

การกำหนดมาตรฐานการแปรสภาพเรซินรทองตามกรรมวิธีทางการแพทย์แผนไทย

รณชัย ภูวนา¹, นาฏศจี นวลแก้ว², สมศักดิ์ นวลแก้ว^{3*}

Received: 24 February 2014

Accepted: 21 April 2014

บทคัดย่อ

บทนำ: สมุนไพรบางชนิดมีพิษหรือมีฤทธิ์แรงเกินไป ก่อนนำมาใช้เป็นยาตามทฤษฎีทางการแพทย์แผนไทย ต้องนำมาผ่านกระบวนการตามกรรมวิธีทางการแพทย์แผนไทยที่เรียกว่าการแปรสภาพหรือการระงับเสียก่อน เรซินรทองเป็นสมุนไพรชนิดหนึ่งที่ต้องนำมาแปรสภาพก่อนนำมาใช้เป็นยา การแปรสภาพเรซินรทองยังไม่มีข้อกำหนดมาตรฐานวิธีการปฏิบัติหรือพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์มาก่อน การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อกำหนดมาตรฐานและพิสูจน์การแปรสภาพเรซินรทองตามกรรมวิธีทางการแพทย์แผนไทย **วิธีดำเนินการวิจัย:** ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการแปรสภาพและเปรียบเทียบปริมาณกรดแกมโบจิกในเรซินรทองก่อนและหลังการแปรสภาพ 3 วิธี โดย 2 วิธีแรกเป็นการแปรสภาพแบบดั้งเดิม คือวิธีที่ 1 เอาผงเรซินรทองห่อด้วยใบบัว 7 ชั้น แล้วนำไปปิ้งไฟจนสุก วิธีที่ 2 เอาผงเรซินรทองห่อด้วยใบชา 7 ชั้น แล้วนำไปปิ้งไฟจนสุก และวิธีที่ 3 เป็นวิธีการแปรสภาพที่พัฒนาขึ้นใหม่โดยเอาผงเรซินรทองห่อด้วยกระดาษฟอยล์แล้วอบในตู้เฝาจจนสุก แล้วนำสารสกัดเรซินรทองทั้งก่อนและหลังแปรสภาพไปวิเคราะห์ปริมาณกรดแกมโบจิก ด้วยเครื่องไฮเปอร์ฟอร์มวลลิควิดโครมาโตกราฟี (HPLC) **ผลการวิจัย:** การแปรสภาพที่ทำให้รทองสุกพอดี คือการปิ้งจนใบบัวหรือใบชาไหม้ ถึงชั้นที่ 6 การระงับด้วยใบบัวและใบชามีปริมาณกรดแกมโบจิกลดลงร้อยละ 30.09 และ 28.86 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับก่อนระงับ โดยใช้เวลาเฉลี่ยในการปิ้งด้วยใบบัวและใบชา 35 และ 25 นาที ตามลำดับ การแปรสภาพเรซินรทองโดยการห่อด้วยกระดาษฟอยล์แล้วนำไปอบในเตาเผา พบว่าการอบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที และการอบที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที มีปริมาณกรดแกมโบจิกลดลงใกล้เคียงกับวิธีการแปรสภาพแบบดั้งเดิมมากที่สุด คือมีปริมาณกรดแกมโบจิกลดลงร้อยละ 29.17 และ 29.24 ตามลำดับ และ HPLC chromatogram ไม่แตกต่างจากการแปรสภาพด้วยวิธีดั้งเดิม **สรุปผลการวิจัย:** การแปรสภาพรทองโดยใช้ไฟปานกลางและเฝาจจนใบบัวหรือใบชาไหม้ไป 6 ชั้น เป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุด และเหตุผลในการแปรสภาพอาจเป็นการลดฤทธิ์ของรทอง (ทำให้ปริมาณกรดแกมโบจิกลดลง) ซึ่งเป็นกลไกหนึ่งตามทฤษฎีทางการแพทย์แผนไทย

คำสำคัญ: รทอง กรดแกมโบจิก การแพทย์แผนไทย การแปรสภาพ การระงับ

วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน 2557; 10(2): 124-135

¹ นักศึกษาปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (สาขาสสมุนไพรรและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ) คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

² Ph.D., ผู้ช่วยศาสตราจารย์, คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

³ Ph.D., ผู้ช่วยศาสตราจารย์, หน่วยปฏิบัติการวิจัยทางเภสัชเคมีและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

* **ติดต่อผู้พิมพ์:** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์ นวลแก้ว โทรศัพท์/โทรสาร +66 4375 4360 อีเมล: nualkaew@yahoo.com

Standardization of Thai Traditional Medicine Method for Treatment of *Garcinia hanburyi* Hook.f Resins

Ronnachai Poowunna¹, Natsajee Nualkaew², Somsak Nualkaew^{3*}

Abstract

Introduction: In Thai traditional medicine, herbal medicines which are toxic or too potent must be treated by some methods of Thai traditional medicine before use. *Garcinia hanburyi* Hook.f resin (GHR) is an example of one such herbal medicine whose potency must be reduced before use. The treatment method of GHR has not been standardized or proved effective. This study aimed to standardize the Thai traditional method for treatment of GHR. **Methods:** The traditional method employing the 7-layered wrapping with lotus leaves (*Nelumbo nucifera* Gaertn) or galangal leaves (*Alpinia galanga* (L.) Willd.) before grilling was compared to the new method of burning the aluminium-foil-wrapped GHR in the furnace. The HPLC chromatograms and amount of gambogic acid of GHR before and after treatments were analyzed. **Results:** The optimal duration of grilling until the sixth layer of lotus leaves (approx. 35 min) or galangal leaves (approx. 25 min) was burned led to the reduction of gambogic acid 30.09 % and 28.86 %, respectively. The new methods of aluminium-foil-wrapping when incubated at 120 °C for 30 min or at 140 °C for 15 min showed the reduction of gambogic acid 29.17 %, and 29.24 %, respectively. The HPLC fingerprints of the new methods were similar to the traditional methods. **Conclusion:** The optimal treatment processes of GHR are the grilling of the wrapped GHR until the sixth layer of lotus leaves or galangal leaves is burned (approx. 35 min and 25, respectively) and the new method described herein similarly decrease gambogic acid, a major active compound which might lead to reducing activity of GHR.

