



การหาปริมาณไมทราไจนีนในใบกระท่อมจากแหล่งต่างๆในประเทศไทย

โดย

นายนราพงศ์ บุรมรา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2554

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การหาปริมาณไมทราไจนีนในใบกระท่อมจากแหล่งต่างๆในประเทศไทย

โดย

นายนราพงศ์ บุรมรา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2554

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

**Determination of Mitragynine in Mitragyna Speciosa Korth leaves from different parts of
Thailand**

By

Mr. Narapong Buromra

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

Master of Science Program in FORENSIC SCIENCE

Program of forensic science

Graduate School, Silpakorn University

Academic Year 2011

Copyright of Graduate School, Silpakorn University

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง “การหาปริมาณไมทรา
ไจนินในใบกระท่อมจากแหล่งต่างๆในประเทศไทย” เสนอโดย นายนราพงศ์ บุรมรา เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปานใจ ธารทัศนวงศ์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

อาจารย์ ดร.ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(อาจารย์ ดร.ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี)

...../...../.....

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.วีรชัย พุทธวงศ์)

...../...../.....

..... กรรมการ

(อาจารย์ ดร.ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง)

...../...../.....

50312312 : สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

คำสำคัญ : ใบกระท่อม / สารอัลคาลอยด์ / ไมทราไจนีน

นราพงศ์ บุรมรา : การหาปริมาณสารอัลคาลอยด์ในใบกระท่อมจากแหล่งต่างๆในประเทศไทย. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : อ.ดร.ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง. 47 หน้า.

Mitragynine เป็นสารจำพวกอัลคาลอยด์ที่พบในใบกระท่อม มีฤทธิ์กดประสาทส่วนกลาง ในงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยได้นำใบกระท่อมจากแหล่งต่างๆของประเทศไทย มาทำการสกัด Mitragynine จากใบกระท่อมด้วยคลอโรฟอร์ม นำสารที่สกัดได้มาแยกหา Mitragynine ต่อโดยเทคนิค Thin Layer Chromatography (TLC) นำสารที่แยกได้มาวิเคราะห์โดยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ และเทคนิค FT-IR เพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ของ Mitragynine และนำมาใช้เป็นสารมาตรฐานในเทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC) ได้กราฟมาตรฐานที่มีช่วงความเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้น 6.25 ppm – 100.00 ppm ค่า correlation coefficient (R^2) เท่ากับ 0.9954 พบว่าปริมาณ Mitragynine ในใบกระท่อมที่สกัดได้จากแหล่งต่างๆของประเทศไทย มีปริมาณอยู่ในช่วง 1.391 mg/g – 7.810 mg/g ของใบกระท่อมแห้ง Mitragynine ที่สกัดได้สามารถประยุกต์ใช้ในการเตรียมสารมาตรฐานในการวิเคราะห์หาปริมาณ Mitragynine โดยเทคนิค HPLC ซึ่งเป็นประโยชน์ทางนิติวิทยาศาสตร์

สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2554

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์.....

50312312 : MAJOR : FORENSIC SCIENCE

KEYWORD : MITRAGYNINE / ALKALOID / HIGH PERFORMANCE LIQUID
CHROMATOGRAPHY (HPLC)

NARAPONG BUROMRA : DETERMINATION OF MITRAGYNINE IN
MITRAGYNA SPECIOSA KORTH LEAVES FROM DIFFERENT PARTS OF THAILAND.
THESIS ADVISOR : SIRIRAT CHOOSAKOONKRIANG, Ph.D. 47 pp.

Mitragynine is an alkaloid found in *Mitragyna Speciosa Korth* (MSK) leaves. It was reported that the compound produce an effect on the central nervous system. In this study, the MSK leaves collected from various locations of Thailand were extracted by using chloroform as a solvent. The crude extract was further separated for mitragynine by the thin layer chromatography (TLC) technique. The purified mitragynine was then characterized by ^1H NMR, ^{13}C NMR, and FTIR techniques and was used as a standard compound in High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The standard calibration curve was established in the concentration range of 6.25 ppm – 100.00 ppm with a correlation coefficient (R^2) of 0.9954. The amounts of mitragynine in the samples collected from different parts of Thailand were found to be in the range of 1.391 mg/g – 7.810 mg/g on a dry basis. The purified mitragynine used in this work has been shown to be a good substitute for standard mitragynine in HPLC analysis of forensic samples.

Department of Forensic Science Graduate School, Silpakorn University Academic Year 2011

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้ กรุณาให้โอกาส ให้คำแนะนำ ให้กำลังใจ ช่วยเหลือ ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลงได้อย่างสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ อาจารย์.ดร.ศุภชัย สุกลักษณ์นารี ประธานกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์ และ รองศาสตราจารย์ ดร.วีรชัย พุทธวงศ์ กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ กรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำแนะนำตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ รวมทั้งผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัยที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความเรียบร้อยและสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ขอขอบคุณปัญญากร เจียรธนบัตร ที่คอยช่วยเหลือให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วง ขอขอบคุณภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่สนับสนุนช่วยเหลือคอยดูแลให้คำแนะนำในการทำปฏิบัติการ และบุคคลที่เกี่ยวข้องทุก ๆ ท่านที่ให้การช่วยเหลือสนับสนุนและเป็นกำลังใจ ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีจนเป็นผลงานวิจัยที่มีคุณค่าและมีประสิทธิภาพในการนำเสนอผลงานวิจัยทั้งในประเทศได้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์สาขานิติวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ได้ถ่ายทอดความรู้เกี่ยวกับนิติวิทยาศาสตร์อันเป็นที่มาของการศึกษาวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณชนม์ รอดผล คุณสารัตน์ ถ้วนดี และ น.ศ. ลัดดาวัลย์ ศรีวัฒนา ที่ให้ความรู้ในการใช้เครื่องมือและคำแนะนำต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์เป็นอย่างดี

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ สาขานิติวิทยาศาสตร์ รุ่น 3 มหาวิทยาลัยศิลปากร ทุกคนสำหรับมิตรภาพและสีสันในการเรียน

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สุรพจน์ วงษ์ใหญ่ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุญรัตน์ สุขเขียว ที่กรุณาให้คำแนะนำและข้อมูลเกี่ยวกับใบกระท่อม

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์ และ เจ้าหน้าที่ คณะการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต ที่กรุณาให้คำแนะนำ ความช่วยเหลือในด้านห้องปฏิบัติการพืชสมุนไพร

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณพ่อและแม่ รวมถึงทุกคนในครอบครัวที่เป็นกำลังใจ และให้การสนับสนุนช่วยเหลือจนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จเสร็จสิ้นลงได้ด้วยดี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง	ณ
สารบัญรูป	ญ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญ	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
สมมติฐานของการวิจัย.....	2
ขอบเขตของการวิจัย.....	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย	2
ขั้นตอนการวิจัย	2
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
ใบกระท่อม	3
แอลคาลอยด์	8
เทคนิค High performance liquid chromatography.....	10
เทคนิค Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy.....	11
เทคนิค Infrared Spectroscopy.....	12
วรรณกรรมงานวิจัยของพืชกระท่อม	14
3 วิธีดำเนินการวิจัย	16
วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี	16
วิธีการทดลอง	17
การสกัดใบกระท่อม	17
การทำ TLC เพื่อแยก Mitragynine ออกจากสารตัวอื่น	18
การทดสอบด้วย Ehrlich's reagent	18
การวิเคราะห์โดยเทคนิค ^1H NMR และ ^{13}C NMR.....	18

	การวิเคราะห์โดยเทคนิค FTIR.....	18
	การสร้างกราฟสารละลายมาตรฐาน (Calibration curve).....	18
	การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC.....	19
บทที่		หน้า
4	ผลการวิจัย	20
	การวิเคราะห์และสกัดสาร Mitragynine จากใบกระท่อม	20
5	บทสรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	28
	สรุปและอภิปรายผล	28
	ข้อเสนอแนะ	29
	บรรณานุกรม.....	30
	ภาคผนวก	32
	ประวัติผู้วิจัย	47

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	พืชกระท่อมจากพื้นที่ต่างๆ	16
2	รายการเครื่องมือและอุปกรณ์	16
3	รายการสารเคมี	17
4	แสดงค่า Chemical shifts ของ Proton แต่ละชุด	22
5	แสดงค่า Chemical shifts ของ Carbon แต่ละชุด.....	23
6	แสดงค่าพื้นที่ใต้พีคของเส้นกราฟมาตรฐาน	26
7	ปริมาณสาร Mitragynine จากแหล่งต่างๆของประเทศไทย	27
8	สรุปปริมาณสาร Mitragynine จากแหล่งต่างๆของประเทศไทย	28

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างของ Mitragynine.....	5
2	ส่วนประกอบของเครื่อง High performance liquid chromatography(HPLC)...	10
3	การจัดวางตัวของนิวเคลียร์สปินเมื่อได้รับสนามแม่เหล็กภายนอก.....	12
4	แผนภาพแสดงส่วนประกอบของเครื่อง NMR spectrometer.....	12
5	การสั้นของโมเลกุลในรูปแบบต่างๆ.....	13
6	การแยกของสาร Mitragynine บนแผ่น TLC.....	20
7	การทดสอบด้วย Ehrlich's reagent บนแผ่นTLC.....	21
8	¹ H-NMR spectrum ของ Mitragynine	22
9	¹³ C-NMR Spectrum ของ Mitragynine.....	23
10	IR spectrum ของ Mitragynine	24
11	Chromatogram ของ Mitragynine ที่สกัดได้จากใบกระท่อม.....	25
12	Calibration curve ของ Mitragynine ที่ความเข้มข้น 6.25 ppm -100 ppm.....	26

บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญ

สารอัลคาลอยด์ (Alkaloids) [1] เป็นสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ โครงสร้างส่วนใหญ่เป็น heterocyclic ring มักพบในพืชชั้นสูง มีสูตรโครงสร้างซับซ้อนและแตกต่างกันมากมาย ปัจจุบันพบอัลคาลอยด์ มากกว่า 5,000 ชนิด พืชสมุนไพรที่มีอัลคาลอยด์ เช่น กระเทียม หอมกลัฟอง ดอกคิง ยาสูบ กลอย ฟีน เป็นต้น ในงานวิจัยนี้สนใจศึกษาสารอัลคาลอยด์คือ Mitragynine ในพืชกระเทียม เนื่องจากในปัจจุบันนี้ปัญหาเสพติดในประเทศไทยมีปัญหาทวีความรุนแรงมากยิ่งขึ้น กระเทียมเป็นหนึ่งในปัญหานี้และในปัจจุบันมีผู้เสพติดกระเทียมในกลุ่มของผู้ใช้แรงงานเป็นจำนวนมาก กระเทียมจึงเป็นปัญหาอย่างยิ่งต่อการก่ออาชญากรรมรุนแรงต่างๆ

กระเทียม [2,3] มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Mitragyna speciosa* Korth. อยู่ในวงศ์ Rubiaceae มีลักษณะเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง มีฤทธิ์ประเภทกระตุ้นประสาท มีอาการโรคจิตหวาดระแวง เห็นภาพหลอนและพูดไม่ค่อยรู้เรื่อง พบได้ในบางจังหวัดของภาคกลาง เช่น ปทุมธานี แต่จะพบมากในป่าธรรมชาติบริเวณภาคใต้ เช่น สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช ตรัง สตูล พัทลุง สงขลา ยะลา ปัตตานี นราธิวาส และตอนบนของประเทศมาเลเซีย กระเทียมเป็นพืชเสพติดให้โทษประเภท 5 ตาม พ.ร.บ. ยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522

ในงานวิจัยนี้ ได้ทำการสกัด Mitragynine จากใบกระเทียมที่ได้จากแหล่งต่างๆด้วย chloroform นำมาแยกโดยใช้เทคนิค Thin layer Chromatography (TLC) พิสูจน์เอกลักษณ์โดยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ และ FT-IR เพื่อใช้เป็นสารมาตรฐาน และวิเคราะห์หาปริมาณ Mitragynine โดยเทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC) เพื่อเป็นแนวทางในการตรวจวิเคราะห์พืชกระเทียม และสามารถนำมาเปรียบเทียบได้ว่าตัวอย่างกระเทียมมาจากแหล่งที่มาใด ซึ่งนำมาใช้ประโยชน์กับงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ในประเทศไทย

วัตถุประสงค์การศึกษา

1. เพื่อศึกษาการสกัด Mitragynine จากใบกระเทียมมาใช้เป็นสารมาตรฐาน และวิเคราะห์หาปริมาณ Mitragynine ซึ่งนำมาใช้ประโยชน์กับงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ในประเทศไทย
2. เพื่อศึกษาแนวทางในการตรวจวิเคราะห์พืชกระเทียม และสามารถนำมาเปรียบเทียบได้ว่าตัวอย่างกระเทียมมาจากแหล่งที่มาใด

สมมติฐานของการวิจัย

1. ใบกระท่อมที่มาจากต่างพื้นที่กันมีความแตกต่างของปริมาณ Mitragynine
2. มีความแตกต่างของลักษณะทางกายภาพของผงใบกระท่อมและใบกระท่อมสด

ขอบเขตการศึกษา

1. ศึกษาใบกระท่อมด้วยวิธีตรวจเอกลักษณ์ของใบกระท่อม
2. นำพืชกระท่อมจาก จ.สุราษฎร์ธานี, อ.เมือง และ อ.ลำลูกกา จ.ปทุมธานี, เขตดอนเมือง และ เขตสะพานสูง จ.กรุงเทพมหานคร, จังหวัดนครปฐม และบึงฉวาก จ.สุพรรณบุรีมาตรวจสอบหาปริมาณ Mitragynine

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ทราบถึงประโยชน์ข้อจำกัดตลอดจนข้อเสียของสารสำคัญในพืชกระท่อม ที่นำมาใช้กับงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ในประเทศไทย
2. ทราบข้อมูลเกี่ยวกับสารสำคัญในกระท่อมและนำไปใช้ในงานด้านการแพทย์สาธารณสุขได้
3. ได้ทราบถึงปริมาณสารสำคัญในกระท่อมในพื้นที่ปลูกนั้นว่ามีปริมาณสารสำคัญเท่าไร

ขั้นตอนการวิจัย

1. ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
2. เตรียมอุปกรณ์ เครื่องมือ สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย
3. เก็บตัวอย่างและทำการทดลอง
4. เก็บรวบรวมข้อมูลผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง
5. สรุปผลพร้อมข้อเสนอแนะ
6. นำเสนอผลการศึกษา

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. ใบกระท่อม

1.1 ประวัติการใช้ใบกระท่อม

สมัยโบราณกระท่อมเป็นพืชที่ใช้เป็นตัวยาในตำรับพวดยาแก้ท้องเสียในสูตรยาของหมอพื้นบ้านหรือหมอแผนโบราณ เช่นตำรับยาประสะกระท่อมเป็นต้นอย่างไรก็ตามไม่มีความจำเป็นต้องใช้ขนาดนี้แล้วเพราะมียาแผนปัจจุบันและแผนโบราณให้ผลเท่าเทียมหรือดีกว่า ในบางท้องที่ของประเทศ มีการกล่าวกันว่า พ่อแม่เลือกที่จะยกลูกสาวตนให้แต่งงานกับผู้ชายที่ใช้กระท่อมมากกว่าที่จะยกให้แก่ผู้ชายที่ใช้กัญชา ความเชื่อนี้เป็นเพราะผู้ชายที่ใช้พืชกระท่อมหมายถึงคนที่ทำงานหนัก ในขณะที่คนที่ใช้กัญชาสื่อให้เห็นว่าเป็นคนเกียจคร้าน ความเชื่อนี้ได้รับการยืนยันจากผู้ใช้กระท่อมหลายราย [4] ที่เปิดเผยว่า พวกเขาเริ่มหันมาใช้พืชกระท่อม เพราะต้องการเอาชนะภาระงานหนักที่ต้องแบกรับ และความอ่อนเพลียที่เกิดขึ้น จะได้ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ การใช้พืชกระท่อมทำให้พวกเขาขยันทำงาน ด้วยจุดประสงค์การใช้เพื่อช่วยให้สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพนี้ ทำให้การเพาะปลูกและตลาดค้าขายพืชกระท่อมในสังคมไทยขยายกว้างมากในปี 2469 แม้ว่า ได้มีพระไอยการลักษณะโจรในกฎหมายตรา 3 ดวง (24) ระบุโทษเกี่ยวกับความผิดเนื่องจากการซื้อ – ขาย และเสพยาเสพติดเป็นครั้งแรก ตั้งแต่ปี 1903 สมัยสมเด็จพระรามาธิบดีที่ 1 (พระเจ้าอยู่หัว) แต่การประกาศพืชกระท่อมเป็นยาเสพติดเริ่มบังคับใช้ในปี 2486 ตั้งแต่วันที่ 3 สิงหาคม 2486 ห้ามปลูก ซื้อ – ขาย นำเข้า เสพ หรือมีไว้ในครอบครอง และมีผลให้ต้องโค่นต้นที่มีอยู่ลงทั้งหมด โดยที่กระท่อมเป็นพืชพื้นบ้าน พระราชบัญญัตินี้จึงห้ามไม่ได้ผลเท่าใดนัก เมื่อมีการตราพระราชบัญญัติว่าด้วยยาเสพติดให้โทษ พ.ศ.2522 ขึ้น จึงได้ยกเลิก พ.ร.บ. พืชกระท่อมและจัดพืชกระท่อมเป็นยาเสพติดประเภท 5 เช่นเดียวกับฝิ่น และกัญชา อย่างไรก็ตามกฎหมายฉบับนี้ ก็เป็นเช่นเดียวกับกฎหมายห้ามในที่อื่น ๆ ในโลก ที่ทำให้ราคาผลิตภัณฑ์ในตลาดมืดสูงขึ้นเป็นอย่างมาก บ่อยครั้งได้มีการใช้พืชอื่นในตระกูลเดียวกับกระท่อม เช่น กระท่อมหนู เพื่อทดแทนพืชกระท่อมซึ่งเป็นพืชต้องห้าม แต่ไม่ประสบผลสำเร็จ เนื่องจากสารอัลคาลอยด์สำคัญในกระท่อมหนู คือ Mitragynine ยังไม่มีการทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา และที่สำคัญกระท่อมหนูมีอัลคาลอยด์ Mitragynine ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์สำคัญในใบกระท่อม

กระท่อมเป็นพืชล้มลุก ที่จัดเป็น ยาเสพติดให้โทษประเภทที่ 5 ตามความในพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522 มาตรา 7 ยาเสพติดให้โทษ ซึ่งสิ่งเสพติดในประเภท 5 ได้แก่ กัญชา และพืชกระท่อม [5]

