

Thesis Title	Determination of Amphetamine, Methamphetamine and Ephedrine in Urine by Gas Chromatography-Mass Spectrometry	
Author	Mrs Sudjai Nantarat	
M.S.	Chemistry	
Examining Committee	Asst. Prof. Dr. Mongkon Rayanakorn	Chairman
	Asst. Prof. Dr. Yuthsak Vaneesorn	Member
	Asst. Prof. Dr. Surasak Watanesk	Member

### ABSTRACT

The determination of amphetamine, methamphetamine, and ephedrine in urine samples in this study was performed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Samples were prepared by solid phase extraction (SPE) on C<sub>18</sub> adsorbent and back extraction followed by derivatization with heptafluorobutyric anhydride (HFBA). The compounds were analyzed on a DB-5MS capillary column under optimised GC-MS operating conditions, using full scan mass spectral analysis with electron impact ionization. The order of elution was amphetamine, methamphetamine and ephedrine.

Amphetamine, methamphetamine and ephedrine were analyzed as both underivatized and HFBA derivatives. The characteristic fragmentation patterns or major peaks of underivatized drugs were at m/z 44, 91 and 65 for amphetamine 58, 91 and 65 for methamphetamine and 58, 77 and 44 for ephedrine which provided positive identification. The characteristic peaks of HFBA derivatives were found to be at m/z 240, 118 and 91 for amphetamine 254, 210 and 91 for methamphetamine and 254, 210 and 255 for ephedrine. Under the optimum GC-MS condition and using phenylpropanolamine as internal standard, the limits of detection (LOD) of

amphetamine, methamphetamine and ephedrine were all found to be 2 ug/ml and the linearity ranges were 2 - 160, 2 - 160 and 2 - 80 ug/ml, respectively. For HFBA derivatives, the LOD values were found to be 100, 50 and 100 ng/ml, respectively, and the linearity ranges were 0.2 - 40, 0.2 - 40 and 0.2 - 30 ug/ml in the same order.

For the extraction of amphetamine, methamphetamine and ephedrine from urine samples, the appropriate condition for SPE was obtained with sample solution at pH 5, a mixture of EtOH : NH<sub>4</sub>OH : H<sub>2</sub>O (50 : 10 : 40 v/v) as rinse solution and a mixture of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : *i* - propanol : NH<sub>4</sub>OH (78 : 20 : 2 v/v) as eluting solvent. The percentages of recoveries for amphetamine, methamphetamine and ephedrine were 55.8, 66.9 and 26.9, respectively, and the LOD values in the urine samples were found to be 100, 50 and 100 ng/ml, respectively. Of the nineteen urine samples investigated, no sample was found to contain ephedrine. Fifteen samples were found to contain methamphetamine greater than 500 ng/ml and only five samples were found to contain amphetamine greater than 500 ng/ml.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การหาปริมาณแอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และอีเฟดรีนใน ปัสสาวะโดยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี	
ชื่อผู้เขียน	นางสุดใจ นันตารัตน์	
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	สาขาวิชาเคมี	
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร. มงคล ราชะนาคร	ประธานกรรมการ
	ผศ.ดร. บุทธศักดิ์ วัฒนีสอน	กรรมการ
	ผศ.ดร. สุรศักดิ์ วัฒนเสถ์	กรรมการ

#### บทคัดย่อ

การหาปริมาณแอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และอีเฟดรีนในตัวอย่างปัสสาวะ ในงานวิจัยนี้ ได้ใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (จีซี-เอ็มเอส) เตรียมตัวอย่างโดยวิธีสกัดแบบโซลิดเฟส ด้วยสารดูดซับชนิด ซี 18 และหลังจากสกัดได้เตรียมเป็นอนุพันธ์ด้วยเฮกซะฟลูออโรโรบิวทริกแอนไฮไดรด์ (เอชเอฟบีเอ) วิเคราะห์สารประกอบที่ได้ด้วยแคปิลลารีคอลัมน์แบบดีบี-5เอ็มเอส ภายใต้ภาวะจีซี-เอ็มเอส ที่ปรับให้เหมาะสมแล้ว ซึ่งใช้การวิเคราะห์แบบฟูลสแกนแมสสเปกทรัล ด้วยการไอออนเซชันแบบอิเล็กตรอนอิมแพคต์ ลำดับของการออกจากคอลัมน์คือ แอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และอีเฟดรีน

ได้ทำการวิเคราะห์แอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และอีเฟดรีน ทั้งแบบไม่เป็นอนุพันธ์และแบบเป็นอนุพันธ์เอชเอฟบีเอ รูปแบบการแฟรกเมนต์หรือฟิชที่มีลักษณะเฉพาะตัวที่ใช้บ่งบอกว่าเป็นสารนั้นของยาที่ไม่เป็นอนุพันธ์สำหรับแอมเฟตามีนคือ ค่ามวลต่อประจุเป็น 44, 91 และ 65 สำหรับเมทแอมเฟตามีนคือ 58, 91 และ 65 สำหรับอีเฟดรีนคือ 58, 77 และ 44 ส่วนรูปแบบการแฟรกเมนต์ของอนุพันธ์เอชเอฟบีเอสำหรับแอมเฟตามีนคือ ค่ามวลต่อประจุเป็น 240, 118 และ 91 สำหรับเมทแอมเฟตามีนคือ 254, 210 และ 91 สำหรับอีเฟดรีนคือ 254, 210 และ 255 ภายใต้ภาวะจีซี-เอ็มเอสที่เหมาะสม และมีฟีนิลโทรพานอลามีนเป็นสารมาตรฐานภายใน พบว่าแอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และอีเฟดรีน ที่ไม่เป็นอนุพันธ์มีค่าต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้มีค่าเดียวกันคือ 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม และกราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงในช่วง 2 - 160, 2 - 160 และ 2 - 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ สำหรับแอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และอีเฟดรีนที่เป็นอนุพันธ์เอชเอฟบีเอ มีค่าต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้เป็น 100, 50 และ 100 นาโนกรัมต่อมิลลิกรัมตามลำดับ และกราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงในช่วง 0.2 - 40, 0.2 - 40 และ 0.2 - 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ตามลำดับเช่นเดียวกัน

สำหรับการสกัดแอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และอีเฟดรีนออกจากปัสสาวะนั้น ภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแบบโซลิดเฟส โดยทำให้ตัวอย่างมี พีเอช 5 มี เอทานอล : แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ : น้ำ (50: 10: 40 โดยปริมาตร) เป็นสารละลายที่ใช้ล้าง และไดคลอโรมีเทน : ไอโซโพรพานอล : แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (78 : 20 : 2 โดยปริมาตร) เป็นตัวชะ ค่าร้อยละของการกลับคืนสำหรับการสกัดแอมเฟตามีน เมทแอมเฟตามีน และอีเฟดรีนคือ 55.8, 66.9 และ 26.9 ตามลำดับ และค่าต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างปัสสาวะพบว่ามีค่า 100, 50 และ 100 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ จากตัวอย่างปัสสาวะที่ศึกษา 19 ตัวอย่าง ไม่พบตัวอย่างใดมีอีเฟดรีนอยู่ 15 ตัวอย่างมีเมทแอมเฟตามีนเกิน 500 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และใน 5 ตัวอย่างพบแอมเฟตามีนเกิน 500 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร