ชื่อวิจัย **การพัฒนาวิธีการตรวจหาสารไมทราไจนีนในปัสสาวะของมนุษย์โดยใช้เทคนิคโครมาโทรกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง**

ชื่อผู้วิจัย **นางสาวธิดารัตน์ ประทุมวรรณ, นางสาวมุทิตา ไชยธาดา, นายราชนรินทร์ รุ่งกระจ่าง**

อาจารย์ที่ปรึกษา **รองศาสตราจารย์ ดร. จุไรทิพย์ หวังสินทวีกุล**

บทคัดย่อ

กระท่อม เป็นพืชที่พบได้ในเขตร้อนและกึ่งร้อนของภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยเฉพาะภาคใต้ของประเทศไทยและมาเลเซีย มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Mitragyna speciosa*. อยู่ในวงศ์เข็มและกาแฟ (Rubiaceae) สารออกฤทธิ์ที่สำคัญของใบกระท่อม คือ ไมทราไจนีน (Mitragynine) ซึ่งอยู่ในกลุ่มอัลคาลอยด์ งานวิจัยนี้ทำการศึกษาหาปริมาณสารไมทราไจนีนในปัสสาวะของผู้ใช้กระท่อมด้วยเทคนิค ultra-high performance Liquid Chromatography - tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) โดยใช้คอลัมน์ชนิด Shimadzu Shim-pack GIST-HP C18 ขนาด 150×3.0×3 มิลลิเมตร สารละลายตัวพาประกอบด้วย เมทานอลและสารละลายผสมระหว่างแอมโมเนียม อะซิเตตและกรดฟอร์มิก อัตราการไหลของสารละลายตัวพา 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที ค่า Retention time เท่ากับ 2.98 นาที การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ พบว่า ค่า Linearity ระหว่างความเข้มข้นของสารไมทราไจนีนกับพื้นที่ ใต้ peak เป็นเส้นตรง มีความเข้มข้น 0.078-25 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.9998 Recovery อยู่ในช่วง 92.4 -101.3 Precision ของเครื่องมือที่ใช้และของวิธีวิเคราะห์ในการวิเคราะห์วันเดียวกัน (intra-day) อยู่ในช่วง 1.11-1.84% และในการวิเคราะห์ต่างวันกัน (inter-day) อยู่ในช่วง 1.71-2.36% และมีค่าร้อยละการกลับคืนมาของสารไมทราไจนีนอยู่ในช่วง 92.4-101.3 % ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD) เท่ากับ 0.395 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ขีดจำกัดของการตรวจวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ) เท่ากับ 1.196 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งผลการทดสอบความถูกต้องของวิธีอยู่ในเกณฑ์ยอมรับสามารถนำไปใช้วิเคราะห์หาปริมาณของสารไมทราไจนีนในปัสสาวะของผู้ใช้กระท่อมได้

คำสำคัญ ไมทราไจนีน, กระท่อม, โครมาโทรกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง, ปัสสาวะ

Research Title Determination of mitragynine in human urine by High performance Liquid Chromatographic Method (HPLC)

Researchers Thidarat Prathumwan, Muthita Chaitada, Rachnarin Rungkrachang

Advisor Assoc. Prof. Dr. Juraithip Wungsintaweekul

Abstract

Mitragynine is an indole alkaloid extracted from the leaves of *Mitragyna speciosa* Korth (Rubiaceae).It is a native tree indigenous to Southeast Asia, especially in Thailand and Malaysia (also known as “Kratom” in Thailand, as “ketum” or “biak-biak” in Malaysia). The aim of this study was to determine the quantitative of mitragynine in human urine by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS). HPLC separation was achieved in 2.98 min with a Shimadzu Shim-pack GIST-HP C18 column heatded to 40°C (150 mm × 3.0 mm.; D 3 µm.) using gradient program. It used mobile phase A, consisting of methanol, and mobile phase B, consisting of 10mM ammonium acetate containing 10% formic acid, at a flow rate of 0.5 mL/min. The method was found linear in the range of 0.078-25 ng/mL. In the linearity study, good regression equation and correlation coeffient of 99.98 %. The intra- and inter-day precision of method were 1.11-1.84%CV and 1.71-2.36%CV, respectively. The limit of detection was 0.395 ng/mL. and lower limit of qualification was 1.196 ng/mL. This method was successfully applied to determine the quantitative of mitragynine in the abusers’urine

Keywords Mitragynine, Kratom, High performance liquid chromatography, Urine