1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

กระท่อม เป็นพืชยืนต้นขนาดกลาง มีแก่นเป็นไม้เนื้อแข็ง ที่มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Mitragyna speciosa* Korth จัดอยู่ในตระกูลเดียวกับต้นเข็ม คือ ตระกูล Rubiaceae โดยทั่วไปมีสูงประมาณ 10 – 15 เมตร ใบเป็นใบเดี่ยวสีเขียว เรียงตัวเป็นคู่ตรงข้าม แผ่นใบขนาดกว้างประมาณ 5 – 10 ซม. ยาวประมาณ 8 – 14 ซม. ดอกมีสีขาวอมเหลืองออกเป็นช่อดึ่งกลมขนาด 3 – 5 ซม. กระท่อมจัดเป็นพืชเฉพาะถิ่น มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนชื้นแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยเฉพาะประเทศไทย มลายู จนถึงเกาะนิวกินี มีชื่อเรียกแตกต่างกันไปในแต่ละที่ เช่น ในประเทศไทย ภาคเหนือ เรียกว่า อีค่าง อีแดง กระท่อม ภาคใต้ เรียกว่า ท่อม ท่ม หรือกระท่อมโคก กระท่อมพาย ในมลายู เรียกว่า Kutum หรือ Ketum Bia หรือ Biak ลาว เรียกว่า Neithum อินโดจีนเรียกว่า Kodam [6]

ในประเทศไทยมีการนำพืชกระท่อมมาใช้เป็นยาแก้โรคบิด ท้องร่วง และปวดมวนท้อง ชาวนานิคมบริโกลโดยการเคี้ยวใบสด หรือเอาใบมาทำให้เกรียมและด่ำผสมน้ำพริกรับประทานเป็นอาหาร เพื่อให้มีแรงทำงานและสามารถทนตากแดดอยู่กลางแจ้งได้เป็นเวลานานโดยไม่รู้สึกเหนื่อย ชาวมลายูใช้ใบกระท่อมด่ำพอกแผล และใช้ทั้งใบเผาไฟร่อนวางบนท้องรักษาโรคม้ามโต ตลอดจนใช้กระท่อมเพื่อทดแทนฝิ่นในท้องที่ซึ่งหาฝิ่นไม่ได้ มีเพียงกลุ่มน้อยที่ใช้ใบกระท่อมเพื่อยืดระยะเวลาการมีเพศสัมพันธ์ ผู้ใช้จำนวนหนึ่งระบุว่า มีความต้องการทางเพศลดลง และจำเป็นต้องรับประทานร่วมกับแอลกอฮอล์เพื่อกระตุ้นให้เกิดความต้องการทางเพศ และบ่อยครั้งมีการใช้ใบกระท่อมเพื่อควบคุมการติดยาโดยเฉพาะในประเทศนิวกินีแลนด์ปัจจุบัน

1.3 สารสำคัญที่พบในใบกระท่อม

ใบกระท่อมประกอบด้วยอัลคาลอยด์ทั้งหมดประมาณร้อยละ 0.5 ในจำนวนนี้เป็น Mitragynine ร้อยละ 0.25 (เป็นอัลคาลอยด์ตัวสำคัญที่มีปริมาณมากที่สุด) ที่เหลือเป็น Speciogynine และ Paynanthine สำหรับ Speciociliatine พบในปริมาณน้อย และพบ Oxindole alkaloids ในปริมาณน้อยมาก

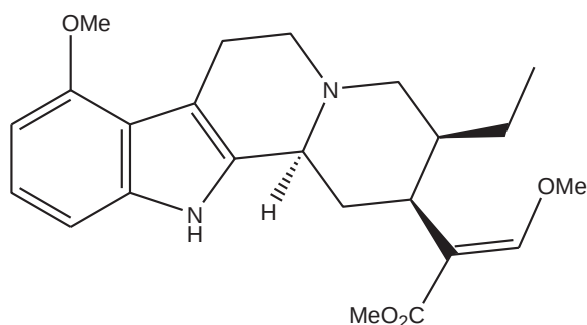
ชนิดและปริมาณอัลคาลอยด์ที่พบจะแตกต่างกันตามสถานที่ และเวลาที่เก็บเกี่ยว โดยอัลคาลอยด์ที่พบในใบแก่ของต้นกระท่อมมีปริมาณ 40 ชนิด ในใบอ่อนพบอัลคาลอยด์ปริมาณน้อยมาก ซึ่งอัลคาลอยด์ที่มีการแยกและตรวจสอบหาสูตรโครงสร้างได้ สามารถแบ่งตามสูตรโครงสร้างเป็น 4 ประเภท คือ

1.3.1 Indole Alkaloids ตัวที่สำคัญ ได้แก่ Mitragynine, Paynantheine, Speciogynine

1.3.2 Oxindole Alkaloids

1.3.3 Flavanoids ซึ่งมีฤทธิ์ anti-oxidants

1.3.4 กลุ่มอื่นๆ เช่น phytosterol, tannins



ภาพที่ 1 โครงสร้างของ mitragynine

ชื่อทางเคมี 9-methoxy-corynantheidine

สูตรทางเคมี $C_{23}H_{30}N_2O_4$

M.W. = 398.22 g/mol

M.P. = 110 – 115.6 °C

B.P. = 230 – 240 °C

UV max : 225 nm

เป็น Base มีลักษณะเป็นผง amorphous สีขาว

ละลายใน alcohol chloroform และ acetic acid

เนื่องจาก ปริมาณ Mitragynine ในใบกระท่อมขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น แหล่งกำเนิด อายุ จึงต้องการที่จะศึกษาปริมาณ Mitragynine จากใบกระท่อมแต่ละแหล่งกำเนิดว่ามีปริมาณ Mitragynine เท่ากันหรือไม่ ซึ่งในการศึกษารั้งนี้ ได้ทำการศึกษาจากใบกระท่อม 3 จังหวัดด้วยกัน คือ สุราษฎร์ธานี ปทุมธานี และสุพรรณบุรี

1.4 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

อัลคาลอยด์สกัด Mitragynine ออกฤทธิ์กดประสาทส่วนกลาง (CNS depressant) เช่นเดียวกับยาเสพติดกลุ่มเดียวกัน เช่น psilocybin LSD และ ยาบ้า คือ การลดระดับการบีบตัวของกล้ามเนื้อเรียบ ทำให้เกิดอาการชาเฉพาะที่ และกดระบบประสาทส่วนกลาง หลอนประสาท ทำให้เคลิบเคลิ้ม มีผลต่อจิตใจ แก้ปวด กดความรู้สึกเมื่อยล้าขณะทำงาน ทำให้สามารถทำงานได้นานและทนมากขึ้น และทนต่อความร้อนมากขึ้นเช่นกัน ดังนั้นจึงทำให้ผู้ที่ใช้ใบกระท่อม สามารถทำงาน

กลางแจ้งได้ทนนานขึ้น เมื่อติดยาจะมีการเบื่ออาหาร น้ำหนักตัวลด ผิวหนังดำเกรียม บางรายมีสภาพจิตสับสน

โดยสูตรโครงสร้างแล้ว Indole Alkaloids เป็นสาร Psychoactive แต่ไม่ใช่สารเสพติด และมีที่ใช้เป็นสารต้านยาเสพติดในหลายกรณี สาร Mitragynine เพียงปริมาณเล็กน้อย ประมาณ 2-3 ใบต่อวัน ในระยะเวลา 2-3 สัปดาห์ สามารถทำให้เลิกฝิ่นได้ และคนไทยจำนวนมากใช้ใบกระท่อมเพื่อควบคุมการบริโภคฝิ่น

1.5 วิธีบริโภคใบกระท่อม

ใช้โดยวิธี เคี้ยวใบสดหรือบดใบแห้ง ละลายน้ำดื่ม โดยทั่วไปใบกระท่อมมี 2 ชนิด คือ ชนิดเส้นใบสีแดง และเส้นใบสีเขียว ใบกระท่อมเส้นใบเขียวหรือก้านเขียวนี้เป็นที่นิยมบริโภคมากกว่าชนิดอื่น ๆ หรือมักจะนิยมบริโภคทั้งสองชนิดผสมกัน บางรายเคี้ยวด้วยเล็กน้อยเพื่อป้องกันท้องผูก ส่วนมากจะเคี้ยวเพียง 2 – 3 ใบ และดื่มน้ำอุ่น หรือกาแฟร้อนตาม บริโภควันละ 3 – 10 ครั้งต่อวันตามอาการเหนื่อย เมื่อบริโภคไประยะหนึ่ง ปริมาณการบริโภคจะเพิ่มขึ้น (ประมาณ ร้อยละ 37 บริโภควันละ 21 - 30 ใบ)

ภายใน 5 - 10 นาทีหลังเคี้ยว จะรู้สึกสงบ มีความสุข อยากอยู่ตามลำพัง มีเรี่ยวแรง กระฉับกระเฉง และกระตือรือร้นที่จะทำงาน สามารถทำงานกลางแจ้งซึ่งเคยร่อนจัดได้นาน คนติดกระท่อมมักจะกลัวฝน เพราะเมื่อถูกฝนจะป่วยเป็นหวัดได้ง่าย

1.6 พืชชนิดอื่นที่มีอัลคาลอยด์คล้ายคลึงกับพืชกระท่อม

อัลคาลอยด์สำคัญหลายตัวที่พบในใบกระท่อม มีในพืชชนิดอื่น ๆ ที่อยู่ในตระกูล Rubiaceae เดียวกันอย่างน้อย 3 – 4 ชนิด ที่มีการศึกษาวิจัยแล้ว เช่น ท่อมจีหุมู กระท่อมดง หรือกระท่อมนา เป็นไม้ยืนต้นเช่นเดียวกับกระท่อม ลักษณะใบและดอกคล้ายกัน ต่างกันที่ท่อมจีหุมูมีขนนุ่มที่บริเวณก้านใบและก้านดอก ใบใช้แก้ท้องเสีย แก้ปวดบวม

1.7 อาการอันไม่พึงประสงค์

อาการข้างเคียงแบบเฉียบพลันของ Mitragynine คล้ายกับมอร์ฟีน คือ ทำให้ปากแห้ง ปัสสาวะบ่อย เบื่ออาหาร ท้องผูก อุจจาระดำและก้อนเล็กคล้ายอุจจาระแพะ ที่แตกต่างจากฝิ่น คือ ไม่ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน รายที่ใช้มาก นอนหลับยาก และยังพบอีกว่าเสพกระท่อมโดยไม่ได้รู้ตัวเอาก้านใบออกจากตัวใบก่อน อาจจะทำให้เกิดอาการที่เรียกว่า “ ถูกระท่อม “ ในลำไส้ได้ เนื่องจากก้านใบและใบของกระท่อมไม่สามารถย่อยได้ จึงตกตะกอนติดค้างอยู่ภายในลำไส้ ทำให้ขับถ่ายออกมาไม่ได้ เกิดพังผืดขึ้นมาหุ้มรัดอยู่โดยรอบก้อนกากกระท่อมนั้น ทำให้เกิดเป็นก้อนถูขึ้นมาในลำไส้ เมื่อใช้เป็นเวลานาน จะมีอาการเบื่ออาหาร น้ำหนักตัวลด นอนไม่หลับ ผิวหนัง โดยเฉพาะบริเวณแก้ม มีสีคล้ำขึ้นคล้ายหน้าผู้ป่วยโรคตับ ประมาณร้อยละ 30 ของผู้ติดกระท่อม

รายงานว่ามีความต้องการทางเพศลดลง และต้องการใช้กระท่อมร่วมกับแอลกอฮอล์เพื่อกระตุ้นความต้องการทางเพศ ดังนั้น การติดยาจึงเกิดจากการใช้ยาในขนาดสูง การติดกระท่อมเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นอย่างช้าๆ โดยการเพิ่มขนาดปริมาณ และความถี่ในการใช้ ในระยะของการติด ผู้ใช้จะยังสามารถทำงานหนักซึ่งไม่ต้องใช้กำลังมากนักได้เป็นอย่างดี เมื่อการติยาคำเนินไปนานขึ้น ผู้ติดกระท่อมจะหมดแรงลง และมีอาการในทางตรงกันข้ามกับผลที่ได้ในระยะแรก ๆ ของการเสพ

1.7.1 อาการติดยา (addiction) คล้ายกับแอมเฟตามีน คือ เบื่ออาหาร ทำงานได้มากเกินปกติ ตื่นเต้น ตื่นตัวเพราะประสาทถูกกระตุ้น แต่ยังไม่เคยมีรายงานผู้เสพยาติดกระท่อมก่อปัญหาอาชญากรรมหรืออุบัติเหตุเหมือนที่ได้รับรายงานกรณีผู้เสพยาติดแอมเฟตามีน ซึ่งพบอาการโรคจิตหวาดระแวง เห็นภาพหลอน คิดว่าคนจะมาทำร้ายตน และพูดไม่ค่อยรู้เรื่อง

1.7.2 อาการขาดยา (withdrawal symptom) ไม่มีแรง ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อและกระดูก แขนขากระดูก รู้สึกอ่อนเพลียไม่สามารถทำงานได้ อารมณ์ซึมเศร้า จมูกและ น้ำตาไหล บางรายก้าวร้าว แต่เป็นมิตร (hostility) นอนไม่หลับ เบื่ออาหาร ซึ่งตรงข้ามกับอาการขาดยาแอมเฟตามีนที่จะทำให้รู้สึกง่วงนอนมาก หัวใจ และมือสั่น

1.8 กลไกการออกฤทธิ์ของ Mitragynine

แม้ว่าสูตรโครงสร้างของอัลคาลอยด์ในใบกระท่อมจะสัมพันธ์กับกลุ่มสารที่มีฤทธิ์หลอนประสาท (Psychedelic activity) แต่กระท่อมกลับมีฤทธิ์คล้ายกับกลุ่มฝิ่น (Opioid drugs) รวมทั้งฤทธิ์แก้ปวด และระงับอาการไอ ปริมาณความแรงเท่ากับโคเคอิน Mitragynine ช่วยลดอาการขาดยาฝิ่น (Opiate withdrawal) และผลการกดอาการขาดฝิ่นนี้ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อให้ยาด้านฝิ่น (Opiate antagonist) เช่น Nalorphine เป็นต้น

1.9 กลุ่มผู้ใช้พืชกระท่อม

ผู้ใช้พืชกระท่อมส่วนใหญ่เป็นชาวนา ชาวสวน (คนกรีดยาง) ผู้ใช้แรงงานในพื้นที่ชนบท คนขับรถทางไกล วัยรุ่น/ นักเรียน (ผสมกับเครื่องดื่ม/ สารเสพติดอื่น) ชาวบ้านบริโภคตามวัฒนธรรมท้องถิ่น ซึ่งส่วนใหญ่เป็นผู้ชาย นอกจากนี้ ยังพบว่าปัจจุบันกลุ่มวัยรุ่น และนักเรียนมัธยมนำน้ำกระท่อมดื่ม ผสมกับโค้ก ยากันยุง และยาแก้ไอ (4×100)

2. แอลคาลอยด์

แอลคาลอยด์เป็นกลุ่มสารที่มีความสำคัญทั้งในด้านเป็นยารักษาโรค และเป็นยาพิษ มนุษย์รู้จักใช้สารจำพวกแอลคาลอยด์มาตั้งแต่สมัยโบราณแล้วถึงแม้ว่าสูตรโครงสร้างของสารในกลุ่มนี้จะเพ่งทราบกันเมื่อไม่นานมานี้ก็ตาม ปัจจุบันพบแอลคาลอยด์มากกว่า 5,000 ชนิด แอลคาลอยด์ส่วนใหญ่จะมีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยา จึงมีผู้สนใจศึกษาสารในกลุ่มนี้กันอย่างกว้างขวาง

2.1 คำจำกัดความ

คำว่าแอลคาลอยด์ ซึ่งแปลว่า “alkali – like” ถูกเรียกเป็นครั้งแรกโดยเภสัชกรชื่อ W. Meissner ในปี ค.ศ. 1819 โดยใช้เรียกกลุ่มสารที่มีฤทธิ์เป็นด่าง มีไนโตรเจนอยู่ในโมเลกุลและแยกได้จากพืช ต่อมาผู้ให้คำจำกัดความของคำ ๆ นี้อีกมากมาย เช่น ในปี 1896 Mayer ได้ให้คำจำกัดความว่า แอลคาลอยด์ เป็นสารที่พบในพืช มักจะมีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาที่เด่นชัด เป็นสารที่ประกอบขึ้นด้วย ไนโตรเจน คาร์บอน ไฮโดรเจน และมักจะมีออกซิเจนร่วมอยู่ด้วย โดยทั่วไปสารเหล่านี้จะมีคุณสมบัติคล้ายด่าง ต่อมาในปี ค.ศ. 1910 Winterstein และ Trier ได้ให้คำอธิบายกว้าง ๆ ไว้ว่า แอลคาลอยด์ เป็นสารที่มีฤทธิ์เป็นด่าง และมีไนโตรเจนอยู่ในโมเลกุล อาจจะได้มาจากพืช หรือสัตว์ แต่สำหรับ “True alkaloids” นั้นจะต้องมีคุณสมบัติเพิ่มเติมดังนี้ คือ มีไนโตรเจนอยู่ใน Heterocyclic ring มีสูตรโครงสร้างสลับซับซ้อน มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่เด่นชัด และพบได้เฉพาะในพืช

ภายหลังจากที่ได้มีการศึกษาและค้นพบแอลคาลอยด์มากขึ้น ทำให้ทราบว่าแอลคาลอยด์มีโครงสร้าง และคุณสมบัติแตกต่างกันมากมาย จึงเป็นการยากที่จะหาคำนิยามที่เหมาะสม ซึ่งจะสามารถครอบคลุมแอลคาลอยด์ทุกชนิดได้ เช่น Colchicine และ Ricinine ไม่มีฤทธิ์เป็นด่าง Ephedrine, Muscarine และ Mescaline ไม่มีไนโตรเจนอยู่ใน heterocyclic ring เป็นต้น แต่สารเหล่านี้ถูกจัดเป็นแอลคาลอยด์ เนื่องจากมีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาที่เด่นชัด และมีการกระจายตัวอยู่ในพืชอย่างจำกัด นอกจากนี้ยังมีแอลคาลอยด์อีกไม่น้อย ที่พบในสัตว์ และจุลินทรีย์

2.2 แหล่งกำเนิด

แอลคาลอยด์ ส่วนใหญ่จะพบในพืชชั้นสูง ประมาณ 150 วงศ์ ส่วนมากเป็นพืชใบเลี้ยงคู่ วงศ์ของพืชที่พบแอลคาลอยด์เป็นส่วนใหญ่ได้แก่ Apocynaceae, Papaveraceae, Papilionaceae, Rubiaceae, Rutaceae, Ranunculaceae, Menispermaceae, Lauraceae, Loganiaceae, Berberidaceae และ Compositae ในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว พบแอลคาลอยด์ได้น้อย วงศ์ที่พบ ได้แก่ Liliaceae และ Amaryllidaceae โดยทั่วไปแล้วพบว่า แอลคาลอยด์ชนิดเดียวกัน หรือสกุลที่ใกล้เคียงกัน ตัวอย่างเช่น Hyoscyamine พบในพืชวงศ์ Solonaceae ได้หลายสกุล เช่น *Datura*, *Atropa*, *Doboisia* และ *Scopolia* เป็นต้น

