CAS 75-05-8, grado HPLS masas) por la empresa JT Baker, Estados Unidos. Se utilizaron columnas C18 de $100 \times 4.6 \text{ mm} \times 3.5 \mu\text{m}$ (CAS 12000310082) de la marca Purrospher, Alemania; y micropipetas de rangos 2-20 μL (Lote 4642060), 10-100 μL (Lote 4642070), 100-1000 μL (Lote 4642080) y 500-5000 μL (Lote 4642100) de la marca Thermo Fisher Scientific, Estados Unidos.

Consideraciones éticas

La investigación fue parte del estudio "Validación de una prueba para medición de albendazol sulfóxido en plasma, eficacia y actividad enzimática hepática en pacientes con hidatidosis hepática en tratamiento oral con albendazol", el cual fue registrado en el Sistema Descentralizado de Información y Seguimiento a la Investigación (SIDISI N° 104243) y aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, con constancia N° 456-18-9, el 26 de agosto de 2019.

Procedimientos del estudio

Curva de calibración

Se preparó una solución stock de 0.1 mg/mL a partir del estándar de ABZSO de la marca Swiss TPH (serie 61113004). A partir del stock se hicieron soluciones de trabajo con concentraciones de 0,5; 5; 10; 25; 50; 75 y 100 $\mu\text{g/mL}$ en fase móvil, las cuales fueron usadas para la construcción de la curva de calibración en concentraciones de ABZSO en plasma de 1, 5, 50,

100, 200, 500, 1000 y 1500 ng/mL. La solución stock fue almacenada a -20°C hasta por 30 días. El control de calidad interno se realizó sobre los análisis de muestras de plasma fortificados con soluciones de ABZSO a concentraciones de 5, 500 y 1000 ng/mL, y fueron congelados a -70°C hasta su uso. Se empleó como estándar interno, una solución de ABZ a una concentración de 0,5 $\mu\text{g/mL}$.

Análisis de cromatografía líquida de alto rendimiento acoplado a detector de masas

Las mediciones se realizaron en un sistema de cromatografía líquida de alto rendimiento acoplado a detector de masas (HPLC-MS) de triple cuadrupolo (Thermo Scientific™ TSQ Quantis™), utilizando una columna C18 (100 \times 4,6 mm \times 3,5 μm) a 25°C . La fase móvil estuvo constituida de metanol, agua y solución de amonio al 25% (800:200:0,1 v/v/v), y el flujo de inyección fue de 0,5 mL/min. Se inyectaron 5 μL de la muestra a través del automuestreador a 5°C . Las transiciones de monitoreo de reacción múltiple para el ABZSO y ABZ fueron de 281,7 > 159,0 y 266,0 > 234,0, respectivamente; mientras que la energía de colisión fue de 5 y 20 eV (electronvoltio). El procedimiento para la medición de ABZSO ha sido adaptado de lo evidenciado por Saraner et al. (2016). Todos los procedimientos fueron realizados en el Laboratorio de Biodisponibilidad y Bioequivalencia del Centro Nacional de Control de Calidad del Instituto Nacional de Salud de Perú.

Parámetros de validación analítica

La validación analítica del método se realizó según la Guía de Validación de Métodos Bioanalíticos de la FDA (FDA, 2018).

a. Linealidad: se evaluó mediante tres indicadores: (1) los puntos de la curva de calibración en el nivel del límite de cuantificación deben tener una desviación estándar relativa (DER) $\leq 20\%$, (2) Los otros estándares deben tener un DER $\leq 15\%$, y (3) el coeficiente de correlación debe ser $\geq 0,98$. Así mismo, el p-valor debe ser menor a 0,05.

b. Precisión: se evaluó mediante dos indicadores: (1) los puntos en el nivel del límite de cuantificación deben tener un coeficiente de variación (CV) $\leq 20\%$ de la concentración declarada, y (2) El CV de los controles en tres niveles de concentración (QCA = 3 ng/mL, QCB = 9 ng/mL y QCC = 600 ng/mL) no debe ser mayor al 15% de la concentración nominal declarada. Para cada concentración el coeficiente de variabilidad (CV%) calculado con cinco alícuotas no debe exceder 15%.