Keywords: *Garcinia hanburyi* Hook.F., Gambogic acid, Thai traditional medicine, Crud drug treatment, Sa-tu
IJPS 2014; 10(2): 124-135

¹ M.Sc. Candidate, Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University, Kantarawichai, Mahasarakham, Thailand 44150

² Ph.D., Assistant Professor, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khonkaen University, Khonkaen, Thailand 40002

³ Ph.D., Assistant Professor, Pharmaceutical Chemistry and Natural product Research Unit, Faculty of Pharmacy, Mahasarakham University, Kantarawichai, Mahasarakham, Thailand 44150

* Corresponding author: Assistant Professor Dr. Somsak Nualkaew Tel/Fax +66 4375 4360 e-mail: nualkaew@yahoo.com

บทนำ

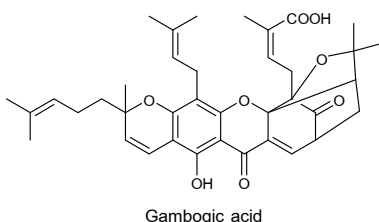
เรซินรงทองมีลักษณะเป็นก้อนแข็งสีเหลืองส้ม ได้จากการกรีดยางจากต้นรงทอง (*Garcinia hanburyi* Hook.F.) หลังจากกรีดใหม่ๆ จะได้น้ำยางสีเหลือง เมื่อปล่อยให้แห้งจะได้รงทองเป็นก้อนแข็งสีเหลืองส้ม ต้นรงทองอยู่ในวงศ์ Clusiaceae เป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ พบได้ทั่วไปในภาคกลาง และทางตอนใต้ของประเทศไทย (Sukpondma et al., 2005) นอกจากนี้ยังพบได้ในประเทศกัมพูชา อินเดีย และทางตอนใต้ของประเทศจีน (Tao et al., 2009; Orwa et al., 2009) มีการนำยางรงทองมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น นำมาใช้ทำสีไม้ ตัวไวโอลิน และไม้ซอ ให้มีสีเหลือง ใช้ทำสีน้ำใช้วาดภาพ การแพทย์พื้นบ้านจีนใช้กำจัดสารพิษในร่างกาย ห้ามเลือด และฆ่าเชื้อโรคพวกปรสิต (Qin et al., 2007) ในประเทศไทยใช้เป็นยาระบาย และยาถ่ายพยาธิ (Tao et al., 2009) การศึกษานองค์ประกอบทางเคมี พบว่า สารสำคัญในยางรงทองส่วนใหญ่เป็นสารกลุ่ม xanthone ซึ่งมีมากกว่า 100 ชนิด เช่น isomorellic acid, morellic acid, desoxymorellin, isomorellinol, gambogic acid เป็นต้น (Chantarasriwong et al., 2010) โดยมีกรดแกมโบจิกเป็นองค์ประกอบหลัก นอกจากนี้รงทองยังมีสารกลุ่ม triterpenoids (Wang et al., 2008) volatile oil, phenol ester, methyl alcohol, isovitinic, acetic acid เป็นองค์ประกอบด้วย (David et al., 1977) การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของเรซินรงทอง พบว่ามีฤทธิ์ต้านมะเร็ง ฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค ฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย (He et al., 2009) ฤทธิ์ต้านอาการอักเสบเฉียบพลัน ฤทธิ์ลดอาการปวด และฤทธิ์ลดไข้ (Norkaew, 2003) สารที่เป็นองค์ประกอบในรงทองหลายชนิด ได้แก่ gambogic acid, isomorellinol, forbesione, isomorellin มีความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด peripheral blood mononuclear cell (Hahnvajjanawong et al., 2010) และยังพบว่ากรดแกมโบจิกมีความเข้มข้นที่ทำให้เซลล์ปกติตายครึ่ง

หนึ่ง (ค่า IC_{50}) มีค่ามากกว่าเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวถึง 5 เท่า (Chantarasriwong et al., 2010) เป็นต้น จากข้อมูลด้านองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา จะเห็นว่าร่งทองเป็นสมุนไพรที่มีศักยภาพสูงที่จะนำไปพัฒนาต่อเป็นยารักษาโรค

แพทย์แผนไทยนิยมใช้เรซินรงทองเป็นยาขับเสมหะ ยาระบายอุจจาระ ถ่ายพิษ และยาทาแก้แผลพุพอง โดยมักจะใช้ในรูปแบบของยาตำรับ ซึ่งพบในตำรับยาแผนไทยหลายชนิด เช่น พิกัดตรีเพชรสมคุณ พิกัดตรีฉินทลุมกา เป็นตำรับยาที่ใช้ถ่ายเสมหะ ถ่ายอุจจาระ แก้โลหิตและน้ำเหลืองเสีย ยาธรณีสันตะฆาต เป็นตำรับยารักษาโรคกระษัย แก้กษัยเส้น เถาตาน การนำยางรงทองมาใช้ในทางการแพทย์แผนไทยต้องนำมาผ่านการแปรรูปก่อน เพื่อให้เหมาะสมต่อการนำไปใช้ การแปรรูปทางการแพทย์แผนไทยมีชื่อเรียกแตกต่างกัน 3 ชนิด คือ การระตุ การประสะ และการฆ่าฤทธิ์ การเรียกชื่อวิธีการแปรรูปของสมุนไพรทางแพทย์แผนไทยมีความแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสมุนไพรแต่ละชนิด สำหรับการแปรรูปรงทองนิยมเรียกว่า การระตุรงทอง การแปรรูปสมุนไพรทางแพทย์แผนไทยมีวัตถุประสงค์หลายประการขึ้นอยู่กับสมุนไพรแต่ละชนิด เช่น การทำให้สมุนไพรมีฤทธิ์อ่อนลง หรือทำให้พิษของสมุนไพรลดน้อยลง หรือทำให้สมุนไพรสะอาดขึ้น หรือทำให้สมุนไพรปราศจากเชื้อโรค หรือทำให้สมุนไพรมีขนาดอนุภาคเล็กลง อย่างใดอย่างหนึ่งหรือหลายอย่างร่วมกัน (Thamaweck, 2004; Sathaban Phasa Thai, 1999)

การระตุรงทอง ทำได้โดยการเอาผงเรซินรงทองมาห่อด้วยใบบัวหรือใบชา 7 ชั้น แล้วนำไปปิ้งไฟจนสุก การระตุรงทองยังไม่มีการจัดทำมาตรฐานในการระตุและยังไม่ทราบวัตถุประสงค์ที่ชัดเจน ว่าทำเพื่อวัตถุประสงค์ใด แพทย์แผนไทยมักจะอธิบายว่าการระตุรงทองมีวัตถุประสงค์เพื่อลดฤทธิ์การเป็นยาระบายอย่างแรง และลดพิษที่ทำให้เกิดอาการ

