

การตรวจคัดกรองสารกลุ่ม Phytoecdysteroids ใน Microsoroid Ferns บางชนิดที่พบในประเทศไทย

Screening of Some Species of Thai Microsoroid Ferns for Phytoecdysteroids

วารางคณา จิตตชุ่ม¹, สมนึก พรหมแดง², น้ำฝน ทองทวี¹ และ สหณัฐ เพชรศรี^{1,*}

¹คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

²ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Varangkana Jitchum¹, Somnuk Promdang², Namfon Tongtavee¹ &
Sahanat Petchsri^{1,*}

¹Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University

²Central Laboratory and Greenhouse Complex, Faculty of Agricultural Kamphaeng Saen,
Kasetsart University

บทคัดย่อ

ผลการตรวจวิเคราะห์หาสารกลุ่ม Phytoecdysteroids (PEs) ด้วยวิธีการทางโครมาโทกราฟีด้วยเทคนิค HPLC ในสารสกัดจากใบของเฟิร์นกลุ่ม Microsoroid Fern (วงศ์ Polypodiaceae) ที่พบในเขตพื้นที่ป่าอนุรักษ์ทางภาคเหนือประเทศไทยจำนวน 7 ชนิดพืชนั้น พบว่ามีสารสำคัญทั้งหมดรวม 10 ชนิดสาร โดยมีพรรณไม้ที่เป็นแหล่งสำคัญของสารกลุ่ม PEs คือ *M. insigne* *M. punctatum* และ *P. scolopendria* ซึ่งรายงานฉบับนี้ถือว่าเป็นรายงานฉบับแรกของการค้นหาสารกลุ่ม PEs ในเฟิร์น *M. insigne* อีกด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบจากตัวอย่างของ *M. membranaceum* นั้นไม่สามารถนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ได้ ทั้งนี้อาจด้วยในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างนั้นสารสกัดจากเฟิร์นชนิดนี้ไม่ละลายในตัวทำละลายที่ใช้ในระบบ อนึ่ง ผลการวิจัยยังพบว่าไม่สามารถใช้ความแตกต่างของสารกลุ่ม PEs ที่พบในพืชเพื่อการจำแนกพืชกลุ่มนี้ในระดับสกุลได้ โดยตัวอย่างอ้างอิง (Voucher Specimen) ของพรรณไม้ที่ใช้ศึกษานั้นเก็บรักษาไว้ ณ ห้องปฏิบัติการพฤกษศาสตร์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

คำสำคัญ: การคัดกรอง Phytoecdysteroids Microsoroid เฟิร์น

* ผู้ประสานงานหลัก (Corresponding Author)
e-mail: faassnps@ku.ac.th

Abstract

Phytochemical screening investigation in the fronds of the seven species of Thai microsoroid ferns (Polypodiaceae) resulted in the isolation of 10 significant phytoecdysteroids (PEs). These fern in the conservation area of northern Thailand were collected and compared with previously recognized taxa. In addition, *M. insigne*, *M. punctatum*, and *P. scolopendria* represent an excellent source of PEs. This is the pioneer work that reports the study on the screening of the PEs from the dried aerial parts of *M. insigne*. Unfortunately, the ecdysteroids in *M. membranaceum* could not be found by using HPLC because of its insolubility in this solvent system. Moreover, the variety of PEs found in Thai microsoroid ferns could not potentially be distinguished from their ferns at the genus level. The voucher specimens of the study species were deposited at the Botanical Laboratory, Science Department, Faculty of Liberal Arts and Sciences, Kasetsart University, Kamphang Saen Campus.

Key words: Screening, Phytoecdysteroids, Microsoroid, Fern

บทนำ

สารในกลุ่ม Phytoecdysteroids (PEs) นั้นเป็นสารสเตียรอยด์ที่พืชสร้างขึ้นเพื่อใช้ในการปกป้องต้นพืชจากแมลงศัตรูพืชที่มากัดกิน เนื่องจากมีโครงสร้างคล้ายคลึงกับฮอร์โมนที่ใช้ในการลอกคราบของแมลง (Insect Moulting Hormone) รวมไปถึงฮอร์โมนที่ใช้ในการสืบพันธุ์และพัฒนาของตัวอ่อนของแมลงอีกด้วย ทำให้พัฒนาการของแมลงหยุดชะงักและไม่สามารถเจริญเติบโตได้ครบวงจร จึงนับว่าเป็นสารมีศักยภาพในการใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชจนได้รับการขนานนามว่า “Anti-herbivore” (Makka et al., 2002) หากแต่สารกลุ่มนี้กลับไม่เป็นพืชต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Dinan & Lafont, 2006) โดยสารกลุ่มนี้ถูกค้นพบขึ้นเป็นครั้งแรกในพืชในปี ค.ศ. 1966 จากนั้นก็มีผู้ศึกษาเรื่อยมาจนสามารถค้นพบสารกลุ่มนี้ได้มากกว่า 450 Ecdysteroid Analogs และปัจจุบันก็ยังคงมีความพยายามศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับสารกลุ่มนี้อย่างต่อเนื่อง อาทิเช่น มีความพยายามสกัดสารกลุ่มนี้จากพืชบางชนิด เช่น *Spinacia oleracea* L. *Chenopodium quinoa* Willd. และ *Dioscorea dumentorum* (Kunth) Pax มาเพื่อใช้ประโยชน์ในการดูแลสุขภาพพืชเศรษฐกิจ (Sautour et al., 2008; Laekeman & Vlietinck, 2013) ตลอดจนได้มีการผู้พยายามนำสารเหล่านี้ไปใช้ในปริมาณน้อยเพื่อเพิ่มผลผลิตในการเพาะเลี้ยงหนอนไหม ผีเสื้อ และสัตว์น้ำ เช่น กุ้งชนิดต่างๆ เป็นต้น (Dinan, 2001) นอกจากนี้ยังพบอีกว่ามีการนำสารในกลุ่มนี้ไปประยุกต์ใช้ในทาง

การแพทย์และเภสัชวิทยา ซึ่งมีรายงานว่าสาร PEs สามารถช่วยเพิ่มระดับการสังเคราะห์โปรตีน เพิ่มมัดกล้ามเนื้อและน้ำหนักตัว และความทนทานของร่างกายในสัตว์จำพวก หนู สัตว์ฟันแทะ และ นก สุนัข และมนุษย์ และช่วยในการสมานแผลของผิวหนังและกระดูก ป้องกันการหลุดร่วงของเส้นผมและช่วยให้ผิวหนังสามารถทนทานต่อรังสีจากแสงแดดได้ดีขึ้น (Báthori, 2002; Dinan, 2009; Raharivelomanana, Ho, Teai & Meybeck, 2013) อีกทั้งยังสามารถช่วยลดระดับของน้ำตาลและ Hyperglycaemia ในหนูที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงได้ดีอีกด้วย (Kizelsztejn et al., 2009) ด้วยเหตุเหล่านี้จึงส่งผลให้บริษัทผู้ผลิตอาหารหลายรายในประเทศฝรั่งเศสเริ่มสนใจในการเพิ่มวัตถุดิบจากพืชที่มีสาร PEs ลงไปในการผลิตผลิตภัณฑ์ทางอาหารชนิดต่างๆ เพื่อเพิ่มประโยชน์ทางโภชนาการ (Dinan, 2009)