c. Exactitud: Para evaluar la exactitud del método se compararon los resultados de concentración

obtenidos frente a la concentración nominal de muestras control (n = 6), analizadas paralelamente con una curva de calibración en plasma. Se consideró como exacto los valores con desviación relativa de $\pm 15\%$ del valor de la concentración nominal y con precisión de no más de 15% para el valor del CV. Para el límite de cuantificación se consideró la concentración más baja del ABZSO con la cual se obtuvo una precisión satisfactoria (CV < 20%) y exactitud (expresada como el porcentaje de desviación relativa del valor nominal) con un valor límite de $\pm 20\%$.

d. Límite de cuantificación: se evaluó la inexistencia de interferencia o respuesta, cinco veces mayor que cualquier interferencia existente en los cromatogramas de plasma blancos a los tiempos de retención en uso.

e. Recuperación: El nivel de recuperación absoluta se determinó en términos del porcentaje, al analizar siete réplicas de muestras de plasma añadidas con ABZSO y soluciones estándar no sometidas a extracción a tres concentraciones diferentes comprendidas en el intervalo de trabajo: 270 ng/mL (nivel bajo), 540 ng/mL (nivel medio) y 1080 ng/mL (nivel alto) para ABZSO. La recuperación del analito y del estándar interno no debió ser menor al 50%.

f. Estabilidad a corto plazo: La variación de la concentración de ABZSO en las muestras sometidas a descongelamiento a temperatura ambiente por 24 horas no debió ser mayor que 15% de las muestras frescas.

Análisis estadístico

Los estadísticos utilizados para evaluar cada parámetro de la validación estuvieron definidos por Guía de Validación de Métodos Bioanalíticos de la FDA (FDA, 2018). Así mismo, se presentaron gráficos de los cromatogramas para identificar los picos de máxima concentración de ABZSO. Los cálculos estadísticos se realizaron en el programa StataCorp LLC College Station, TX versión 15 y el gráfico de curva de calibración en el programa GraphPad Prism versión 8.0.

RESULTADOS

Los cromatogramas obtenidos para el ABZ y ABZSO no muestran interferencia de compuestos endógenos en el tiempo de retención. Así mismo, se presentan parámetros cromatográficos como área (AA) y tiempo de retención (RT) para cada corrida en concentraciones diferentes (Fig. 1).

Los seis parámetros incluidos en el plan de validación del método cumplieron con los valores esperados según lo establecido por la FDA. La concentración del

ABZSO tuvo una respuesta lineal desde 1 a 1500 ng/mL, con un coeficiente $R^2 = 0,999$. La ecuación lineal para la curva de calibración fue $y = 1,000x - 3,051$ (Fig. 2).

La DER para concentraciones de ABZSO en 1, 5, 50, 100, 200, 500, 1000 y 1500 ng/mL fue de 10,4; 8,4; 7,8; 2,9; 7,4; 3,2; 3,4 y 1,3%, respectivamente.