อย่างไรก็ตาม แอลคาลอยด์ที่มีโครงสร้างไม่สลับซับซ้อน อาจพบอยู่ในพืชหลายวงศ์ ซึ่งไม่มีความสัมพันธ์กันเลย ในขณะที่แอลคาลอยด์ที่มีโครงสร้างค่อนข้างซับซ้อน มักจะพบจำกัดอยู่ในพืชบางสกุลเท่านั้น

แอลคาลอยด์ พบได้ในส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ใบ ดอก ผล เมล็ด เปลือก ราก เป็นต้น พืชแต่ละชนิดจะสร้างและสะสมแอลคาลอยด์ในปริมาณที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังพบว่า ปริมาณแอลคาลอยด์ในพืชยังขึ้นอยู่กับอายุของพืชด้วย เช่น ปริมาณแอลคาลอยด์ในใบจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนมากที่สุดเมื่อใบเติบโตเต็มที่และลดลง

2.3 หน้าที่ของแอลคาลอยด์ในพืช

หน้าที่ของแอลคาลอยด์ในพืชยังไม่ทราบแน่ชัด มีผู้สันนิษฐานว่า แอลคาลอยด์อาจทำหน้าที่บางอย่างในพืช ได้แก่

2.3.1 ช่วยป้องกันพืชจากสัตว์ และแมลงต่าง ๆ ทั้งนี้เนื่องจากแอลคาลอยด์ส่วนใหญ่มีรสขม และมีพิษ

2.3.2 เป็นแหล่งสะสมไนโตรเจนในพืช เพื่อใช้สร้างโปรตีน

2.3.3 ช่วยควบคุมการเจริญเติบโตของพืช หรือการงอกของเมล็ดพืชบางชนิด

2.3.4 เป็นสารที่ได้จากการ detoxication ซึ่งเกิดขึ้นในขบวนการเมตาบอลิซึมของพืช

อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่าพืชอีกจำนวนมากกว่า 80% ที่ไม่สร้างและสะสมแอลคาลอยด์ ซึ่งอาจจะเป็นเครื่องบ่งชี้ให้เห็นว่าสารเหล่านี้อาจจะไม่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของพืชโดยทั่วไป

2.4 คุณสมบัติของแอลคาลอยด์

2.4.1 มีรสขม เช่น ควินิน (Quinine) เป็นสารที่มีรสขมมากที่สุดชนิดหนึ่งที่พบในธรรมชาติ

2.4.2 ส่วนใหญ่จะเป็นผลึกไม่มีสี ยกเว้นชนิดที่มี Conjugated double bond เช่น berberine ซึ่งมีสีเหลือง นอกจากนี้แอลคาลอยด์บางตัว ซึ่งไม่มีออกซิเจนอยู่ในโมเลกุล อาจจะเป็นของเหลวที่อุณหภูมิปกติ

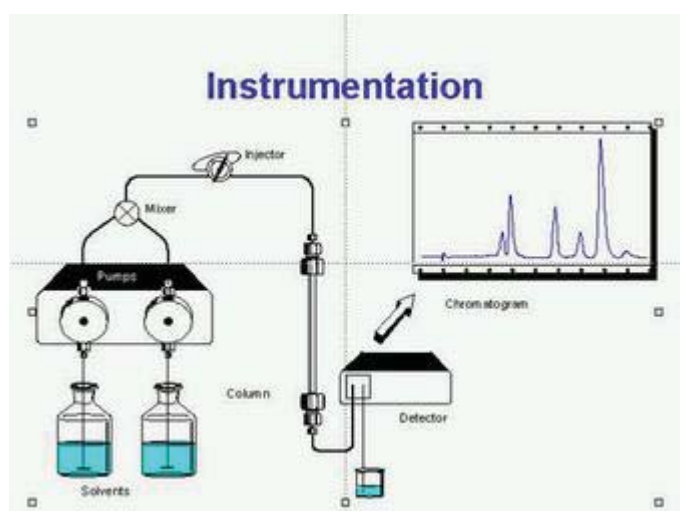
2.4.3 สามารถรวมตัวกับทั้งกรดอินทรีย์และกรดอนินทรีย์อยู่ในรูปของเกลือในธรรมชาติมักพบอยู่ในรูปเกลือของกรดอินทรีย์

2.4.4 ในรูปอิสระ (free base) จะไม่ละลายน้ำ หรือละลายได้เพียงเล็กน้อย แต่สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ ส่วนเกลือของแอลคาลอยด์สามารถละลายได้ดีในน้ำ ตัวทำละลายอินทรีย์ ยกเว้นเกลือของแอลคาลอยด์ที่เป็นด่างอ่อนบางชนิด

2.4.5 สามารถ form double salt กับสารที่มีโลหะหนัก เช่น โปรท ทอง แพลท- ดินัม และแคดเมียม เป็นต้น ได้เกลือซึ่งมักจะไมละลายน้ำ

3. เทคนิคไฮเพอร์ฟอแมนซ์ลิควิดโครมาโตกราฟี (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)

เป็นเทคนิคที่ใช้สำหรับแยกสารประกอบที่สนใจที่ผสมอยู่ในตัวอย่าง โดยกระบวนการแยกสารประกอบที่สนใจจะเกิดขึ้นระหว่างเฟส 2 เฟส คือ เฟสอยู่กับที่ (column) กับเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) จะถูกแยกออกมาในเวลาที่แตกต่างกัน ซึ่งสารผสมที่อยู่ในตัวอย่างสามารถถูกแยกออกจากกันได้นั้นขึ้นอยู่กับความสามารถในการเข้ากันได้ดีของสารนั้นกับ mobile phase หรือ stationary phase สารประกอบตัวไหนที่สามารถเข้ากันได้ดีกับ mobile phase สารนั้นก็จะถูกแยกออกมาก่อนส่วนสารที่เข้ากันได้ไม่ดีกับ mobile phase หรือเข้ากันได้ดีกับ stationary phase ก็จะถูกแยกออกมาทีหลัง โดยสารที่ถูกแยกออกมาได้นี้จะถูกตรวจวัดสัญญาณด้วยตัวตรวจวัด สัญญาณที่บันทึกได้จากตัวตรวจวัดจะมีลักษณะเป็นพีค ซึ่งจะเรียกว่า โครมาโตแกรมโดย HPLC สามารถทดสอบได้ทั้งเชิงคุณภาพ และทดสอบเชิงปริมาณ โดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน



ภาพที่ 2 ส่วนประกอบของเครื่อง High performance liquid chromatography(HPLC)

ที่มา : องค์ประกอบของเครื่อง HPLC [ออนไลน์], เข้าถึงเมื่อ 11 กุมภาพันธ์ 2554. เข้าถึงได้จาก http://www_water_com-WatersDivision-images-products-hplc_primer_fig_d_jpg

3.1 Mobile phase / Solvent : หรือตัวทำละลายที่ใช้ในการชะหรือแยกตัวอย่าง เป็นเฟสเคลื่อนที่ มีลักษณะเป็นของเหลว ทำหน้าที่ในการนำสารตัวอย่างและตัวทำละลายเข้าสู่ stationary phase (ในที่นี้คือ คอลัมน์) เพื่อให้เกิดกระบวนการแยกภายในคอลัมน์

3.2 Degaser : ทำหน้าที่กำจัดฟองอากาศ อากาศที่มีอยู่ใน mobile phase เพื่อไม่ให้ฟองอากาศเข้าสู่ column และ detector

3.3 Injector / Autosampler : ทำหน้าที่ในการฉีดสารตัวอย่างเข้าระบบ HPLC

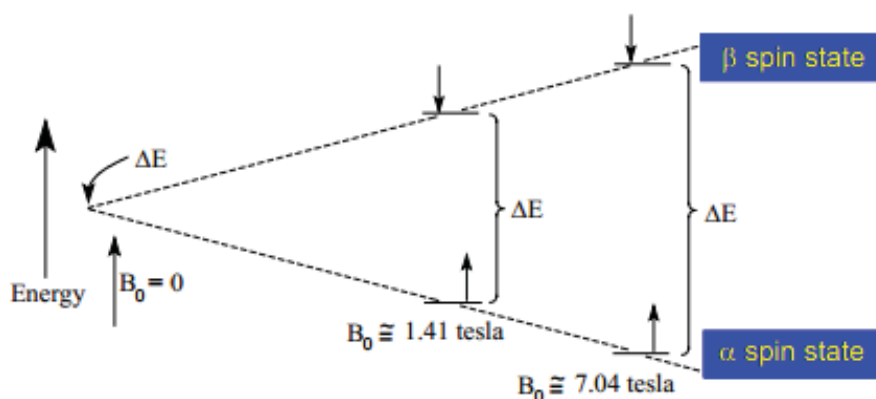
3.4 Column : หรือจะเรียกว่า stationary phase มีลักษณะเป็นของแข็งหรือเจล เป็นเฟสอยู่กับที่ ทำหน้าที่ให้เกิดกระบวนการแยกของสารที่สนใจ โดยการบวนการแยกเกิดขึ้นระหว่าง mobile phase กับ stationary phase

3.5 Detector : คือ ตัวตรวจวัดสัญญาณ ทำหน้าที่ในการตรวจวัดสัญญาณของสารที่สนใจที่ได้จากกระบวนการแยก มีหลายชนิดด้วยกัน การเลือกใช้ขึ้นกับตัวอย่างที่สนใจว่าสามารถตอบสนองกับ Detector ชนิดไหนได้ดี

4. เทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สเปกโตรสโกปี (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, NMR)

นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สเปกโตรสโกปี [7] หรือที่เรียกกันว่า เอ็นเอ็มอาร์ (NMR) เป็นเทคนิคที่เกี่ยวข้องกับการดูดกลืนคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าในช่วงความถี่คลื่นวิทยุ ซึ่งมีพลังงานอยู่ในช่วงที่จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสปิน ซึ่งเป็นสมบัติเฉพาะของนิวเคลียสแต่ละชนิด เมื่ออยู่ภายใต้สนามแม่เหล็ก ไม่ใช่ นิวเคลียสทุกชนิดที่จะสามารถดูดกลืนคลื่นวิทยุได้ แต่จะต้องเป็นนิวเคลียสที่มีค่าสปินไม่เป็นศูนย์เท่านั้น ตัวอย่างเช่น ^1H , ^{13}C , ^{31}P , ^{19}F เป็นต้น ^1H เป็นนิวเคลียสที่มีความสำคัญมากเนื่องจากเป็นธาตุที่พบมากในสารประกอบอินทรีย์ทั่วไป แต่คาร์บอนซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของสารอินทรีย์นั้นมีเพียง ^{13}C เท่านั้นที่ให้สัญญาณ NMR ซึ่งพบในปริมาณน้อยมากในธรรมชาติ ในขณะที่ ^{12}C ไม่ให้สัญญาณเนื่องจากมีค่าสปินเป็นศูนย์

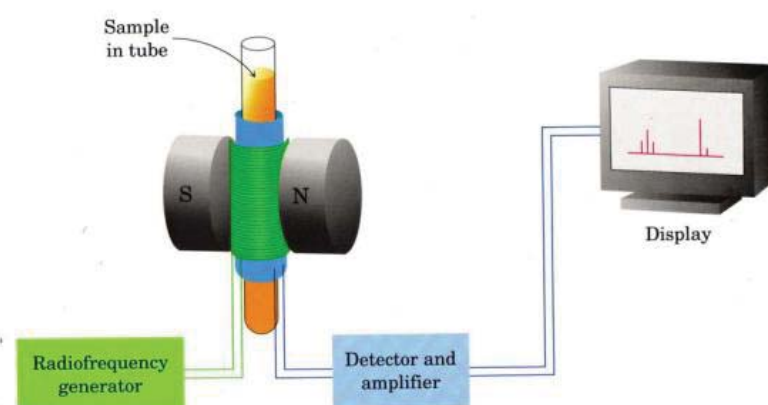
หลักการของ NMR ก่อนข้างซับซ้อน แต่พอจะอธิบายให้เห็นภาพได้ดังนี้ นิวเคลียสเป็นอนุภาคที่มีประจุ ในนิวเคลียสของธาตุบางอย่างประจุนี้จะหมุน (spin) เป็นวงรอบแกนนิวเคลียส (nuclear axis) เช่นเดียวกับที่อิเล็กตรอน ซึ่งเป็นอนุภาคมีประจุหมุนรอบนิวเคลียส การสปินของนิวเคลียสนี้จะก่อให้เกิดโมเมนต์แม่เหล็ก (magnetic moment) บริเวณแกนของการหมุน ^1H มีเลขสปินควอนตัมเป็น $\frac{1}{2}$ และมีค่าที่เป็นไปได้เพียง 2 ค่าคือ $+\frac{1}{2}$ และ $-\frac{1}{2}$ เมื่อให้สนามแม่เหล็กภายนอก (external หรือ applied magnetic field, B_0) แก่นิวเคลียส สปินซึ่งเคยวางตัวในแบบสุ่มได้ทุกทิศทางจะจัดตัวใหม่และจะมีนิวเคลียร์แมกเนติกโมเมนต์ที่เป็นไปได้จะมีเพียงสองแบบ (ภาพที่ 3) คือ นิวเคลียสที่มีสปิน $+\frac{1}{2}$ จะวางตัวในแนวขนานกับแนวของ B_0 มีทิศทางเดียวกับ B_0 และเป็นสถานะที่มีพลังงานต่ำ (เรียกว่า α) ส่วนนิวเคลียสที่มีสปิน $-\frac{1}{2}$ ก็จะวางตัวในแนวขนานกับแนวของ B_0 แต่มีทิศทางตรงข้ามกับ B_0 และจะมีพลังงานสูงกว่า (เรียกว่า β)



ภาพที่ 3 การจัดวางตัวของนิวเคลียสสปินเมื่อได้รับสนามแม่เหล็กภายนอก

ที่มา : นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สเปกโทรสโกปี [ออนไลน์], เข้าถึงเมื่อ 1 สิงหาคม 2554.
เข้าถึงได้จาก http://www.chemistry.sc.chula.ac.th/course_info/2302265_04_TV/nmr-265.pdf

ในการวัดสัญญาณ NMR จะต้องนำตัวอย่างที่ละลายใน ตัวทำละลายที่เหมาะสม (ซึ่งจะต้องปราศจากนิวเคลียสชนิดเดียวกับที่กำลังจะตรวจวัดสัญญาณ NMR ตัวอย่างเช่น หากจะวัดสัญญาณของโปรตอนในสารตัวอย่างตัวทำละลายจะต้องไม่มีโปรตอน เช่น CCl_4 หรือต้องเป็นตัวทำละลายที่มีดิวทีเรียมแทน เช่น CDCl_3) อยู่ในหลอดแก้วยาวๆ ไปวางไว้ในสนามแม่เหล็กที่มีความแรงมาก ส่วนประกอบของเครื่อง NMR ดังภาพที่ 4



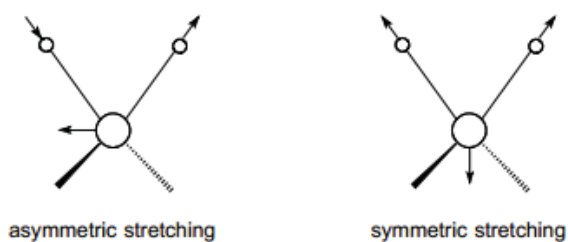
ภาพที่ 4 แผนภาพแสดงส่วนประกอบของเครื่อง NMR spectrometer

ที่มา : นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สเปกโทรสโกปี [ออนไลน์], เข้าถึงเมื่อ 1 สิงหาคม 2554.
เข้าถึงได้จาก http://www.chemistry.sc.chula.ac.th/course_info/2302265_04_TV/nmr-265.pdf

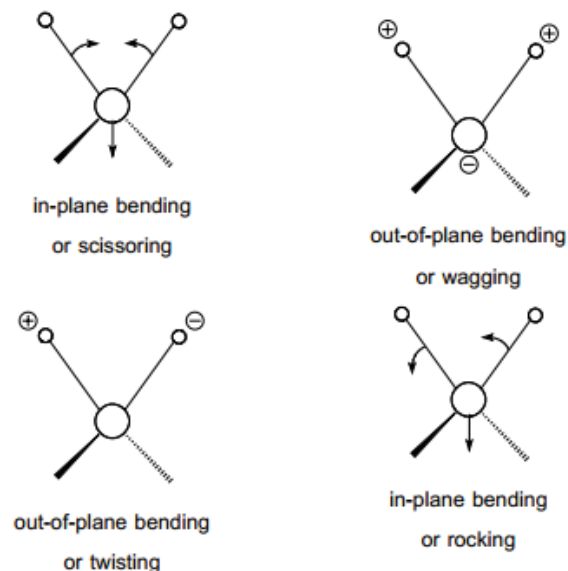
5. เทคนิคอินฟราเรดสเปกโตรสโกปี (Infrared Spectroscopy, IR)

รังสีอินฟราเรด (Infrared radiation, IR) [8] เป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าซึ่งมีความถี่อยู่ระหว่างช่วงของรังสีไมโครเวฟและแสงที่ตามองเห็นได้ การอ้างอิงถึงความถี่ของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าในช่วงนี้จะใช้ค่าที่เรียกว่า เวฟนัมเบอร์ (wave number) ซึ่งมีหน่วยเป็น cm^{-1} ซึ่งหมายถึงจำนวนคลื่นต่อหน่วยเซนติเมตร ตัวอย่างเช่น รังสีอินฟราเรดที่มีความถี่ 3000 cm^{-1} หมายถึงในระยะทาง 1 เซนติเมตรที่คลื่นนี้เดินทางไปจะมีจำนวนลูกคลื่นทั้งหมด 3000 ลูกคลื่น ดังนั้นตัวเลขยิ่งมากย่อมหมายถึงพลังงานของรังสีก็ยิ่งมากด้วย ช่วงของรังสีอินฟราเรดที่เป็นประโยชน์ต่อนักเคมีจะอยู่ในช่วง $4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$ พลังงานของรังสีอินฟราเรดจะอยู่ในช่วงที่สอดคล้องกับการสั่น (vibration) ของพันธะภายในโมเลกุล หากการสั่นของพันธะใดเกิดที่ความถี่ที่ตรงกับความถี่ของรังสีอินฟราเรดก็จะเกิดการดูดกลืนขึ้น ตัวอย่างของรูปแบบของการสั่นเหล่านี้แสดงดังภาพที่ 5

(ก) stretching vibrations:



(ข) bending vibrations:



