

### บทที่ 3

#### ผลการทดลอง และอภิปรายผลการทดลอง

ประเด็นหลักในการรายงานผลการวิจัยตามโครงการวิจัยนี้ เน้นการศึกษาความคงตัวของแอนโดรกราโฟไลด์ในสมุนไพรฟ้าทะลายโจรในสภาพของแข็งภายใต้สภาวะเร่งด้วยความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ รวม 3 อุณหภูมิ (45, 60 และ 70°C) โดยใช้การติดตามปริมาณของแอนโดรกราโฟไลด์ที่คงเหลืออยู่ในตัวอย่างสมุนไพร ผ่านการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ทั้งนี้ ผลจากการวิเคราะห์สามารถนำมาประเมินจลนศาสตร์ของการสลายตัวของแอนโดรกราโฟไลด์ได้จากการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนโดรกราโฟไลด์ที่เหลืออยู่กับเวลา

#### 3.1. ผลของความชื้นสัมพัทธ์ที่มีต่อความคงตัวของสมุนไพรฟ้าทะลายโจร

การศึกษาวิจัยความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นและความคงตัวของสารสำคัญในสมุนไพรนี้ ส่วนหนึ่งเป็นไปตามคำแนะนำโดยผู้ทรงคุณวุฒิที่มีต่อข้อเสนอโครงการวิจัย รวมถึงเพื่อตรวจสอบข้อสมมติฐานในขั้นต้น ทั้งนี้เพื่อยืนยันว่าผลการศึกษาความคงตัวและจลนศาสตร์การสลายตัวของสารสำคัญในสมุนไพร รวมถึงพลวัตของการสลายตัวของสารตัวอย่าง เป็นผลที่เกิดจากความชื้นจากบรรยากาศที่ถูกดูดซับบนพื้นผิวของผงยาสมุนไพรหรือไม่ ดำเนินการศึกษาโดยปล่อยให้ตัวอย่างผงยาสมุนไพรสัมผัสกับบรรยากาศที่ควบคุมความชื้นที่ระดับความชื้นสัมพัทธ์ต่างๆ กัน 3 ค่า ได้แก่ที่ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 60, 75 และ 90 วิเคราะห์ปริมาณของแอนโดรกราโฟไลด์ในตัวอย่างสมุนไพรจากแต่ละช่วงเวลาที่ยุ่มตัวอย่าง รวมทั้งวิเคราะห์ปริมาณความชื้นในตัวอย่างสมุนไพร ทั้งนี้ ตัวอย่างสมุนไพรที่ใช้ในการศึกษาวิจัยนี้ ผ่านมาตรฐานในส่วนปริมาณความชื้นตามเภสัชตำรับ Thai Herbal Pharmacopoeia แล้ว

จากการประเมินปริมาณความชื้นในตัวอย่างสมุนไพร ตัวอย่างผงยาสมุนไพรที่สัมผัสกับบรรยากาศที่ความชื้นสัมพัทธ์สูง (ร้อยละ 75 และ 90) มีปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้นตลอดช่วงการทดลองจนกระทั่งถึงจุดคงที่ภายในระยะเวลา 2 สัปดาห์ที่ประมาณร้อยละ 9 สำหรับตัวอย่างที่สัมผัสบรรยากาศที่มีความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 และประมาณร้อยละ 11 สำหรับตัวอย่างที่สัมผัสบรรยากาศที่ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 ส่วนตัวอย่างที่สัมผัสบรรยากาศที่ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 65 มีค่าความชื้นในตัวอย่างค่อนข้างคงที่และอยู่ในช่วงที่ผ่านมาตรฐานตามเภสัชตำรับ Thai Herbal Pharmacopoeia (ปริมาณความชื้นในตัวอย่างไม่เกินกว่าร้อยละ 7)