คลื่นไส้ อาเจียน แต่ยังไม่มีการพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์ใดๆ การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพิสูจน์กลไกการระงับของ โดยการเปรียบเทียบรอยพิมพ์ลายนิ้วมือทางโครมาโตกราฟีของ HPLC และปริมาณกรดแกมโบจิกของเรซินรงทองก่อนและหลังการระงับ เนื่องจากกรดแกมโบจิก (รูปที่ 1) เป็นองค์ประกอบหลักของเรซินรงทอง มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายชนิด และมีความเป็นพิษต่อเซลล์ กรดแกมโบจิกจึงถูกเลือกมาเป็นสารบ่งชี้ในการศึกษาครั้งนี้ ถ้าการระงับของทำให้ปริมาณกรดแกมโบจิกลดลง อาจสันนิษฐานได้ว่าการระงับของเป็นการลดฤทธิ์หรือทำให้ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาลดลง นอกจากนี้วิธีการระงับของทางการแพทย์แผนไทยยังไม่มีมาตรฐานวิธีการระงับที่แน่นอน ไม่ได้กำหนดวิธีการระงับอย่างละเอียด ทำให้ผู้ปฏิบัติทำได้ค่อนข้างยาก เช่น ความหนาของใบบัวและใบชาอาจไม่เท่ากัน ความแรงของไฟที่ใช้ปิ้งแต่ละครั้งอาจไม่เท่ากัน ระยะเวลาที่ใช้ปิ้งอาจแตกต่างกัน ดังนั้นการระงับของแต่ละครั้งอาจได้ผลลัพธ์ที่แตกต่างกัน การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการระงับให้มีมาตรฐาน นอกจากนี้การใช้ใบบัวหรือใบชาห่อ อาจไม่สะดวกในกรณีที่ทำใบชาห่อไม่ได้ การวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการระงับของให้เหมาะสมกับเครื่องมือและอุปกรณ์สมัยใหม่ด้วย โดยใช้เครื่องมือที่สามารถกำหนดอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนที่แน่นอน โดยทำการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการระงับด้านอุณหภูมิ และเวลาในการระงับ เพื่อกำหนดเป็นมาตรฐานในการระงับของต่อไป



รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างทางเคมีของกรดแกมโบจิก

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

การแปรสภาพโดยใช้เตาเผา (Muffle Furnace) ยี่ห้อ Nabertherm รุ่น NAB-1 LT9/11/B 170 ประเทศเยอรมนี การวิเคราะห์โครมาโตกราฟีด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ((LC-10AD vp Shimadzu) Photo Diode array detector (SPD-M20A) Prominence System Controller (SCL-10A Shimadzu) ประเทศญี่ปุ่น) Guard Column (GL Sciences) Column (GL Sciences 5 μ m 4.6 X 10 mm) ประเทศญี่ปุ่น สารมาตรฐาน Gambogic acid (Chengdu Biopurify Phytochemicals) (ประเทศจีน) สารเคมี เช่น Acetonitrile (HPLC grade), Trifluoroacetic acid (TFA) ซื้อจากบริษัท Merck

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างสมุนไพร

เรซินรงทองที่ใช้ในการศึกษาได้จากยางของต้นรงทอง (*Garcinia hanburyi* Hook.F.) ที่ยังไม่ผ่านการแปรสภาพด้วยวิธีใดๆ มีสีส้มปนแดง ผิวเรียบละเอียด และมักมีผงสีดำปน มีกลิ่นอ่อนๆ เหมือนยางไม้ (รูปที่ 2) ซื้อจากร้านขายยาสมุนไพรจำนวน 15 แห่ง เก็บในถุงพลาสติกปิดสนิทเพื่อป้องกันความชื้น จากนั้นเก็บในภาชนะป้องกันแสงที่อุณหภูมิห้องจนกว่าจะนำไปวิเคราะห์ ตัวอย่างรงทองที่จะนำไปศึกษาปัจจัยในการแปรสภาพจะใช้รงทองเพียงแหล่งเดียว โดยเลือกจากแหล่งที่มีปริมาณของกรดแกมโบจิกใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยจากทั้ง 15 แห่ง วิเคราะห์ด้วย HPLC

2. การระงับของด้วยวิธีดั้งเดิม

นำรงทองที่บดละเอียดเป็นผง แบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งใช้สำหรับการระงับโดยใช้ใบบัว อีกส่วนหนึ่งระงับโดยใช้ใบชา นำรงทองตัวอย่างละ 20 กรัม มาห่อด้วยใบบัวหรือใบชา ขนาด 10 x 25 เซนติเมตร จำนวน 7 ชั้น แล้วนำไปปิ้งไฟโดยใช้เตา

ถ่านขนาดไฟปานกลาง พลิกกลับด้านทุกๆ 5 นาที จนกระทั่งยางร่งทองสุกกรอบ เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์เมื่อใบบัวหรือใบชาใหม่ไป 5 ใบ 6 ใบ และ 7 ใบ ตามลำดับ (ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ) เก็บร่งทองที่ผ่านการสะตุแล้วไว้ในถุงพลาสติกปิดสนิท ป้องกันแสง จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์

3. การพัฒนาวิธีการสะตุร่งทอง

นำร่งทองที่บดละเอียดแล้วนำตัวอย่างละ 20 กรัม (ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ) มาห่อด้วยกระดาษฟอยล์ จากนั้นนำเข้าอบในเตาเผา โดยทำการทดลองที่อุณหภูมิต่างๆ ดังนี้ คือ 80, 100, 120 และ 140 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ กัน คือ 15, 30 และ 45 นาที เก็บร่งทองที่ผ่านการสะตุแล้วไว้ในถุงพลาสติกปิดสนิท ป้องกันแสง จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์