ภาพที่ 5 การสั่นของโมเลกุลในรูปแบบต่างๆ

ที่มา : อินฟราเรด สเปกโตรสโกปี [ออนไลน์], เข้าถึงเมื่อ 1 สิงหาคม 2554. เข้าถึงได้จาก http://www.chemistry.sc.chula.ac.th/course_info/2302265_04_TV/ir-265.pdf

การสั่นในลักษณะต่างๆ เหล่านี้จะมีการดูดกลืนพลังงานที่เป็นค่าเฉพาะของมัน ซึ่งมักอยู่ในช่วงคลื่นอินฟราเรด แต่เนื่องจากโมเลกุลหนึ่งๆ มีพันธะได้หลายแบบ และพันธะแต่ละพันธะก็มีรูปแบบการสั่นได้อีกหลายแบบ ทำให้โมเลกุลหนึ่งๆ จะแสดงการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดได้หลายช่วงคลื่นพร้อมๆ กัน ลักษณะการดูดกลืนรังสีอินฟราเรดจะเป็นแถบ (band) หรือพีค (peak) หลายๆ แถบหรือพีค ที่แสดงถึงค่าปริมาณรังสีอินฟราเรดที่ถูกดูดกลืนในรูปแบบเปอร์เซ็นต์ทรานสมิตแตนซ์ (% transmittance) ซึ่งหมายถึงปริมาณรังสีที่สามารถทะลุผ่านตัวอย่างออกไปได้เทียบกับเวฟนัมเบอร์ซึ่งมักอยู่ในช่วง $4000-400\text{ cm}^{-1}$ กราฟที่ได้จะเรียกว่า อินฟราเรดสเปกตรัม ซึ่งแต่ละแถบการดูดกลืนสามารถบ่งบอกลักษณะเฉพาะลงไปได้อีก โมเลกุลต่างชนิดกันจะดูดกลืนรังสีอินฟราเรดในช่วงคลื่นแตกต่างกันและให้สเปกตรัมต่างกัน แม้แต่สารที่มีโครงสร้างง่าย ๆ ก็อาจให้สเปกตรัมที่ซับซ้อนได้ อินฟราเรดสเปกตรัมของสารแต่ละชนิดจะเป็นลักษณะเฉพาะและโดยทั่วไปจะไม่พบสารคู่ใดที่มีสเปกตรัมเหมือนกันทุกประการ (ยกเว้นกรณีของคู่ อีแนนชิโอเมอร์) อย่างไรก็ตาม สารที่มีหมู่ฟังก์ชันประเภทเดียวกันมักให้พีคลักษณะคล้ายคลึงกันในช่วงความถี่ใกล้เคียงกันแม้ว่าจะมีความแตกต่าง

5. บรรณกรรมงานวิจัยของพืชกระท่อม

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องในการวิเคราะห์หา Mitragynine ในใบกระท่อมได้มีการนำเสนอออกมาเหมือนกัน โดยมีการศึกษาดังต่อไปนี้

ในปี ค.ศ. 1932 Grewel [9] ศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของ Mitragynine ต่อเนื้อเยื่อสัตว์ทดลอง และรายงานว่า Mitragynine ลดแรงบีบ (tone) และความกว้าง (amplitude) ของการบีบตัวของกล้ามเนื้อเรียบ จึงมีฤทธิ์ทำให้เกิดอาการชาเฉพาะที่ได้ และยังมีฤทธิ์ฆ่าโปรโตซัวทั่วไปได้ แต่ไม่ฆ่าแบคทีเรียและโปรโตซัวที่ทำให้เกิดโรคในมนุษย์ รวมถึงฤทธิ์กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลางคล้ายโคเคน และให้ข้อสังเกตด้วยว่า คนไทยบริโภคกันแพร่หลายมานานแล้ว เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานกลางแจ้ง ผู้ที่ติดกระท่อมมีรูปร่างผอม ท้องป่อง สุขภาพผิวเสื่อม ปากดำ ผิวหนังแห้ง

ในปี ค.ศ. 1966 นพ.ประยูร นรการผดุง [10] รายงานการใช้กระท่อมเพื่อทดแทนมอร์ฟีนในการรักษาผู้ติดยาในประเทศไทย โดยกระท่อมมีฤทธิ์อ่อนและสั้นกว่ามอร์ฟีนอันตรายน้อยกว่าโคเคน อาการขาดยาเกิดน้อยกว่ายาจำพวกฝิ่น กล่าวกันว่า กระท่อมมีฤทธิ์กระตุ้นประสาทเหมือนการเคี้ยวใบโคคา และมีฤทธิ์กดประสาทเหมือนสุบฝิ่นและกัญชา เมื่อบริโภคไปนานๆ ทำให้ผิวหนังเกรียมคล้ำ (แม้อยู่ในที่ร่ม) หน้าซีดเซียว ท้อผูกเป็นประจำ อุจจาระมีสีดำและเป็นเม็ดคล้ายมูลแพะ เมื่อไม่ได้เสพจะมีใจคอหงุดหงิด ฟุ้งซ่าน ขุนเฉียว กระวน กระวาย อารมณ์ซึมเศร้า มึนงง

ปวดเมื่อยตามข้อและกล้ามเนื้อใหญ่ๆ โดยเฉพาะบริเวณขาและเอว รู้สึกเกียจคร้านไม่อยากทำงาน อ่อนเพลีย นอนไม่หลับ เบื่ออาหาร ผู้ที่ไม่เคยเสพมาก่อนถ้าเสพในขนาดที่นิยมทั่วไป จะเกิดอาการ มึนงง คอแห้ง คลื่นไส้ อาเจียน เมากจนต้องนอนลง

ในปี ค.ศ. 1990 นิวัติ แก้วประดับ [11] ได้ทำการสกัดแอลกอฮอล์ 9 ชนิดจากใบกระท่อม สด ได้แก่ Mitragynine, Paynantheine, Speiogynine, Mitracilliatine, Ajmalicine, Isopteropodine, Isomitraphyline, Mitraphyline และ Tetrahydroalitonine พบว่าสารมีความคงตัวที่ไม่ดีจึงพบเฉพาะ ในใบกระท่อมสดเท่านั้น

ในปี ค.ศ. 1995 Hiromitsu Takayama และคณะ [12] ได้ทำการสังเคราะห์ Mitragynine โดยเริ่มต้นจากแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ ซึ่งเตรียมโดยอาศัยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสโดยใช้เอนไซม์หรือใช้ปฏิกิริยา enantioselective reduction ของอนุพันธ์ของคีโตน ซึ่ง Mitragynine นี้พบในใบกระท่อม และประสบความสำเร็จในการสังเคราะห์ ซึ่งสามารถพิสูจน์เอกลักษณ์ของ Mitragynine ด้วย ^1H NMR และ ^{13}C NMR

ในปี ค.ศ. 1998 Somsorn Chittrakarn และคณะ [13] ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสาร Mitragynine, Codeine, Caffeine, Chlorpheniramine และ Phenylephrine โดยใช้เทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) จากเครื่องดัดแปรผสมกระท่อม (Kratom cocktail) ใช้คอลัมน์ Eclipse XDB-C8 พบว่ากราฟมาตรฐานมี correlation coefficient อยู่ระหว่าง 0.9957 – 0.9993 และมีปริมาณสาร Mitragynine, Codeine, Caffeine, Chlorpheniramine และ Phenylephrine เท่ากับ 90.021, 234.174, 73.986, 7.053 และ 1.486 mg/L ตามลำดับ

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การแยกพิสูจน์เอกลักษณ์และการหาปริมาณของ Mitragynine ในใบกระท่อมจากแหล่งต่างๆ

1. วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

1.1 พืชกระท่อม จากพื้นที่ 7 แห่ง ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 พืชกระท่อมจากพื้นที่ต่าง ๆ

จังหวัด	พื้นที่
ปทุมธานี	อำเภอลำลูกกา อำเภอเมือง
กรุงเทพมหานคร	เขตดอนเมือง เขตสะพานสูง
สุพรรณบุรี	สวนบึงฉวาก อำเภอเดิมบางนางบวช
สุราษฎร์ธานี	อำเภอเมือง
นครปฐม	อำเภอเมือง

1.2 อุปกรณ์ในการทำ HPLC

อุปกรณ์ต่างๆที่ใช้ในการทดลองดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 รายการเครื่องมือและอุปกรณ์

อุปกรณ์	แหล่งที่มา
Verticlean Nylon Filter 0.45 μ m	Vertical Chromatography Co.,Ltd
Filter paper No.1	Whatman
High-Performance Liquid Chromatography	Alliance รุ่น Water 2695
Column:Supelco C18,5 μ m	Water
NMR	Bruker 300 MHz
FTIR	Perkin Elmer รุ่น Spectrum 100
Centifuge	Hettich รุ่น Universal 16

1.3 สารเคมี

สารเคมีต่างๆที่ใช้ในการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 รายการสารเคมี

สารเคมี	แหล่งที่มา
Dist. Chloroform	Merck
Methanol	BDH
Hexane	Fluka
Acetone	Fluka
Dist. Dichloromethane	Merck
Ammonia	Merck
p-imethylaminobenzaldehyde	BDH
Conc. Orthophosphoric acid	Merck
Platinicchloride	BDH
Potassiumiodide	BDH
Conc. Hydrochloric acid	Merck

2. วิธีการทดลอง

2.1 การสกัดใบกระท่อม

2.1.1 บดใบกระท่อมที่ผ่านการตากแห้งแล้ว และชั่งมา 10 g

2.1.2 เติมน้ำกลั่น 500 mL แล้วต้มให้เดือด และทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที ปล่อยให้เย็น

2.1.3 นำสารละลายที่ได้มากรองผ่านกระดาษกรองเพื่อแยกเศษใบกระท่อมออก

2.1.4 เติม NH_3 จนเป็นเบส (ทดสอบด้วยกระดาษลิตมัส)

2.1.5 นำมาสกัดด้วย CHCl_3 3 ครั้ง (อัตราส่วน 1:1) เก็บชั้น Chloroform

2.1.6 นำมาระเหย CHCl_3 ออก

2.1.7 นำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NMR (solvent คือ CDCl_3) และ FTIR เพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์

2.2 การทำ TLC เพื่อแยก Mitragynine ออกจากสารตัวอื่น

2.2.1 นำสารสกัดใบกระท่อมมาละลายด้วย MeOH ปริมาณเล็กน้อย (ประมาณ 4-5 หยด)

2.2.2 นำมา Run บน TLC plate ที่มี silica เคลือบอยู่บนกระจกสำเร็จรูป โดยใช้ Mobile phase เป็น Hexane : Acetone ในอัตราส่วน 3:2 โดยปริมาตรปริมาณ 100 mL

2.2.3 เมื่อ Run TLC เรียบร้อยแล้วนำ Plate ที่ได้ไปดูกับแสง UV แล้วขีด Band ออก

2.2.4 นำ Band บนสุด** มาแช่ด้วย Dichloromethane : Methanol ในอัตราส่วน 9:1 โดยปริมาตร 100 mL

2.2.5 นำไปกรองและระเหย Solvent ออก จากนั้นนำไปวิเคราะห์ตัวอย่างต่อไป
**ที่เลือกใช้ Band บนเนื่องจากการทดสอบด้วย Ehrlich's reagent

2.3 การทดสอบด้วย Ehrlich's reagent

2.3.1 ชั่ง p-Dimethyaminobenzaldehyde 1.0 g เติม MeOH 10 mL ค่อย ๆ เติม p-Orthophosphoric acid ปริมาตร 10 mL ลงไป

2.3.4 นำมาหยดใส่แผ่น TLC ในแต่ละ Band ซึ่งหาก Band ได้เปลี่ยนจากสีเหลือง เป็นสีม่วงน้ำเงิน แสดงว่ามีสาร Mitragynine

2.4 การวิเคราะห์โดยเทคนิค ^1H NMR และ ^{13}C NMR

2.4.1 นำสารที่สกัดได้ละลายใน CDCl_3

2.4.2 นำไป run NMR โดยสำหรับ ^1H NMR ทำการ run ที่ chemical shift 0 – 9 ppm และ ^{13}C NMR ทำการ run ที่ chemical shift 0 – 200 ppm

2.5 การวิเคราะห์โดยเทคนิค FTIR

2.5.1 นำสารที่สกัดได้มา run IR

2.5.2 ทำการ run ตั้งแต่ช่วงเลขคลื่น 400 – 4000 cm^{-1}

2.6 การสร้างกราฟสารละลายมาตรฐาน (Calibration curve) เพื่อหาปริมาณของ Mitragynine โดยเทคนิค HPLC ดังนี้ ***

2.6.1 เตรียม mitragynine ที่ได้จากการทำ TLC ที่ความเข้มข้น 100, 50, 25, 12.5, 6.25 ppm ปรับปริมาตรด้วย MeOH จนมีปริมาตร 10 mL ทำซ้ำตามเดิม 4 ครั้ง

2.6.2 นำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ซึ่งมีสภาวะของการทดลอง

2.6.3 นำข้อมูลมาพลอตกราฟโดยให้แกน y เป็นพื้นที่ใต้พีคของสาร Mitragynine และแกน x เป็นความเข้มข้น

***เนื่องจากไม่สามารถหาสารมาตรฐาน Mitragynine ได้ ดังนั้นจึงกำหนดสารสกัด Mitragynine ของใบกระท่อมจากจังหวัดสุราษธานีเป็นสารมาตรฐาน

สภาวะของการทดลอง

เครื่อง HPLC (High performance liquid chromatography)

Flow rate : 0.5 mL/min

Spurge rate : 50 mL/min

Mobile phase : methanol : DI water (80 : 20)

Column : Supelco C18 , 5 μ m

Column Dimensions : 15cm $\times$ 14cm

Securityguard : Analytical Guard Cartridge System (KJO-4282)

Phenomenex Waters 2487 Dual Absorbance Detector at 225 nm

2.7 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

2.7.1 ชั่งสารตัวอย่างที่สกัดได้จากใบกระท่อมจากแหล่งต่างๆ มา 1 mg (ทราบน้ำหนักแน่นอน) ตามสภาพในข้อ 1.2.4.2

2.7.2 นำมาละลายด้วย MeOH จากนั้นปรับปริมาตรใน volumetric flask ให้มีปริมาตร 10 mL

2.7.4 นำมากรองด้วย Verticlean Nylon Filter ที่มีขนาดของรูพรุน pore size 0.45 μ m

2.7.5 นำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NMR (solvent คือ CDCl_3), IR และ HPLC

2.7.6. Waters 600 LCD HPLC Pump โดยใช้ Exmire microsyringe ขนาด 100 μ L

บทที่ 4

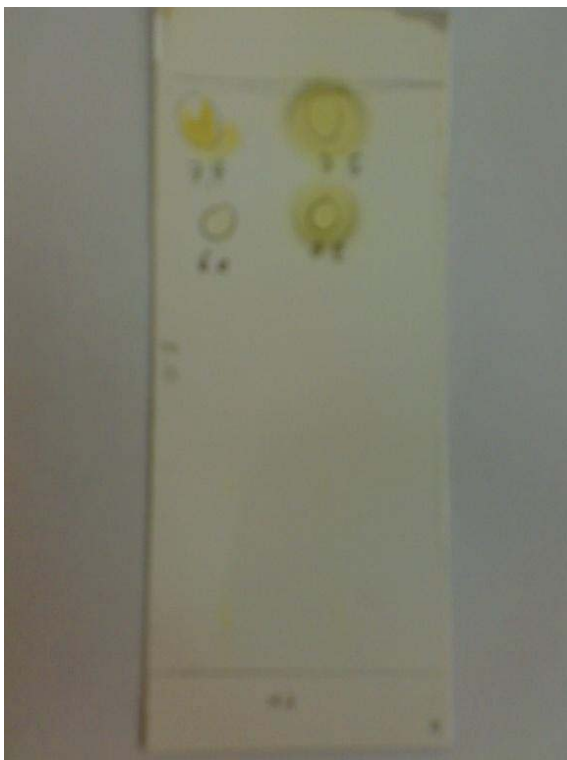
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการทดลองนั้นสามารถทำการทดลองพิสูจน์เอกลักษณ์ของ Mitragynine ที่สกัดได้ด้วยเทคนิค FTIR และ NMR จากนั้นนำ Mitragynine ที่สกัดได้มาวิเคราะห์หาปริมาณของ Mitragynine ในใบกระท่อมจากแหล่งต่างๆโดยใช้เทคนิค HPLC

การแยกพิสูจน์เอกลักษณ์และการหาปริมาณของ Mitragynine ในใบกระท่อมจากแหล่งต่างๆ

1. การวิเคราะห์และสกัดสาร Mitragynine จากใบกระท่อม

นำใบกระท่อมที่เก็บมาจาก จ.สุราษฎร์ธานีมาสกัดโดยใช้วิธีในการทดลองข้างต้น แล้วนำมาแยกโดยเทคนิค Thin Layer Chromatography (TLC) เพื่อแยกเอา Mitragynine ออกจากสารอื่นๆที่ปนอยู่ในใบกระท่อมออก ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 6



ภาพที่ 6 การแยกของสาร Mitragynine บนแผ่น TLC

จากภาพที่ 6 พบว่า สามารถแยกสารสกัดจากใบกระท่อมออกมาได้เป็น 2 จุด ซึ่งจะต้องทำการทดสอบต่อไปว่าสารที่สกัดได้มี Mitragynine หรือไม่ และ Mitragynine เป็นจุดไหนบนแผ่น TLC โดยการนำมาทดสอบด้วย Ehrlich's reagent [14] ซึ่งเป็น reagent ที่ใช้ทดสอบ Indole Alkaloids ในที่นี้คือ Mitragynine ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 7