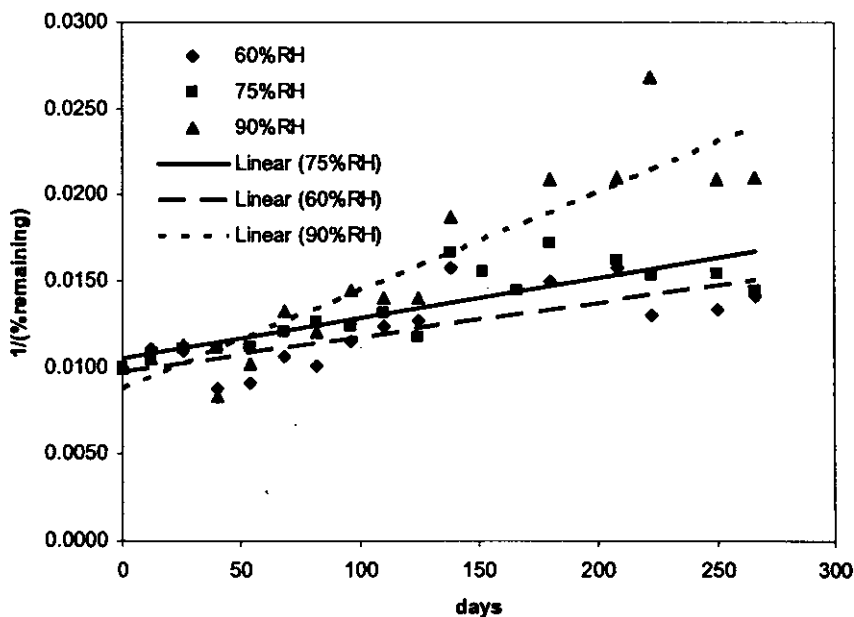
จากการวิเคราะห์ปริมาณของแอนโดรกราโฟไลด์ในตัวอย่างที่ได้จากแต่ละค่าความชื้นสัมพัทธ์ นำมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าส่วนกลับของร้อยละของปริมาณแอนโดรกราโฟไลด์กับเวลา (โปรดดูผลการทดลอง

และการอภิปรายผลตามข้อ 3.3.1.) พบว่า อัตราการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอนโดรกราไฟไลต์ในตัวอย่างผงยา สมุทไฟรฟัททะเลายใจที่สัมผัสกับบรรยากาศที่ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 60 และ 75 มีความชันที่ค่อนข้างใกล้เคียง กัน ( $2.32 \times 10^{-5}$  และ  $2.02 \times 10^{-5}$  ตามลำดับ) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงอัตราการสลายตัวที่น่าจะอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกัน แต่ค่าความชันโดยรวมของเส้นกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนโดรกราไฟไลต์กับเวลาสำหรับ ตัวอย่างสมุทไฟรฟัททะเลายใจที่สัมผัสกับบรรยากาศที่ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 มีความชันที่สูงกว่า ( $5.71 \times 10^{-5}$ ) (รูปที่ 1)

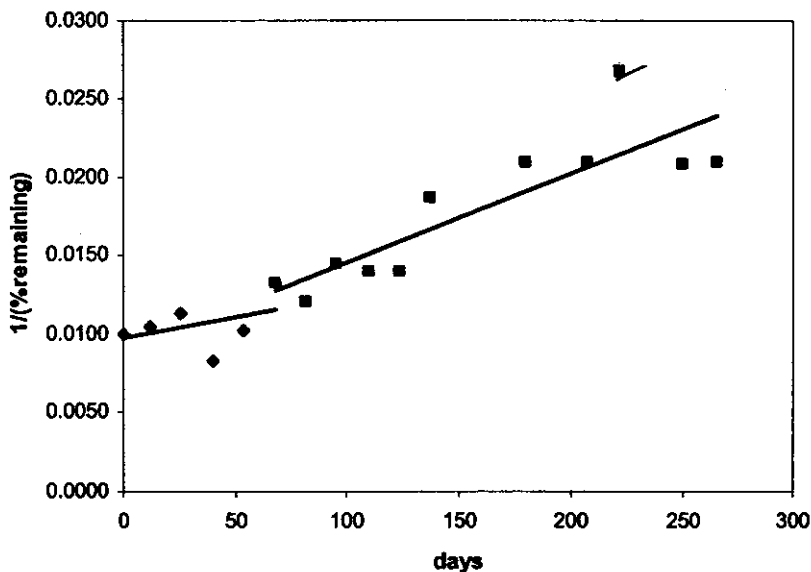
ผลการวิเคราะห์และการประมาณค่าคงที่อัตราการสลายตัวของแอนโดรกราไฟไลต์ตามที่เสนอข้างต้นมี ประเด็นที่น่าสนใจและควรอภิปรายเพิ่มเติมหลายประการด้วยกัน ตัวอย่างเช่น ช่วงระยะเวลาที่ใช้ในการศึกษา ถึงแม้ผู้วิจัยจะดำเนินการทดลองและสุ่มตัวอย่างอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานานกว่า 8 เดือน แต่เนื่องจากการสลายตัว ที่อุณหภูมิห้องของตัวอย่างสมุทไฟรฟัททะเลายใจเกิดปฏิกิริยาที่ช้ามาก ช่วงเวลาที่ดำเนินการศึกษาจึงไม่สามารถ ครอบคลุมมาถึงระยะครึ่งชีวิตช่วงที่หนึ่งของสารตัวอย่าง ซึ่งทำให้ผู้วิจัยไม่สามารถสร้างกราฟความสัมพันธ์ ระหว่างปริมาณแอนโดรกราไฟไลต์และเวลาที่มีความแม่นยำสูงได้ นอกจากนี้ ความชื้นสัมพัทธ์ที่ใช้ในการทดลอง ยังเร่งการเจริญของเชื้อราที่ปนเปื้อนในสมุทไฟรฟัททะเลายใจ และมีผลรบกวนการทดลอง โดยเฉพาะในกรณีของ ตัวอย่างสมุทไฟรฟัททะเลายใจที่สัมผัสกับบรรยากาศที่ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 ซึ่งมีการปนเปื้อนที่เห็นได้อย่างชัดเจนภายใน เวลาประมาณ 2 เดือน