ทั้งนี้ประเทศไทยนั้นเป็นแหล่งที่มีความหลากหลายทางชีวภาพของพืชสูง (Lindsay, Middleton, Boonkerd & Suddee, 2009) โดยเฉพาะพืชในกลุ่มเฟิร์นที่พบได้ในหลากหลายภูมิประเทศและถิ่นอาศัย (habit) ทั่วทุกภาคของประเทศไทย ซึ่งมีรายงานการนำเฟิร์นไปใช้ประโยชน์น้อยมากเนื่องจากส่วนใหญ่เป็นพืชป่าและวัชพืช มีเฟิร์นเพียงไม่กี่ชนิดที่มีการใช้ประโยชน์ในด้านพืชอาหารและไม้ประดับ (Khwaiphan & Boonkerd, 2008) ในขณะที่ผลรายงานการศึกษาด้านพฤกษศาสตร์พื้นบ้านชนของเผ่าบนหมู่เกาะแถบ Polynesia ในมหาสมุทรแปซิฟิกกลับพบว่ามีการนำเฟิร์นชนิด *M. scolopendria* (Burm.f.) Copel. (ปัจจุบันคือ *Phymatosorus scolopendria* Pic.Serm. วงศ์ Polypodiaceae) ซึ่งเป็น 1 ใน microsoroid ferns ไปใช้ในเชิงพืชสมุนไพรเพื่อรักษาบรรเทาอาการเจ็บป่วยเนื่องจากไข้หวัด ปวดอักเสบ ปวดท้อง ท้องร่วงและอาการอ่อนเพลีย รวมทั้งใช้ประคบรักษาแผลจากน้ำร้อนลวก โรคปวดข้อ หนองใน ตกขาว ปวดตับระดูและประจำเดือนมาไม่ปกติหรือใช้รักษาอาการโพรงงมูกอักเสบและแก้พิษจากการรับประทานปลาบางชนิด เมื่อนำเฟิร์นที่มีสรรพคุณทางยาเหล่านี้มาศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่ามีการพบสารในกลุ่ม PEs สูงโดยเฉพาะอย่างยิ่ง Ecdysone และ 20-deoxymakisterone A ซึ่งหาได้ยากจากพืชชนิดอื่นๆ (Baltrushes, 2006; Lafont & Dinan, 2003; Snogan et al., 2007; Ho et al., 2007, 2008) ทั้งนี้ในประเทศไทยนั้นมีรายงานว่าพบพืชสมาชิกของเฟิร์นกลุ่ม Microsoroid Ferns หลายสกุล อาทิ *Colysis*, *Lepisorus*, *Leptochilus*, *Microsorium*, *Neocheiropteris*, *Podosorus* และ *Phymatosorus* (Tagawa & Iwatsuki, 1989) แต่กลับไม่พบรายงานฉบับใดๆ ในประเทศไทยที่กล่าวถึงการนำเฟิร์นเหล่านี้มาใช้ประโยชน์ทางสมุนไพรหรือพฤษเคมี นอกจากนี้เฟิร์นกลุ่มนี้ยังจัดว่ามีสถานะทางอนุกรมวิธานที่ไม่ชัดเจนและเป็นที่ยกเถียงกันของนักอนุกรมวิธานเนื่องจากพบว่าเฟิร์นกลุ่ม Microsoroid Ferns โดยเฉพาะสกุล *Microsorium* Link นั้นเป็น Polyphyletic Group (Schneider et al., 2004; Kreier et al., 2008; Petchsri & Boonkerd, 2014) และยังจำเป็นต้องหาหลักฐานใหม่ๆ นอกเหนือจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา อาทิ หลักฐานด้านสารประกอบทางเคมีในพืชแต่ละชนิด มาสนับสนุนทฤษฎีในการจำแนกเฟิร์นกลุ่มนี้ต่อไป จึงเป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งว่าเฟิร์นเหล่านี้ที่พบในประเทศไทยจะมีชนิดใดบ้างที่เป็นแหล่ง (Source) ของสารกลุ่ม PEs ซึ่งเป็นสารที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้อย่างกว้างขวางทั้งในทางการแพทย์ เภสัชวิทยา

และเกษตรกรรมดังได้กล่าวไว้ข้างต้นแล้วนั้น อันจะนำไปสู่การศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติมในการต่อยอดสกัดสารเหล่านี้จากแหล่งทรัพยากรชีวภาพภายในประเทศมาใช้ให้เกิดประโยชน์และเพิ่มมูลค่าในทางอุตสาหกรรมอาหารเสริมและเวชสำอางต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์

1. เพื่อสำรวจและคัดกรองหาพืชที่มีศักยภาพในการเป็นแหล่งทรัพยากรธรรมชาติของสารกลุ่ม Phytoecdysteroids จากเฟิร์นในกลุ่ม Microsoroid Ferns บางชนิดที่พบตามเขตพื้นที่ป่าอนุรักษ์ทางภาคเหนือของประเทศไทย
2. เพื่อค้นหาหลักฐานทางด้าน Chemotaxonomy สำหรับใช้สนับสนุนแนวทางในการจัดจำแนกพืชกลุ่มนี้ในระดับสกุล

วิธีการวิจัย

1. อุปกรณ์และสารเคมี

- 1.1 อุปกรณ์เก็บตัวอย่างพืชในภาคสนาม กล้องบันทึกภาพดิจิทัลและเครื่องวัดพิกัดทางภูมิศาสตร์ (Wireless GPS Logger) ยี่ห้อ HOLUX รุ่น m-241
- 1.2 อุปกรณ์จัดทำตัวอย่างพรรณไม้แห้ง และน้ำยาอบตัวอย่างพืชกันแมลง
- 1.3 อุปกรณ์พื้นฐานที่ใช้ในการจำแนกชนิดพืชในห้องปฏิบัติการและเอกสารอ้างอิงทางพฤกษอนุกรมวิธาน
- 1.4 อุปกรณ์เครื่องแก้วพื้นฐานทางเคมี
- 1.5 เอทานอลที่ใช้เป็นตัวทำละลายชนิดที่มีความบริสุทธิ์สูงและใช้ในงานวิเคราะห์ (Analytical Grade) จากบริษัท Fluka และ บริษัท Aldrich ส่วนตัวทำละลายที่มีความบริสุทธิ์สูงและใช้เฉพาะกับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC มาจากบริษัท Merck Co. Ltd. (Thailand) ทั้งนี้สารเคมีทุกชนิดที่ใช้กับเครื่อง HPLC ต้องกรองผ่านเยื่อกรองไมลอนขนาด 0.45 μm (Nylon Membrane Filter, Millipore) ก่อนการใช้งานผ่านเครื่องทุกครั้ง
- 1.6 เครื่องโครมาโตกราฟีสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography; HPLC) ยี่ห้อ Water รุ่น 2998 มี UV – VIS Detector ประกอบกับส่วน Water 600 Controller และ Water 717 Autosampler ทั้งนี้ใช้คอลัมน์ Spherisorb C18 ODS2 (ขนาด 250 mm x 4.6 mm i.d. 5 μm) ซึ่งต่อกับ Spherisorb S5 Guard Column (ขนาด 10 mm x 4.6 mm C18 ODS2 i.d. 5 μm) และวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม Window Version 7