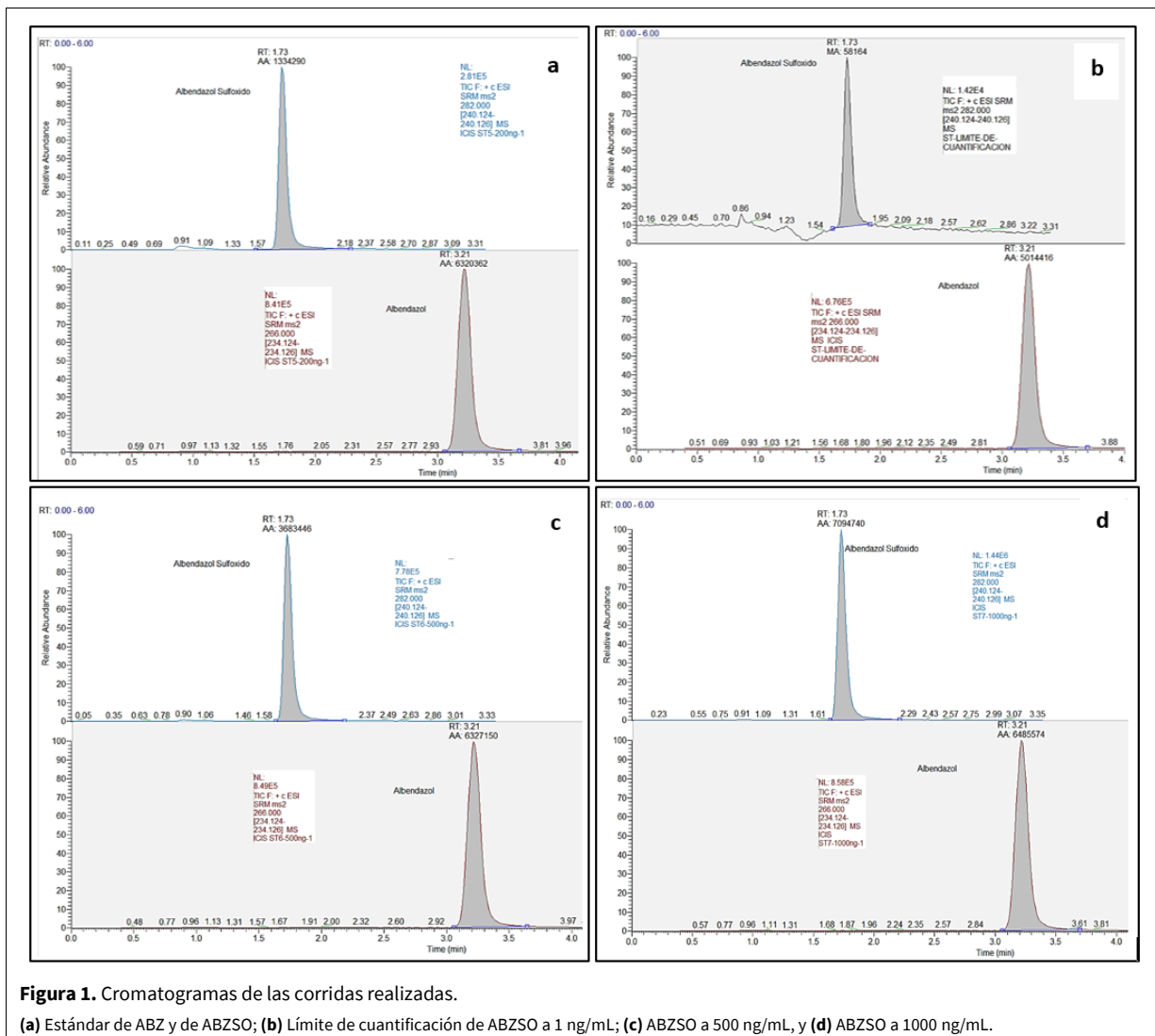
El valor bajo para el límite de cuantificación del ABZSO a 1 ng/mL tuvo una señal cinco veces mayor a la respuesta del blanco. La precisión fue aceptable ya que el CV tuvo un valor de 1,451% en el límite de cuantificación del ABZSO. Así mismo, las cinco réplicas para los tres controles de calidad en diferentes niveles de concentración de ABZSO (QCA = 50 ng/mL, QCB = 500 ng/mL y QCC = 1000 ng/mL) tuvieron CV menores al 20%. Por otro lado, las concentraciones de los 3 controles respecto a sus valores nominales no excedieron el 15%, y sobre el límite de

cuantificación fue de 12%, evidenciando una exactitud aceptable (Tabla 1).

La recuperación de un pool de siete muestras de plasma humano fortificadas con ABZSO a concentraciones teóricas de 50,9; 508,8 y 1017,6 ng/mL fue de 89,2%, evidenciando cumplimiento para este parámetro (Tabla 2).

