



A Cocktail Method Evaluates the Effect of Resveratrol on Rat CYP Enzymes by UPLC-MS/MS

Song-sen LI¹, Guang-jie PAN¹, Heng-xuan ZHANG², Cheng-zheng QIU² & Xiao-hua NIU^{1*}

¹ Department of Cardiology, LuoYang Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Luoyang, 471023, PR China

² Medical College of Henan University of Science and Technology, Luoyang, 471023, PR China

SUMMARY. A rapid and sensitive ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method for the simultaneous determination of phenacetin, tolbutamide, omeprazole, metoprolol, and midazolam to monitor five target CYP isoforms in rat plasma was developed and validated. And the effect of resveratrol on these CYP enzymes in rats was evaluated by using this cocktail method. After precipitating plasma protein with acetonitrile, the probe drugs and the internal standard (diazepam) were separated on an Acquity UPLC BEH C18 chromatography column (2.1 × 50 mm, 1.7 μm) using gradient elution with a mobile phase of acetonitrile and 0.1% formic acid in water at a flow rate of 0.4 mL/min. The detection was performed on a triple quadrupole tandem mass spectrometer by multiple reaction monitoring (MRM) mode to monitor the precursor-to-product ion transitions of m/z 180.1 → 110.1 for phenacetin, m/z 271.2 → 172.1 for tolbutamide, m/z 346.2 → 198.1 for omeprazole, m/z 268.3 → 116.3 for metoprolol, m/z 326.2 → 291.1 for midazolam, and m/z 285.2 → 193.1 for diazepam (IS) using a positive electrospray ionization interface. The method was validated over a concentration range of 5.0-1000 ng/mL for each probe drug. Total time for each chromatogram was 3.5 min. The intra- and inter-day precision and accuracy of the quality control samples at low, medium, and high concentration levels exhibited relative standard deviations (RSD) < 11.4% and the accuracy values ranged from -12.5 to 11.2%. The method was successfully applied to evaluate the effect of resveratrol on the activities of CYP enzymes in rats, and the results showed that resveratrol may inhibit the activity of CYP1A2 and CYP3A4.

RESUMEN. Se desarrolló y validó un método rápido y sensible de espectrometría de masas en tándem por cromatografía líquida de alta resolución (UPLC-MS/MS) para la determinación simultánea de fenacetina, tolbutamida, omeprazol, metoprolol y midazolam para monitorizar cinco isoformas de CYP en plasma de rata. El efecto del resveratrol en estas enzimas CYP en ratas se evaluó mediante el uso de este método de cóctel. Después de precipitar la proteína plasmática con acetonitrilo, los fármacos sonda y el patrón interno (diazepam) se separaron en una columna de cromatografía Bequid Bec C18 de Acquity (2,1 × 50 mm, 1,7 μm) usando elución en gradiente con una fase móvil de acetonitrilo y ácido fórmico al 0,1% en agua a una velocidad de flujo de 0.4 mL/min. La detección se realizó en un espectrómetro de masas en tándem de triple cuadrupolo mediante el modo de monitorización de reacción múltiple (MRM) para controlar las transiciones de iones de precursor a producto de m/z 180.1 → 110.1 para fenacetina, m/z 271.2 → 172.1 para tolbutamida, m/z 346.2 → 198.1 para omeprazol, m/z 268.3 → 116.3 para metoprolol, m/z 326.2 → 291.1 para midazolam y m/z 285.2 → 193.1 para diazepam (IS) usando una interfaz de ionización positiva por electrospray. El método fue validado en un rango de concentración de 5.0-1000 ng/mL para cada fármaco sonda. El tiempo total para cada cromatograma fue de 3.5 min. La precisión y exactitud intra- e interdía de las muestras de control de calidad a niveles de concentración bajos, medios y altos mostraron desviaciones estándar relativas (RSD) < 11.4% y los valores de precisión variaron de -12.5 a 11.2%. El método se aplicó con éxito para evaluar el efecto del resveratrol en las actividades de las enzimas CYP en ratas, y los resultados mostraron que el resveratrol puede inhibir la actividad de CYP1A2 y CYP3A4.

KEY WORDS: cocktail, CYP, plasma, resveratrol, UPLC-MS/MS.

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: 1378060553@qq.com