อย่างไรก็ตาม หากเปรียบเทียบผลการทดลองนี้กับผลการทดลองที่ได้จากการสร้างสมการของ Arrhenius (ข้อ 3.3.1.) จะพบว่า ค่าคงที่อัตราการสลายตัวที่ได้จากกราฟความสัมพันธ์ตามรูปที่ 1 โดยเฉพาะจากผลการ ทดลองที่ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 60 และ 75 (ประมาณ  $2.32 \times 10^{-5}$  และ  $2.02 \times 10^{-5}$  วัน<sup>-1</sup> ตามลำดับ) มีค่าใกล้เคียง กับที่สามารถประมาณได้จากสมการของ Arrhenius เมื่อใช้อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (30-35°C; ค่าคงที่อัตราการ สลายตัว  $1.64 \times 10^{-5} - 3.97 \times 10^{-5}$  วัน<sup>-1</sup>) เช่นกัน

ในกรณีของผลการทดลองที่ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 ซึ่งเป็นการทดลองที่มีตัวอย่างการปนเปื้อนของ เชื้อราที่สามารถเห็นได้อย่างชัดเจนหลังจากดำเนินการศึกษาไปแล้วประมาณ 60 วัน เมื่อแบ่งช่วงของการทดลอง เป็น 2 ส่วน คือก่อนและหลังจากที่สามารถสังเกตการปนเปื้อนได้ (รูปที่ 2) จะเห็นได้ว่า ค่าความชันของกราฟ ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอนโดรกราไฟไลต์และเวลาแบ่งเป็น 2 ส่วนที่ชัดเจน โดยในช่วงต้น ความชันของ กราฟที่ได้มีค่าต่ำกว่าช่วงหลัง ถึงแม้ว่าความแม่นยำของกราฟความสัมพันธ์ดังกล่าวตกลงอย่างมากจนไม่สามารถ นำมาใช้ประกอบการทำนายค่าคงที่ใดได้อย่างถูกต้อง แนวโน้มของความชันที่ได้ นำไปสู่สิ่งที่น่าสังเกตและตั้ง ค่าตามต่อไป อันได้แก่ปัจจัยที่ทำให้เกิดการสลายตัวของสารตัวอย่างในกรณีนี้ ที่อาจเป็นได้ทั้งความชื้นที่เพิ่มขึ้น



รูปที่ 1. ความสัมพันธ์ระหว่างส่วนกลับของปริมาณแอนโดรกราโฟไลต์ต่อเวลา จากตัวอย่างสมุนไพรมะนาวที่สัมผัสกับบรรยากาศที่มีความชื้นสัมพัทธ์เท่ากับร้อยละ 60, 75 และ 90 ตามลำดับ



รูปที่ 2. ความสัมพันธ์ระหว่างส่วนกลับของปริมาณแอนโดรกราโฟไลต์ที่เหลืออยู่ต่อเวลาในตัวอย่างสมุนไพรมะนาวที่สัมผัสกับบรรยากาศที่มีความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 เทียบระหว่างตัวอย่างก่อน (วันที่ 0 - 68) และหลัง (วันที่ 68-260) การสังเกตเห็นการปนเปื้อนของเชื้อราในตัวอย่าง

(ถึงแม้ค่าปริมาณความชื้นในสุมไพร์จะอยู่ในช่วงที่ค่อนข้างคงที่แล้วก็ตาม) หรืออาจเกิดจากการเร่งปฏิกิริยาโดยเชื้อที่ปนเปื้อน