2. วิธีการทดลอง

2.1 ตรวจสอบเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง อาทิ Petchsri et al. (2015) และ Tagawa & Iwatsuki (1989) รวมทั้งขอเข้าศึกษาตัวอย่างพรรณไม้แห้งที่เก็บรักษาไว้ ณ พิพิธภัณฑ์พืชและหอพรรณไม้ต่างๆ ของประเทศ เพื่อทราบถึงจำนวนชนิดของพรรณไม้ การกระจายพันธุ์และแหล่งที่อยู่ที่เคยมีการรายงานไว้ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน โดยในการศึกษานี้จะมุ่งเน้นเฉพาะเฟิร์นในกลุ่ม Microsoroid Ferns บางชนิดที่พบในพื้นที่ป่าธรรมชาติทางภาคเหนือประเทศไทยเท่านั้น ไม่รวมพรรณไม้นำเข้าเพื่อจุดประสงค์ในการใช้เป็นไม้ประดับ

2.2 สุ่มและเก็บตัวอย่างเฟิร์นกลุ่ม Microsoroid Ferns บางชนิดที่พบในภาคเหนือของประเทศไทยบริเวณจังหวัดพิษณุโลกและจังหวัดเชียงใหม่ ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2555 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2556 รวมทั้งสิ้น 5 ครั้ง โดยเก็บตัวอย่างแบบสุ่ม (Simple random sampling) แต่เพียงจำเป็นเท่านั้นตามวิธีการของ Boonkerd et al. (1987) พร้อมทั้งบันทึกตำแหน่งที่พบด้วยเครื่องกำหนดพิกัดบนพื้นผิวโลก (Global Positioning System; GPS) และถ่ายภาพตัวอย่าง

2.3 ดำเนินการระบุชนิดของตัวอย่างพืชภายในห้องปฏิบัติการพฤกษศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์ และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกของพรรณไม้ ประกอบกับเอกสารวิชาการและคู่มือการจัดจำแนกชนิดพรรณไม้ที่เกี่ยวข้อง (Petchsri & Boonkerd, 2014) ส่วนชื่อพรรณไม้ที่ใช้ในรายงานฉบับนี้ได้ยึดถืออ้างอิงตาม A Working List of All Plant Species Version 1.1 (The Plant List, 2013) จากนั้นจัดทำตัวอย่างพรรณไม้แห้งเพื่อการอ้างอิงในงานวิจัย (Voucher Specimens) ของพืชแต่ละชนิดและนำไปเก็บรักษาไว้ ณ ห้องปฏิบัติการพฤกษศาสตร์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

2.4 นำตัวอย่างใบสดและเหง้า (Rhizome) ของพรรณไม้ที่ผ่านการระบุชนิดและผึ่งลมในที่ร่มจนแห้งแล้วชนิดละ 5 ตัวอย่าง ตัวอย่างละประมาณ 300 กรัม มาผ่านกรรมวิธีที่ดัดแปลงมาจาก Snogan et al. (2007) ดังนี้ คือ บดเป็นผงให้ละเอียดก่อนนำไปสกัดสารโดยแช่ชิ้นส่วนพืชในเอทานอล (ความบริสุทธิ์ร้อยละ 95) ปริมาณ 1.5 ลิตร นาน 3 วันเพื่อให้เอทานอลสกัดสารออกจากผงใบเฟิร์นให้ได้มากที่สุด จากนั้นกรองแยกชิ้นส่วนพืชจากสารละลายที่ได้ก่อนนำกากชิ้นส่วนพืชนั้นไปสกัดซ้ำอีก 1 ครั้ง ต่อบดและนำสารละลายที่ได้ทั้งหมดมารองแยกกากแล้วนำไประเหยแห้งเพื่อกำจัดเอทานอล ทั้งนี้สารสกัดหยาบในส่วนของใบและลำต้นที่ได้มีจำนวน 56.42 ± 2.19 และ 6.84 ± 1.69 มิลลิกรัมต่อกรัมของตัวอย่างแห้งบดละเอียด ตามลำดับ จากนั้นเตรียมสารตัวอย่างสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร กรองผ่านเยื่อกรองไนลอนขนาด 0.45 ไมโครเมตร ก่อนฉีดเข้าเครื่อง HPLC

2.5 วิเคราะห์ตัวอย่างโดยฉีดสารที่เตรียมได้เข้าเครื่อง HPLC ด้วยปริมาณ 20 ไมโครลิตร ใช้อัตราการไหลผ่านคอลัมน์เท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิคอลัมน์ที่ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาทั้งสิ้น 40 นาที ต่อการวิเคราะห์ตัวอย่างแต่ละครั้ง โดยสารสกัดหยาบจะถูกพาเข้าสู่คอลัมน์ด้วยสารละลายเคลื่อนที่ (Mobile Phase) อาศัยความแตกต่างของปฏิสัมพันธ์ของสารแต่ละชนิดที่ละลายอยู่ในตัวอย่าง

ระหว่างเฟสคงที่ (Stationary Phase) กับสารละลายเคลื่อนที่ที่เหมาะสม มีผลให้สารต่างๆ ถูกจับอยู่ในคอลัมน์ด้วยเวลาที่แตกต่างกัน สารแต่ละชนิดจะถูกชะ (Elute) ออกมาด้วยสารละลายเคลื่อนที่ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ถูกดันผ่านเฟสคงที่ที่มีอนุภาคขนาดเล็กซึ่งบรรจุอยู่ในคอลัมน์ เฟสเคลื่อนที่ที่พาสารแต่ละชนิดออกจากคอลัมน์ผ่านเครื่องตรวจวัด UV – Vis Detector และแสดงผลออกมาในรูปโครมาโตแกรม (Chromatogram) ที่ประกอบด้วยพีค (Peak) ของสารองค์ประกอบต่างๆ ที่มีอยู่ในสารตัวอย่างนั้น

มีการศึกษาการปรับอัตราส่วนของ สารละลายผสมของอะซีโตนไนโตรล์ : โพรเพน-2-อล (ปรับอัตราส่วนโดยปริมาตร) และ 0.1% กรดไตรฟลูโอโรอะซิติกในน้ำ (ปรับอัตราส่วนโดยปริมาตร) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมของตัวทำละลายเคลื่อนที่ (Mobile Phase) สำหรับการวิเคราะห์แบบเดียว (Isocratic mode) ในการวิเคราะห์แยกองค์ประกอบของสารในตัวอย่างสารสกัดหยาบจากเฟิร์นด้วยเทคนิค HPLC

2.6 สรุปจำนวนชนิดของสารที่พบในพรรณไม้แต่ละชนิดเพื่อหาชนิดพืชที่เป็นแหล่งที่ดีของสาร PEs

