

**DEVELOPMENT OF LIQUID CHROMATOGRAPHY-MASS
SPECTROMETRY FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF
PURINES AND URIC ACID IN THAI VEGETABLES**



NARISA RUKDEE

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND PHYTOCHEMISTRY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

Copyright by Mahidol University

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

DEVELOPMENT OF LIQUID CHROMATOGRAPHY - MASS SPECTROMETRY
FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF PURINES AND URIC ACID IN
THAI VEGETABLES

NARISA RUKDEE 5537588 PYPP/M

M.Sc. (PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND PHYTOCHEMISTRY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: CHUTIMA PHECHKRAJANG, Ph.D.,
PIYANUCH ROJSANGA, Ph.D.

ABSTRACT

This study was conducted to determine the amount of uric acid, and three of its precursors i.e., adenosine, guanosine and xanthine, in vegetables that were widely consumed in Thailand. An electrospray liquid chromatography triple quadrupole mass spectrometer (LC-MS/MS) was developed for this approach and caffeine was used as the internal standard. The separation was performed on a C18 column (10 cm × 2.1 mm, 2.7 μm). The mobile phase was a mixture of 0.2 % formic acid in deionized water (solvent A) and 0.1% formic acid in methanol (solvent B). Gradient elution was employed with a total run time of 8.50 minutes. The developed method was then fully validated according to USFDA guidelines. All method analytical performance characteristics were found to be acceptable. Therefore, the developed and validated LC-MS/MS method was applied to determine the amount of adenosine, guanosine, xanthine and uric acid in 18 selected Thai vegetables. The results showed that the contents of the four substances of interest in all vegetables examined in the study had less than 50 mg/100 g of fresh weight. At this concentration level, these vegetables could be classified as containing very low adenosine, guanosine, xanthine and uric acid contents. The results from this study promote valuable information for medical personal, especially hyperuricemia and gout patients, since the official report concerning uric acid and its purine precursors contents in Thai vegetables.

KEY WORDS: PURINE / URIC ACID / LC-MS/MS TRIPLE QUADRUPOLE
MASS SPECTROMETRY

121 pages

Copyright by Mahidol University

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ลิควิดโครมาโทกราฟีคู่ควบสเปกโตรเมตรีมวล เพื่อหาปริมาณพิวรีนและกรดยูริกในผักพื้นบ้านไทย

DEVELOPMENT OF LIQUID CHROMATOGRAPHY – MASS SPECTROMETRY FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF PURINES AND URIC ACID IN THAI VEGETABLES

นริศารักดี 5537588 PYPP/M

วท.ม. (เภสัชเคมีและพฤกษเคมี)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ชุตินา เพชรกระจ่าง, Ph.D., ปิยนุช โรจน์สง่า, Ph.D.

บทคัดย่อ

การศึกษานี้จัดทำขึ้นเพื่อหาปริมาณของกรดยูริก และสารตั้งต้นของกรดยูริก 3 ชนิด คือ อะดีโนซีน, กัวโนซีนและแซนทีน ในผักที่มีการบริโภคมากในประเทศไทย วิธีลิควิดโครมาโทกราฟีแบบอเล็กโตรสเปร์ย์แมสสเปกโตรมิเตอร์ชนิดรีปเปลควอดรูโพล (LC-MS/MS) ได้ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อวัตถุประสงค์นี้ โดยใช้คาเฟอีนเป็นสารมาตรฐานภายใน การแยกถูกทำบนคอลัมน์ C18 (เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.1 มิลลิเมตร, ขนาดพาร์ติเคิล 2.7 ไมโครเมตร) เฟสเคลื่อนที่เป็นส่วนผสมของกรดฟอร์มิก 0.2 % ในน้ำปราศจากไอออน (ตัวทำละลาย A) และกรดฟอร์มิก 0.1 % ในเมทานอล (ตัวทำละลาย B) การชะเป็นแบบ เกรเดียนท์ ใช้เวลาในการแยกทั้งหมด 8.50 นาที วิธีที่พัฒนาแล้วถูกนำมาตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีโดยใช้แนวทางของ US-FDA พบว่าคุณลักษณะของการวิเคราะห์ทั้งหมดยอมรับได้ ดังนั้นวิธีการ LC-MS/MS นำมาประยุกต์ เพื่อหาปริมาณของอะดีโนซีน กัวโนซีน แซนทีน และกรดยูริกในผักของไทย ที่เลือกมา 18 ชนิด ผลการตรวจแสดงให้เห็นว่าปริมาณสารที่สนใจทั้ง 4 ในผักทุกชนิดที่นำมาศึกษามีค่าน้อยกว่า 50 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักสด ด้วยระดับความเข้มข้นนี้ทำให้สามารถจัดผักเหล่านี้อยู่ในกลุ่มอาหารที่มี อะดีโนซีน กัวโนซีน แซนทีน และกรดยูริกต่ำมาก ผลการศึกษานี้ได้ข้อมูลที่มีคุณค่าสำหรับบุคลากรทางการแพทย์โดยเฉพาะผู้ป่วยมีภาวะกรดยูริกสูง และผู้ป่วยเก๊าต์ และเนื่องจากยังไม่มีรายงานปริมาณของกรดยูริกและสารตั้งต้นกลุ่มพิวรีนในผักของไทยนี้มาก่อน

121 หน้า