Tres muestras de plasma fueron congeladas entre -15 y -20°C y la variación relativa entre sus concentraciones antes y después de congeladas fue de 2,3%, valor aceptable para la estabilidad a corto plazo (Tabla 3).

Finalmente, aplicamos el método validado en tres muestras de plasma criopreservadas y procedentes de pacientes con diagnóstico de neurocisticercosis, quienes completaron tratamiento oral con albendazol durante dos semanas a dosis de 1200 mg/día (Tabla 4).



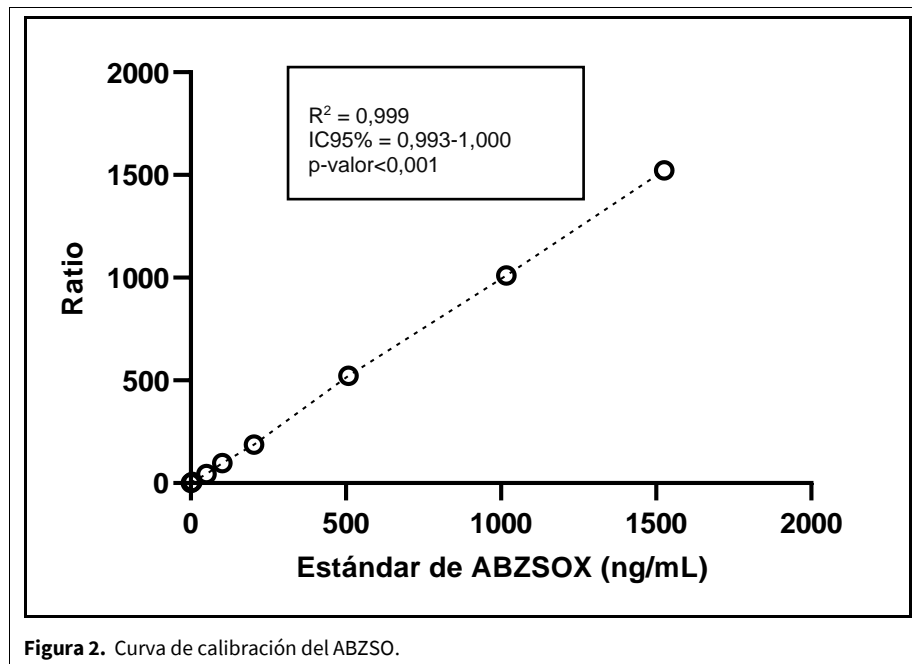


Tabla 1. Límite de cuantificación, precisión y exactitud del método HPLC-MS para la determinación de albendazol sulfóxido (ABZSO) en plasma humano

Matriz	Precisión			Exactitud		
	Promedio	DE	CV (%)	[ABZSO] nominal (ng/mL)	[ABZSO] obtenida (ng/mL)	Sesgo (%)
LLOQ	0,003	0,000	1,451	1,018	0,901	-11,46
QCA	0,049	0,001	1,607	50,881	43,400	-14,70
QCB	0,573	0,009	1,564	508,807	522,794	2,75
QCC	1,110	0,012	1,062	1017,613	1009,427	-0,80

LLOQ: Lower limit of quantification; QCA, QCB y QCC: tres niveles de concentración (QCA = 50 ng/mL, QCB = 500 ng/mL y QCC = 1000 ng/mL); DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación.

Tabla 2. Recuperación del método HPLC-MS para la determinación de albendazol sulfóxido (ABZSO) en plasma humano.

Matriz	[ABZSO] teórica (ng/mL)	[ABZSO] obtenida (ng/mL)		Recuperación (%)
		En plasma	En fase móvil	
QCA	50,881	43,809	57,689	75,94
QCB	508,807	520,811	552,193	94,32
QCC	1017,613	1011,610	1037,986	97,46
Promedio	---	---	---	89,20

QCA, QCB y QCC: tres niveles de concentración (QCA = 50 ng/mL, QCB = 500 ng/mL y QCC = 1000 ng/mL).