ผลการวิจัย

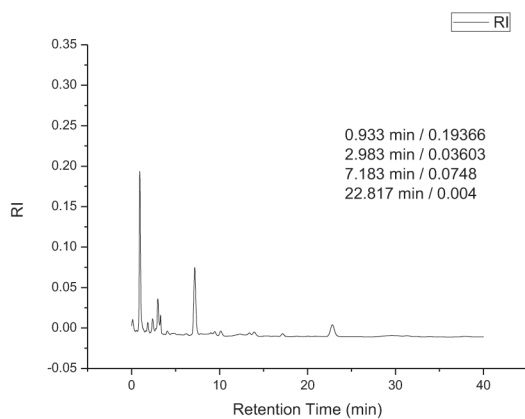
จากผลการตรวจสอบเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้องและการเข้าศึกษาตัวอย่างพรรณไม้แห้ง (Herbarium Specimen) ของเฟิร์นกลุ่ม Microsoroid Ferns ที่เก็บรักษาไว้ ณ หอพรรณไม้ กรมอุทยานสัตว์ป่าและพันธุ์พืช (BKf) และพิพิธภัณฑ์พืชศาสตร์จารย์กสิน ศุวตะพันธ์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (BCU) พบว่ามีพรรณไม้ในสกุลนี้กระจายตัวอย่างในเขตพื้นที่ป่าอนุรักษ์ทางภาคเหนือของประเทศไทยหลายสกุลหลายชนิดด้วยกัน แต่อย่างไรก็ตามด้วยข้อจำกัดด้านเวลาและงบประมาณ ทำให้การออกสำรวจและเก็บตัวอย่าง 5 ครั้งในระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2555 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2556 นั้นสามารถเก็บรวบรวมตัวอย่างได้เพียง 16 ตัวอย่างและนำมาจำแนกชนิดตามระบบของ Petchsri & Boonkerd (2014) ได้ทั้งสิ้น 3 สกุล 7 ชนิด (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 รายชื่อเฟิร์นในกลุ่ม Microsoroid Ferns ที่นำมาศึกษาและผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบจากใบและเหง้าของตัวอย่างเฟิร์นด้วยเทคนิค HPLC

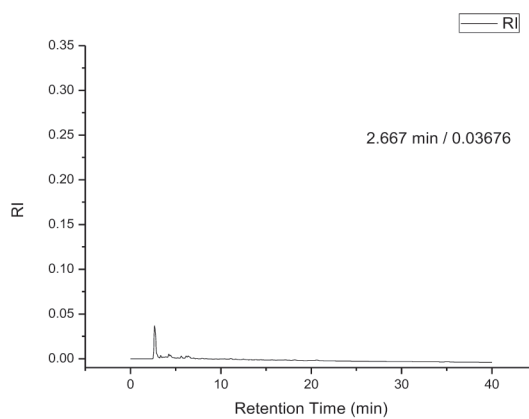
ลำดับที่	ชื่อวิทยาศาสตร์	แหล่งที่พบ	ตัวอย่างอ้างอิง	ส่วนพืชที่ใช้	สารประกอบที่	Retention Time (min)	RI	ระดับสัญญาณ
1.	<i>Microsorium insignie</i> (Blume) Copel.	พิษณุโลก	PHST 1	ใบ	C1	0.936	0.19366	●●●
					C3	2.983	0.03603	●●
					C8	7.183	0.07480	●●
					C10	22.817	0.00400	●
				เหง้า	-	-	-	-
				ใบ	-	-	-	-
2.	<i>M. membranaceum</i> (D.Don) Ching	พิษณุโลก	PHST 2	เหง้า	-	-	-	-
				ใบ	-	-	-	-
3.	<i>M. punctatum</i> (L.) Copel.	เชียงใหม่	PHST 3	ใบ	C4	3.283	0.24112	●●●
					C7	6.167	0.05310	●●
					C9	9.167	0.02949	●●
					-	-	-	-
				เหง้า	-	-	-	-
				ใบ	C7	6.233	0.01607	●●
4.	<i>M. superficiale</i> (Blume) Ching	เชียงใหม่	PHST 4	เหง้า	-	-	-	-
				ใบ	-	-	-	-
5.	<i>Phymatosorus cuspidatus</i> (D.Don) Pic.Serm.	เชียงใหม่	PHST 5	ใบ	C5	4.217	0.06303	●●
					-	-	-	-
					-	-	-	-
					-	-	-	-
6.	<i>P. scolopendria</i> (Brum.f.) Pic.Serm.	เชียงใหม่	PHST 6	ใบ	C2	2.733	0.04915	●●
					C4	3.267	0.03306	●●
					C6	5.177	0.31349	●●●
					C9	9.283	0.02435	●●
				เหง้า	-	-	-	-
				ใบ	C2	2.667	0.03676	●●
7.	<i>Neochieopteris normalis</i> (D.Don) Tagawa	พิษณุโลก	PHST 7	ใบ	-	-	-	-
				เหง้า	-	-	-	-

หมายเหตุ: ●●● หมายถึง สัญญาณดีมาก ●● หมายถึง สัญญาณดี ● หมายถึง สัญญาณพอใช้

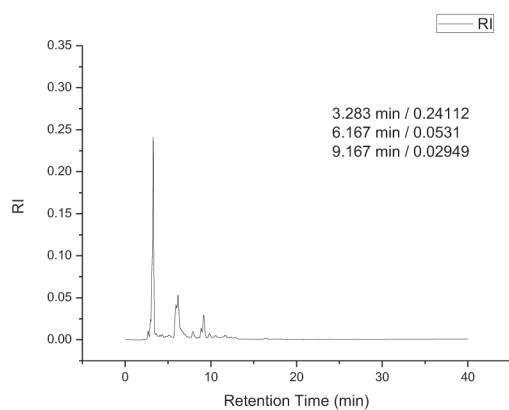
และเมื่อใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายและนำสารสกัดหยาบที่ได้จากตัวอย่างเฟิร์นไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) พบว่าไม่สามารถตรวจพบสาร PEs จากตัวอย่างของ *M. membranaceum* (D.Don) Ching ได้ทั้งในสารสกัดหยาบจากใบและเหง้า ส่วนตัวอย่างพืชที่เหลือชนิดอื่นๆ ทั้ง 6 ชนิดนั้นสามารถตรวจพบได้ในสารสกัดหยาบจากใบและสามารถแยกสาร PEs ได้ทั้งหมด 10 ชนิดสารดังตารางที่ 1 ส่วนสกัดหยาบจากเหง้าของเฟิร์นทั้ง 6 ชนิดนั้นพบว่าระดับสัญญาณของสารสำคัญที่ปรากฏ ณ ตำแหน่งต่างๆ ในโครมาโตแกรมไม่ชัดเจนหรือใกล้เคียงระดับขีดต่ำสุดของความสามารถในการวัดด้วยเครื่องมือ จึงไม่สามารถนำผลมาจัดกลุ่มได้



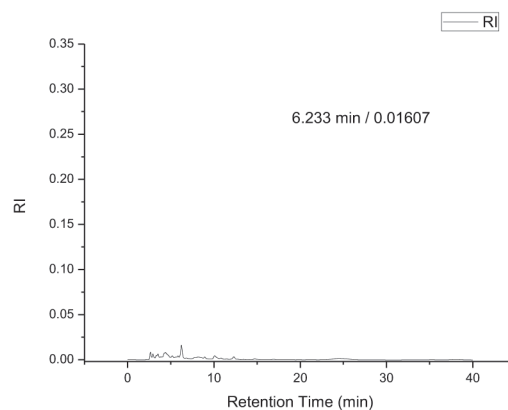
M. insigne (Blume) Copel.