4. การวิเคราะห์ปริมาณกรดแกมโบจิก

4.1 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์

การวิเคราะห์สารมาตรฐานกรดแกมโบจิกและสารตัวอย่างใช้สภาวะในการวิเคราะห์เดียวกันคือใช้เครื่อง High-performance liquid chromatography (HPLC) โดยใช้เฟสเคลื่อนที่แบบเปลี่ยนแปลงสัดส่วน (gradient) ประกอบด้วย Acetonitrile (A): 0.5% Trifluoroacetic acid ในน้ำ (B) โดยใช้อัตราส่วนของ Acetonitrile ร้อยละ 80-90 ที่เวลา 0-8 นาที เปลี่ยนเป็นร้อยละ 90-95 ที่เวลา 8-10 นาที คงที่ที่ร้อยละ 95 ที่เวลา 10-23 นาที เปลี่ยนเป็นร้อยละ 95-100 ที่เวลา 23-25 นาที โดยใช้อัตราไหลของเฟสเคลื่อนที่ 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้เครื่องตรวจวัดชนิด Photodiode array detector (PDA detector) วัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

4.2 การสร้างกราฟมาตรฐาน

การเตรียมสารมาตรฐานกรดแกมโบจิกโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย 5 ความเข้มข้นประกอบด้วย 0.50, 0.38, 0.25, 0.19 และ 0.12

มิลลิกรัม/มิลลิลิตร นำสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาวิเคราะห์ด้วย HPLC แล้วนำค่าพื้นที่ใต้กราฟและความเข้มข้นมาสร้างกราฟมาตรฐาน

4.3 การทดสอบคุณภาพของเครื่องมือ (Method of validation)

4.3.1 การตรวจสอบความสัมพันธ์เชิงเส้น (Linearity)

การตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแกมโบจิกกับค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกมโบจิกในเอทานอล 5 ความเข้มข้นคือ 0.50, 0.38, 0.25, 0.19 และ 0.12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วนำสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นไปวิเคราะห์ด้วย HPLC นำค่าพื้นที่ใต้กราฟของกรดแกมโบจิกมาสร้างกราฟมาตรฐานเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของกรดแกมโบจิกทั้ง 5 ความเข้มข้น จะได้กราฟมาตรฐานของกรดแกมโบจิกแล้วคำนวณหาค่า Linear regression (R^2)

4.3.2 การตรวจสอบความเที่ยงตรง (Precision)

การตรวจสอบความเที่ยงตรงของวิธีการวิเคราะห์ โดยเตรียมสารมาตรฐานกรดแกมโบจิก ความเข้มข้น 0.38 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC เป็นเวลา 3 วัน (interday precision) วันละ 3 ครั้ง (intraday precision) ครั้งละ 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้มาคำนวณความคลาดเคลื่อน

4.3.3 การตรวจสอบความแม่นยำ (Accuracy)

การตรวจสอบความแม่นยำของวิธีการวิเคราะห์ โดยการเตรียมสารมาตรฐานกรดแกมโบจิก แบบเดียวกับการเตรียมสารตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 0.5, 0.25 และ 0.12 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC จำนวน 3 ซ้ำ นำค่าพื้นที่ใต้กราฟที่ได้มาคำนวณหา % Recovery

4.4 การวิเคราะห์สารตัวอย่าง

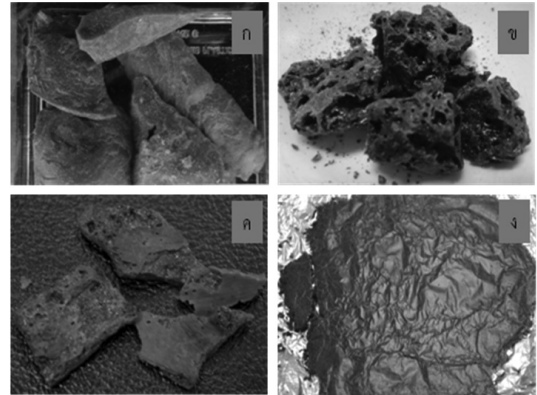
นำสารตัวอย่างประกอบด้วย 3 กลุ่มใหญ่ คือ เรซินรงทองที่ยังไม่ได้ระตุ เรซินรงทองที่ผ่านการการระตุแบบดั้งเดิม และเรซินรงทองที่ผ่านการระตุแบบใหม่ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ มาสกัดด้วยเอทานอล ให้มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร โดยใช้คลื่นความถี่สูงช่วยสกัดนาน 30 นาที นำสารละลายมากรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมครอน นำสารตัวอย่างที่เตรียมได้ไปวิเคราะห์ด้วย HPLC โดยใช้สภาวะในการวิเคราะห์ข้างต้น (วิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ) แล้วคำนวณหาปริมาณกรดแกมโบจิกในสารตัวอย่างเรซิน โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานแกมโบจิก

ผลการดำเนินการวิจัย

1. ผลการระตุรงทองทางกายภาพ

รงทองที่ระตุถูกต้องตามหลักการทางการแพทย์แผนไทยจะสุกพอดี มีลักษณะแห้งกรอบสีส้ม ปนแดง ส่วนการระตุรงทองที่ยังไม่สุกดีจะมีลักษณะเหนียวจับกันเป็นก้อนสีเหลือง และรงทองที่ระตุมากเกินไปจะมีลักษณะกรอบไหม้สีน้ำตาลถึงสีดำ จากผลการทดลองพบว่าวิธีการระตุรงทองที่สุกพอดีคือการห่อผงเรซินรงทองด้วยใบบัวหรือใบชาจำนวน 7 ชั้น แล้วบึ่งจนใบบัวหรือใบชาไหม้ไป 6 ชั้น ใช้เวลาเฉลี่ยในการบึ่งสำหรับใบบัวและใบชา 35 และ 25 นาที ตามลำดับ ในขณะที่การบึ่งโดยการปล่อยให้ใบบัวหรือใบชาไหม้ไป 5 ชั้นหรือน้อยกว่า จะได้รงทองที่ยังไม่สุก มีลักษณะเหนียวติดใบไม้และจับตัวเป็นก้อน ส่วนการระตุที่ปล่อยให้ใบบัวหรือใบชาไหม้ 7 ชั้น รงทองที่ได้จะมีลักษณะกรอบไหม้มีสีดำ สำหรับการแปรรูปรงทองด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นมา โดยการห่อด้วยกระดาษฟอยล์แล้วนำไปอบในเตาเผา พบว่าการอบที่อุณหภูมิตั้งแต่ 100 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาทีขึ้นไปจนถึงการอบที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที ได้รงทองที่สุกพอดี ส่วนการอบที่อุณหภูมิต่ำและเวลา