เนื่องจากความคลุมเครือและไม่สอดคล้องกันของผลการทดลอง รวมถึงการปนเปื้อนของสุมไพร์ ผู้วิจัยได้ละเว้นการรายงานผลการทดลองในส่วนนี้ในบทความวิจัยตามที่แนบมา (ภาคผนวก) รวมถึงละเว้นการใช้ความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นและปริมาณสารสำคัญมาประกอบการแปลผลและประเมินผลในส่วนถัดไป

### 3.2. จลนศาสตร์การสลายตัวของแอนโดรกราไฟไลต์ในสุมไพร์ฟ้าทะเลลายโจรภายใต้สภาวะเร่งด้วยความร้อน

#### 3.2.1. จลนศาสตร์การสลายตัวและสมการ Arrhenius

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณแอนโดรกราไฟไลต์ในสุมไพร์ฟ้าทะเลลายโจรที่สัมผัสกับสภาวะเร่งด้วยความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ 3 อุณหภูมิ ได้แก่ที่ 45, 60 และ 70°C ภายใต้บรรยากาศที่ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75 พบว่าปริมาณของแอนโดรกราไฟไลต์ (คำนวณในรูปร้อยละของแอนโดรกราไฟไลต์ที่เหลืออยู่) มีความสัมพันธ์กับเวลาที่ตัวอย่างได้รับความร้อนในรูปแบบที่เป็นเส้นตรง เมื่อสร้างความสัมพันธ์ระหว่างส่วนกลับของปริมาณแอนโดรกราไฟไลต์ในตัวอย่าง ( $1/c$ ) กับเวลา ( $t$ ) ตามที่แสดงในรูปที่ 3

สมการเชิงเส้นที่แสดงความสัมพันธ์ดังกล่าวที่แต่ละอุณหภูมิสามารถแสดงได้ดังนี้

$$\text{- อุณหภูมิ } 45^{\circ}\text{C}; \quad 1/c = (0.2 \times 10^{-3})t + 0.0089 \quad (r^2 = 0.9790) \quad (1)$$

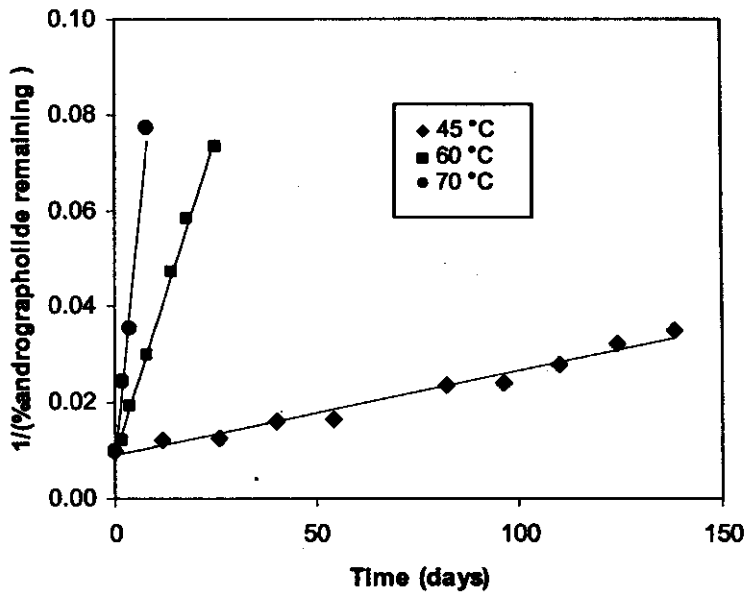
$$\text{- อุณหภูมิ } 60^{\circ}\text{C}; \quad 1/c = (2.6 \times 10^{-3})t + 0.0089 \quad (r^2 = 0.9966) \quad (2)$$

$$\text{- อุณหภูมิ } 70^{\circ}\text{C}; \quad 1/c = (8.4 \times 10^{-3})t + 0.0074 \quad (r^2 = 0.9830) \quad (3)$$