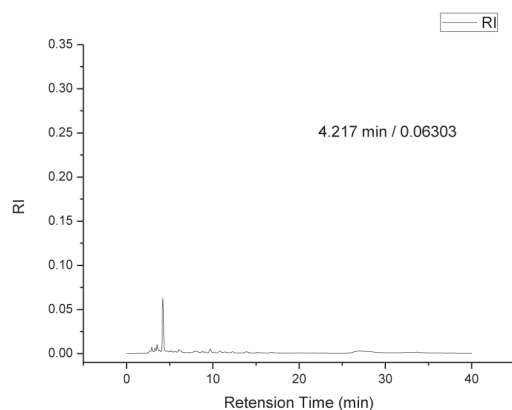
N. normalis (D.Don) Tagawa



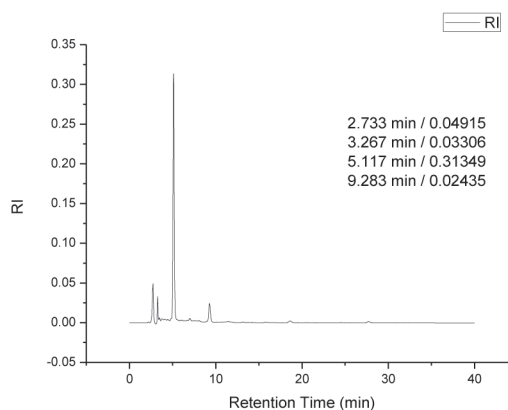
M. punctatum (L.) Copel.



M. superficiale (Blume) Ching



P. cuspidatus (D.Don) Pic.Serm.



P. scolopendria (Brum.f.) Pic.Serm.

ภาพที่ 1 โครมาโตแกรมแสดงค่า Retention Time (tR, min) ของสารสกัดหยาบที่ได้จากใบเฟิร์นแต่ละชนิด

ตารางที่ 2 ชนิดพรรณไม้ที่พบสารกลุ่ม PEs แต่ละชนิด

ลำดับที่	สารประกอบที่	ชนิดพรรณไม้ที่พบ	ลักษณะของใบ	ระดับสัญญาณ
1.	C1	<i>M. insigne</i>	ใบเดี่ยว ขอบเว้าลึก	•••
2.	C2	<i>N. normalis</i> <i>P. scolopendria</i>	ใบเดี่ยว ขอบเรียบ ใบเดี่ยว ขอบเว้าลึก	•• ••
3.	C3	<i>M. insigne</i>	ใบเดี่ยว ขอบเว้าลึก	••
4.	C4	<i>M. punctatum</i> <i>P. scolopendria</i>	ใบเดี่ยว ขอบเรียบ ใบเดี่ยว ขอบเว้าลึก	••• ••
5.	C5	<i>P. cuspidatus</i>	ใบประกอบ	••
6.	C6	<i>P. scolopendria</i>	ใบเดี่ยว ขอบเว้าลึก	•••
7.	C7	<i>M. punctatum</i> <i>M. superficiale</i>	ใบเดี่ยว ขอบเรียบ ใบเดี่ยว ขอบเรียบ	•• ••
8.	C8	<i>M. insigne</i>	ใบเดี่ยว ขอบเว้าลึก	••
9.	C9	<i>M. punctatum</i> <i>P. scolopendria</i>	ใบเดี่ยว ขอบเรียบ ใบเดี่ยว ขอบเว้าลึก	•• ••
10.	C10	<i>M. insigne</i>	ใบเดี่ยว ขอบเว้าลึก	•

หมายเหตุ: ••• หมายถึงสัญญาณดีมาก •• หมายถึง สัญญาณดี • หมายถึง สัญญาณพอใช้

วิจารณ์ผลการวิจัย

1. สถานะที่เหมาะสมในการสกัดและวิเคราะห์สาร Phytoecdysteroids (PEs) จากพืช

จากผลการศึกษาเปรียบเทียบผลการสกัดจากชิ้นส่วนพืชระหว่างเหง้า (Rhizome) และใบ (Frond) พบว่าชิ้นส่วนพืชที่เหมาะสมต่อการนำมาสกัดสารมากที่สุดคือ ใบ ซึ่งสอดคล้องกับภูมิปัญญาท้องถิ่นของชาว Polynesian ในมหาสมุทรแปซิฟิกที่นิยมนำใบของเฟิร์นในสกุล *Microsorium* มาใช้ในการรักษาแบบแผนโบราณ (Traditional Medicine) (Ho, Teail, Meybeck, & Raharivelomanana, 2015) รวมทั้งงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่พบว่าผู้วิจัยได้นำเฉพาะส่วนของใบพืชมาศึกษาเนื่องจากเป็นส่วนที่พบสารในกลุ่ม Phytoecdysteroids (PEs) สูงที่สุด (Ho et al., 2006; 2008; 2012) นอกจากนี้ยังมีผู้กล่าวว่า สารกลุ่ม PEs นั้นจะพบได้มากในส่วนที่พืชต้องการปกป้องตนเองจากศัตรูพืช (Dinan, 1995) ซึ่งก็คือส่วนของใบสำหรับในกรณีของพืชตัวอย่างในการวิจัยครั้งนี้

สภาวะที่เหมาะสมของตัวทำละลายเคลื่อนที่ (Mobile Phase) สำหรับการวิเคราะห์แบบเดี่ยว (Isocratic mode) ในการวิเคราะห์แยกองค์ประกอบของสารจากตัวอย่างเฟิร์นที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้าด้วยเทคนิค HPLC นั้น คือ สารละลายผสมของอะซิโตนไธล : โพรเพน-2-อล (5:2, โดยปริมาตร) และ 0.1% กรดไตรฟลูโอโรอะซิติกในน้ำ (20:80, โดยปริมาตร) ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Snogan et al. (2007) แต่อย่างไรก็ตาม แม้ว่าจะเพิ่มจำนวนตัวอย่างจาก 0.2 กิโลกรัม เป็น 0.3 กิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) ก็ยังไม่สามารถสกัดและแยกสาร PEs จากตัวอย่างของ *M. membranaceum* ได้ ซึ่งในงานวิจัยก่อนหน้านี้พบรายงานว่าไม่สามารถสกัดสารจาก *M. buergerianum* *M. fortunei* และ *M. membranifolium* ได้เช่นกัน (Yen et al., 1974)

