วารสารวิจัยนิเวศวิทยาป่าไม้เมืองไทย 4 (2): 1-16 (2563)

นิพนธ์ต้นฉบับ

พฤกษเคมีเชิงนิเวศของพืชสมุนไพรพังแหร วงศ์กัญชา ในพื้นที่กลุ่มป่าภูเมี่ยง-ภูทอง ประเทศไทย

อัปสรสวรรค์ ใจบุญ[1], กีรติ ตันเรือน[1,2], พิสิษฐ์ พูลประเสริฐ[2] ภรภัทร สำอางค์[3], มานพ ผู้พัฒน์[4],
กุสุมา ภูมิคอนสาร[5], วิชัย สันติมาลีวรกุล[6] และทิวธวัฒ นาพิรุณ[1,2*]

รับต้นฉบับ: 13 พฤษภาคม 2563 ฉบับแก้ไข: 17 กรกฎาคม 2563 รับลงพิมพ์: 22 กรกฎาคม 2563

บทคัดย่อ

พังแหร (*Trema orientalis*) พืชในวงศ์กัญชาที่มีเขตการกระจายพันธุ์กว้างขวางในเขตร้อนของเอเชีย สำหรับในประเทศไทยพบพังแหรพบได้หลากหลายถิ่นอาศัย ทุกส่วนของพืชมีการใช้เป็นพืชสมุนไพรเกี่ยวกับการรักษาการติดเชื้อ วัตถุประสงค์การศึกษาวิจัยนี้เพื่อเปรียบเทียบรูปแบบทางเคมีของสารสกัดส่วนใบ เปลือกต้น ช่อดอกและช่อผล ภายใน 5 ถิ่นอาศัย ได้แก่ ป่าดิบเขา ป่าผสมผลัดใบ ป่าสนเขา ชายป่าและพื้นที่เสื่อมโทรม และพื้นที่เกษตรกรรมบริเวณกลุ่มป่าภูเมี่ยง-ภูทอง ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (TLC) และแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) สารสกัดส่วน lipophilic extracts ของทุกส่วนที่ศึกษานำมาใช้ตรวจสอบลักษณะทางเคมีด้วยเทคนิค TLC โดยระบบตัวทำละลาย เฮกเซน : เอทิล อะซิเตต สัดส่วน 8 : 2 ร้อยละโดยปริมาตร และตรวจสอบการเรืองแสงด้วย UV ที่ความยาวคลื่น 254 และ 365 นาโนเมตร สำหรับการตรวจสอบด้วยเทคนิค HPLC ใช้ระบบตัวทำละลาย เมทานอล : สารละลายบัฟเฟอร์ สัดส่วน 60 : 40 ร้อยละโดยปริมาตร ที่ระดับความยาวคลื่น 230 นาโนเมตร ผลจากเทคนิค TLC แสดงแถบสารเดี่ยวแยกจากกัน และค่า Rf ซึ่งให้ผลบวกกับการทดสอบสารกลุ่มเทอร์พีนอยด์ สารประกอบฟีนอลิก คูมาริน และสเตอรอล ซึ่งใช้เป็นข้อมูลสำหรับวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงนิเวศ การตรวจสอบด้วยเทคนิค HPLC ปริมาณความเข้มข้นในการตรวจสอบ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในทุกตัวอย่างแสดงตำแหน่งการปรากฏของสารหรือกลุ่มสารเด่นพร้อมค่าการดูดกลืนแสง UV ช่วงเวลาที่พีคเด่นปรากฏ เมื่อมีการทำซ้ำแล้วพบว่าพีคเด่นของสารสกัดใบปรากฏ ณ ช่วงเวลา 2.73 และ 27.24 นาที ส่วนสารสกัดเปลือกต้นพีคเด่นของสารปรากฏ ณ ช่วงเวลา 2.76, 23.18, 25.89 และ 29.57 นาที สำหรับสารสกัดส่วนช่อดอกและช่อผลพีคเด่นปรากฏ ณ ช่วงเวลา 2.78, 26.73, 27.60 และ 29.40 นาที ตามลำดับ ในการศึกษาครั้งนี้พบว่ารูปแบบทางเคมีของสารสกัดชี้ให้เห็นการสะสมของสารบางชนิดในปริมาณสูงในส่วนต่าง ๆของพืชจากถิ่นอาศัยที่เป็นบริเวณขอบป่า พื้นที่เสื่อมโทรม ถูกรบกวน และพื้นที่เกษตรกรรม ซึ่งมีประโยชน์เพื่อเป็นแนวทางการเลือกแยกสารออกฤทธิ์จากพังแหรได้ ความสัมพันธ์กับถิ่นอาศัยที่แตกต่างกันด้วยเทคนิค PCA พบว่ารูปแบบทางเคมีของสารสกัดแต่ละส่วนของพืชแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มสารสกัดส่วนใบ และกลุ่มสารสกัดส่วนเปลือกต้นกับส่วนช่อดอกและช่อผล ทั้งสองกลุ่มมีสารสำคัญและค่า Rf แตกต่างกัน

