การตรวจคัดกรองสารกลุ่ม Phytoecdysteroids ใน Microsoroid ferns บางชนิดที่พบในประเทศไทย

Screening of Some Species of Thai Microsoroid ferns for Phytoecdysteroids

วรางคณา จิตตชุ่ม[1], สมนึก พรหมแดง[2], น้ำฝน ทองทวี[1] และ สหณัฐ เพชรศรี[1,*]

[1]คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 73140

[2]ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 73140

Varangkana Jitchum1, Somnuk Promdang[2], Namfon Tongtavee[1] and Sahanat Petchsri[1,*]

[1]Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University 73140, Thailand

[2]Central Laboratory and Greenhouse Complex, Faculty of Agricultural Kamphaeng Saen, Kasetsart University 73140, Thailand

บทคัดย่อ

ผลการตรวจวิเคราะห์หาสารกลุ่ม Phytoecdysteroids (PEs) ด้วยวิธีการทางโครมาโทรกราฟีด้วยเทคนิค 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. membraneceum นั้นไม่สามารถนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ได้ ทั้งนี้อาจด้วยในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างนั้นสารสกัดจากเฟิร์นชนิดนี้ไม่ละลายในตัวทำละลายที่ใช้ในระบบ อนึ่ง ผลการวิจัยยังพบว่าไม่สามารถใช้ความแตกต่างของสารกลุ่ม PEs ที่พบในพืชเพื่อการจำแนกพืชกลุ่มนี้ในระดับสกุลได้ โดยตัวอย่างอ้างอิง (voucher specimen) ของพรรณไม้ที่ใช้ศึกษานั้นเก็บรักษาไว้ ณ ห้องปฏิบัติการพฤกษศาสตร์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะ ศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ 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 their ferns in the genus level. The voucher specimen 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 ทำให้พัฒนาการของแมลงหยุดชะงักและไม่สามารถเจริญเติบโตได้ครบวงชีพ จึงนับว่าเป็นสารมีศักยภาพในการใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชจนได้รับการขนานนามว่า “anti-herbivore” (Makka et al., 2002) หากแต่สารกลุ่มนี้กลับไม่เป็นพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Dinan & Lafont, 2006) โดยสารกลุ่มนี้ถูกค้นพบขึ้นเป็นครั้งแรกในพืชในปี ค.ศ. 1966 จากนั้นก็มีผู้ศึกษาเรื่อยมาจนสามารถค้นพบสารกลุ่มนี้ได้มากกว่า 450 ecdysteroid analogs และปัจจุบันก็ยังมีความพยายามศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับสารกลุ่มนี้อย่างต่อเนื่อง อาทิเช่น มีความพยายามสกัดสารกลุ่มนี้จากพืชบางชนิด เช่น Spinacia oleracea L. Chenopodium quinoa Willd. และ Dioscorea dumentorum (Kunth) Pax มาเพื่อใช้ประโยชน์ในการดูแลรักษาพืชเศรษฐกิจ (Sautour et al., 2008; Laekeman & Vlietinck, 2013) ตลอดจนได้มีผู้พยายามนำสารเหล่านี้ไปใช้ในปริมาณน้อยเพื่อเพิ่มผลผลิตในการเพาะเลี้ยงหนอนไหม ผึ้ง และสัตว์น้ำ เช่น กุ้งชนิดต่างๆ เป็นต้น (Dinan, 2001) นอกจากนี้ยังพบอีกว่ามีการนำสารในกลุ่มนี้ไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์และเภสัชวิทยา ซึ่งมีรายงานว่าสาร PEs สามารถช่วยเพิ่มระดับการสังเคราะห์โปรตีน เพิ่มมัดกล้ามเนื้อและ