2. ความหลากหลายของสาร Phytoecdysteroids (PEs) ที่พบ

จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าเฟิร์นทั้ง 7 ชนิดจาก 3 สกุลที่สำรวจพบและเก็บตัวอย่างได้ในภาคเหนือของไทยนั้นมีเพียง 6 ชนิดที่มีศักยภาพเป็นแหล่งของสาร Phytoecdysteroids (PEs) ยกเว้นเพียงชนิดเดียวเท่านั้น คือ *M. membranaceum* ที่ไม่พบสาร PEs เลยในการศึกษาค้นคว้า โดยพรรณไม้ที่เป็นแหล่งชั้นดีของสาร PEs นั้นมีอยู่ด้วยกัน 3 ชนิดพืช ได้แก่ *P. scolopendria* *M. insigne* และ *M. punctatum* ซึ่งในเฟิร์นชนิด *M. insigne* และ *P. scolopendria* นั้นมีสารในกลุ่ม PEs จำนวน 4 ชนิดสารในพืชแต่ละชนิด ส่วน *M. punctatum* นั้นพบสารในกลุ่ม PEs จำนวน 3 ชนิดสาร ในขณะที่ *M. superficial* *N. normalis* และ *P. cuspidatus* พบสารในกลุ่ม PEs เพียงชนิดพืชละ 1 ชนิดสาร (ตารางที่ 1) ทั้งนี้เนื่องจากตัวอย่างใบที่เก็บได้ของ *M. membranaceum* เป็นใบที่เริ่มร่วงโรย มีสีเหลือง เป็นใบที่พืชสลัดทิ้งขณะกำลังเข้าสู่ระยะพักตัว (Dormancy) สำหรับหลักเชิงสรีรศาสตร์ที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต เช่น การย่างเข้าสู่ฤดูแล้ง ไม่ใช่ใบที่มีสีเขียวสดอย่างเฟิร์นชนิดอื่นๆ กอปรกับสภาพของใบพืชที่พบและเก็บรวบรวมได้นั้นมีร่องรอยการกัดกินจากแมลงศัตรูพืชอย่างเห็นได้ชัด จึงอาจเป็นไปได้ว่าสารสำคัญในกลุ่ม PEs ในใบพืชนั้นได้สลายไปหมดแล้วจึงไม่สามารถสกัดจากตัวอย่างที่เก็บมาได้ หรืออาจเป็นเพราะระบบที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้าไม่สามารถสกัดสารที่อยู่ในใบพืชออกมาได้ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปในอนาคตเพราะเป็นที่น่าสังเกตว่าหากสามารถเก็บตัวอย่างสดของพืชมาได้น่าจะพบสารกลุ่ม PEs บางชนิดได้ในเฟิร์นชนิดนี้ แต่อย่างไรก็ตามดังที่ได้กล่าวข้างต้นแล้วว่าเคยมีการรายงานไว้ก่อนหน้านี้ว่าไม่สามารถสกัดสาร PEs จากเฟิร์นในสกุล *Microsorium* บางชนิดได้ (Yen et al., 1974) ด้วยเหตุนี้จึงเป็นไปได้ที่เฟิร์นชนิดนี้จะไม่มีการสะสม PEs อยู่แล้วตามปกติในธรรมชาติ

สำหรับเฟิร์นชนิด *P. scolopendria* ที่พบสารในกลุ่ม PEs ถึง 4 ชนิด อันได้แก่ ชนิด C2, C4, C6 และ C9 (ตารางที่ 1) โดยสาร PEs ชนิด C6 นั้นพบในเฟิร์นชนิดนี้ชนิดเดียวไม่พบในเฟิร์นชนิดอื่นๆ ที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้า จึงนับได้ว่า *P. scolopendria* นั้นเป็นแหล่งที่สำคัญของสารกลุ่ม PEs ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Snogan et al. (2007) ที่ศึกษาสาร PEs ของเฟิร์นชนิดนี้ที่พบในเขตโพลินีเซียซึ่งได้กล่าวว่าเฟิร์นชนิด *P. scolopendria* นี้เป็นแหล่งที่ดีของสารกลุ่ม PEs เนื่องจากพบสารต่างๆ จำนวนมาก

ถึง 11 ชนิดสารด้วยกัน แต่อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าสนใจว่าแม้จะเป็นพืชชนิดเดียวกันแต่กลับพบชนิดสารจำนวนไม่เท่ากัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะพืชที่นำมาศึกษานั้นขึ้นอยู่ในสภาพแวดล้อมและภูมิประเทศแตกต่างกันอย่างสิ้นเชิงจึงน่าจะเป็นเหตุผลที่ทำให้มีจำนวนสารในกลุ่ม PEs แตกต่างกัน รวมทั้งยังพบรายงานว่าระดับของสาร Phytoecdysteroids ที่พบในพืชชนิดเดียวกันจะแตกต่างกันตามระยะในวงชีพ เช่น อาจมีสารเพิ่มมากขึ้นโดยเฉพาะในช่วงที่มีที่พัฒนาของส่วนสืบพันธุ์หรือช่วงที่มีการติดดอกติดผล (Dian, 1995)

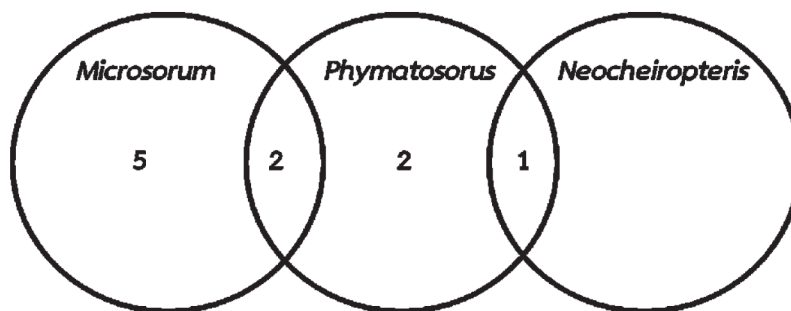
นอกจากนี้ยังพบอีกว่าเฟิร์นชนิด *M. insigne* ก็นับเป็นพืชที่น่าสนใจอีกชนิดหนึ่งเนื่องจากพบสาร PEs ในเฟิร์นชนิดนี้ถึง 4 ชนิด ได้แก่ สารชนิด C1, C3, C8 และ C10 (ตารางที่ 1) ซึ่งเป็นชนิดที่ไม่พบในเฟิร์นชนิดอื่นๆ ที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้เลย จึงนับได้ว่า *M. insigne* นั้นเป็นแหล่งที่ดีมากของสารกลุ่ม PEs เช่นกัน สอดคล้องกับรายงานในปี ค.ศ. 2013 ของ Wang, yang & Chen ที่กล่าวว่าเฟิร์นชนิดนี้นิยมในมาใช้รักษาในแพทย์แผนโบราณของชนพื้นเมืองในเขตตอนใต้ของประเทศจีนและทั่วไปในพื้นที่แถบอุษาคเนย์ และมีสารที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีอยู่ในน้ำมันหอมระเหย (Essential Oil) ถึง 44 ชนิด