น้อยกว่านี้รงทองที่ได้จะมีลักษณะเหนียว และการอบที่อุณหภูมิสูงและเวลานานกว่านี้รงทองที่ได้จะมีลักษณะกรอบไหม้มีสีดำ (รูปที่ 2)

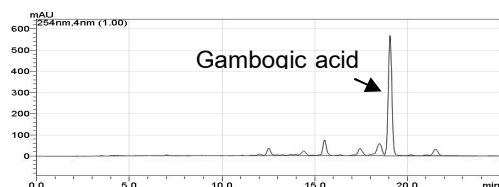


รูปที่ 2 ลักษณะของรงทอง ก) ก่อนระตุ ข) หลังระตุด้วยใบบัว นาน 35 นาที ค) หลังระตุด้วยใบชา นาน 25 นาที ง) หลังระตุด้วยเตาเผาอุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

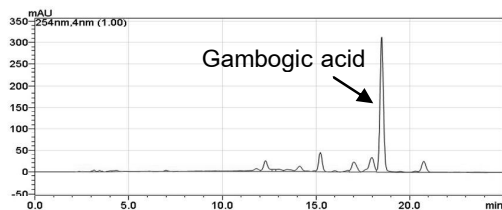
2. รอยพิมพ์ลายนิ้วมือทางโครมาโต

กราฟิของรงทอง

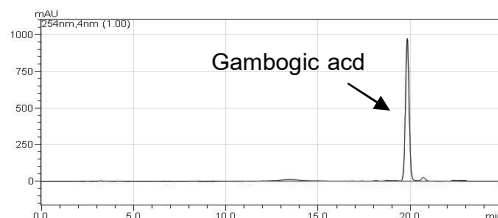
จากการวิเคราะห์ตัวอย่างรงทองด้วย HPLC พบว่ารงทองทั้งก่อนและหลังการระตุมีลักษณะของโครมาโตแกรมที่เหมือนกัน ต่างกันที่ความสูงหรือปริมาณพื้นที่ใต้กราฟของแต่ละพีค แสดงว่าการระตุรงทองไม่ทำให้เกิดสารใหม่ขึ้น แต่ทำให้ปริมาณสารลดลง ดังแสดงในรูปที่ 3-6



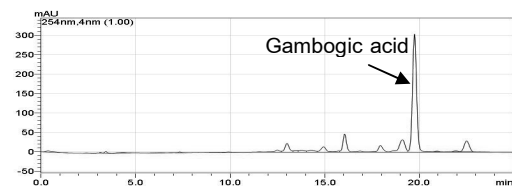
รูปที่ 3 เอลซีโครมาโตแกรมของรงทองก่อนระตุ



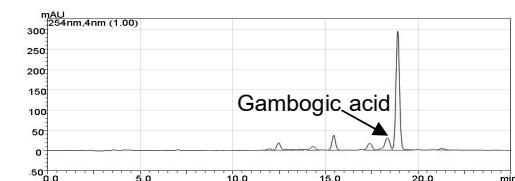
รูปที่ 4 เอชพีแอลซีโครมาโตแกรมของรงทองหลัง
สะตุด้วยใบบัว



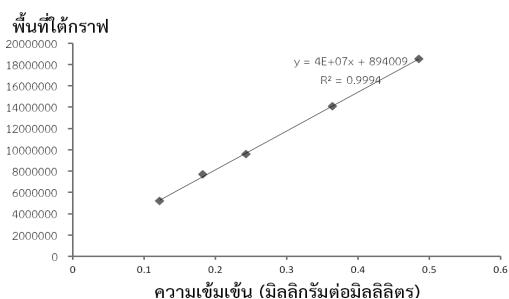
รูปที่ 7 เอชพีแอลซีโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน
กรดแกมโบจิก



รูปที่ 5 เอชพีแอลซีโครมาโตแกรมของรงทองหลัง
สะตุด้วยใบชา



รูปที่ 6 เอชพีแอลซีโครมาโตแกรมของรงทองหลัง
สะตุด้วยเตาเผา



รูปที่ 8 กราฟมาตรฐานของกรดแกมโบจิก

3. การทดสอบความถูกต้องของเครื่องมือ (Validation methods)

3.1 การตรวจสอบความสัมพันธ์ เชิงเส้น (Linearity)

จากการวิเคราะห์กรดแกมโบจิกด้วย HPLC ได้โครมาโตแกรมดังแสดงในรูปที่ 7 ตำแหน่งของกรดแกมโบจิกเฉลี่ยอยู่ที่เวลา 19.73 นาที เมื่อนำสารมาตรฐานกรดแกมโบจิก 5 ความเข้มข้นในช่วง 0.12-0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไปวิเคราะห์ด้วย HPLC แล้วสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟกับความเข้มข้นของกรดแกมโบจิก ได้กราฟมาตรฐานแสดงในรูปที่ 8 ได้สมการ $y = 4 \times 10^7 X + 894009$ ให้ค่า R^2 เท่ากับ 0.999

3.2 การตรวจสอบความเที่ยงตรง (Precision)

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารมาตรฐานกรดแกมโบจิก ที่ความเข้มข้น 0.38 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรแล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC เป็นเวลา 3 วัน (Interday precision) วันละ 3 ครั้ง (Intraday precision) พบว่าการวิเคราะห์ให้ค่า relative standard deviation (%RSD) อยู่ในช่วง 1.10-1.51 (Interday) และ 0.60-2.05 (Intraday) จากผลการทดลองแสดงว่าวิธีการวิเคราะห์ดังกล่าวมีความถูกต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

3.3 การตรวจสอบความแม่นยำ (Accuracy)

จากการทดสอบความแม่นยำในการวิเคราะห์ โดยเตรียมกรดแกมโบจิกแบบเดียวกับการเตรียมสารตัวอย่างที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน 3 ความเข้มข้น 0.12, 0.25 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC ผลการวิเคราะห์พบว่าได้ปริมาณสารกลับคืน (%Recovery) ที่ความเข้มข้น 0.12, 0.25 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อ

มิลลิลิตร เฉลี่ยร้อยละ 96.60, 100.08 และ 99.72 ตามลำดับ จากผลการทดลองแสดงว่าวิธีการวิเคราะห์ดังกล่าวมีความถูกต้องสูงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (ร้อยละ 95-105)