Tabla 3. Estabilidad del método HPLC para la determinación de albendazol sulfóxido (ABZSO) en plasma humano.

Matriz	[ABZSO] teórica (ng/mL)	[ABZSO] obtenida (ng/mL)		Recuperación (%)	CV (%)
		Recién preparado	24 horas después		
Muestra 1	50,881	43,809	47,624	108,39	5,90
Muestra 2	508,807	520,811	516,125	99,10	0,64
Muestra 3	1017,613	1011,610	1008,310	99,67	0,23
Promedio	---	---	---	102,4	2,30

CV: coeficiente de variación.

Tabla 4. Concentración de albendazol sulfóxido (ABZSO) en muestras de pacientes tratados con albendazol.

Código de muestra	[ABZSO] (ng/mL)		Promedio \pm desviación estándar (ng/mL)
	Réplica 1	Réplica 2	
Muestra A	344,0	347,1	345,6 \pm 2,2
Muestra B	607,0	627,5	617,3 \pm 14,5
Muestra C	433,6	441,2	437,0 \pm 5,4

DISCUSIÓN

Nuestros resultados garantizan la validez analítica de la medición de ABZSO por HPLC-MS en un rango de posibles concentraciones de ABZSO generadas por el metabolismo de un individuo con tratamiento oral de ABZ, en dosis entre 400 y 1200 g/día y periodos de hasta los 90 días (García et al., 2011). El método validado ofrece un bajo límite de cuantificación y rango de medición útil más amplio (1-1500 ng/mL) en comparación a otros estudios que han reportado valores entre 2 y 1500 ng/mL (González-Hernández et al., 2012; Rathod et al., 2016; Saraner et al., 2016; Wojnicz et al., 2013), y con tiempos de lectura de 4 minutos por muestra.

Los estudios de validación para la medición del ABZSO presentan resultados muy dispersos. Por ejemplo, Kitzman et al. (2002) reportaron un método validado con tiempos de lectura de hasta 30 minutos y recuperación a 98%, rango de medición 20-1000 ng/mL, y CV de 6,7; 8,1 y 7,0%, para concentraciones de ABZSO de 20, 400 y 600 ng/mL, respectivamente. Bonato et al. (2003), reportaron un método con tiempo de lectura de hasta 15 minutos y con recuperación promedio de 87,8% y con CV de 6,9 y 92,0% para concentraciones de ABZSO de 90 y 1000 ng/mL, respectivamente. Nuestro método presenta uno de los mejores tiempos de lectura reportados en la literatura científica, con CV que oscilan entre 1,062 y 1,607%, evidenciando una excelente precisión del ensayo, y con una tasa de recuperación aceptable (89,2%) y con resultados mejores a lo reportado en estudios previos.

La absorción del ABZ se puede incrementar con dietas altas en lípidos (Lange et al., 1988) o en condiciones ácidas a nivel gástrico, generando como consecuencia una alta variabilidad interindividual en los niveles de ABZ y ABZSO plasmático (Kataoka et al., 2016). Por otro lado, el metabolismo oxidativo del ABZ es rápido y el tiempo de vida media de sus metabolitos (ABZSO y ABZSO₂) oscila entre 1 y 24 horas, alcanzando picos máximos de concentración entre 4 y 6 horas (Mirfazaelian et al., 2002); por lo tanto, su medición debe ser oportuna y con metodologías que tengan alta sensibilidad.

Las concentraciones de ABZSO obtenidas en muestras de plasma humano estuvieron dentro de la linealidad del método y guardaron coherencia con lo reportado en el estudio original (García et al., 2011).

La validación no incluyó el estudio de compuestos interferentes, los cuales podrían generar pérdida de la señal del ABZSO y alterar los parámetros de precisión y exactitud del método. Por consiguiente, es necesario evaluar matrices fortificadas con potenciales interferentes inherentes al paciente, como variación en el pH, concentración de lípidos, bilirrubina y hemoglobina (Salvagno et al., 2017); y otros externos al paciente, como la presencia de fármacos que forman parte del tratamiento combinado, por ejemplo, mebendazol (Franchi et al., 1999) o praziquantel (García et al., 2016).