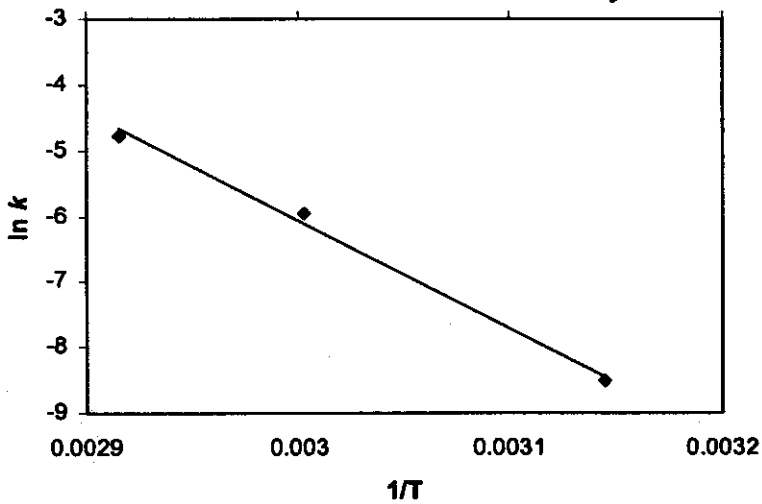
ความสัมพันธ์ตามที่ได้จากสมการข้างต้น แสดงให้เห็นว่า จลนศาสตร์ของการสลายตัวของแอนโดรกราไฟไลต์ในสุมไพร์ฟ้าทะเลลายโจรในสภาวะของแข็ง เมื่อเร่งการสลายตัวโดยใช้ความร้อน เป็นจลนศาสตร์ลำดับที่ 2 และเมื่อนำค่าคงที่ของอัตราการสลายตัว ( $k$ ) ที่ได้จากสมการอัตราการสลายตัวในแต่ละอุณหภูมิข้างต้น มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างลอการิทึมธรรมชาติของค่าคงที่อัตราการสลายตัว ( $\ln k$ ) กับส่วนกลับของอุณหภูมิสัมบูรณ์ ( $1/T$ ) ตามสมการ Arrhenius จะได้กราฟตามรูปที่ 4

โดยสมการ Arrhenius สามารถแสดงได้ดังนี้

$$\ln k = 43.368 - (1.65 \times 10^4)/T \quad (r^2 = 0.9942) \quad (4)$$



รูปที่ 3. จลนศาสตร์การสลายตัวของแอนโดรกราโฟไลต์ในสมุนไพรมะนาวที่ละลายใจ เมื่อเร่งการสลายตัวด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 45, 60 และ 70°C ตามลำดับ



รูปที่ 4. กราฟ Arrhenius ของการสลายตัวของแอนโดรกราโฟไลต์ในสมุนไพรมะนาวที่ละลายใจในสภาพของแข็ง ภายใต้สภาวะเร่งด้วยความร้อน

สมการ Arrhenius ข้างต้น สามารถนำมาประกอบการทำนายค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวของแอนโดรกราโฟไลด์ในสมุนไพรฟ้าทะลายโจรที่อุณหภูมิการเก็บรักษาสมุนไพรตามที่แนะนำในเภสัชตำรับ Thai Herbal Pharmacopoeia (25°C) ได้เป็น  $6.58 \times 10^{-6}$  วัน<sup>-1</sup> และสามารถประมาณค่าครึ่งชีวิตและอายุชั้นของตัวอย่างสมุนไพรที่ 25°C (ภายใต้สมมติฐานว่าปริมาณแอนโดรกราโฟไลด์ตั้งต้นคิดเป็นร้อยละ 100) ได้เป็น 4.2 และ 0.46 ปีตามลำดับ

ค่าคงที่การสลายตัวและค่าอายุชั้นที่ประมาณได้จากสมการ Arrhenius (สมการ 4) ข้างต้น มีความสอดคล้องกับค่าการสลายตัวและอายุชั้นตามการคำนวณที่รายงานโดย Lomlim et al (2003) ซึ่งระบุว่า อายุชั้นของแอนโดรกราโฟไลด์ในรูปของแข็งอสังฐาน มีค่าประมาณ 8 เดือน รวมถึงสอดคล้องกับอายุชั้นตามที่เสนอตามเภสัชตำรับ Thai Herbal Pharmacopoeia ซึ่งระบุว่า ไม่ควรเก็บสมุนไพรฟ้าทะลายโจรหลังเก็บเกี่ยวและแปรรูปนานเกินกว่า 1 ปี