4. ปริมาณกรดแกมโบจิกในตัวอย่างรังทอง

4.1 ปริมาณกรดแกมโบจิกในรังทองก่อนแปรรูป

เมื่อนำรังทองที่ยังไม่ผ่านการแปรรูปจากแหล่งต่างๆ ของประเทศไทยจำนวน 15 แหล่ง มาวิเคราะห์หาปริมาณกรดแกมโบจิกด้วย HPLC โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน ได้สมการ $y = 4 \times 10^7 X + 894009$ (เมื่อ X = ความเข้มข้น (มก./มล.) Y = ค่าพื้นที่ใต้กราฟ) แล้วคำนวณปริมาณกรดแกมโบจิกในสารตัวอย่างในรูปร้อยละ พบว่ารังทองแต่ละแหล่งมีปริมาณกรดแกมโบจิกแตกต่างกันตั้งแต่ร้อยละ 19.17 ถึง 30.33 โดยมีค่าเฉลี่ยร้อยละ 25.89 ดังรายละเอียดในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณกรดแกมโบจิกในรังทองก่อนแปรรูปจากแหล่งต่างๆ

แหล่งวัตถุดิบ	ร้อยละปริมาณกรดแกมโบจิก (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)
กรุงเทพ 1	25.66 ± 0.61
กรุงเทพ 2	23.18 ± 0.46
กรุงเทพ 3	19.17 ± 0.50
กรุงเทพ 4	23.40 ± 0.31
กรุงเทพ 5	25.77 ± 0.26
ขอนแก่น	30.33 ± 2.81
ชุมพร	28.59 ± 0.48
นครปฐม	26.19 ± 0.84
นราธิวาส	24.27 ± 0.69
ประจวบคีรีขันธ์	29.81 ± 1.42
มหาสารคาม	28.59 ± 0.43
เลย	24.55 ± 1.66
สกลนคร	28.93 ± 1.71
สระบุรี	25.95 ± 0.65
สุรินทร์	26.36 ± 0.16
เฉลี่ย	25.89 ± 0.87

4.2 ปริมาณกรดแกมโบจิกในรังทองหลังแปรรูปด้วยวิธีดั้งเดิม

เมื่อนำรังทองไปแปรรูปด้วยวิธีการสะตุแบบดั้งเดิมโดยการนำรังทอง 20 กรัม ไปห่อด้วยใบบัวหรือใบชา 7 ชั้นแล้วนำไปปิ้งบนเตาถ่านไฟปานกลาง (ไม่มีเปลวไฟลุกไหม้ และไม่ไหม้เป็นถ่าน) เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์เมื่อใบบัวหรือใบชาไหม้ไป 5 ใบ 6 ใบ และ 7 ใบ ตามลำดับ แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย HPLC โดยเทียบกับกราฟของสารมาตรฐาน พบว่าปริมาณกรดแกมโบจิกจากรังทองที่ผ่านการแปรรูปมีปริมาณลดลงทั้งที่ห่อด้วยใบบัวและใบชา โดยปริมาณกรดแกมโบจิกลดลงตามระยะเวลาที่ใช้ในการแปรรูป และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดแกมโบจิกระหว่างการแปรรูปโดยการห่อด้วยใบบัวและใบชา พบว่ารังทองที่ห่อด้วยใบชาปริมาณกรดแกมโบจิกลดลงมากกว่ารังทองที่ห่อด้วยใบบัวเมื่อใช้ระยะเวลาในการแปรรูปเท่ากัน การปิ้งที่ทำให้รังทองสุกพอดี คือการปิ้งจนใบบัวหรือใบชาไหม้ไปประมาณ 6 ชั้น ซึ่งมีปริมาณกรดแกมโบจิกจากการสะตุด้วยใบบัวและใบชาลดลงร้อยละ 30.09 และ 28.86 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับก่อนแปรรูป (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ปริมาณกรดแกมโบจิก (GA) และระยะเวลาที่ใช้หลังการสะตุด้วยวิธีดั้งเดิม

ระดับ ชั้นที่ใหม่	5 ชั้น		6 ชั้น		7 ชั้น	
ห่อด้วย	ปริมาณ GA ลดลง (%)	เวลาเฉลี่ย (min)	ปริมาณ GA ลดลง (%)	เวลาเฉลี่ย (min)	ปริมาณ GA ลด ลง (%)	เวลาเฉลี่ย (min)
ใบบัว	18.98	24	30.09	35	53.09	45
ใบข่า	18.99	16	28.86	25	78.03	30
ลักษณะ	เหนียวจับกันเป็นก้อนสีเหลืองเข้ม แห้งกรอบเป็นก้อนสีส้มปนแดง ใหม้ แห้งกรอบสีดำปนแดงอิฐถึงสีส้ม					

หมายเหตุ: เรซินรงทองที่ใช้ในการศึกษามีปริมาณกรดแกมโบจิกก่อนสะตุเท่ากับ 25.77 มก./100 มก.เรซินรงทอง

4.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดแกมโบจิกในรงทองหลังการแปรสภาพด้วยเตาเผา

เมื่อนำรงทองที่ผ่านการแปรสภาพด้วยเตาเผาซึ่งเป็นวิธีที่ผู้วิจัยพัฒนาขึ้นโดยเลียนแบบวิธีการสะตุแบบดั้งเดิมแต่ใช้เครื่องมือที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้สะดวก โดยการนำรงทอง 20 กรัม ห่อด้วยกระดาษฟอยล์ 1 ชั้นแล้วไปอบที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ พบว่าปริมาณกรดแกมโบจิกลดลงตาม

ระยะเวลาและอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น การอบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที และการอบที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที มีปริมาณกรดแกมโบจิกลดลงใกล้เคียงกันกับวิธีการแปรสภาพแบบดั้งเดิมมากที่สุด คือมีปริมาณกรดแกมโบจิกลดลงร้อยละ 29.17 และ 29.24 ตามลำดับ และให้เอชพีแอลซีโครมาโตแกรมไม่แตกต่างจากการแปรสภาพด้วยวิธีดั้งเดิม ดังรายละเอียดในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ปริมาณกรดแกมโบจิกที่ลดลงหลังการแปรสภาพด้วยวิธีการอบที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ

นาที	ปริมาณกรดแกมโบจิกที่ลดลง (ร้อยละ)			
	80 C°	100 C°	120 C°	140 C°
15	11.11	12.74	23.63	29.24
30	12.74	17.09	29.17	35.88
45	12.75	21.99	43.48	63.61

