

เทคนิค HPLC อย่างง่ายได้ถูกพัฒนาเพื่อใช้ในการวัดระดับมิทรากัยนีนในซีรัม ระบบการแยกประกอบด้วยคอลัมน์ C_{18} ที่ถูกปรับอุณหภูมิให้คงที่ที่ 35 องศาเซลเซียส สารผสมระหว่างเมทานอลและน้ำในอัตราส่วน 80:20 โดยปริมาตร เป็นตัวเคลื่อนที่โดยมีอัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตร/นาที ตรวจจับสารด้วยการดูดกลืนแสงเหนือม่วงที่ความยาวคลื่น 225 นาโนเมตร มิทรากัยนีนถูกแยกออกจากสารอื่นในซีรัมได้ดี โดยมีเวลาอยู่ในคอลัมน์นาน 10.09 นาที กราฟมาตรฐานมีความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.1 ถึง 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ $r = 0.9995$) มิทรากัยนีนในซีรัมถูกสกัดด้วยไดเอทิลอีเทอร์ได้ดีโดยสกัดออกมาได้มากกว่า 85% ค่าความแม่นยำของการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกันและระหว่างวันเท่ากับ 4.29-5.88%RSD และ 7.06-8.45%RSD ตามลำดับ ค่าความถูกต้องอยู่ระหว่าง -9.54 ถึง +0.67%DEV ความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจจับได้เท่ากับ 0.03 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถหาปริมาณได้เท่ากับ 0.1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มิทรากัยนีนในสารละลายเข้มข้นมีความเสถียรในช่วง 30 วันของการเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เทคนิคนี้สามารถนำไปใช้เพื่อหาเภสัชจลนศาสตร์ของมิทรากัยนีนในหนูขาวที่ได้รับมิทรากัยนีนครั้งเดียวทางปากได้

A simple HPLC technique for determining mitragynine levels in serum was developed. The separation system consisted of a C_{18} column heated to 35°C, a methanol-water (80:20, v/v) mobile phase, a flow rate of 0.8 mL/min and detection in the ultraviolet at 225 nm. Mitragynine with a retention time of 10.09 min, was well resolved from any interferences in human serum and the internal standard peak. The calibration curve was linear from 0.1 to 10 $\mu\text{g/mL}$ ($r = 0.9995$). Extraction of mitragynine from alkalinized serum using diethyl ether gave a high recovery ($\geq 85\%$). The intra- and inter-day precisions of the method were 4.29-5.88%RSD and 7.06-8.45%RSD, respectively. The accuracy ranged from -9.54 to +0.67%DEV. The limit of detection was 0.03 $\mu\text{g/mL}$ and the lower limit of quantification was 0.1 $\mu\text{g/mL}$. Mitragynine in the stock solution was stable during 30 days of storage at 4°C. This method was successfully applied to determine the pharmacokinetic characteristics of mitragynine levels in the serum of rats after it was administered orally.