

Desarrollo de metodología analítica para detección de antihelmínticos y sus metabolitos en matriz parasitaria de *Haemonchus contortus*

Magdalena Nieves^{1,3,4}, Ignacio Migués^{2,3,4}, Horacio Heinzen², Beatriz Munguía¹

¹Área de Farmacología, CIENFAR, Facultad de Química, Udelar, Montevideo, Uruguay

²Laboratorio de Farmacognosia, DQO, Facultad de Química, Udelar, Montevideo, Uruguay

³Programa de Posgrados de la Facultad de Química, Udelar, Uruguay

⁴Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas

maganieves@fq.edu.uy

Haemonchus contortus es un nematodo parásito que afecta a pequeños rumiantes. Frente al creciente problema de resistencia a los antihelmínticos comercializados, contamos con bioensayos fisiología-guiados validados para la evaluación *in vitro* de nuevas moléculas con potencial actividad. Sin embargo, hemos observado diferencias en la sensibilidad al tratamiento con antihelmínticos según el estadio del parásito utilizado en el cribado, siendo el estadio larvario xL3 menos sensible que el adulto (1). Hipotetizamos que estas diferencias se deben a cambios en la farmacocinética del parásito entre estadios, particularmente en los mecanismos de detoxificación. Para explorar esta hipótesis, evaluamos el efecto del agregado de inhibidores del eflujo y metabolismo fases I y II sobre la actividad del bioensayo en el estadio xL3 (2). Actualmente estamos desarrollando una metodología de análisis por HPLC acoplado a espectrómetro de masas (MS) para evaluar concentraciones intraparasitarias *ex vivo* de los antihelmínticos y sus principales metabolitos, y así poder correlacionar con los resultados obtenidos de actividad *in vitro*.

Se optimizaron las condiciones de fraccionamiento de iones por inyección directa en MS triple cuadrupolo, para estándares de monepantel, monepantel sulfona, levamisol, albendazol, albendazol sulfóxido, valero-fenbendazol, fenbendazol, fenbendazol sulfóxido, ivermectina y mebendazol. Se incluyen estas optimizaciones en un método multi residuo (MRM) donde se busquen los iones de interés en un tiempo determinado, correspondiente al tiempo de elución detectado para un método cromatográfico realizado en gradiente. Actualmente se está desarrollando la metodología de análisis, evaluando parámetros de validación como ser linealidad en el rango de 6 a 100 ppb, límites de detección y cuantificación, efecto matriz (evaluando la matriz parasitaria del estadio adulto), entre otros, acorde a las guías SANTE y Bioanalytical Method Validation.

Dentro de las condiciones evaluadas, se pueden considerar lineales los ajustes para todos los analitos en las curvas metanólicas ($R^2 > 0.99$), a excepción de levamisol. La matriz parasitaria no afecta sustancialmente la linealidad de ninguno de los analitos.