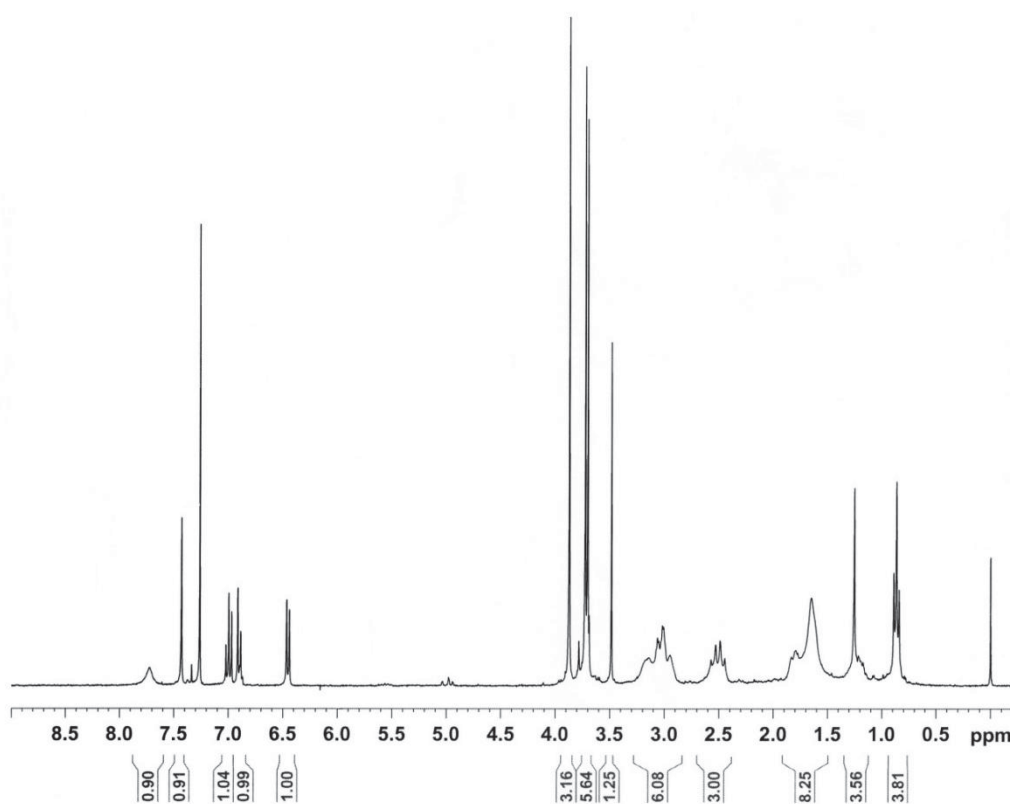


ภาพที่ 7 การทดสอบด้วย Ehrlich's reagent บนแผ่น TLC

จากภาพที่ 7 พบว่า จุดที่มีการเปลี่ยนสีเป็นสีม่วงอมน้ำเงินเมื่อเติม Ehrlich's reagent คือ Mitragynine จากนั้นจึงทำการขูดเอา Mitragynine ออกจากแผ่น TLC แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ และ FTIR เพื่อยืนยันว่าเป็นสารที่ได้เป็น Mitragynine จริง

เมื่อนำสารที่คาดว่าเป็น Mitragynine มาพิสูจน์เอกลักษณ์โดยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ ได้ผลการทดลองดังนี้

Mitragynine

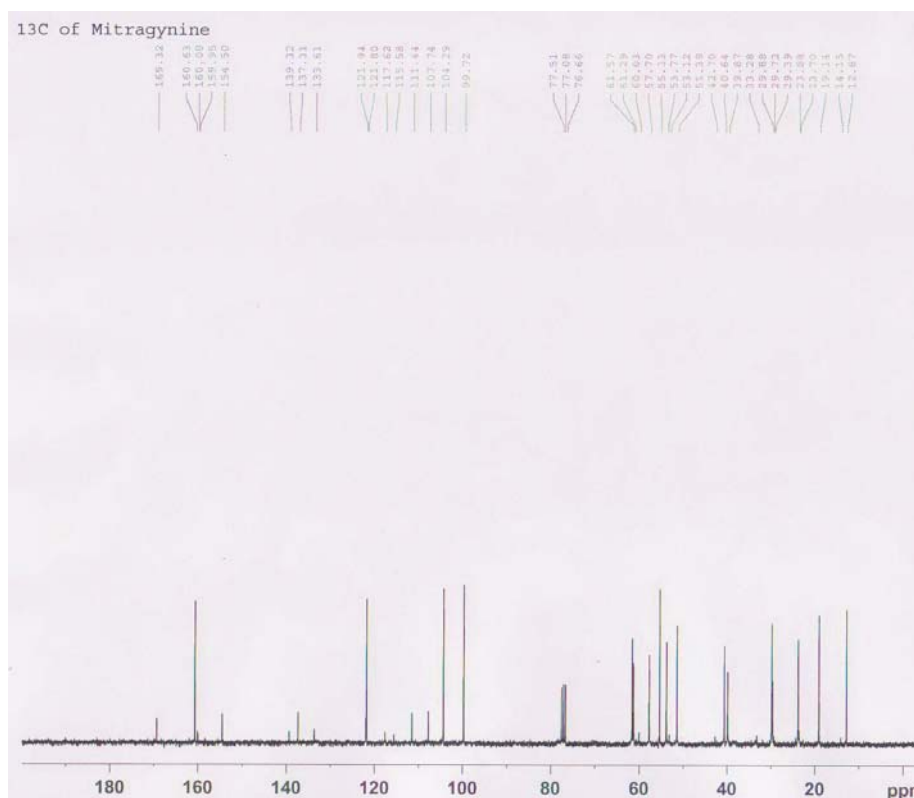
ภาพที่ 8 ^1H -NMR spectrum ของ Mitragynine

จากภาพที่ 8 เป็น ^1H -NMR spectrum ของ Mitragynine ที่สกัดแยกจากใบกระท่อมแล้วได้ ลักษณะของ proton (^1H) ที่ตำแหน่งต่าง ๆ กัน และได้ค่า chemical shift ของ ^1H ต่างๆ ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ค่า Chemical shifts ของ Proton แต่ละชุด ที่ได้จากเทคนิค ^1H -NMR

แบบของ Proton	Chemical Shift, ppm
$\text{R}-\text{CH}_3$	0.9
R_2-CH_2	1.3
$\text{R}_3-\text{C}-\text{H}$	1.5
$-\text{OCH}_3$	3.5 – 4
Aromatic	6.5 – 7
$-\text{N}-\text{H}$	7 – 8

จากค่า chemical shift ในตารางที่ 4 พบว่ามี proton (^1H) ที่ตำแหน่งต่าง ๆ กัน ซึ่งตรงกับโครงสร้างของ Mitragynine และสอดคล้องกับผลของ ^1H -NMR ในงานวิจัยก่อนหน้านี้ [12,15] ดังนั้น ^1H -NMR spectrum สามารถบอกได้ว่าสารนี้น่าจะเป็น Mitragynine



ภาพที่ 9 ^{13}C -NMR Spectrum ของ Mitragynine

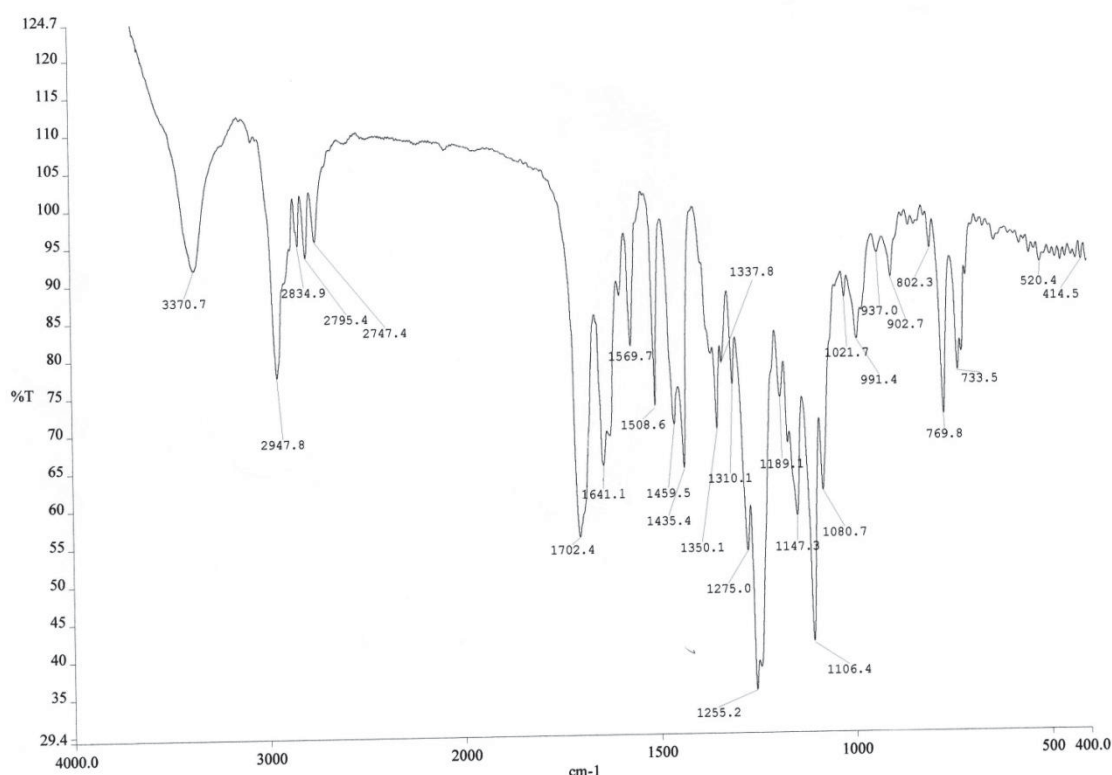
จากภาพที่ 9 เป็น ^{13}C -NMR spectrum ของ Mitragynine ที่สกัดแยกจากใบกระท่อมแล้ว ได้ลักษณะของ carbon (^{13}C) ที่ตำแหน่งต่าง ๆ กัน และได้ค่า chemical shift ของ ^{13}C ต่าง ๆ ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ค่า Chemical shifts ของ Carbon แต่ละชุด ที่ได้จากเทคนิค ^{13}C -NMR

แบบของCarbon	Chemical Shift, ppm
O=C-R	150-190
Aromatic C	120-150
C-O	40-80
C-C	0-40

จากค่า chemical shift ในตารางที่ 5 พบว่ามี carbon (^{13}C) ที่ตำแหน่งต่างกัน ซึ่งตรงกับโครงสร้างของ Mitragynine มีจำนวนและตำแหน่งของ ^{13}C ที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ [12] ดังนั้นจาก ^{13}C -NMR spectrum จึงยืนยันได้ว่าสารที่สกัดและแยกออกมาจากใบกระท่อมนี้เป็น Mitragynine

การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของ Mitragynine ที่ได้จากการสกัดแยกออกจากใบกระท่อมสามารถติดตามได้โดยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 10



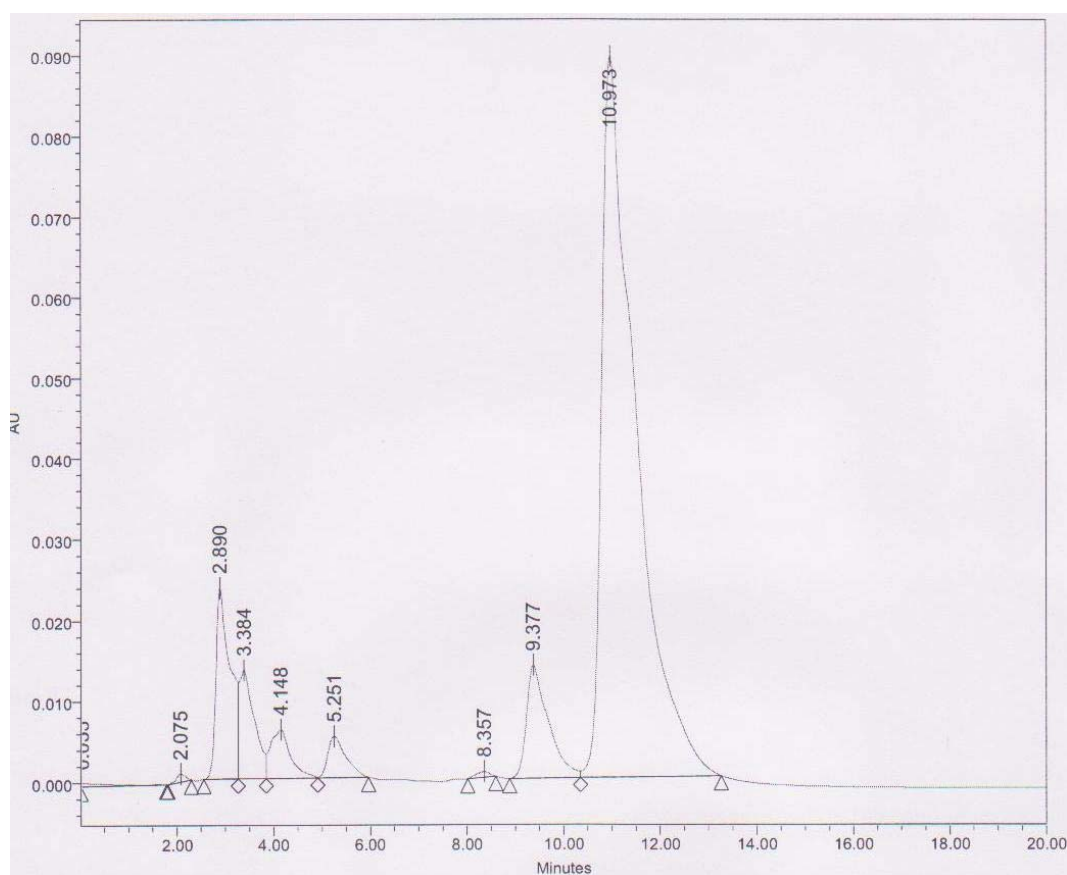
ภาพที่ 10 IR spectrum ของ Mitragynine

จากภาพที่ 10 เป็น spectrum ที่ได้จากการวิเคราะห์โดยเทคนิค FTIR พบว่าปรากฏฟิสิกการดึงและยืดของพันธะ C – H ที่ 2870 cm^{-1} – 2960 cm^{-1} ฟิสิกของ C – C และ C = C ของ aromatic เกิดที่ 1450 cm^{-1} - 1500 cm^{-1} , 1580 cm^{-1} - 1600 cm^{-1} ฟิสิกการยืดของหมู่คาร์บอนิลที่ 1702 cm^{-1} ฟิสิกของ C – O จากพันธะเอสเทอร์เกิดที่ 1255 cm^{-1} และ ฟิสิกของ N – H เกิดที่ $>3000\text{ cm}^{-1}$ ซึ่งตรงกับหมู่ฟังก์ชันของ Mitragynine จึงเป็นการยืนยันผลจาก ^1H -NMR และ ^{13}C -NMR ว่าสารที่สกัดได้จากใบกระท่อมเป็น Mitragynine

ดังนั้นจาก $^1\text{H-NMR}$ spectrum, $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum และ FTIR spectrum แสดงให้เห็นว่าสารที่ได้มี Mitragynine โดยดูจากหมู่ฟังก์ชัน จำนวนโปรตอน และ จำนวนคาร์บอน ถึงแม้ว่าสารที่ได้ยังไม่มีควมบริสุทธิ์สูง ผู้ทำการวิจัยได้นำสารที่ได้ไปเป็นมาตรฐานในการศึกษาหาปริมาณใน Mitragynine จากแหล่งต่างๆ โดยใช้เทคนิค HPLC ต่อไป

2. การวิเคราะห์หาปริมาณ Mitragynine ด้วยเทคนิค HPLC ในตัวอย่างใบกระท่อมจากแหล่งต่างๆ

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณของ Mitragynine ในตัวอย่างใบกระท่อมจากแหล่งต่างๆของประเทศไทย โดยใช้เทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC) ตามสภาวะการทดลองข้างต้นได้ผลการทดลองดังภาพที่ 11



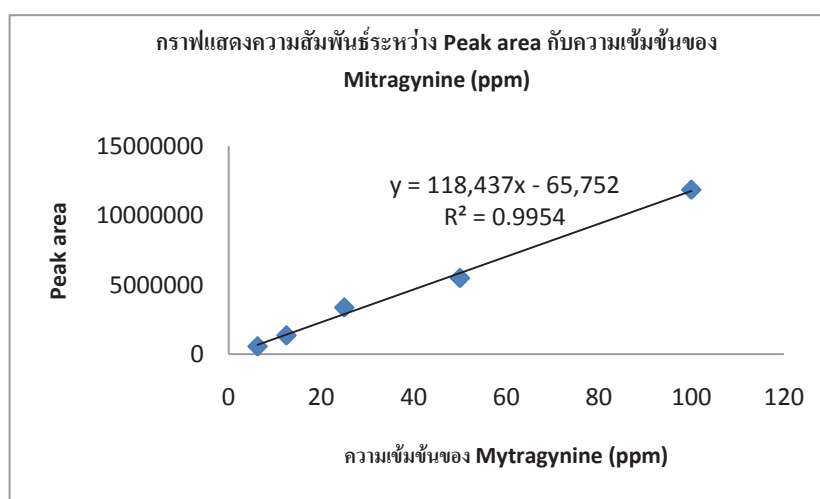
ภาพที่ 11 Chromatogram ของ Mitragynine ที่สกัดได้จากใบกระท่อม

จากภาพที่ 11 พบว่าพีคของ Mitragynine เกิดที่ Retention time เท่ากับ 10.973 นาที จาก chromatogram ของสารละลาย Mitragynine ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ นำมาสร้างกราฟมาตรฐาน เพื่อหาปริมาณ Mitragynine ที่มีอยู่ในใบกระท่อมโดยเตรียมสารละลาย Mitragynine ที่มีความเข้มข้นคือ 6.25 ppm, 12.50 ppm, 25.00 ppm, 50.00 ppm, 100.00 ppm และทำการทดลองซ้ำจำนวน 4 ครั้ง ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงค่าพื้นที่ใต้พีคของเส้นกราฟมาตรฐาน

ความเข้มข้น (ppm)	พื้นที่ใต้พีค					
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	เฉลี่ย	SD
100.00	660340	588384	442717	531079	555630	91995
50.00	1884753	1454988	1770917	1889059	1351679	204096
25.00	4742094	3441365	2716596	2547971	3362007	998357
12.50	9987626	3680997	5186562	3100807	5488998	3125244
6.25	16197798	10241209	13533653	7467742	11860101	3809200

นำมาพลอตกราฟมาตรฐานระหว่างพื้นที่ใต้ (peak area) ในแกน y และความเข้มข้นของ Mitragynine (หน่วยเป็น ppm) ในแกน x ได้ Calibration curve ดังภาพที่ 12



ภาพที่ 12 Calibration curve ของ Mitragynine ที่ความเข้มข้น 6.25 ppm -100 ppm

จากภาพที่ 12 ได้สมการเส้นตรงคือ $y = 118437x - 65752$ และ correlation coefficient (R^2) = 0.9954 จากนั้นนำกราฟมาตรฐานที่ได้ใช้สำหรับหาปริมาณ Mitragynine ในตัวอย่างใบกระท่อมจากแหล่งต่างๆ ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ปริมาณ Mitragynine ในใบกระท่อมจากแหล่งต่างๆของประเทศไทย

ตัวอย่างใบกระท่อม	ปริมาณ Mitragynine (mg/g)
อ.เมือง จ.สุราษฎร์ธานี	2.553
สวนปิงฉวก อ.เค็มบางนาบวช จ.สุพรรณบุรี	2.953
อ.เมือง จ.ปทุมธานี	7.810
อ.ลำลูกกา จ.ปทุมธานี	1.391
อ.เมือง จ.นครปฐม	2.539
เขตดอนเมือง กรุงเทพมหานคร	5.352
เขตสะพานสูง กรุงเทพมหานคร	3.380