### 3.2.2. การสลายตัวของอนุพันธ์แลคโตนทั้งหมด

เนื่องจากข้อกำหนดของเภสัชตำรับ Thai Herbal Pharmacopoeia ซึ่งใช้เป็นเอกสารอ้างอิงหลักในการควบคุมคุณภาพของสมุนไพรฟ้าทะลายโจรที่ใช้ในประเทศ ระบุให้ประเมินคุณภาพของสมุนไพรนี้โดยการวิเคราะห์ปริมาณของแลคโตนทั้งหมด (total lactone contents) ดังนี้ เพื่อสร้างความสอดคล้องกับเภสัชตำรับ ผู้วิจัยได้ศึกษาผลของการเร่งการสลายตัวของสมุนไพรด้วยความร้อน เมื่อติดตามผลโดยการวิเคราะห์ปริมาณแลคโตนทั้งหมดด้วย อย่างไรก็ตาม เนื่องจากความซับซ้อนในกระบวนการวิเคราะห์ ในการวิจัยนี้ จึงศึกษาผลของความร้อนที่มีต่อปริมาณแลคโตนทั้งหมดที่เพียง 1 อุณหภูมิ คือ ที่ 70°C ในบรรยากาศที่มีความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 75

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณแลคโตนทั้งหมด (ตารางที่ 1) จะเห็นได้ว่าปริมาณแลคโตนทั้งหมดในสมุนไพรลดลงอย่างรวดเร็วภายใน 2 สัปดาห์แรกของการศึกษา และมีแนวโน้มที่จะลดลงอย่างต่อเนื่อง เมื่อเวลาที่สัมผัสกับความร้อนสูงเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม แบบแผนของการลดลงของปริมาณแลคโตนทั้งหมดที่ได้จากการศึกษา ไม่สามารถนำมาใช้สร้างความสัมพันธ์เพื่อประเมินจลนศาสตร์การสลายตัวที่แม่นยำได้ และผู้วิจัยไม่สามารถประเมินค่าคงที่อัตราเร็วการสลายตัวรวมถึงค่าคงที่ทางจลนศาสตร์ใดๆ ได้จากผลการทดลองที่ได้ ทั้งนี้รูปแบบการลดลงที่ไม่สามารถทำนายและสร้างสมการอัตราการสลายตัวได้ตามที่แสดงในตารางที่ 2 นี้ สอดคล้องกับผลการศึกษาและข้อเสนอโดย Pholphana et al (2004) ซึ่งระบุว่า ปริมาณของอนุพันธ์ไดเทอร์ปีนแลคโตนอื่น

นอกเหนือจากแอนโดรกราโฟไลด์มีแนวโน้มจะเพิ่มขึ้นเมื่อตัวอย่างสมุนไพรได้รับความร้อนสูงเป็นเวลานาน ผลจากความไม่จำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ทั้งหมด ซึ่งทำให้สามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณของอนุพันธ์ไคเทอร์พีนแอลกอฮอล์อื่นที่พบเป็นองค์ประกอบในสมุนไพรฟ้าทะลายโจรได้เช่นกัน จะมีส่วนทำให้ในการวิเคราะห์ปริมาณของสารสำคัญในสมุนไพรขาดความแม่นยำ และปริมาณของสารสำคัญที่พบ ไม่สอดคล้องกับผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณของแอนโดรกราโฟไลด์เพียงอย่างเดียว

ตารางที่ 2. ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ทั้งหมดในสมุนไพรฟ้าทะลายโจรเมื่อเร่งการสลายตัวด้วยความร้อน (70°C)

วันที่	ปริมาณแอลกอฮอล์ทั้งหมด (ร้อยละ $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)
0	5.62 $\pm$ 0.21
15	3.22 $\pm$ 0.04
26	3.57 $\pm$ 0.41
40	3.50 $\pm$ 0.19
54	1.83 $\pm$ 0.01
68	1.60 $\pm$ 0.20

อย่างไรก็ตาม จากการที่ผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นการลดลงของปริมาณแอลกอฮอล์ทั้งหมดอย่างรวดเร็วตั้งแต่ช่วงต้นของการทดลอง และแนวโน้มที่จะสามารถตรวจวัดและติดตามการลดลงของปริมาณสารสำคัญได้อย่างต่อเนื่องตลอดการทดลอง ดังนั้น ในขั้นตอนนี้ จึงสามารถสรุปได้ว่า วิธีการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ทั้งหมดตามที่ระบุในเภสัชตำรับ Thai Herbal Pharmacopoeia ยังคงเป็นวิธีที่สามารถใช้ในการควบคุมคุณภาพของตัวอย่างสมุนไพรฟ้าทะลายโจรในระดับอุตสาหกรรม และสามารถประกอบการปฏิเสธตัวอย่างสมุนไพรที่ไม่ผ่านมาตรฐานเนื่องจากการสลายตัวของอนุพันธ์ไคเทอร์พีนแอลกอฮอล์

