

Vol. 4 No. A

QUIMICA HOY

Chemistry Sciences

Revista de la Universidad Autónoma de Nuevo León
a través de la Facultad de Ciencias Químicas

Julio - Septiembre de 2014

ISSN 2007-1183



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

SIMPOSIO NACIONAL CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOMEDICINA



Revista Química Hoy



@QuimicaHoy



·Visión·
2020
UANL

Validación de un procedimiento analítico para la cuantificación del metabolito resveratrol-3-O-sulfato en plasma humano por LC-MS-MS

Christian Tadeo Badillo-Castañeda^{a*}, Lourdes Garza-Ocañas^a, Pedro Lennon Sáenz-Chávez^a, Sandra Lucía Montoya-Eguía^a, Jorge Eleazar Páez-López^a, Humberto Garza-Ulloa^a.

^aDepartamento de Farmacología y Toxicología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León.

*E-mail: correo@christianbadillo.com

Palabras clave: resveratrol, farmacología, validación, cuantificación, procedimiento analítico, cromatografía, espectrometría de masas.

1. Introducción

El resveratrol (3,5,4'-trihidroxiestilbeno), es un polifenol natural constituyente del vino tinto con propiedades antioxidantes. Se le han atribuido propiedades cardioprotectoras. En los años recientes el interés en el resveratrol ha sido renovado debido a la identificación de propiedades como agente quimiopreventivo contra diferentes tipos de cáncer y el aumento de vida en organismos inferiores [1].

En estudios farmacocinéticos se ha demostrado que la cantidad de resveratrol libre representa solo una pequeña fracción de la dosis en plasma (1.7-1.9%) predominando los conjugados glucurónido y sulfato tanto en el plasma como en orina, siendo el metabolito 3-O sulfato del resveratrol [C₁₄H₁₂O₆S = 308.31], el más abundante [2]. Varios estudios han sugerido que los metabolitos de resveratrol, entre ellos, el 3-O-sulfato tienen actividad *in vivo* [3, 4]. En este trabajo desarrollamos un método para determinar la concentración del metabolito 3-O-sulfato del transresveratrol en plasma humano. El método fue validado en conformidad con la NOM-177-SSA1-1998, la determinación del metabolito se realizó por cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS-MS).

2. Parte experimental

Los parámetros de validación fueron los establecidos por la NOM-177-SSA1-1998, entre los cuales se encuentran: linealidad, intervalo de trabajo, recobro absoluto, precisión y exactitud a condiciones de repetibilidad y reproducibilidad, estabilidad a corto plazo, estabilidad en función de ciclos de congelación y descongelación, estabilidad en el automuestreador, límite de detección, límite de cuantificación, selectividad y tolerancia.

Como procesamiento de las muestras, a las soluciones de validación (300 µl) se trataron con acetonitrilo acidificado (1,000 µl) para precipitación de proteínas y se centrifugaron (14,000 rpm, 10 min). Después de

evaporar hasta sequedad con nitrógeno, se reconstituyeron en 100 µl de metanol y se recentrifugaron (14,000 rpm, 4 min). Para la separación cromatográfica se utilizó una columna C-18 y como eluyente una mezcla (27/73 % v/v) de acetonitrilo y ácido fórmico acuoso al 0.2 % v/v a un flujo de 0.4 ml/min. Para la detección se utilizó una fuente de Ionización por Electro Spray a Presión Atmosférica (ESI) modo Negativo, siendo monitoreados los iones 307.1 (precursor) y 227.1 m/z (ion producto) correspondientes al metabolito 3-O-sulfato del transresveratrol.

3. Resultados y discusión

El recobro absoluto del metabolito fue de 44.2%. El intervalo de trabajo validado fue de 31.17 ng/ml a 987.41 ng/ml con un coeficiente de determinación R² de 1.000. El método cumplió con la precisión (coeficiente de variación menor al 15%) y exactitud (desviación absoluta no mayor al 15%) establecida en la NOM-177-SSA1-1998. En otros trabajos en los que se monitorean metabolitos de resveratrol el tiempo de análisis es de 12 minutos abundante [5,6], en el presente trabajo, el tiempo de análisis fue de 3 minutos. No se presentaron interferencias con fármacos concomitantes como (paracetamol, naproxeno, aspirina, diclofenaco, loratadina, ibuprofeno o cafeína). Se ha reportado la interconversión del metabolito trans-resveratrol-3-O-sulfato a resveratrol durante su paso a través de la fuente de ionización. En nuestro caso, se realizó una separación cromatográfica para evitar este tipo de interacciones. El método es selectivo para separar el metabolito trans-resveratrol-3-O-sulfato del resveratrol.

4. Conclusiones

Con base en los resultados anteriores, se considera que el procedimiento analítico cumple con los parámetros de validación establecidos por la NOM-177-SSA1-1998 y por lo tanto es confiable para el análisis de resveratrol-3-O-sulfato en plasma para estudios de biodisponibilidad en voluntarios sanos.

5. Referencias

1. Baur, J.A.; Sinclair, D.A. *Nat Rev Drug Discov.* **2006**, 5, 493-506.
2. Boocock, D.J., et al. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* **2007**, 16, 1246-1252.
3. Calamini, B., et al. *Biochem J.* **2010**, 429, 273-282.
4. Hoshino, J., et al. *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 5033-5043.
5. Urpi-Sarda, M., et al. *Clinical Chemistry.* **2007**, 53, 292-299.
6. Muzzio, M., et al. *J. Pharma.Biomed. Anal.* **2012**, 59, 201-208.