น้ำหนักตัว และความทนทานของร่างกายในสัตว์จำพวก หนู สัตว์ฟันแทะ แกะ นก สุกรและมนุษย์ และช่วยในการสมานแผลของผิวหนังและกระดูก ป้องกันการหลุดร่วงของเส้นผมและช่วยให้ผิวหนังสามารถทนทานต่อรังสีจากแสงแดดได้ดีขึ้น (Báthori, 2002; Dinan, 2009; Raharivelomanana, Ho, Teai, & Meybeck, 2013) อีกทั้งยังสามารถช่วยลดระดับของน้ำตาลและ hyperglycaemia ในหนูที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงได้ดีอีกด้วย (Kizelsztein, 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 ปอดอักเสบ ปวดท้อง ท้องร่วงและอาการอ่อนเพลีย รวมทั้งใช้ประคบรักษาแผลจากน้ำร้อนลวก โรคปวดข้อ หนองในตกขาว ปวดทับระดูและประจำเดือนมาไม่ปกติหรือใช้รักษาอาการโพรงจมูกอักเสบและแก้พิษจากการรับประทานปลาบางชนิด เมื่อนำเฟิร์นที่มีสรรพคุณทางยาเหล่านี้มาศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่ามีสารในกลุ่ม 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 Microsorum Neocheiropteris Podosorus และ Phymatosorus (Tagawa & Iwatsuki, 1989) แต่กลับไม่พบรายงานฉบับใดๆ ในประเทศไทยที่กล่าวถึงการนำเฟิร์นเหล่านี้มาใช้ประโยชน์ทางสมุนไพรหรือพฤกษเคมี นอกจากนี้เฟิร์นกลุ่มนี้ยังจัดว่ามีสถานะทางอนุกรมวิธานที่ไม่ชัดเจนและเป็นที่ถกเถียงกันของนักอนุกรมวิธานเนื่องจากพบว่าเฟิร์นกลุ่ม Microsoroid ferns โดยเฉพาะสกุล Microsorum Link นั้นเป็น polyphyletic group (Schneider et al., 2004; Kreier et al., 2008; Petchsri & Boonkerd, 2014) และยังจำเป็นต้องหาหลักฐานใหม่ๆ นอกเหนือจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา อาทิ หลักฐานด้านสารประกอบทางเคมีในพืชแต่ละชนิด มาสนับสนุนทฤษฎีในการจำแนกเฟิร์นกลุ่มนี้ต่อไป จึงเป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งว่าเฟิร์นเหล่านี้ที่พบในประเทศไทยจะมีชนิดใดบ้างที่เป็นแหล่ง (Source) ของสารกลุ่ม PEs ซึ่งเป็นสารที่สามารถในไปประยุกต์ใช้ได้อย่างกว้างขวางทั้งในทางการแพทย์ เภสัชวิทยาและเกษตรกรรมดังได้กล่าวไว้ข้างต้นแล้วนั้น อันจะนำไปสู่การศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติมในการต่อยอดสกัดสาร

เหล่านี้จากแหล่งทรัพยากรชีวภาพภายในประเทศมาใช้ให้เกิดประโยชน์และเพิ่มมูลค่าในทางอุตสาหกรรมอาหารเสริมและเวชสำอางต่อไปในอนาคต

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 และน้ำยาอาบตัวอย่างพืชกันแมลง

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 ต้องกรองผ่านเยื่อกรองไนลอนขนาด 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 ตรวจเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง อาทิ Petchsri et al. (2015) และ Tagawa & Iwatsuki (1989) รวมทั้งขอเข้าศึกษาตัวอย่างพรรณไม้แห้งที่เก็บรักษาไว้ ณ พิพิธภัณฑ์พืชและหอพรรณไม้ต่างๆ ของประเทศ เพื่อทราบถึงจำนวนชนิดของพรรณไม้ การกระจายพันธุ์และแหล่งที่อยู่ที่เคยมีการรายงานไว้ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน โดยในการศึกษาครั้งนี้จะมุ่งเน้นเฉพาะเฟิร์นในกลุ่ม Microsoroid ferns บางชนิดที่พบในพื้นที่ป่าธรรมชาติทางภาคเหนือประเทศไทยเท่านั้น ไม่รวมพรรณไม้นำเข้าเพื่อจุดประสงค์ในการใช้เป็นไม้ประดับ