### 3.3.3. พลวัตของการสลายตัวและผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาการสลายตัว

จากรายงานการศึกษาโดย Lomlim et al (2003) และ Pholphana et al (2004) พบว่า ปฏิกิริยาหลักในการสลายตัวของแอนโดรกราโฟไลด์ในสภาวะของแข็ง เมื่อเร่งการสลายตัวด้วยอุณหภูมิสูง เป็นปฏิกิริยาการสูญเสียน้ำ (dehydration) และได้ผลิตภัณฑ์หลักเป็นคือออกซีโคติไฮโดรแอนโดรกราโฟไลด์ (3)

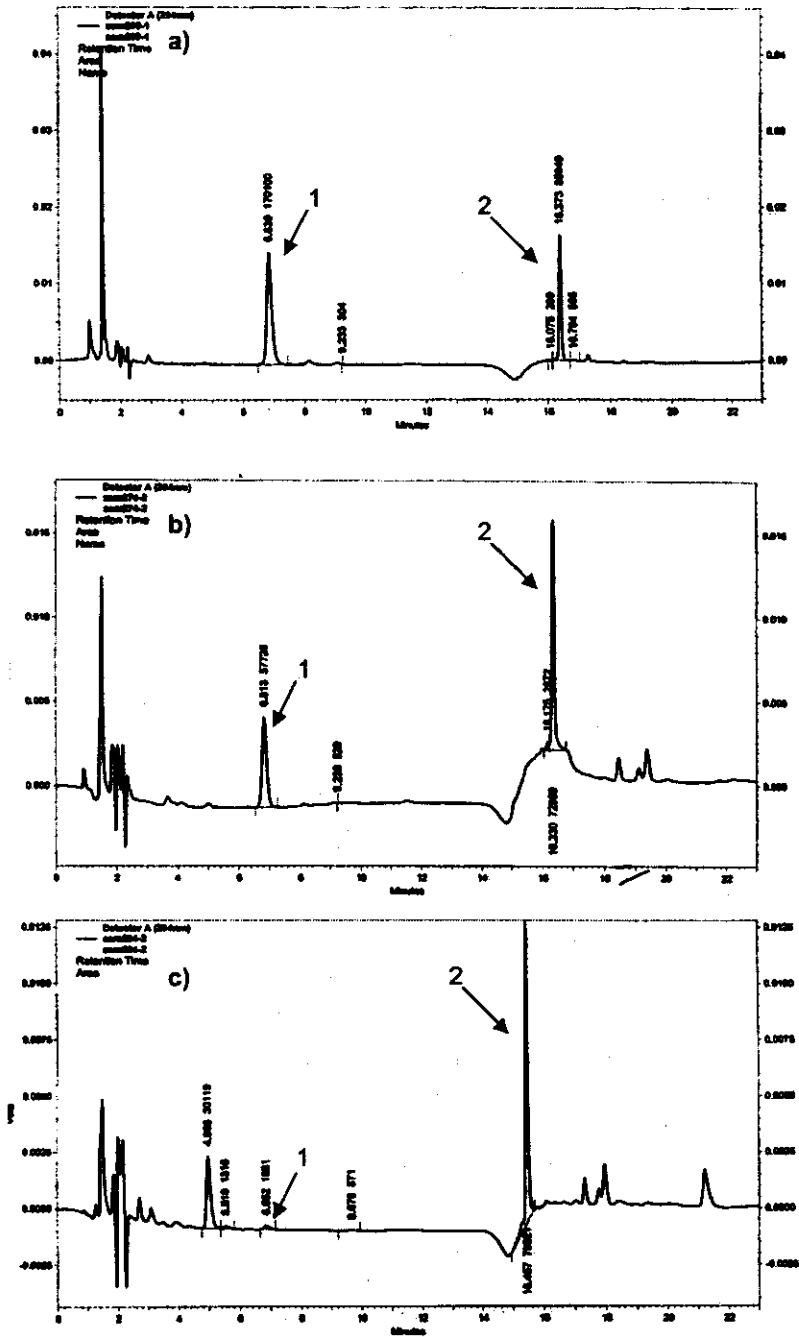
ในการวิจัยตามโครงการวิจัยนี้ ผู้วิจัยไม่สามารถแยกสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากปฏิกิริยาการสลายตัวได้ เนื่องจากปริมาณตัวอย่างที่เกิดขึ้นมีปริมาณน้อยเกินกว่าจะสามารถแยกสกัดเพื่อวิเคราะห์และพิสูจน์เอกลักษณ์