คำสำคัญ: เทคโนโลยีชีวภาพ, ความหลากหลายทางพฤกษเคมี, พืชวงศ์กัญชา, นิเวศวิทยาป่าไม้

[1]สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม พิษณุโลก 65000
[2]สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม พิษณุโลก 65000
[3]สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม พิษณุโลก 65000
[4]หอพรรณไม้ กลุ่มงานพฤกษศาสตร์ป่าไม้ กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช กรุงเพมหานคร 10900
[5]สำนักบริหารพื้นที่อนุรักษ์ที่ 11 (พิษณุโลก) กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช พิษณุโลก 65000
[6]ภาควิชาเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร นครปฐม 73000
***ผู้รับผิดชอบบทความ**: E-mail: napiroont@gmail.com.

วารสารวิจัยนิเวศวิทยาป่าไม้เมืองไทย 4 (2): 1-16 (2563)

ORIGINAL ARTICLE

Ecological phytochemistry of medicinal *Trema orientalis* (L.) Blume (Cannabaceae) in Phu Meang-Phu Thong forest group of Thailand

Apsonsawan Jaiboon[1], Keerati Tanruean[1,2], Pisit Poolprasert[2], Pornpat Sam-ang[3], Manop Poopath[4], Kusuma Phumkhonsarn[5], Wichai Santimaleeworagun[6] and Tiwtawat Napiroon[1,2*]

Received: 13 May 2020 Revised: 17 July 2020 Accepted: 22 July 2020

ABSTRACT

Trema orientalis (L.) Blume in family Cannabaceae is wildly distributed in the tropical regions. In Thailand, these plants were found in various habitats, all plant parts were used as traditional medicine in the treatment of infection. The purpose of our work was to compare the chemical profiles among similar plant part extracts from five different ecological habitats includes hill evergreen forest, mixed deciduous forest, coniferous forest, edge and disturbed forest and agricultural areas at the Phu Meang-Phu Thong forest complex using TLC and HPLC chromatographic techniques. The lipophilic extracts of all plant parts were analyzed for chemical characters with TLC, mobile phase (hexane : ethyl acetate, 8:2 v/v) and UV illuminated detection (wavelength 254 and 365 nm). HPLC, mobile phase consisted in a solvent system, 60% v/v methanol in 40% v/v aqueous buffer, wavelength 230 nm. TLC analysis showed single band separation and Rf values measurement at the positive results of terpenoids, phenolic compounds, coumarins and sterols. For quantitative HPLC, each plant part extract (10 mg/mL) showed signals appearing of UV detection nearly or at the same position, as same as their UV absorbance values in each dominant compound. The retention time period of dominant peak was repeatability in all replication with retention time in average of leaf extracts at 2.73 and 27.24 min, stem bark extracts at 2.76, 23.18, 25.89 and 29.57 min and the inflorescence and infructescence extracts at 2.78, 26.73, 27.60 and 29.40 min respectively. Moreover, our results also showed the chemical pattern compounds that tend to accumulate highly in each plants part of disturbed and agricultural habitat which are useful to guide the bioactive compound isolation from *T. orientalis*. For habitat relationships, the chemical profiles in each plants part extracts from different ecological habitats were classified in 2 groups which consisted of leaf extracts and stem bark together with inflorescence and infructescence extracts which related to compounds appearing and Rf value factors analyzed by PCA analysis.

Keywords: Biotechnology, Chemodiversity, Cannabaceae, Forest ecology

[1] Biotechnology major, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok province 65000.

[2] Biology major, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok province 65000

[3] Chemistry major, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok province 65000

[4] The Forest Herbarium, Forest Botany division, Department of National Parks Wildlife and Plant conservation, Bangkok 10900

[5] Protected Area Regional Office 11, Department of National Parks Wildlife and Plant conservation, Phitsanulok province 6500

[6] Department of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Nakhon Pathom 73000