2.2 สำรวจและเก็บตัวอย่างเฟิร์นกลุ่ม 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 คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกของพรรณไม้ประกอบกับเอกสารวิชาการและคู่มือการจัดจำแนกชนิดพรรณไม้ที่เกี่ยวข้อง (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 ต่อไปจึงนำสารละลายที่ได้ทั้งหมดมากรองแยกกากแล้วนำไประเหยแห้งเพื่อกำจัดเอทานอล 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 เฟสเคลื่อนที่จะพาสารแต่ละชนิดออกจากคอลัมน์ผ่านเครื่องตรวจวัด UV – Vis detector และแสดงผลออกมาในรูปโครมาโตแกรม (Phromatogram) ที่ประกอบด้วยพีค (Peak) ของสารองค์ประกอบต่างๆ ที่มีอยู่ในสารตัวอย่างนั้น

มีการศึกษาการปรับอัตราส่วนของ สารละลายผสมของอะซีโตไนไตรล์ : โพรเพน-2-ออล (ปรับอัตราส่วนโดยปริมาตร) และ 0.1% กรดไตรฟลูโอโรอะซีติกในน้ำ (ปรับอัตราส่วนโดยปริมาตร) เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมของตัวทำละลายเคลื่อนที่ (Mobile phase) สำหรับการวิเคราะห์แบบเดี่ยว (Isocratic mode) ในการวิเคราะห์แยกองค์ประกอบของสารในตัวอย่างสารสกัดหยาบจากเฟิร์นด้วยเทคนิค HPLC

2.6 สรุปจำนวนชนิดของสารที่พบในพรรณไม้แต่ละชนิดเพื่อหาชนิดพืชที่เป็นแหล่งที่ดีของสาร PEs

ผลการวิจัย

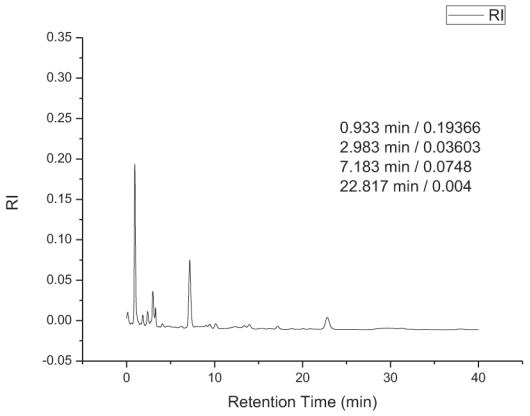
จากผลการตรวจเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้องและการเข้าศึกษาตัวอย่างพรรณไม้แห้ง (Herbarium specimen) ของเฟิร์นกลุ่ม Microsoroid ferns ที่เก็บรักษาไว้ ณ หอพรรณไม้ กรมอุทยานสัตว์ป่าและพันธุ์พืช (BKF) และพิพิธภัณฑ์พืชศาสตราจารย์กสิน ศุวตะพันธุ์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (BCU) พบว่ามีพรรณไม้ในสกุลนี้กระจายตัวอย่างในเขตพื้นที่ป่าอนุรักษ์ทางภาคเหนือของประเทศไทยหลายสกุลหลายชนิดด้วยกัน 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

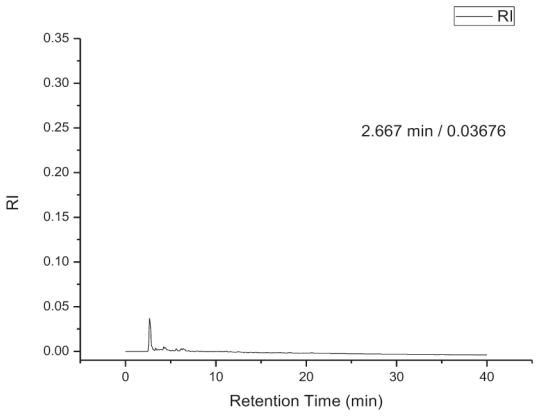
ลำดับที่	ชื่อวิทยาศาสตร์	แหล่งที่พบ	ตัวอย่างอ้างอิง	ส่วนพืชที่ใช้	สารประกอบที่	Retention time (min)	RI	ระดับสัญญาณ
1.	Microsorum insigne (Blume) Copel.	พิษณุโลก	PHST 1	ใบ	C1	0.936	0.19366	●●●
					C3	2.983	0.03603	●●
					C8	7.183	0.07480	●●
					C10	22.817	0.00400	●
				เหง้า	-	-	-	-
2.	M. membranaceum (D.Don) Ching	พิษณุโลก	PHST 2	ใบ	-	-	-	-
				เหง้า	-	-	-	-
3.	M. punctatum (L.) Copel.	เชียงใหม่	PHST 3	ใบ	C4	3.283	0.24112	●●●
					C7	6.167	0.05310	●●
					C9	9.167	0.02949	●●
				เหง้า	-	-	-	-
4.	M. superficiale (Blume) Ching	เชียงใหม่	PHST 4	ใบ	C7	6.233	0.01607	●●
				เหง้า	-	-	-	-
5.	Phymatosorus cuspidatus (D.Don) Pic.Serm.	เชียงใหม่	PHST 5	ใบ	C5	4.217	0.06303	●●
				เหง้า	-	-	-	-
6.	P. scolopendria (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	-	-	-	-
7.	Neocheiropteris normalis (D.Don) Tagawa	พิษณุโลก	PHST 7	ใบ	C2	2.667	0.03676	●●
				เหง้า	-	-	-	-