La variación en el centro quiral del grupo sulfóxido del ABZSO puede generar compuestos enantioméricos, cuya farmacocinética genera diferentes afinidades a proteínas citosólicas en los helmintos y, en consecuencia, modificar la eficacia del tratamiento (Solana et al., 2002); sin embargo, existen metodologías cromatográficas con sistemas de detección en fluorescencia que permiten su medición con rangos bastante amplios que oscilan entre 5-2500 ng/mL (Lanchote et al., 1998). En tal sentido, las futuras validaciones podrían considerar la medición de enantiómeros para los compuestos activos del ABZ.

CONCLUSIÓN

El método desarrollado en el presente trabajo cumple con todos los parámetros exigidos por FDA para la validación de ensayos bioanalíticos, y presenta una adecuada precisión y exactitud. Además, destaca el amplio rango para la cuantificación de ABZSO con un bajo límite de detección y tiempos cortos que no superan los cuatro minutos de lectura. Todos ellos son aspectos importantes a considerar en estudios de bioequivalencia, biodisponibilidad, ensayos clínicos, farmacovigilancia, entre otros.

CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores declaran que no existen conflictos de interés con los datos contenidos en el documento.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Centro de Salud Global de la Universidad Peruana Cayetano Heredia por brindar las facilidades para el desarrollo del presente estudio. Este artículo fue preparado como parte de las actividades del Doctorado en Ciencias en Investigación Epidemiológica ofrecida conjuntamente por la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH). El Doctorado es parte del programa 2D43 TW007393 "Consortio Internacional de Entrenamiento en Investigación Epidemiológica", auspiciado por el Centro Internacional Fogarty de los Institutos Nacionales de Salud de los EEUU (NIH/FIC). Los autores agradecen el apoyo y guía recibido de los docentes y alumnos/as del programa. Los autores también agradecen a Prociencia del Perú por el financiamiento parcial a la presente investigación a través del proyecto "Desarrollo de una prueba rápida de fácil acceso para el monitoreo terapéutico de fármacos utilizados en el tratamiento de zoonosis parasitarias de gran impacto en el Perú" (contrato 040-2019-FONDECYT-BM) y al Training Grant D43TW001140.