บทที่ 5
บทสรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปและอภิปรายผล

จากการทดลองนี้ ทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ของ Mitragynine ใบกระท่อมจากแหล่งต่างๆด้วยวิธี NMR และ FTIR แล้วทำการหาปริมาณด้วยเทคนิค HPLC

การพิสูจน์เอกลักษณ์การหาปริมาณ Mitragynine ในกระท่อม พบว่าเมื่อนำใบกระท่อมมาสกัดสาร Mitragynine สามารถทดสอบเอกลักษณ์ได้ด้วยเทคนิค $^1\text{H-NMR}$ และ $^{13}\text{C-NMR}$ และเทคนิค FTIR จากนั้นนำมาสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อหาปริมาณ Mitragynine จากใบกระท่อมที่แหล่งต่างๆ พบว่า กราฟมาตรฐานที่ได้เป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้น 6.25 ppm - 100.00 ppm มีค่า $R^2 = 0.9954$ และ เมื่อนำมาหาปริมาณ Mitragynine ใบกระท่อมจากแหล่งต่างๆ พบว่ามีปริมาณ Mitragynine ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 สรุปปริมาณ Mitragynine ในตัวอย่างใบกระท่อมจากแหล่งต่างๆ

พื้นที่	ปริมาณ Mitragynine (mg/g)	% yield
อ.เมือง จ.สุราษฎร์ธานี	2.553	0.853
สวนบึงฉวาก อ.เดิมบางนางบวช จ.สุพรรณบุรี	2.953	1.542
อ.เมือง จ.ปทุมธานี	7.810	0.866
อ.ลำลูกกา จ.ปทุมธานี	1.391	0.826
อ.เมือง จ.นครปฐม	2.539	0.952
เขตดอนเมือง กรุงเทพมหานคร	5.352	0.926
เขตสะพานสูง กรุงเทพมหานคร	3.380	1.371

วิธีนี้เป็นการพัฒนาวิธีการทดลองและพยายามจะศึกษาการสกัดสารเพื่อใช้เป็นสารมาตรฐานในการศึกษาหา Mitragynine ซึ่งไม่ต้องจัดซื้อในราคาที่แพง และสามารถจะทดสอบเอกลักษณ์ได้ และจากการทดลองนี้สังเกตได้ว่า ใบกระท่อมจากพื้นที่ต่างกันเมื่อนำมาทดลองหาสาร Mitragynine ผลการทดลองที่ได้ ปริมาณ Mitragynine จากแต่ละแห่ง มีค่าแตกต่างกันอันเนื่องมาจากสภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศของแต่ละพื้นที่

ข้อเสนอแนะ

1. การที่ Chromatogram มีการ Shift อาจเป็นผลมาจากที่ Column มีการใช้ร่วมกันทำให้เกิดความสกปรกขึ้น ซึ่งส่งผลต่อการวิเคราะห์ ทำให้ผลการทดลองคลาดเคลื่อนได้
2. การวิเคราะห์หาปริมาณอาจมีความคลาดเคลื่อนได้เนื่องจากขั้นตอนการวิเคราะห์ที่หรือการเตรียมสารตัวอย่าง ส่งผลต่อการคำนวณปริมาณ
3. ขั้นตอนการสกัด บางครั้งถ้าเติม Ammonia จนเป็นเบสมากเกินไปจะเกิดเป็น emulsion ทำให้ขั้นตอนในการสกัดยุ่งยากขึ้น อาจทำให้ปริมาณของ Mitragynine ผิดพลาดไปจากความเป็นจริงได้
4. ปริมาณ Mitragynine ที่วิเคราะห์พบในแต่ละแหล่งอาจมีความคลาดเคลื่อนจากตัวอย่างใบกระท่อมที่นำมาวิเคราะห์ เนื่องจากอาจมีอายุการเก็บเกี่ยวที่ต่างกัน

บรรณานุกรม

- [1] ดร. กิตติศักดิ์ หยกทองวัฒนา. (2550). สารอัลคาลอยด์. เข้าถึงเมื่อ 5 มกราคม 2555. เข้าถึงได้จาก <http://www.vcharkarn.com/varticle/1078>
- [2] ศิริินารถ วาสนะวัฒน. (2542). “เรื่องจริงของกระท่อม”. รายงานการประชุมวิชาการ เรื่อง พืชกระท่อม : สมุนไพรหรือพืชเสพติด 2542 จัดโดยสำนักพัฒนาการป้องกันและแก้ไขปัญหายาเสพติด ณ สำนักพัฒนาการป้องกันและแก้ไขปัญหายาเสพติด, 22 สิงหาคม.
- [3] Amattayakul T. (1960). “The Kratom Leaves”. J.Dept of Medical Sciences,Thailand. 2, 2, : 104-106.
- [4] นันทนา บุญยะประภัสสร และอรนุช โชคชัยเจริญพร. (2539) บรรณาธิการ. สมุนไพรไม้พื้นบ้าน เล่ม 1. สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล : 55.
- [5] ประยูร นราการผดุง. (2509). ประมวลความรู้เรื่องยาเสพติดให้โทษ. น.ป.ท. : 16-20.
- [6] Burkill, I.H. (1966). “A Dictionary of the Economic Product of the Malay Peninsula.” 2: 1506
- [7] ชีรยุทธ วิไลวัลย์ และคณะ. (2548). นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สเปกโตรสโกปี. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. เข้าถึงเมื่อ 10 กุมภาพันธ์ 2555. เข้าถึงได้จาก http://chemistry.sc.chula.ac.th/course_info/2302265_04_TV/nmr-265.pdf
- [8] ชีรยุทธ วิไลวัลย์ และคณะ. (2548). อินฟราเรด สเปกโตรสโกปี. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. เข้าถึงเมื่อ 10 กุมภาพันธ์ 2555. เข้าถึงได้จาก http://chemistry.sc.chula.ac.th/course_info/2302265_04_TV/ir-265.pdf
- [9] Gewel,K.S. (1932) “Observation on the pharmacology of Mitragyna, in Pharmacology of Mitragunine,” J.Pharmacol. Exp. Ther : 46,273.
- [10] ประยูร นราการผดุง. (2509). ประมวลความรู้เรื่องยาเสพติดให้โทษ. น.ป.ท. : 16-20
- [11] นิวัติ แก้วประดับ. (2533). แอลคาลอยด์จากใบสดของต้นกระท่อม.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาเภสัชเวท จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- [12] Hiromitsu T. et al. (1995). “The First Total Synthesis of (-)-Mitragynine, An Analgesic Indole Alkaloid in *Mitragyna speciosa*.” Tetrahedron Letters 36, 51 : 9337 - 9340.

- [13] Somsmorn C. et al. (1998). **“Quantitative analysis of mitragynine, codeine, caffeine, chlorpheniramine and phenylephrine in a kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) cocktail using high-performance liquid chromatography.”** Forensic Science International 217 : 81 – 86.
- [14] Wikipedia The Free Encyclopedia. **Ehrlich’s reagent**. Accessed January 23, 2012.
Available from http://en.wikipedia.org/wiki/Ehrlich's_reagent
- [15] Hiromitsu T. (2004). **“Chemistry and Pharmacology of Analgesic Indole Alkaloids from the Rubiaceous Plant, *Mitragyna speciosa*”**. Chemical and Pharmaceutical Bulletin 52, 8 (May) : 5.

ภาคผนวก

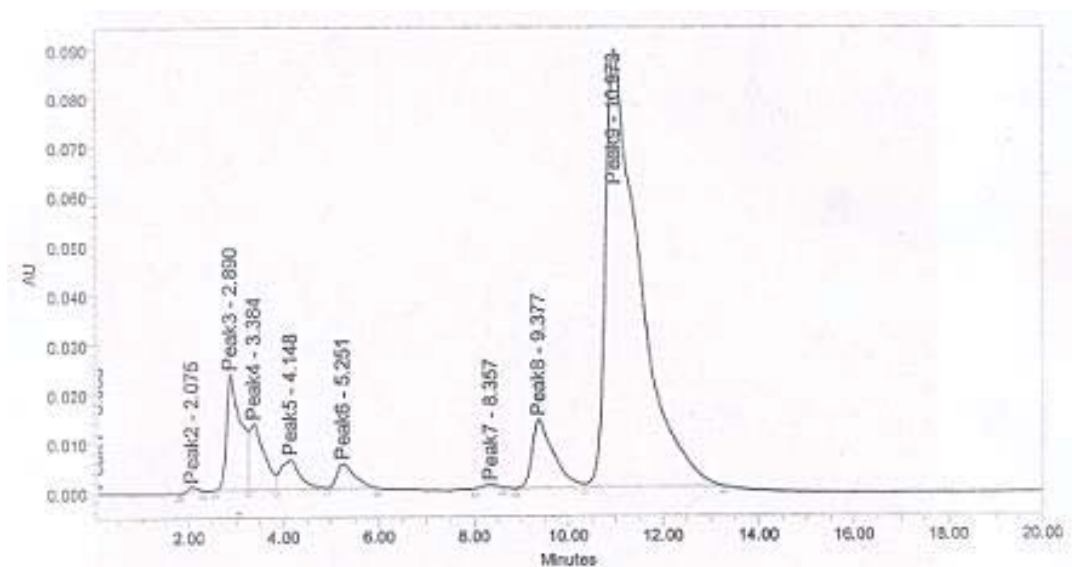
ตารางที่ 9 แสดงค่าพื้นที่ใต้พีคของตัวอย่างไบกระห่อมแต่ละจังหวัดตารางที่ 4.7 แสดงค่าพื้นที่ใต้พีคของตัวอย่างไบกระห่อมแต่ละจังหวัด

ครั้งที่	พื้นที่ใต้พีค		
	สุราษฎร์ธานี	ปทุมธานี	สุพรรณบุรี
1	4395911	13995320	1547442
2	2992163	8324035	2241605
3	3050351	9525333	2817902
เฉลี่ย	3479475	10614896	2202316

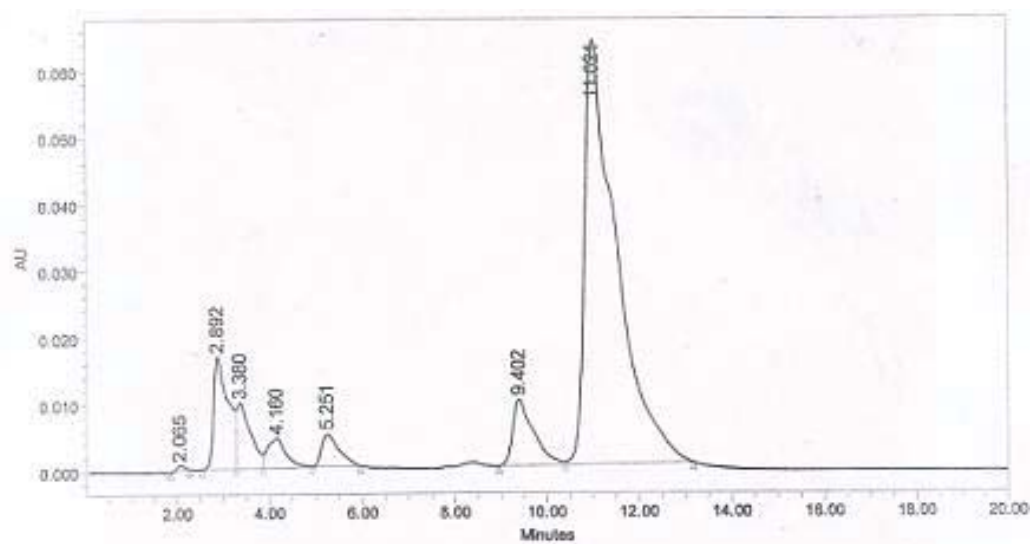
ครั้งที่	พื้นที่ใต้พีค			
	เขตดอนเมือง	อ.ลำลูกกา	เขตสะพานสูง	จ.นครปฐม
1	7623258	1838917	3272179	2767726
2	5955564	1812560	5358595	3451104
3	5240588	1094653	3182443	2607065
เฉลี่ย	6273136	1582043	3937739	2941965

ตารางที่ 10 แสดงค่าพื้นที่ใต้พีคของเส้นกราฟมาตรฐาน

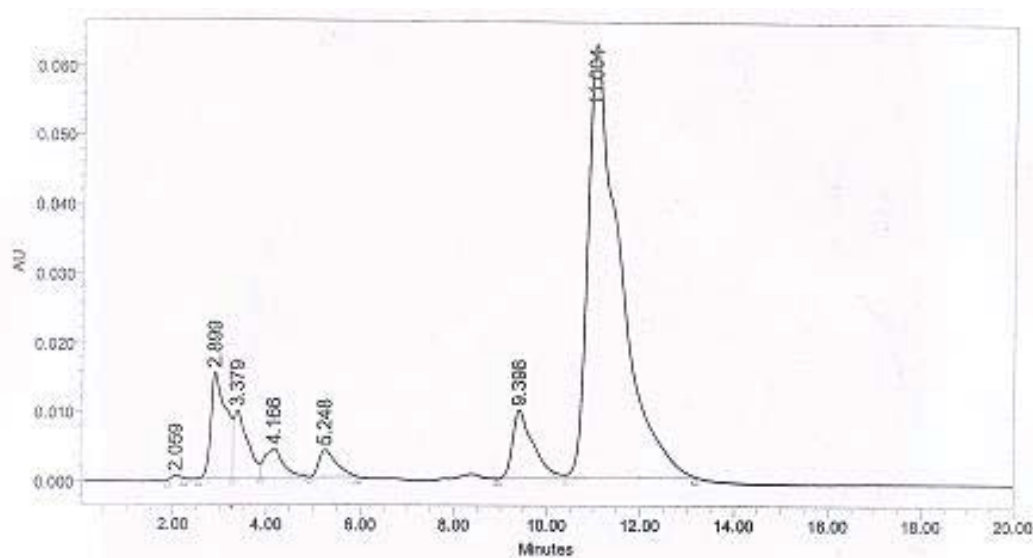
ความเข้มข้น (ppm)	พื้นที่ใต้พีค					
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ครั้งที่4	เฉลี่ย	SD
100.00	660340	588384	442717	531079	555630	91995
50.00	1884753	1454988	1770917	1889059	1351679	204096
25.00	4742094	3441365	2716596	2547971	3362007	998357
12.50	9987626	3680997	5186562	3100807	5488998	3125244
6.25	16197798	10241209	13533653	7467742	11860101	3809200



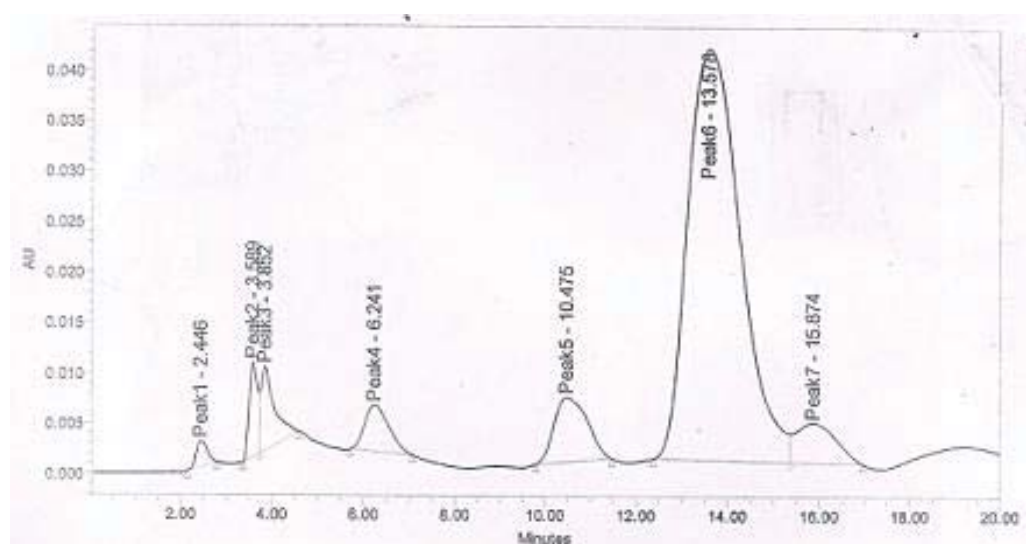
ภาพที่ 13 Chromatogram ของ Mitragynine จากตัวอย่างใบกระท่อมของ อ.เมือง
จ.สุราษฎร์ธานี (ครั้งที่ 1)



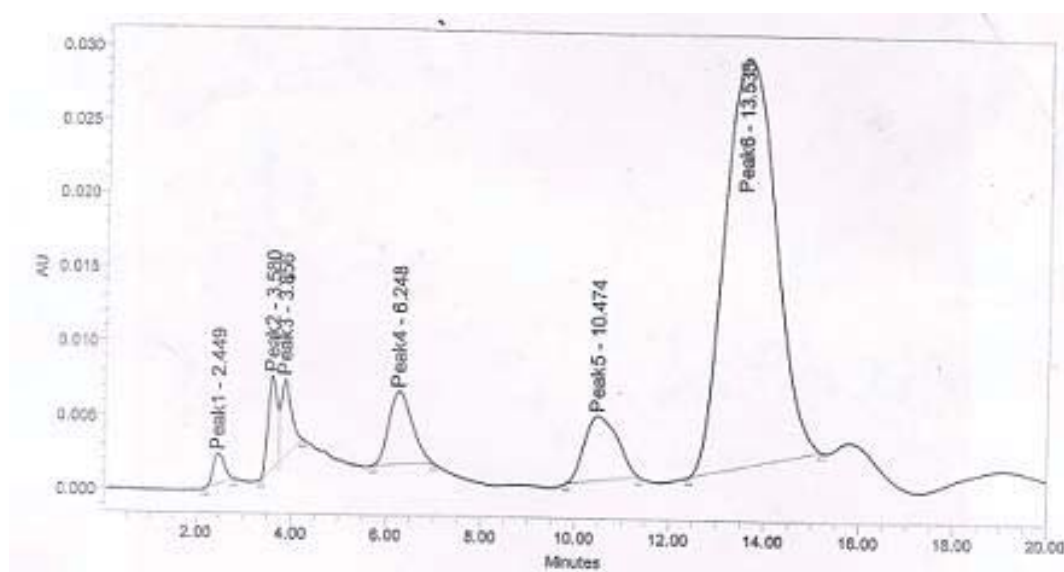
ภาพที่ 14 Chromatogram ของ Mitragynine จากตัวอย่างใบกระท่อมของ อ.เมือง
จ.สุราษฎร์ธานี (ครั้งที่ 2)