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

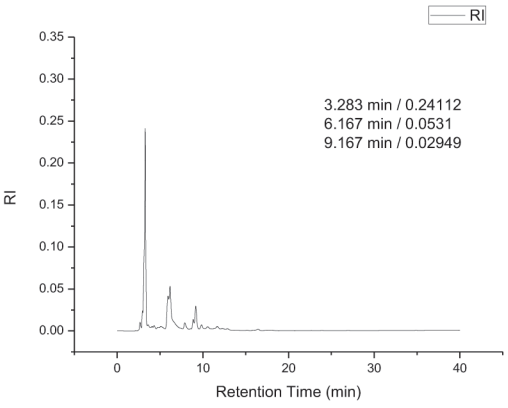
และเมื่อใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายและนำสารสกัดหยาบที่ได้จากตัวอย่างเฟิร์นไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง โครมาโทกราฟฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) พบว่าไม่สามารถตรวจพบสาร PEs จากตัวอย่างของ M. membranaceum (D.Don) Ching ได้ทั้งในสารสกัดหยาบจากใบและเหง้า ส่วนตัวอย่างพืชที่เหลือชนิดอื่นๆ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



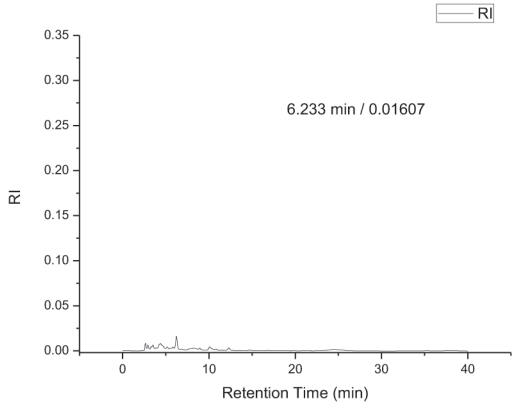
M. insigne (Blume) Copel.



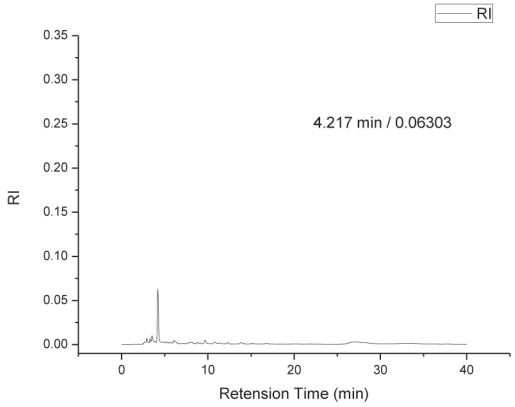
N. normalis (D.Don) Tagawa



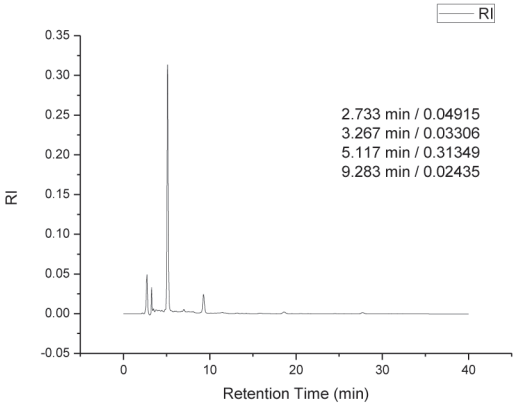
M. punctatum (L.) Copel.