REFERENCIAS

- Aguilera-Luiz MM, Vidal JLM, Romero-González R, Frenich AG (2008) Multi-residue determination of veterinary drugs in milk by ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1205(1-2): 10-16.
- Belaz KRA, Cass QB, Oliveira RV (2008) Determination of albendazole metabolites by direct injection of bovine plasma and multidimensional achiral-chiral high performance liquid chromatography. *Talanta* 76(1): 146-153.
- Bonato PS, Lanchote VL, Takayanagui OM (2003) Simultaneous liquid chromatography-tandem mass spectrometric determination of albendazole sulfoxide and albendazole sulfone in plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 783 (1): 237-245.
- Brunetti E, White AC (2012) Cestode infestations. Hydatid disease and cysticercosis infectious disease. *Infect Dis Clin North Am* 26(2): 421-435.
- Dehkordi AB, Sanei B, Yousefi M, Sharafi SM, Safarnezhad F, Jafari R, Darani HY (2019) Albendazole and treatment of hydatid cyst: Review of the literature. *Infect Disord Drug Targets* 19(2): 101-104.
- Franchi C, Di Vico B, Teggi A (1999) Long-term evaluation of patients with hydatidosis treated with benzimidazole carbamates. *Clin Infect Dis* 29(2): 304-309.
- FDA (2018) Bioanalytical Method Validation: Guidance for Industry. USA: Food and Drug Administration.
- García HH, Evans CA, Nash TE, Takayanagui OM, White AC Jr, Botero D, Rajshkhar V, Tsang VC, Schantz PM, Allan JC, Flisser A, Correa D, Sarti E, Friedland JS, Martinez SM, Gonzalez AE, Gilman RH, Del Brutto OH (2002) Current consensus guidelines for treatment of neurocysticercosis. *Clin Microbiol Rev* 15(4): 747-756.
- García HH, Lescano AG, Lanchote VL, Pretell EJ, Gonzales I, Bustos JA, Takayanagui OM, Bonato PS, Horton J, Saavedra H, Gonzalez AE, Gilman RH (2011) Pharmacokinetics of combined treatment with praziquantel and albendazole in neurocysticercosis: Combined albendazole and praziquantel in neurocysticercosis. *Br J Clin Pharmacol* 72(1): 77-84.
- García HH, Lescano AG, Gonzales I, Bustos JA, Pretell EJ, Horton J, Saavedra H, Gonzalez AE, Gilman RH (2016) Cysticidal efficacy of combined treatment with praziquantel and albendazole for parenchymal brain cysticercosis. *Clin Infect Dis* 62(11): 1375-1379.
- González-Hernández I, Ruiz-Olmedo MI, Cárdenas G, Jung-Cook H (2012) A simple LC-MS/MS method to determine plasma and cerebrospinal fluid levels of albendazole metabolites (albendazole sulfoxide and albendazole sulfone) in patients with neurocysticercosis. *Biomed Chromatogr* 26(2): 267-272.
- Horton J (2003) Albendazole for the treatment of echinococcosis. *Fundam Clin Pharmacol* 17(2): 205-212.
- Jung H, Medina L, García L, Fuentes I, Moreno-Esparza R (2011) Absorption studies of albendazole and some physicochemical properties of the drug and its metabolite albendazole sulphoxide. *J Pharm Pharmacol* 50(1): 43-48.
- Kataoka M, Fukahori M, Ikemura A, Kubota A, Higashino H, Sakuma S, Yamashita S (2016) Effects of gastric pH on oral drug absorption: *In vitro* assessment using a dissolution/permeation system reflecting the gastric dissolution process. *Eur J Pharm Biopharm* 101: 103-111.
- Kitzman D, Cheng K-J, Fleckenstein L (2002) HPLC assay for albendazole and metabolites in human plasma for clinical pharmacokinetic studies. *J Pharm Biomed Anal* 30(3): 801-813.
- Lanchote VL, Marques MP, Takayanagui OM, de Carvalho R, Paías FO, Bonato PS (1998) Simultaneous determination of albendazole sulfoxide enantiomers and albendazole sulfone in plasma. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 709(2): 273-279.
- Lange H, Eggers R, Bircher J (1988) Increased systemic availability of albendazole when taken with a fatty meal. *Eur J Clin Pharmacol* 34(3): 315-317.
- Li L, Xing D-X, Li Q-R, Xiao Y, Ye M-Q, Yang Q (2014) Determination of albendazole and metabolites in silkworm *Bombyx mori* hemolymph by Ultrafast Liquid Chromatography Tandem Triple Quadrupole Mass Spectrometry. *PLoS One* 9(9): e105637.
- Mirfazaelian A, Rouini MR, Dadashzadeh S (2002) Dose dependent pharmacokinetics of albendazole in human. *Biopharm Drug Dispos* 23(9): 379-383.
- Moyano LM, O'Neal SE, Ayvar V, Gonzalez G, Gamboa R, Vilchez P, Rodriguez S, Reistetter J, Tsang VCW, Gilman RH, Gonzalez AE, Garcia HH; Cysticercosis Working Group in Peru (2016) High prevalence of asymptomatic neurocysticercosis in an endemic rural community in Peru. *PLoS Negl Trop Dis* 10(12): e0005130.
- Procházková A, Chouki M, Theurillat R, Thormann W (2000) Therapeutic drug monitoring of albendazole: determination of albendazole, albendazole sulfoxide, and albendazole sulfone in human plasma using