หมายเหตุ: เรซินรงทองที่ใช้ในศึกษามีปริมาณกรดแกมโบจิกก่อนสะตุเท่ากับ 25.77 มก./100 มก.เรซินรงทอง

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

ตำราเกษตรกรรมแผนไทยกล่าวไว้สั้น ๆ ว่าการสะดุ้งทองทำได้โดยการเอายางรงทองมาห่อด้วยใบบัวหรือ ใบชา 7 ชั้น แล้วนำไปปิ้งไฟจนสุก ไม่ได้บอกรายละเอียดไว้ว่าการปิ้งจนสุกต้องใช้ไฟระดับใด นานเท่าใด การทดลองนี้จึงได้ออกแบบเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการปิ้งรงทองและพัฒนาหาวิธีที่สะดวกขึ้นในการแปรรูป และใช้กรดแกมโบจิกซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ชนิดหนึ่งในรงทองเป็นสารมาตรฐานในการศึกษาที่สภาวะต่างๆ ผลการทดลองการแปรรูปรงทองด้วยวิธีการดั้งเดิม คือการห่อด้วยใบบัวหรือใบชา 7 ชั้นแล้วนำมาปิ้งบนเตาถ่านจนรงทองสุกกรอบพบว่าวิธีการนี้ทำให้รงทองสุกพอดี คือการปิ้งจนใบบัวหรือใบชาไหม้ไปประมาณ 6 ชั้น มีปริมาณกรดแกมโบจิกจากการสะดุ้งด้วยใบบัวและใบชาลดลงร้อยละ 30.09 และ 28.86 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับก่อนแปรรูป และใช้เวลาเฉลี่ยในการปิ้ง 35 และ 25 นาที ตามลำดับ ในขณะที่การปิ้งโดยการปล่อยให้ใบบัวหรือใบชาไหม้ไป 5 ชั้นจะได้รงทองที่มีลักษณะเหนียวติดใบไม้และจับตัวเป็นก้อน ส่วนการสะดุ้งที่ปล่อยให้ใบบัวหรือใบชาไหม้ 7 ชั้น รงทองที่ได้จะมีลักษณะกรอบไหม้สีดำและมีปริมาณกรดแกมโบจิกลดลงมากกว่าร้อยละ 50

สำหรับการแปรรูปรงทองด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นมา โดยการห่อด้วยกระดาษฟอยล์แล้วนำไปอบในเตาเผา พบว่าการอบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที และการอบที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที มีปริมาณกรดแกมโบจิกลดลงใกล้เคียงกันกับวิธีการแปรรูปแบบดั้งเดิมมากที่สุด คือมีปริมาณกรดแกมโบจิกลดลงร้อยละ 29.17 และ 29.24 ตามลำดับ และให้ HPLC โคโรมาโตแกรมไม่แตกต่างจากการแปรรูปด้วยวิธีดั้งเดิม การแปรรูปรงทองด้วยเตาจึงเป็นวิธีที่น่าสนใจวิธีหนึ่ง เนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวก สามารถควบคุมอุณหภูมิได้แน่นอน ทำให้การแปรรูปรงทองแต่ละครั้งให้ผลใกล้เคียงกันมากขึ้น

จากการทดลองพบว่า การแปรรูปรงทองทำให้ปริมาณกรดแกมโบจิกลดลง ซึ่งเป็นไปตามทฤษฎีทางเทคโนโลยีแผนไทย โดยปริมาณสารแกมโบจิกที่ลดลงมีความสัมพันธ์กับความร้อนอย่างชัดเจน คือปริมาณกรดแกมโบจิกลดลงมากขึ้นเมื่อได้รับความร้อนสูงขึ้น และมีความสัมพันธ์กับระยะเวลาที่สัมผัสความร้อนเช่นเดียวกัน คือ ที่อุณหภูมิเดียวกัน เมื่อปล่อยให้สัมผัสความร้อนนานขึ้น ปริมาณกรดแกมโบจิกจะลดลงมากขึ้น โดยปริมาณกรดแกมโบจิกที่ลดลงอาจเกิดจากความร้อนทำให้สารแกมโบจิกสลายตัว ซึ่งพบได้ในสมุนไพรหลายชนิด มีการสลายตัวของสารสำคัญเมื่อสัมผัสความร้อน เช่น สารแทนนินหรือที่โพลีฟีนอล ที่พบในใบชา (Pithayanukul, 2010) ไพราซีน (Leszczynski et al., 2012) ฟลาโวนอยด์ และอะไกลโคไซด์ของใบยอ (*Morinda citrifolia* L.) (Deng et al., 2011) ฟุโรสแตนอยด์ ไกลโคไซด์หรือ โทมาโทไซด์ (Bobeyko et al., 1990) นอกจากนี้การลดลงของสารเคมีบางชนิดในสมุนไพรอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงเป็นสารชนิดใหม่ เช่น การสกัดแยกกรดแกมโบจิกให้บริสุทธิ์โดยใช้คลื่นไมโครเวฟอาจทำให้เกิดสารใหม่ขึ้นได้ (Wang et al., 2010) หรือการผสมสมุนไพรระหว่างโพลและเทียนดำอาจทำให้สารสำคัญในโพลลดลงได้ เนื่องจากทำปฏิกิริยากับสารสำคัญจากเทียนดำแล้วเกิดเป็นสารชนิดใหม่ (Nualkaew et al., 2004) แต่จากการทดลองครั้งนี้พบว่า HPLC โคโรมาโตแกรมของรงทองหลังแปรรูปไม่แตกต่างจากก่อนแปรรูป จึงสันนิษฐานได้ว่าปริมาณกรดแกมโบจิกที่ลดลงเนื่องมาจากการสลายตัวด้วยความร้อน ไม่ได้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงเป็นสารชนิดใหม่

การทดลองนี้สามารถพิสูจน์ได้ว่าการแปรรูปรงทองเป็นการลดฤทธิ์ของรงทอง เนื่องจากปริมาณสารสำคัญลดลง แต่ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าเป็นการลดพิษของรงทองหรือไม่ ซึ่งในการทดลองครั้งต่อไปควรพิสูจน์การลดพิษของรงทองโดยการเปรียบเทียบความเป็นพิษของรงทองก่อนและหลัง