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	*M. insigne*	ใบเดี่ยว ขอบเว้าลึก	●●●
2.	C2	*N. normalis* *P. scolopendria*	ใบเดี่ยว ขอบเรียบ ใบเดี่ยว ขอบเว้าลึก	●● ●●
3.	C3	*M. insigne*	ใบเดี่ยว ขอบเว้าลึก	●●
4.	C4	*M. punctatum* *P. scolopendria*	ใบเดี่ยว ขอบเรียบ ใบเดี่ยว ขอบเว้าลึก	●●● ●●
5.	C5	*P. cuspidatus*	ใบประกอบ	●●
6.	C6	*P. scolopendria*	ใบเดี่ยว ขอบเว้าลึก	●●●
7.	C7	*M. punctatum* *M. superficiale*	ใบเดี่ยว ขอบเรียบ ใบเดี่ยว ขอบเรียบ	●● ●●
8.	C8	*M. insigne*	ใบเดี่ยว ขอบเว้าลึก	●●
9.	C9	*M. punctatum* *P. scolopendria*	ใบเดี่ยว ขอบเรียบ ใบเดี่ยว ขอบเว้าลึก	●● ●●
10.	C10	*M. insigne*	ใบเดี่ยว ขอบเว้าลึก	●

หมายเหตุ: ●●● หมายถึงสัญญาณดีมาก ●● หมายถึง สัญญาณดี ● หมายถึง สัญญาณพอใช้

วิจารณ์ผลการวิจัย

1. สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดและวิเคราะห์สาร Phytoecdysteroids (PEs) จากพืช

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

สภาวะที่เหมาะสมของตัวทำละลายเคลื่อนที่ (Mobile phase) สำหรับการวิเคราะห์แบบเดี่ยว (Isocratic mode) ในการวิเคราะห์แยกองค์ประกอบของสารจากตัวอย่างเฟิร์นที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ด้วยเทคนิค HPLC นั้น คือ สารละลายผสมของอะซีโตไนไตล์ : โพรเพน-2-ออล (5:2, โดยปริมาตร) และ 0.1% กรดไตรฟลูโอโรอะซีติกในน้ำ (20:80, โดยปริมาตร) ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Snogan et al. (2007) แต่อย่างไรก็ตาม แม้ว่าจะเพิ่มจำนวนตัวอย่างจาก 0.2 กิโลกรัม เป็น 0.3 กิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) ก็ยังไม่สามารถสกัดและแยกสาร PEs จากตัวอย่างของ M. membranaceum ได้ ซึ่งในงานวิจัยก่อนหน้าก็พบรายงานว่าไม่สามารถสกัดสารจาก 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 เลยในการศึกษาครั้งนี้ 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 และP. cuspidatus พบสารในกลุ่ม PEs เพียงชนิดพืชละ 1 ชนิดสาร (ตารางที่ 1) ทั้งนี้เนื่องจากตัวอย่างใบที่เก็บได้ของ M. membranaceum เป็นใบที่เริ่มร่วงโรย มีสีเหลือง เป็นใบที่พืชสลัดทิ้งขณะกำลังเข้าสู่ระยะพักตัว (Dormancy) สำหรับหลีกเลี่ยงสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต เช่น การย่างเข้าสู่ฤดูแล้ง ไม่ใช่ใบที่มีสีเขียวสดอย่างเฟิร์นชนิดอื่นๆ กอปรกับสภาพของใบพืชที่พบและเก็บรวบรวมได้นั้นมีร่องรอยการกัดกินจากแมลงศัตรูพืชอย่างเห็นได้ชัด จึงอาจเป็นไปได้ว่าสารสำคัญใน