- nonaqueous capillary electrophoresis. *Electrophoresis* 21(4): 729–736.
- Rathod DM, Patel KR, Mistri HN, Jangid AG, Shrivastav PS, Sanyal M (2016) Liquid chromatography--tandem mass spectrometry method for simultaneous determination of albendazole and albendazole sulfoxide in human plasma for bioequivalence studies. *J Pharm Anal* 6(4): 226–234.
- Reyes MM, Taramona CP, Saire-Mendoza M, Gavidia CM, Barron E, Boufana B, Craig PS, Tello L, Garcia HH, Santivañez SJ (2012) Human and canine echinococcosis infection in informal, unlicensed abattoirs in Lima, Peru. *PLoS Negl Trop Dis* 6(4): e1462.
- Rodriguez S, O'Neal SE, Garcia HH, Ayvar V, Gonzalez AE, Gilman RH, Moyano LM, Garvey BT; Cysticercosis Working Group in Peru (2018) Neurocysticercosis among people living near pigs heavily infected with cysticercosis in rural endemic Peru. *Am J Trop Med Hyg* 98(2): 558–564.
- Salvagno GL, Danese E, Lippi G (2017) Preanalytical variables for liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) analysis of human blood specimens. *Clin Biochem* 50(10-11): 582–586.
- Santivañez SJ, Naquira C, Gavidia CM, Tello L, Hernandez E, Brunetti E, Kachani M, Gonzalez AE, Garcia HH (2010) Household factors associated with the presence of human hydatid disease in three rural communities of Junin, Peru [Spanish]. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 27(4): 498–505.
- Saraner N, Özkan GY, Güney B, Alkan E, Burul-Bozkurt N, Sağlam O, Fikirdeşici E, Yıldırım M (2016) Determination of albendazole sulfoxide in human plasma by using liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B* 1022: 1–5.
- Shaw L-H, Lin L-C, Tsai T-H (2012) HPLC-MS/MS analysis of a traditional Chinese medical formulation of Bu-Yang-Huan-Wu-Tang and its pharmacokinetics after oral administration to rats. *PLoS One* 7(8): e43848.
- Solana HD, Sallovitz JM, Lanusse CE, Rodriguez JA (2002) Enantioselective binding of albendazole sulphoxide to cytosolic proteins from helminth parasites. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 24(1): 7–13.
- Swamy N, Basavaiah K (2014) Simple and rapid spectrophotometric assay of albendazole in pharmaceuticals using iodine and picric acid as CT complexing agents. *Braz J Pharm Sci* 50(4): 839–850.
- Wojnicz A, Cabaleiro-Ocampo T, Román-Martínez M, Ochoa-Mazarro D, Abad-Santos F, Ruiz-Nuño A (2013) A simple assay for the simultaneous determination of human plasma albendazole and albendazole sulfoxide levels by high performance liquid chromatography in tandem mass spectrometry with solid-phase extraction. *Clin Chim Acta* 426: 58–63.

AUTHOR CONTRIBUTION:

Contribution	Rosales-Rimache J	Santivañez S	Moreno-Exebio L	Grande M	Flores-Rodríguez M	Eguiluz M	García H
Concepts or ideas							x
Design	x	x					
Definition of intellectual content	x						
Literature search	x						
Experimental studies	x						
Data acquisition	x	x	x	x	x		
Data analysis	x	x					
Statistical analysis	x	x					
Manuscript preparation	x					x	
Manuscript editing	x	x				x	
Manuscript review	x	x	x	x	x	x	x

Citation Format: Rosales-Rimache J, Santivañez S, Moreno-Exebio L, Grande M, Flores-Rodríguez M, Eguiluz M, García H (2022) Validación de la cromatografía líquida de alto rendimiento acoplada a espectrometría de masas para determinar albendazol sulfóxido en plasma humano. [Validation of high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry to determine albendazole sulfoxide in human plasma]. *J Pharm Pharmacogn Res* 10(5): 888–895. https://doi.org/10.56499/jppres22.1423_10.5.888

Publisher's Note: All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

Open Access: This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits use, duplication, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license and indicate if changes were made.