อนึ่ง แม้ว่าเฟิร์นชนิด *M. punctatum* นั้นจะพบสาร PEs ถึง 3 ชนิด ได้แก่ สารชนิด C4, C7 และ C9 แต่สารชนิด C4 และ C9 นั้นยังสามารถพบได้จากเฟิร์นชนิด *P. scolopendria* อีกด้วย ส่วนสารชนิด C7 นั้นสามารถพบได้จากเฟิร์นชนิด *M. superficial* เช่นกัน ในขณะที่เฟิร์นชนิด *N. normalis* นั้นเป็นแหล่งของสารชนิดที่ C2 ซึ่งสามารถพบได้จาก *P. scolopendria* ด้วยเช่นกัน จึงทำให้เฟิร์น *M. superficiale* และ *N. normalis* นั้นสามารถเป็นแหล่งทดแทนในการผลิตสารกลุ่ม PEs ชนิดที่ C2 และ C7 ได้ในกรณีที่ไม่สามารถเก็บหรือหาตัวอย่างของ *M. punctatum* และ *P. scolopendria* ได้ แต่ทั้งนี้จะมีก็แต่เพียง *P. cuspidatus* เท่านั้นที่มีสาร PEs ชนิดพิเศษนั้นคือสารชนิดที่ C5 ซึ่งเป็นสารที่ไม่พบในพืชชนิดอื่นที่ศึกษาในครั้งนี้เลย จึงนับว่าเฟิร์นชนิดนี้มีความพิเศษอยู่บ้างเนื่องจากเป็นเพียงแหล่งเดียวของสารชนิดที่ C5 (ตารางที่ 2) โดยสารชนิดต่างๆ ที่พบในพืชเหล่านี้จะอยู่ในกลุ่มของ Ecdysone, 20-hydroxyecdysone, Inokosterone, Makisterone A, Makisterone C และ Poststerone เป็นส่วนใหญ่เนื่องจากสารเหล่านี้เป็นสาร PEs ที่สามารถพบได้บ่อย (Common Ecdysteroids) ในเฟิร์นกลุ่มนี้ (Lafont et al., 2002; Snogan et al., 2007)

3. การจำแนกพืชในระดับสกุลด้วยความแตกต่างของสาร Phytoecdysteroids (PEs) ที่พบ

แม้ว่าปัจจุบันจะมีการใช้ความแตกต่างของสารฟลักซ์เคมีที่พบในพืชเพื่อการจำแนกกลุ่มพืชในระดับชั้นต่างๆ ทางอนุกรมวิธาน อันเป็นศาสตร์แขนงหนึ่งของวิชาอนุกรมวิธานที่เรียกว่า Chemotaxonomy (Hegnauer, 1986; Deshmukh & Gaikwad, 2014) ซึ่งมีรายงานการใช้สาร Phytoecdysteroids ในการจำแนกชนิดพืชกลุ่มต่างๆ ในระดับชนิดได้ (Laekeman & Vlietinck, 2013) หากแต่การวิจัยครั้งนี้พบว่าไม่สามารถใช้ความแตกต่างของสารกลุ่ม PEs ที่พบในสารสกัดหยาบจากพืชแต่ละชนิดมาใช้ในการจำแนกพืชตัวอย่างออกจากกันในระดับสกุลได้ ดังจะเห็นได้จากชนิดสารที่พบในเฟิร์นชนิด *M. punctatum* และ *P. scolopendria* ซึ่งถูกจัดอยู่คนละสกุลกัน (Petchsri & Boonkerd, 2014) แต่กลับพบชนิดสาร

เหมือนกัน 2 ชนิด คือ สารชนิด C4 และ C9 ในขณะที่เฟิร์น *N. normalis* ซึ่งพบสารชนิด C2 เพียงชนิดเดียวนั้นก็พบสารชนิดเดียวกันนี้ได้ใน *P. scolopendria* ด้วย (ภาพที่ 2) ดังนั้นจึงทำให้ไม่สามารถใช้ความแตกต่างของชนิดสารที่พบแยกพืชแต่ละสกุลออกจากกันได้ แต่อย่างไรก็ตามพบว่ามีแนวโน้มที่จะใช้จำแนกในระดับชนิดได้ เช่น เฟิร์นชนิด *M. insigne* และ *P. cuspidatus* ที่พบชนิดสารซึ่งจำเพาะและไม่พบในเฟิร์นชนิดอื่นๆ ที่อยู่ในสกุลเดียวกันเลย



ภาพที่ 2 ความหลากหลายของแหล่งสารกลุ่ม PEs จากเฟิร์นกลุ่ม Microsoroid Ferns ในประเทศไทย

สรุปผลการวิจัย

จากผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ในตารางที่ 1 สามารถจัดกลุ่มสารที่สำคัญด้วยตำแหน่งสัญญาณที่ปรากฏในโครมาโตแกรม (Retention Time) ที่พบในตัวอย่างใบของเฟิร์นชนิดต่างๆ ได้สารประกอบทั้งสิ้น 10 ชนิด โดยสัญญาณของกลุ่มสารที่สำคัญดังกล่าวปรากฏตั้งแต่ในระดับสัญญาณชัดเจนพอใช้ถึงในระดับชัดเจน ดีมาก จึงสามารถสรุปได้ว่าเฟิร์นบางชนิดในกลุ่ม Microsoroid Ferns ที่พบในประเทศไทยนั้นเป็นแหล่งทรัพยากรทางชีวภาพชั้นเยี่ยม (Excellent Source of Phytoecdysteroids) ในการสกัดหาสารกลุ่ม PEs โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเฟิร์นชนิด *M. insigne*, *M. punctatum* และ *P. scolopendria* เนื่องจากการสำรวจพบสารกลุ่ม Ecdysteroids ในปริมาณสูงในสารสกัดหยาบของพืชแต่ละชนิด ทั้งนี้ยังจำเป็นต้องมีการสกัดสารบริสุทธิ์และวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NMR เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ชัดเจนและนำมาใช้ประโยชน์ได้ต่อไป อย่างไรก็ตามพบว่าไม่สามารถใช้สาร PEs ที่พบด้วยวิธีการสกัดดังกล่าวข้างต้นในการจัดจำแนกเฟิร์นกลุ่มนี้ในระดับสกุลได้

ข้อเสนอแนะ

1. การระบุชนิดของสารกลุ่ม PEs ที่พบในการทดลองครั้งนี้ด้วยเทคนิควิธีต่างๆ เพื่อความสะดวกในการนำทรัพยากรความหลากหลายทางชีวภาพในธรรมชาติมาใช้ประโยชน์ต่อไปในอนาคต
2. ควรมีการพัฒนาวิธีการสกัดสารกลุ่ม PEs ที่พบจากพืชกลุ่มนี้ให้มีความบริสุทธิ์มากขึ้นเพื่อการนำไปพัฒนาสู่กระบวนการผลิตในระดับอุตสาหกรรมด้วยงบประมาณที่เหมาะสม
3. ควรมีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่ม PEs ที่พบจากพืชกลุ่มนี้และศึกษาเพื่อเพิ่มด้านการออกฤทธิ์ทางชีวภาพและทางการแพทย์สำหรับชนิดพืชที่มีแนวโน้มต่อไป
4. ควรศึกษาเพิ่มเติมต่อยอดเกี่ยวกับความสามารถในการผลิตสารสำคัญของพืชเหล่านี้ด้วยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ อาทิ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หรือการกระตุ้นด้วยไคโตซาน เป็นต้น

References

- Baltrushes, N. 2006. *Medical Ethnobotany, Phytochemistry, and Bioactivity of the Ferns of Moorea, French Polynesia*. Senior Honors Thesis, Univ. California, Berkeley.
- Báthori, M. (2002). Phytoecdysteroids effects on mammals, isolation and analysis. *Mini Rev. Med. Chem.* 2(3), 285–93.
- Boonkerd, T., Vajrabhaya, M., Treratr, S. Maneerat, Y., Thaithong, O. & Laichuthai, N. 1987. *Collection and Preparation of Herbarium Specimens*. Bangkok: Chulalongkorn University Press. (in Thai).
- Deshmukh, S. A. & Gaikwad, D. K. (2014). A review of the taxonomy, ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Basella alba* (Basellaceae). *J. App. Pharm. Sci.* 4(1), 153-165.
- Dinan, L. (1995). Distribution and levels of phytoecdysteroids within individual plants of species of the Chenopodiaceae. *Eur. J. Entomol.* 92, 295–300.
- Dinan, L. (2001). Phytoecdysteroids: biological aspects. *Phytochemistry.* 57(3), 325–39.
- Dinan, L. (2009). The Karlson Lecture. Phytoecdysteroids: what use are they? *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 72(3), 126–41.
- Dinan, L. & Lafont, R. (2006). Effects and applications of arthropod steroid hormones (ecdysteroids) in mammals. *J. Endocrinol.* 191, 1–8.
- Hegnauer, R. (1986). Phytochemistry and plant taxonomy — an essay on the chemotaxonomy of higher plants. *Phytochemistry.* 25(7), 1519-1535.