กลุ่ม PEs ในใบพืชนั้นได้สลายไปหมดแล้วจึงไม่สามารถสกัดจากตัวอย่างที่เก็บมาได้ หรืออาจเป็นเพราะระบบที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ไม่สามารถสกัดสารที่อยู่ในใบพืชออกมาได้ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปในอนาคตเพราะเป็นที่น่าสังเกตว่าหากสามารถเก็บตัวอย่างสดของพืชมาได้ก็น่าจะพบสารกลุ่ม PEs บางชนิดได้ในเฟิร์นชนิดนี้ แต่อย่างไรก็ตามดังที่ได้กล่าวข้างต้นแล้วว่าเคยมีการรายงานไว้ก่อนเช่นกันว่าไม่สามารถสกัดสาร PEs จากเฟิร์นในสกุล Microsorum บางชนิดได้ (Yen et al., 1974) ด้วยเหตุนี้จึงเป็นไปได้ที่เฟิร์นชนิดนี้จะไม่มีสารกลุ่ม PEs อยู่แล้วตามปกติในธรรมชาติ

สำหรับเฟิร์นชนิด P. scolopendria ที่พบสารในกลุ่ม PEs ถึง 4 ชนิด อันได้แก่ ชนิด C2 C4 C6 และ C9 (ตารางที่ 1) โดยสาร PEs ชนิด C6 นั้นพบในเฟิร์นชนิดนี้ชนิดเดียวไม่พบในเฟิร์นชนิดอื่นๆ ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ จึงนับได้ว่า P. scolopendria นั้นเป็นแหล่งที่สำคัญของสารกลุ่ม PEs ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Snogan et al. (2007) ที่ศึกษาสาร PEs ของเฟิร์นชนิดนี้ที่พบในเขตโพลีนีเซียซึ่งได้กล่าวว่าเฟิร์นชนิด P. scolopendria นี้เป็นแหล่งที่ดีของสารกลุ่ม PEs เนื่องจากพบสารต่างๆ จำนวนมากถึง 11 ชนิดสารด้วยกัน แต่อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าสนใจว่าแม้จะเป็นพืชชนิดเดียวกันแต่กลับพบชนิดสารจำนวนไม่เท่ากัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะพืชที่นำมาศึกษานั้นขึ้นอยู่ในสภาพแวดล้อมและภูมิประเทศแตกต่างกันอย่างสิ้นเชิงจึงน่าจะเป็นเหตุผลที่ทำให้มีจำนวนสารในกลุ่ม PEs แตกต่างกัน รวมทั้งยังพบรายงานว่าระดับของสาร Phytoecdysteroids ที่พบในพืชชนิดเดียวกันจะแตกต่างกันตามระยะในวงชีพ เช่น อาจมีสารเพิ่มมาขึ้นโดยเฉพาะในช่วงที่มีที่พัฒนาของส่วนสืบพันธุ์หรือช่วงที่มีการติดดอกติดผล (Dian, 1995)

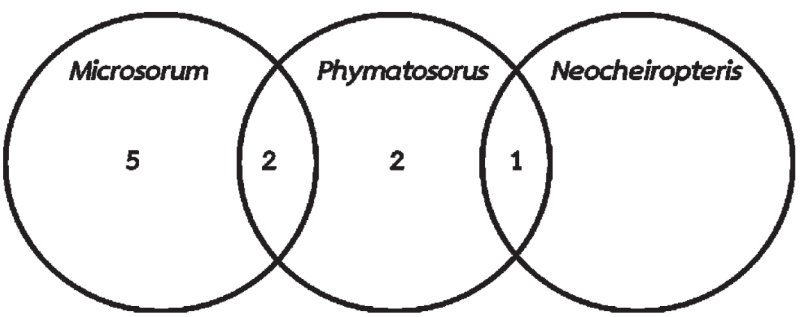
นอกจากนี้ยังพบอีกว่าเฟิร์นชนิด M. insigne ก็นับเป็นพืชที่ที่น่าสนใจอีกชนิดหนึ่งเนื่องจากพบสาร PEs ในเฟิร์นชนิดนี้ถึง 4 ชนิด ได้แก่ สารชนิด C1 C3 C8 และ C10 (ตารางที่ 1) ซึ่งเป็นชนิดที่ไม่พบในเฟิร์นชนิดอื่นๆ ที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้เลย จึงนับได้ว่า M. insigne นั้นเป็นแหล่งที่ดีมากของสารกลุ่ม PEs เช่นกัน สอดคล้องกับรายงานในปี ค.ศ. 2013 ของ Wang yang & Chen ที่กล่าวว่าเฟิร์นชนิดนี้นิยมในมาใช้รักษาในแพทย์แผนโบราณของชนพื้นเมืองในเขตตอนใต้ของประเทศจีนและทั่วไปในพื้นที่แถบอุษาคเนย์และมีสารที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีอยู่ในน้ำมันหอมระเหย (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 ที่พบในพืชเหล่านี้น่าจะอยู่ในกลุ่มของ ecdysone, 20-hydroxyecdysone, inokosterone, makisterone A, makisterone C และ Poststerone เป็นส่วน