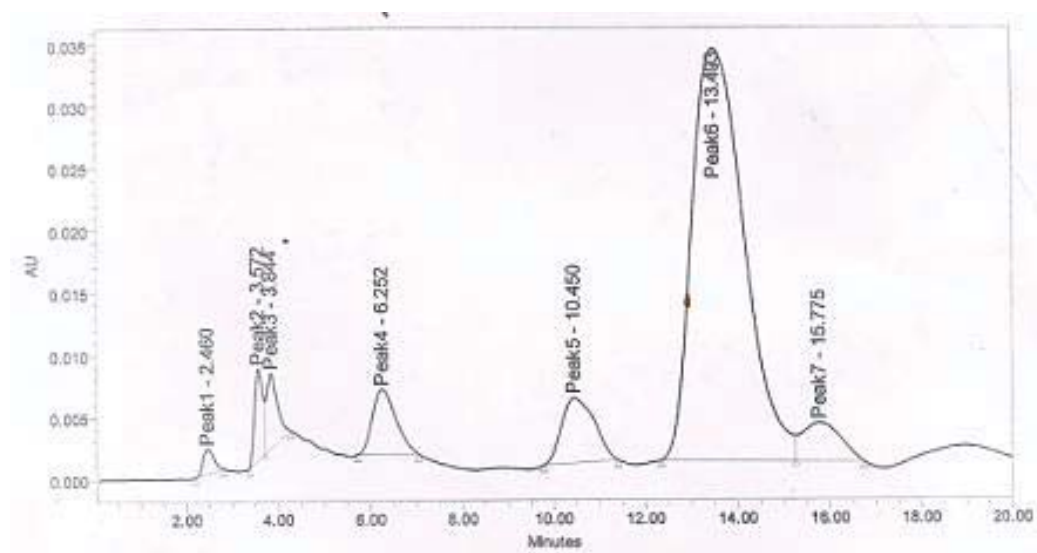
ภาพที่ 15 Chromatogram ของ Mitragynine จากตัวอย่างใบกระท่อมของ อ.เมือง
จ.สุราษฎร์ธานี (ครั้งที่ 3)



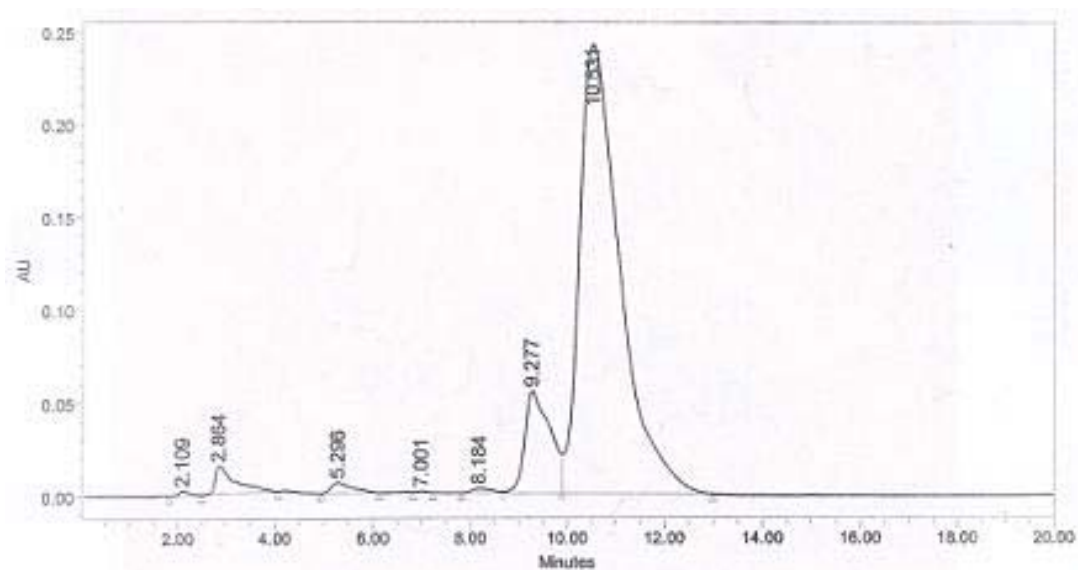
ภาพที่ 16 Chromatogram ของ Mitragynine จากตัวอย่างใบกระท่อมของ สวนบึงฉวาก
อ.เดิมบางนางบวช จ.สุพรรณบุรี (ครั้งที่ 1)



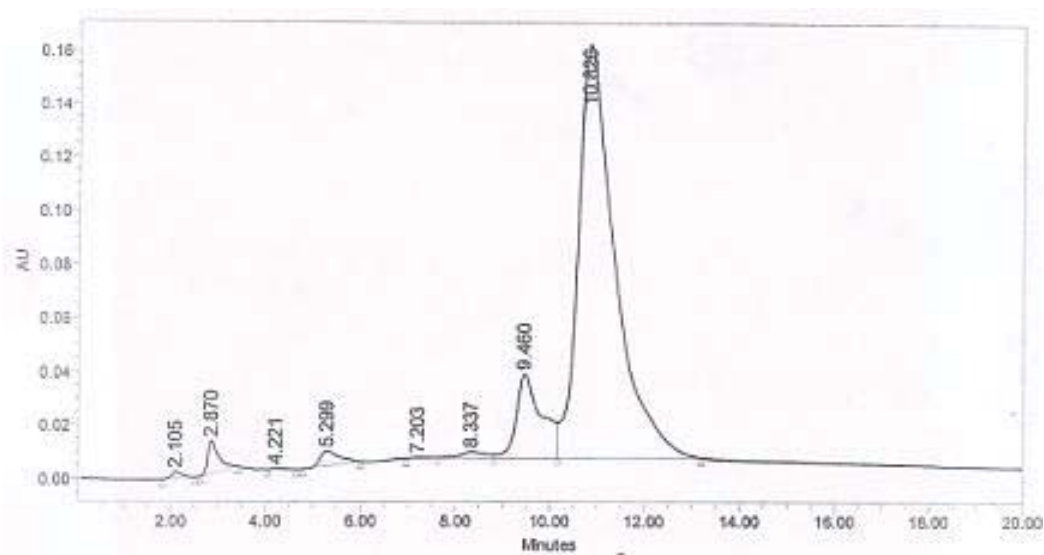
ภาพที่ 17 Chromatogram ของ Mitragynine จากตัวอย่างใบกระท่อมของ สวนบึงฉวาก
อ.เดิมบางนางบวช จ.สุพรรณบุรี (ครั้งที่ 2)



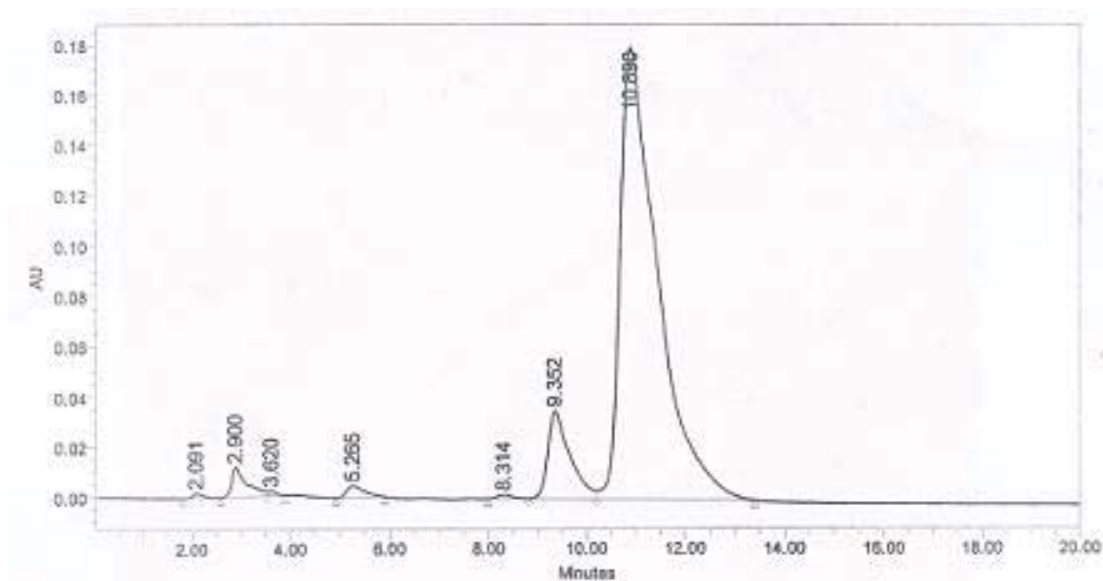
ภาพที่ 18 Chromatogram ของ Mitragynine จากตัวอย่างใบกระท่อมของ สวนบึงฉวาก
อ.เดิมบางนางบวช จ.สุพรรณบุรี (ครั้งที่ 3)



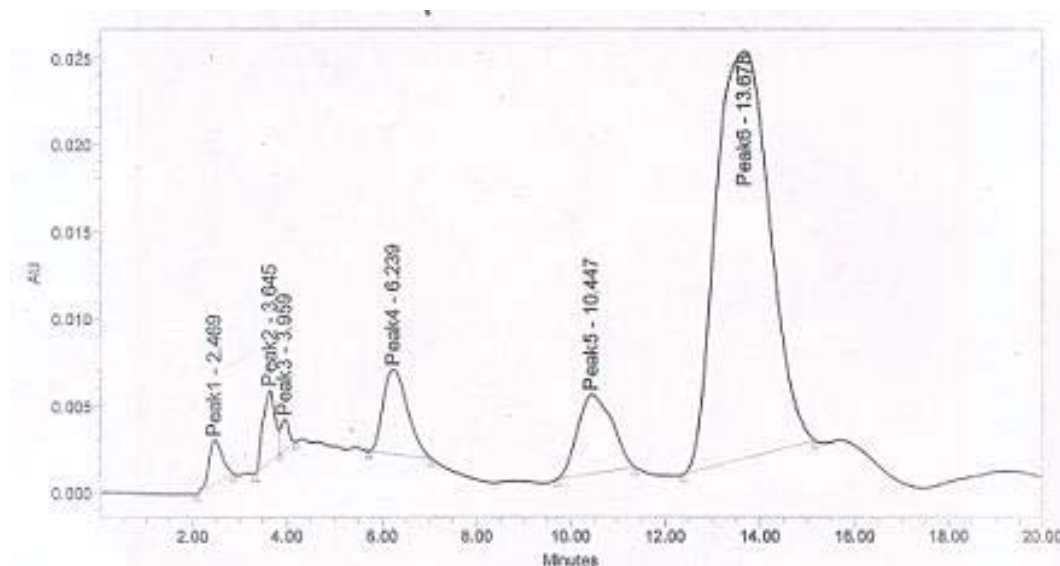
ภาพที่ 19 Chromatogram ของ Mitragynine จากตัวอย่างใบกระท่อมของ อ.เมือง จ.ปทุมธานี (ครั้งที่ 1)



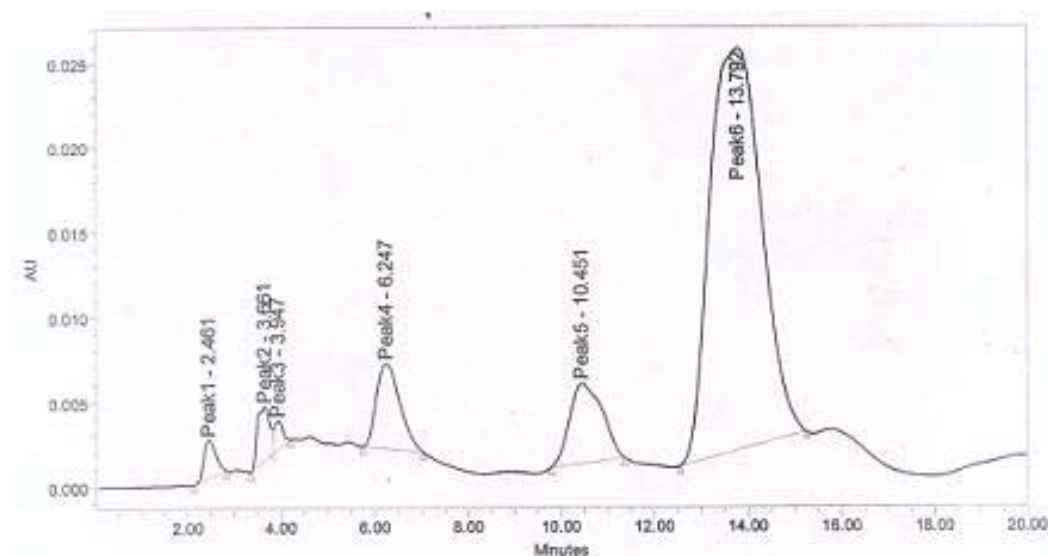
ภาพที่ 20 Chromatogram ของ Mitragynine จากตัวอย่างใบกระท่อมของ อ.เมือง จ.ปทุมธานี (ครั้งที่ 2)



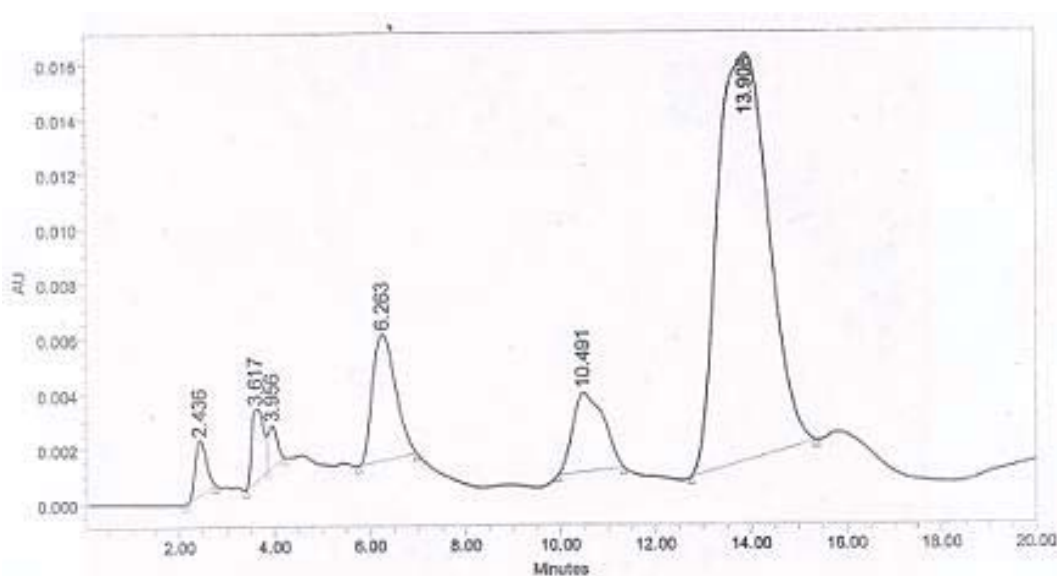
ภาพที่ 21 Chromatogram ของ Mitragynine จากตัวอย่างใบกระท่อมของ อ.เมือง จ.ปทุมธานี (ครั้งที่ 3)



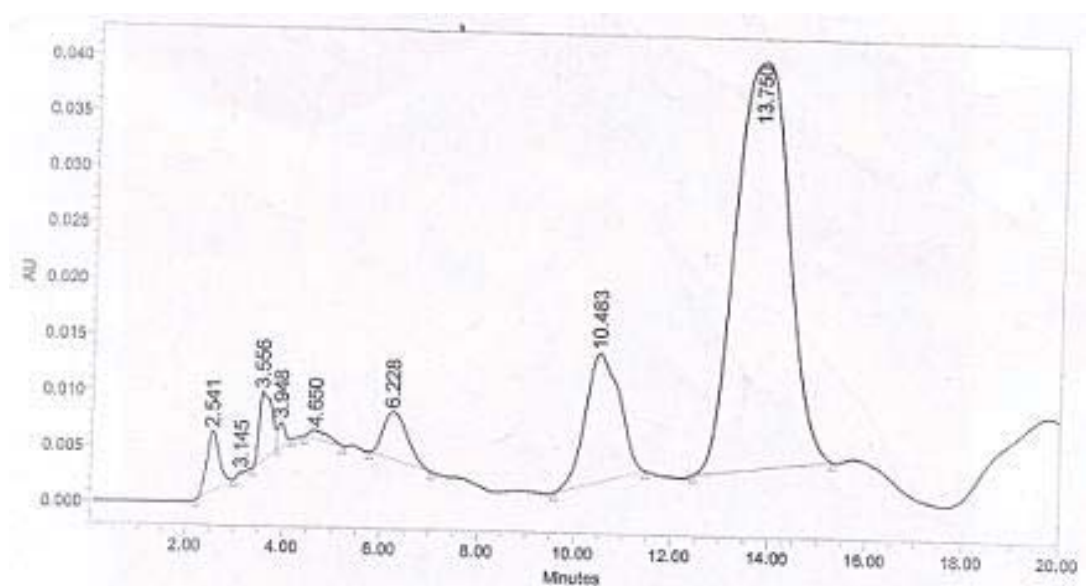
ภาพที่ 22 Chromatogram ของ Mitragynine จากตัวอย่างใบกระท่อมของ อ.ลำลูกกา จ.ปทุมธานี (ครั้งที่ 1)



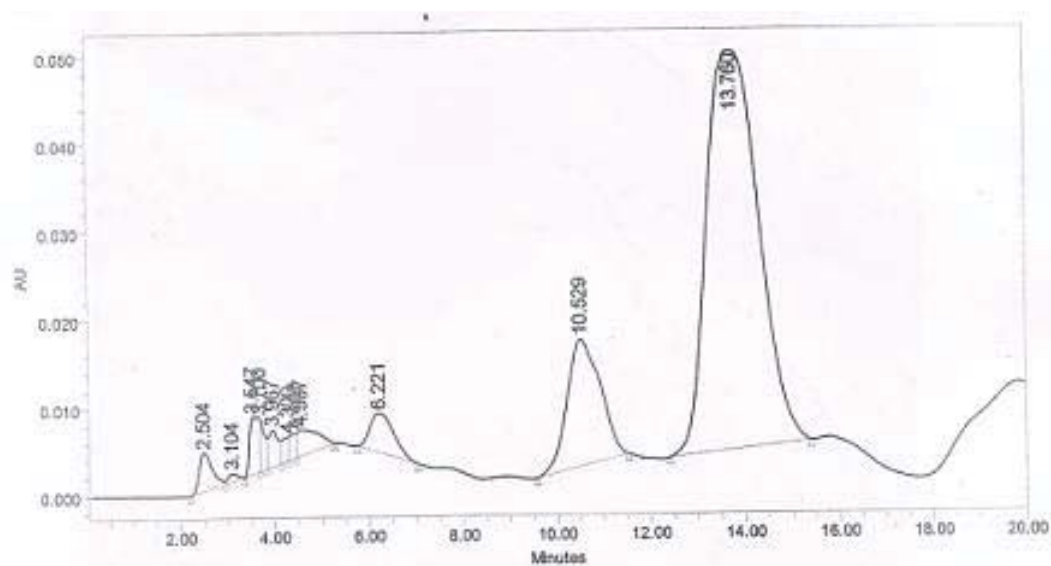
ภาพที่ 23 Chromatogram ของ Mitragynine จากตัวอย่างใบกระท่อมของ อ.ลำลูกกา
จ.ปทุมธานี (ครั้งที่ 2)