อย่างไรก็ตาม จากการเปรียบเทียบโครมาโตแกรมของสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการสกัดสมุนไพรมะเขือเทศ พบว่าโครมาโตแกรมของสารสกัดตัวอย่างที่ได้มีสัญญาณหลักเพียง 2 สัญญาณ ในช่วงเริ่มต้นของการวิจัย (รูปที่ 5a) ได้แก่สัญญาณของแอนโดรกราโฟไลต์ ( $t_R$  ประมาณ 6.8 นาที) และสัญญาณของดีออกซีโคดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลต์ ( $t_R$  ประมาณ 15.3 – 16.4 นาที)

ปริมาณของอนุพันธ์โคเรอรินทั้ง 2 ชนิดข้างต้น มีการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนเมื่อการทดลองดำเนินอย่างต่อเนื่อง ทั้งนี้ ในขณะที่ปริมาณของแอนโดรกราโฟไลต์ลดลงอย่างต่อเนื่องตามที่ได้สรุปไปแล้วในข้อ 3.2.2. สัญญาณของดีออกซีโคดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลต์มีอัตราส่วนเพิ่มขึ้นตลอดเวลาเช่นกัน (ตัวอย่างเช่นผลจากตัวอย่างพืชหลายโรที่สัมผัสความร้อนที่  $70^{\circ}\text{C}$ ; รูปที่ 5b และ 5c) แต่เนื่องจากผู้วิจัยไม่สามารถแยกสกัดและเตรียมสารดีออกซีโคดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลต์ในปริมาณและระดับความบริสุทธิ์ที่มากพอสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณ จึงไม่สามารถระบุอัตราเร็วการเปลี่ยนแปลงปริมาณของดีออกซีโคดีไฮโดรแอนโดรกราโฟไลต์และเปรียบเทียบกับอัตราการสลายตัวของแอนโดรกราโฟไลต์ได้

สิ่งที่น่าตั้งข้อสงสัยเกิดจากผลการทดลองข้างต้นคือ เมื่อตัวอย่างสมุนไพรมะเขือเทศได้รับความร้อนสูงเป็นเวลานานมากขึ้น จะสามารถสังเกตจำนวนของสัญญาณที่สามารถตรวจพบได้ในโครมาโตแกรมได้เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องเช่นกัน (รูปที่ 5b และ 5c) ทั้งนี้ ข้อมูลจากการศึกษาเท่าที่มีในปัจจุบันยังไม่สามารถระบุได้ว่า สัญญาณของสารที่เพิ่มขึ้นเหล่านี้ เกิดจากสารผลิตภัณฑ์ในปฏิกิริยาอื่นๆ ที่มีส่วนในการสลายตัวของแอนโดรกราโฟไลต์หรือเกิดจากการสลายตัวต่อเนื่องจากผลิตภัณฑ์จากการสลายตัวของแอนโดรกราโฟไลต์ นอกจากนั้น เนื่องจากตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นตัวอย่างในรูปของของผสมที่อาจดูดซับอยู่บนพื้นผิวของสมุนไพรมะเขือเทศ ดังนั้น ปฏิกิริยาการสลายตัวซึ่งทำให้เกิดผลิตภัณฑ์อื่นๆ ตามที่สังเกตได้ข้างต้น อาจเกิดจากการสลายตัวของสารตั้งต้น (ในที่นี้คือแอนโดรกราโฟไลต์) โดยตรง หรือเกิดจากปฏิกิริยาร่วมระหว่างสารตัวอย่างกับสารอื่นที่มีอยู่ในตัวอย่างสมุนไพรมะเขือเทศ





รูปที่ 5 โครมาโตแกรม HPLC ของตัวอย่างผงยาฟ้าทะลายโจรที่เร่งปฏิกิริยาการสลายตัวที่อุณหภูมิ 70°C ความชื้นสัมพัทธ์ 75%: a) ตัวอย่างสัปดาห์ที่ 0 (สารละลายเจือจาง 50 เท่า); b) ตัวอย่างสัปดาห์ที่ 4 (สารละลายเจือจาง 10 เท่า); และ c) ตัวอย่างสัปดาห์ที่ 18 (สารละลายเจือจาง 10 เท่า) สัญญาณที่  $t_r$  6.8 นาที (1) คือสัญญาณของแอนโดรกราโฟไลด์ และที่ 15.3-16.4 นาที (2) คือสัญญาณของดีออกซีโคดีไซไดรอนแอนโดรกราโฟไลด์