- Ho, R., Teail, T., Loquet, D., Bianchini, J.P. & Rahivelomanana, P. (2006). Occurrence of phytoecdysteroids in *Microsorium* species (Polypodiaceae) of French Polynesia. *Communication presented at the 16th Ecdysone Workshop, Ghent, Belgium*. Abstracts p. 86.
- Ho, R., Teail, T., Girault, J.P., Bianchini, J.P., Lafont, R. & Raharivelomanana, P. (2008). Nutraceutical interest of phytoecdysteroid in *Microsorium* species of French Polynesia. *Planta Med.* DOI: 10.1055/s-0028-1083974
- Ho, R., Teail, T., Girault, J.P., Loquet, D., Bianchini, J.P., Lafont, R. & Raharivelomanana, P. (2007). Phytoecdysteroids in the Genus *Microsorium* (Polypodiaceae) of French Polynesia. *Nat. Prod. Commun.* 2(8), 803–806.
- Ho, R., Girault, J.P., Raharivelomanana, P. & Lafont, R. (2012). E- and Z-Isomers of New Phytoecdysteroid Conjugates from French Polynesian *Microsorium membranifolium* (Polypodiaceae) Fronds. *Molecules.* 17, 11598–11606.
- Ho, R., Teail, T., Meybeck, A. & Raharivelomanana, P. (2015). UV-protective effects of phytoecdysteroids from *Microsorium grossum* extracts on human dermal fibroblasts. *Nat. Prod. Commun.* 10(1), 33–36.
- Kizelsztejn, P., Govorko, D., Komarnytsky, S., Evans, A., Wang, Z., Cefalu, W.T. & Raskin, I. (2009). 20-Hydroxyecdysone decreases weight and hyperglycemia in a diet-induced obesity mice model. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 296, 433–439.
- Kreier, H.-P., Zhang, X.-C., Muth, H. & Schneider, H. (2008). The microsoroid ferns: Inferring the relationships of a highly diverse lineage of paleotropical epiphytic ferns (Polypodiaceae, Polypodiopsida). *Mol. Phylogenet. Evo.* 48, 1155–1167.
- Khwaiphan, W. & Boonkerd, T. (2008). The Pteridophyte Flora of Khao Khiao, Khao Yai National Park, Thailand. *Nat. Hist. J. Chulalongkorn Univ.* 8(2), 69–82
- Laekeman, G. & Vlietinck, A. (2013). Phytoecdysteroids: Phytochemistry and Pharmacological Activity. In Ramawat, K.G. & Mérillon, J.-M. (Eds.). *Natural Products*. (pp 3827–3849). Doi: 10.1007/978-3-642-22144-6_173
- Lafont, R., Harmatha, J., Marion-Poll, F., Dinan, L. & Wilson, I.D. (2002). *Ecdybase, a free ecdysteroid database*. Retrieved May 26, 2014, from <http://www.ecdybase.org/>
- Lafont, R. & Dinan, L. (2003). Practical uses for ecdysteroids in mammals including humans: an update. *J. Insect Sci.* 3, 7.

- Lindsay, S., Middleton, D.J., Boonkerd, T. & Suddee, S. (2009). Towards a stable nomenclature for Thai ferns. *Thai For. Bull.* 37, 64–106.
- Makka, T., Seino, A., Tomita, S., Fujiwara, H. & Sonobe, H. (2002). A possible role of 20-hydroxyecdysone in embryonic development of the silkworm *Bombyx mori*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 51, 111–120.
- Petchsri, S. & Boonkerd, T. (2014). The Genera *Microsorium* and *Phymatosorus* (Polypodiaceae) in Thailand. *Trop. Nat. His.* 14(2), 45–74.
- Petchsri S., Tawatpun, J., Panunampa, S. & Srichan, S. (2015). Diversity of Ferns and Fern allies at Romklao-Paradon Waterfall, Phuhin Rongkla National Park, Phitsanulok Province. *SDU. Res. J.* 8(3), 47–60.
- Raharivelomanana, P., Ho, R., Teai, T. & Meybeck, A. (2013). Skin UV-protective effect of *Microsorium grossum* extract on human dermal fibroblast. *Planta Medica.* 79(13). DOI:10.1055/s-0033-1351844 .
- Sautour, M., Canon, F., Miyamoto, T., Dongmo, A. & Lacaille-Dubois, M-A. (2008). A new ecdysteroid and other constituents from two *Dioscorea* species. *Biochem System Ecol.* 36, 559–563.
- Schneider, H.H., Smith, A.R., Cranfill, R., Hildebrand, T.J., Haufler, H.C. & Ranker, T.A. (2004). Unraveling the phylogeny of polygrammoid ferns (Polypodiaceae and Grammitidaceae): exploring aspects of the diversification of epiphytic plants. *Mol. Phylogenet. Evo.* 31, 1041–1063.
- Snogan, E. Isabelle, V.-L., HO, R., Bertho, G., Girault, J.P., Ortiga, S., Maria, A. & Lafont, R. (2007). Ecdysteroids from the medicinal fern *Microsorium scolopendria* (Burm. f.) Copel. *Phytochem. Anal.* 18(5), 441–450.
- Tagawa, M. & Iwatsuki, K. (1989). Pteridophytes In Smitinand, T., and Larsen K. (eds), *Flora of Thailand*, 3(4). Bangkok: Phonphan Printing Company, Limited.
- The Plant List. (2013). *A working list of all plant species*. Version 1.1. Retrieved May 26, 2014, from <http://www.theplantlist.org/>
- Wang, W.J., Yang, H.M. & Chen, Y.G. (2013). Chemical composition of the essential oil of *Microsorium insigne*. *Chem. Nat.l Comp.* 49(2), 356–357.
- Yen, K.Y., Yang, L.L., Okuyama, T., Hikino, H. & Takemoto, T. (1974). Screening of Formosan ferns for phytoecdysones. *Chem. Pharm. Bull.* 22, 805–808.

คณะผู้เขียน

ดร.วรางคณา จิตตชุม

โครงการจัดตั้งภาควิชาเคมี คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นางสาวสมนึก พรหมแดง

ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง คณะเกษตร กำแพงแสน

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ดร.น้ำฝน ทองทวี

โครงการจัดตั้งภาควิชาเคมี คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ดร.สหณัฐ เพชรศรี

โครงการจัดตั้งภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

e-mail: faassnps@ku.ac.th