ใหญ่เนื่องจากสารเหล่านี้เป็นสาร PEs ที่สามารถพบได้บ่อย (Common ecdysteroids) ในเฟิร์นกลุ่มนี้ (Lafont, et al., 2002; Snogan, et al., 2007)

3. การจำแนกพืชในระดับสกุลด้วยความแตกต่างของสาร phytoecdysteroids (PEs) ที่พบ

แม้ว่าปัจจุบันจะมีการใช้ความแตกต่างของสารพฤกษเคมีที่พบในพืชเพื่อการจำแนกกลุ่มพืชในระดับชั้นต่างๆ 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) แต่กลับพบชนิดสารเหมือนกัน 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 สามารถจัดกลุ่มสารที่สำคัญด้วยตำแหน่งสัญญาณที่ปรากฏในโครมาโตรแกรม (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 เนื่องจากมีการสำรวจพบสารกลุ่ม ecdysteroids ในปริมาณสูงในสารสกัดหยาบของพืชแต่ละชนิด ทั้งนี้ยังจำเป็นต้องมีการสกัดสารบริสุทธ์และวิเคราะห์ด้วยเทคนิค NMR เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ชัดเจนและนำมาใช้ประโยชน์ได้ต่อไป อย่างไรก็ตามพบว่าไม่สามารถใช้สาร PEs ที่พบด้วยวิธีการสกัดดังแสดงข้างต้นในการจัดแจกแนกเฟิร์นกลุ่มนี้ในระดับสกุลได้

ข้อเสนอแนะ

1. การระบุชนิดของสารกลุ่ม PEs ที่พบในการทดลองครั้งนี้ด้วยเทคนิควิธีต่างๆ เพื่อความสะดวกในการนำทรัพยากรความหลากหลายทางชีวภาพในธรรมชาติมาใช้ประโยชน์ต่อไปในอนาคต

2. ควรมีการพัฒนาวิธีการสกัดสารกลุ่ม PEs ที่พบจากพืชกลุ่มนี้ให้มีความบริสุทธิ์มากขึ้นเพื่อการนำไปพัฒนาสู่กระบวนการผลิตในระดับอุตสาหกรรมด้วยงบลงทุนที่เหมาะสม

3. ควรมีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่ม PEs ที่พบจากพืชกลุ่มนี้และศึกษาเพื่อเติมด้านการออกฤทธ์ทางชีวภาพและทางการแพทย์สำหรับชนิดพืชที่มีแนวโน้มต่อไป

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 mammalians, isolation and analysis. Mini Rev. Med. Chem. 2(3), 285–93.

Boonkerd, T., Vajrabhaya, M., Treratn, 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 Microsorum 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 Microsorum 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 Microsorum (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 Microsorum membranifolium (Polypodiaceae) Fronds. Molecules. 17, 11598–11606.

Ho, R., Teail, T., Meybeck, A. & Raharivelomanana, P. (2015). UV-protective effects of phytoecdysteroids from Microsorum grossum extracts on human dermal fibroblasts. Nat. Prod. Commun. 10(1), 33–36.

Kizelsztein, 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. Endocrino.l 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, ID. (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., Fujuwara, 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 Microsorum 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 Microsorum 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 Microsorum 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 Microsorum 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.สหณัฐ เพชรศรี

โครงการจัดตั้งภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
e-mail: faassnps@ku.ac.th

นางสาวสมนึก พรหมแดง

ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง คณะเกษตร กำแพงแสน
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ดร.น้ำฝน ทองทวี

โครงการจัดตั้งภาควิชาเคมี คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ดร.วรางคณา จิตตชุ่ม

โครงการจัดตั้งภาควิชาเคมี คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์