การแปรรูป ถ้าพิสูจน์แล้วพบว่าการแปรรูป
รงทองเป็นการลดฤทธิ์เพียงอย่างเดียวไม่เกี่ยวข้อง
กับการลดพิษ อาจไม่จำเป็นต้องแปรรูปรงทอง
เนื่องจากการทำให้รงทองเสื่อมสภาพไปโดยไม่
เกิดประโยชน์ ควรใช้วิธีการกำหนดปริมาณการใช้ใน
ตำรับยาแทน จะช่วยให้สามารถใช้ประโยชน์จากรง
ทองได้เต็มที่ โดยในการศึกษาครั้งต่อไปอาจศึกษา
ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารออกฤทธิ์และฤทธิ์
ทางเภสัชวิทยา จะช่วยให้สามารถกำหนดปริมาณ
การใช้ที่เหมาะสมได้

จากผลการทดลองสรุปได้ว่า การแปรรูป
รงทองเป็นการทำให้ปริมาณกรดแกมโบจิกลดลง
หรือเป็นการลดฤทธิ์ของรงทองซึ่งเป็นไปตามทฤษฎี
ทางการแพทย์แผนไทย สภาวะที่เหมาะสมในการ
แปรรูปรงทองแบบดั้งเดิม คือทำรงทองให้เป็นผง
แล้วห่อด้วยใบบัวหรือใบชา 7 ชั้น ปิ้งไฟปานกลางจน
ใบบัวหรือใบชาไหม้ไป 6 ชั้น หรือใช้เวลาปิ้งประมาณ
35 นาที สำหรับการห่อด้วยใบบัว และ 25 นาที
สำหรับการห่อด้วยใบชา และการแปรรูปรงทอง
ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นโดยการห่อรงทองด้วยกระดาษ
ฟอยล์ แล้วนำไปอบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 120 องศา
เซลเซียส เวลา 30 นาที หรืออบที่อุณหภูมิ 140 องศา
เซลเซียส เวลา 15 นาที อย่างไรก็ตาม วิธีการแปร
สภาพที่พัฒนาขึ้นใหม่ อาจต้องศึกษาเพิ่มเติมก่อน
นำไปใช้ เช่น การเปรียบเทียบความเป็นพิษของรง
ทองก่อนและหลังการแปรรูป และความสัมพันธ
ระหว่างปริมาณสารสำคัญและความเป็นพิษของรง
ทองระหว่างการแปรรูปแบบดั้งเดิมและการแปร
สภาพที่พัฒนาขึ้น ถ้าให้ผลเหมือนกัน วิธีการแปร
สภาพแบบใหม่อาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการแปร
สภาพรงทอง

References

- Bobeyko VA, Kintia PK, Dranka IV. Thermal decomposition of furostanol glycoside-tomatosiside. *J Therm Anal* 1990; 36(4): 1307–17.
- Chantarasriwong O, Batova A, Chavasiri W, Theodorakis EA. Chemistry and biology of the caged *Garcinia xanthones*. *Chemistry* 2010; 16(33): 9944–62.
- David M, Culbreth R. A manual of materia medica and pharmacology. 6th ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1977.
- Deng S, West BJ, Jensen CJ. Thermal degradation of flavonol glycosides in noni leaves during roasting. *J Food Sci Techno* 2011; 3(2): 155–9.
- He D, Xu Q, Yan M, et al. The NF-kappa B inhibitor, celastrol, could enhance the anti-cancer effect of gambogic acid on oral squamous cell carcinoma. *BMC Cancer* 2009; 9: 343.
- Leszczyński PJ, Budzianowski A, Dobrzycki L, Cyrański MK, Derzsi M, Grochala W. Thermal and chemical decomposition of di(pyrazine)silver(II) peroxydisulfate and unusual crystal structure of a Ag(I) by-product. *Dalton Trans* 2012; 41(2): 396–402.
- Norkaew P. Anti-inflammatory, Analgesic and Antipyretic Activities of gambogic extract from *Garcinia hanburyi* Hook. F. Ph.D. Thesis, Chiangmai University; 2003.
- Nualkaew S, Gritsanapan W, Petereit F, Nahrstedt A. New fatty acid esters originate during storage by the interaction of components

- in Prasapalai, a Thai traditional medicine. *Planta Med* 70; 2004:1243-1246.
- Orwa C, Mutua A, Kindt R, Jamnadass R, Anthony S. *Garcinia hanburyi* Hook.f. Guttiferae. Agroforestry Database 4.0. Kenya: World Agroforestry Centre; 2009. 1–5.
- Pithayanukul P. Beautiful discerning: How to get the health benefits of tea. *Chaladsue Magazine* 2010; 16(98): 56–7.
- Qin Y, Meng L, Hu C. Gambogic acid inhibits the catalytic activity of human topoisomerase II α by binding to its ATPase domain. *Mol Cancer Ther* 2007; 6(9): 2429–40.
- Sathaban Phasa Thai. Phaetsat songkhro: phumpanya thang kanphaet lae moradok thang wannakam khong chat. Krung Thep: Sathaban Phasa Thai; 1999.
- Sukpondma Y, Rukachaisirikul V, Phongpaichit S. Antibacterial caged-tetraprenylated xanthenes from the fruits of *Garcinia hanburyi*. *Chem Pharm Bull* 2005; 53(7): 850–2.
- Tao SJ, Guan SH, Wang W, et al. Cytotoxic polyprenylated xanthenes from the resin of *Garcinia hanburyi*. *J Nat Prod* 2009; 72(1): 117–124.
- Thamaweck W. Rattanakosin pharmacy text book. 2nd ed. Bangkok : Silpa Siam Packaging & Printing; 2004.
- Wang L, Li Z, Song D, et al. Two novel triterpenoids with antiproliferative and apoptotic activities in human leukemia cells isolated from the resin of *Garcinia hanburyi*. *Planta Med* 2008; 74(14): 1735–1740.
- Wang X, Lu N, Yang Q et al. Spectacular modification of gambogic acid on microwave irradiation in methanol: Isolation and structure identification of two products with potent anti-tumor activity. *Bioorg Med Chem Lett* 2010; 20: 2438-42.
- Wattanawongdon W, Hahnvajjanawong C, Anantachoke N et al. Antagonistic growth inhibitory effect of isomorellinol with chemotherapeutic agents against human cholangiocarcinoma KKKU-M156 Cell Line. *Srinagarind Med JP* 2010; 265–268.
- Wichayawiwattana P. Effect of heated-*Trigonostemon reidioides* extracts on antioxidation, antityrosinase activities and cytotoxicity against in L929 Cell Line. Bachelor Thesis, Mahasarakham University; 2011.