ภาพที่ 24 Chromatogram ของ Mitragynine จากตัวอย่างใบกระท่อมของ อ.ลำลูกกา
จ.ปทุมธานี (ครั้งที่ 3)

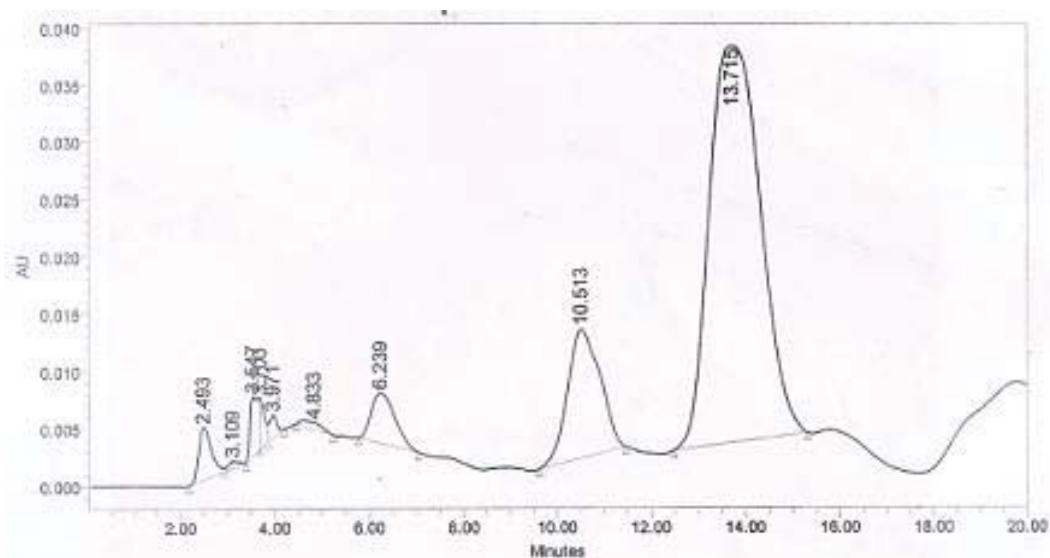


ภาพที่ 25 Chromatogram ของ Mitragynine จากตัวอย่างใบกระท่อมของ อ.เมือง จ.นครปฐม (ครั้งที่ 1)

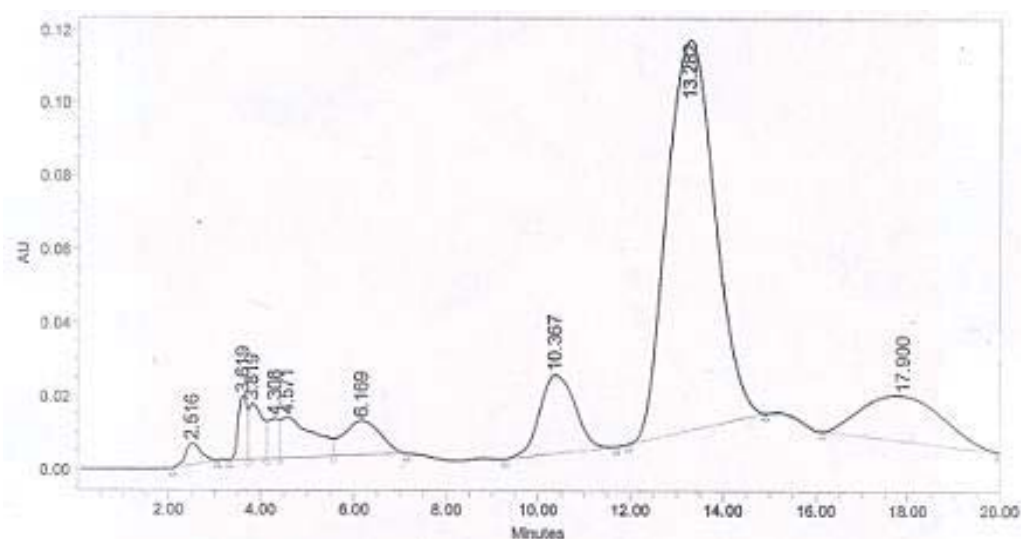


ภาพที่ 26 Chromatogram ของ Mitragynine จากตัวอย่างใบกระท่อมของ อ.เมือง จ.นครปฐม (ครั้งที่ 2)

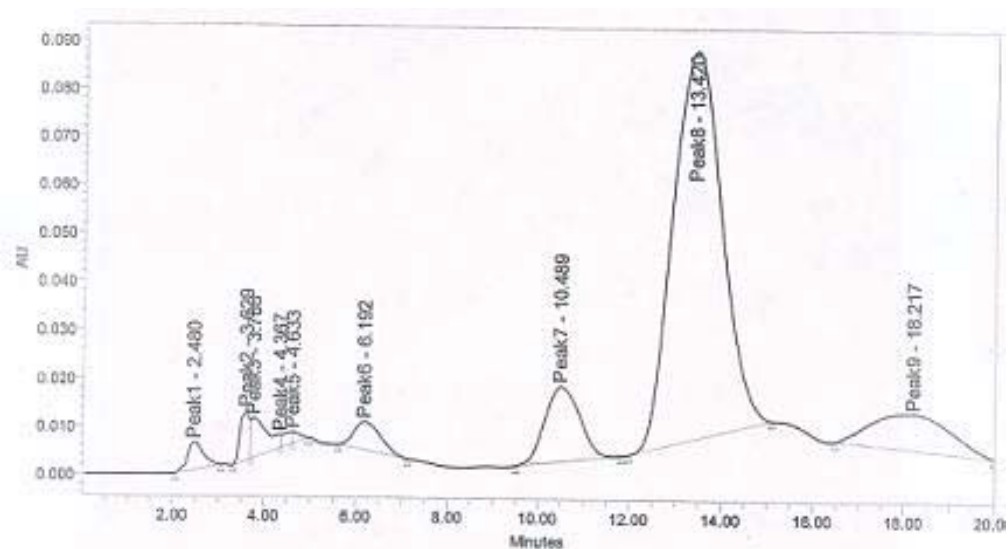
\



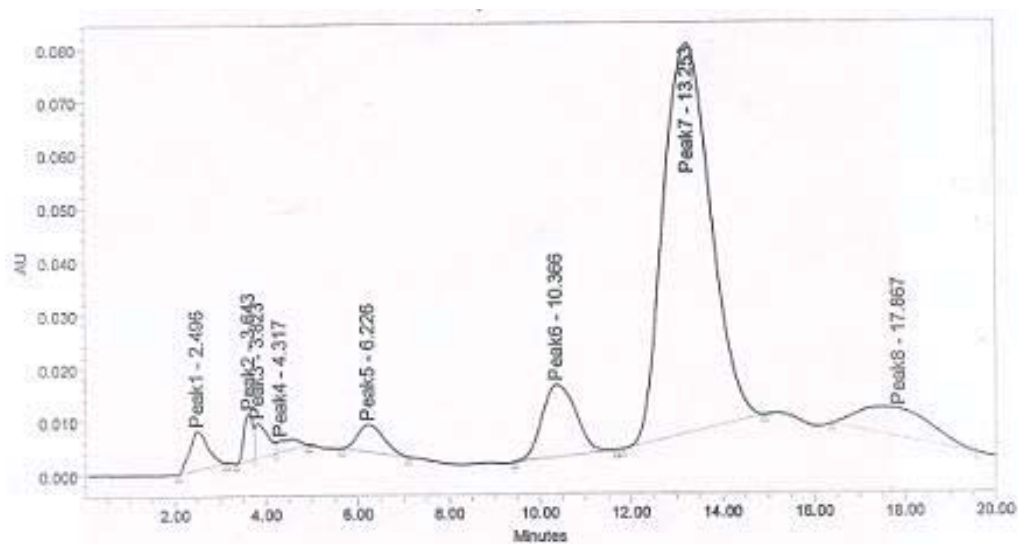
ภาพที่ 27 Chromatogram ของ Mitragynine จากตัวอย่างใบกระท่อมของ อ.เมือง จ.นครปฐม (ครั้งที่ 3)



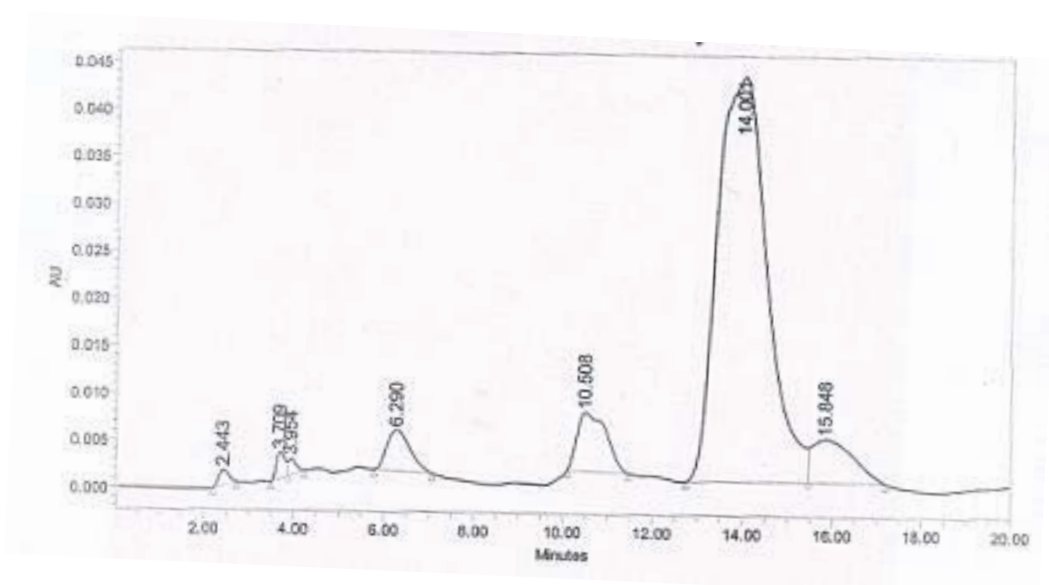
ภาพที่ 28 Chromatogram ของ Mitragynine จากตัวอย่างใบกระท่อมของ เขตดอนเมือง กรุงเทพมหานคร (ครั้งที่ 1)



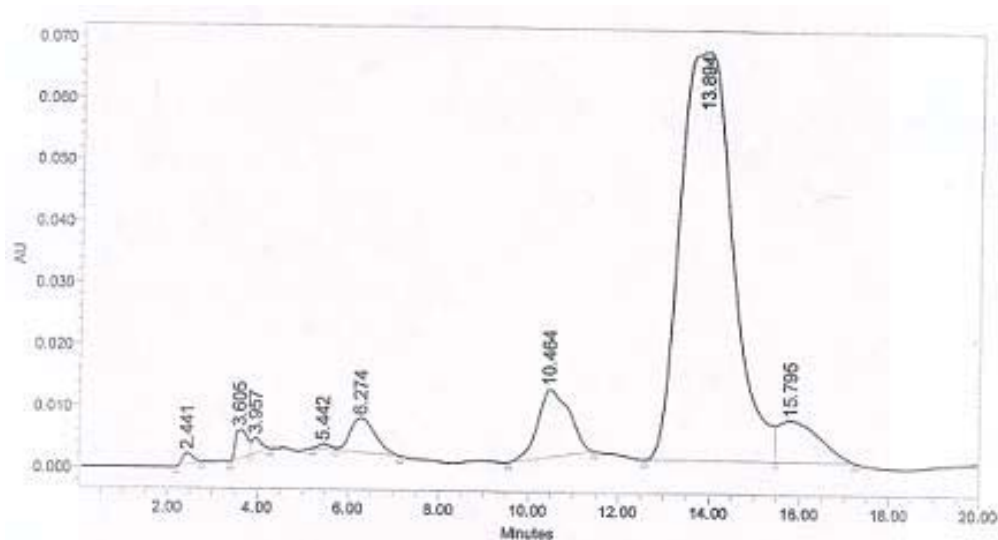
ภาพที่ 29 Chromatogram ของ Mitragynine จากตัวอย่างใบกระท่อมของ เขตดอนเมือง กรุงเทพมหานคร (ครั้งที่ 2)



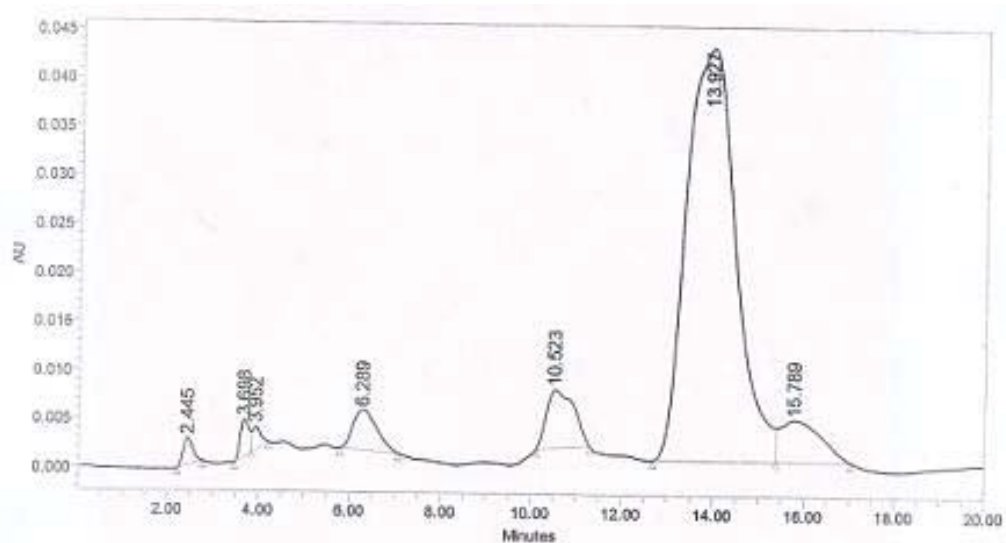
ภาพที่ 30 Chromatogram ของ Mitragynine จากตัวอย่างใบกระท่อมของ เขตดอนเมือง กรุงเทพมหานคร (ครั้งที่ 3)



ภาพที่ 31 Chromatogram ของ Mitragynine จากตัวอย่างใบกระท่อมของ เขตสะพานสูง กรุงเทพมหานคร (ครั้งที่ 1)



ภาพที่ 32 Chromatogram ของ Mitragynine จากตัวอย่างใบกระท่อมของ เขตสะพานสูง กรุงเทพมหานคร (ครั้งที่ 2)



ภาพที่ 33 Chromatogram ของ Mitragynine จากตัวอย่างใบกระท่อมของ เขตสะพานสูง กรุงเทพมหานคร (ครั้งที่ 3)

การคำนวณ

1. การหา %yield ในการสกัดใบกระเทียมในจังหวัดสุราษฎร์ธานี

จากการสกัดใบกระเทียม 10000.00 mg สกัดสารได้หนัก 85.3 mg

ใบกระเทียม 10000.00 mg สกัดได้สารหนัก 85.3 mg

ถ้าใบกระเทียม 100 mg จะสกัดได้สารหนัก 0.853 mg

ดังนั้นในการสกัดใบกระเทียมจังหวัดสุราษฎร์ธานีมี %yield เท่ากับ 0.853

2. ในการวิเคราะห์หาปริมาณ Mitragynine ของใบกระเทียมในจังหวัดสุราษฎร์ธานี

จากการวิเคราะห์หาปริมาณ Mitragynine จะทำให้ได้พื้นที่ใต้พีคออกมา ซึ่งจะนำไปหาความเข้มข้นของ Mitragynine ที่ต้องการจากการแทนค่าลงไปในการกราฟมาตรฐานของ Mitragynine

ตัวอย่างการคำนวณ

นำใบกระเทียมมาสกัด	10000.00	mg
สกัดแล้วนำ Solvent ออก	85.3	mg
นำไปวิเคราะห์ HPLC	1.0	mg

ผลการวิเคราะห์ใบกระเทียมในจังหวัดสุราษฎร์ธานีซึ่งตัวอย่างมา 1.0 mg มีพื้นที่ใต้พีคของ Mitragynine เฉลี่ยเท่ากับ 3479475 AU.min สมการเส้นตรงของสารละลายมาตรฐาน Mitragynine เป็น $y = 118437x - 65752$ เมื่อค่า y คือ ค่าพื้นที่ใต้พีค (AU.min) และ x คือ ความเข้มข้นของ Mitragynine

เมื่อแทนค่าพื้นที่ใต้พีคที่ได้ลงในค่า y จะสามารถคำนวณความเข้มข้นของการออกมาได้ ดังนั้น ปริมาณของ Mitragynine ในตัวอย่างนี้ $= (3479475 + 65752)/118437 = 29.93$ ppm

สารสกัดใบกระเทียม	1000 mL	มีปริมาณ Mitragynine อยู่	29.93 mg
ถ้าสารสกัดใบกระเทียม	10 mL	มีปริมาณ Mitragynine อยู่	0.2993 mg

แสดงว่าในตัวอย่างใบกระท่อมสกัดในจังหวัดสุราษฎร์ธานี 1.0 mg มีปริมาณ Mitragynine อยู่ 0.2993 mg

สารสกัดใบกระท่อม	1.0 mg	มีปริมาณ Mitragynine อยู่	0.2993 mg
------------------	--------	---------------------------	-----------

ถ้าสารสกัดใบกระท่อม	85.3 mg	มีปริมาณ Mitragynine อยู่	25.53 mg
---------------------	---------	---------------------------	----------

แสดงว่าในใบกระท่อมของจังหวัดสุราษฎร์ธานี 10000.00 g มีปริมาณ Mitragynine อยู่ 25.53 mg

สำหรับการหาปริมาณ Mitragynine ในจังหวัดอื่นก็จะใช้วิธีการคำนวณเดียวกัน โดยใช้กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานของ Mitragynine

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ – ชื่อสกุล	นายณราพงศ์ บุรุมรา
ที่อยู่	319/39 หมู่ที่7 ตำบลหนองบัว อำเภอเมือง จังหวัดอุดรธานี 41000
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2549	สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาการแพทย์แผน ตะวันออก จากมหาวิทยาลัยรังสิต
พ.ศ. 2550–ปัจจุบัน	ศึกษาต่อระดับปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ประวัติการทำงาน	
พ.ศ. 2549-2551	เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ คณะการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัย รังสิต
พ.ศ.2551-2553	แพทย์แผนไทยประจำคลินิกคณะการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต
พ.ศ.2553-2554	แพทย์แผนไทย ร้านหัตถวัตร เมืองออกแลนด์ ประเทศนิวซีแลนด์
พ.ศ.2554-2555	ผู้ช่วยผู้จัดการ โรงงานมันสำปะหลังบริษัทเนชั่นรัลซ์ฟฟลาย 2000 อ.เมือง จ.อุดรธานี