***Corresponding author**: napiroont@gmail.com

บทนำ

พังแหร (*Trema orientalis* (L.) Blume) พืชในวงศ์กัญชา (Cannabaceae) มีเขตการกระจายพันธุ์ในเขตร้อนและกึ่งเขตร้อน ตั้งแต่แอฟริกา เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และออสเตรเลีย ในประเทศไทยพบตามป่าผสมผลัดใบ ป่าดิบแล้ง ป่าดิบชื้น ป่าดิบเขา พื้นที่เสื่อมโทรม และพื้นที่เกษตรกรรม หากพิจารณาด้านความ หลากหลายทางชีวภาพของสังคมพืชจากการแบ่งพื้นที่กลุ่มป่าทางบก (forest complex) พบว่ากลุ่มป่าทางภาคเหนือเป็นกลุ่มป่าที่มีระดับความสำคัญมากของประเทศ ในแง่ของความสามารถในการรักษาความหลากหลายของประเภทสังคมพืช (Pongpattananurak, 2014) จากข้อมูลดังกล่าว ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาพังแหรที่กระจายพันธุ์อยู่ในพื้นที่กลุ่มป่าภูเมี่ยง-ภูทอง เนื่องจากเป็นจุดกึ่งกลางในการแบ่งกลุ่มป่าระหว่างกลุ่มป่าทางภาคเหนือและกลุ่มป่าทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่มีความหลากหลายของประเภทสังคมพืชสูง

ปัจจุบันสถานภาพทางอนุกรมวิธานของพังแหรตามการจัดจำแนกด้วยระบบ APG IV ซึ่งใช้ทั้งความสัมพันธ์ของลักษณะทางสัณฐานวิทยาและข้อมูลชีววิทยาระดับโมเลกุล พังแหรเป็นพืชชนิดหนึ่งในวงศ์กัญชา ซึ่งประกอบด้วยพรรณพืชทั้งหมดจำนวน 10 สกุล (Haston *et al*., 2009) หลายสกุลในวงศ์นี้มี ความสำคัญทางเศรษฐกิจ อาหาร และสมบัติของสารสำคัญในการพัฒนายารักษาโรค (Kostic *et al*., 2008; Marks *et al*., 2009) ลักษณะเด่นของพืชคือส่วนของลำต้นและกิ่งมีช่องอากาศ (lenticels) เป็นแถบนูนกระจายทั่วลำต้นและกิ่งเห็นเด่นชัด ใบเดี่ยว เรียงสลับระนาบเดียว ดอกแยกเพศร่วมต้น สีเขียวอ่อน ช่อดอกเพศผู้และช่อดอกเพศเมียแต่ละช่อมีดอกจำนวนมาก ยอดเกสรเพศเมียแยกเป็น 2 แฉกชัดเจน ผลแบบผนังชั้นในแข็ง รูปทรงกลม ผลสุกมีสีดำ ออกดอกและเป็นผลช่วงเดือนมีนาคมถึงกันยายน (Sungkeaw, 2019) ข้อมูลทางชีววิทยาระดับโมเลกุลนั้น มีรายงานว่าพืชสกุลพังแหรมีความสัมพันธ์มาจากชาติพันธุ์เดียวกัน (monophyly) กับพืชวงศ์กัญชา โดยความสัมพันธ์ของสกุลกัญชา (*Cannabis*) และสกุลพังแหร (*Trema*) มีความเป็นกลุ่มพี่น้อง (sister group) หรือกลุ่มที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน อย่างไรก็ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยเฉพาะลักษณะใบในวงศ์ดังกล่าวมีความแปรผันสูงและมีลักษณะที่พัฒนาขึ้นมาร่วมกันน้อย (synamorphy) จึงจำเป็นต้องใช้ข้อมูลอื่น ๆ เข้ามาสนับสนุนในระบบอนุกรมวิธาน (Zhang *et al*., 2018)

การใช้ประโยชน์ด้านสมุนไพรและพฤกษศาสตร์พื้นบ้านของพังแหรในเขตร้อนทั้งในแอฟริกาและเอเชียจากรายงานการทบทวนด้านการใช้ประโยชน์ทางยาของ Adinortey *et al*. (2013) พบว่าแต่ละส่วนของพืชมีการใช้ที่แตกต่างกัน เช่น ส่วนของใบใช้ผสมกับน้ำมะนาวเพื่อดื่มบรรเทาอาการไอ (cough) หลอดลมอักเสบ (bronchitis) ภาวะปอดบวมและเยื่อหุ้มปอดอักเสบจากการติดเชื้อ (pneumonia and pleurisy) ส่วนรากใช้ห้ามเลือด และอาการปวดท้อง ส่วนเปลือกลำต้นใช้ต้มดื่มช่วยลดไข้ (reduced fevers) ช่อดอกและช่อผลใช้ชงดื่มบรรเทาอาการไอ หลอดลมอักเสบ และภาวะปอดติดเชื้อในเด็ก (Zhang *et al*., 2018) ในประเทศไทยมีรายงานการใช้ประโยชน์ทุกส่วนของพืชเป็นสมุนไพรในการ

รักษาอาการไข้ และรักษาการติดเชื้อเป็นสำคัญ (Chuakul, 2009; Chantaraphol *et al*., 2014; Pumthong and Neamsuwan, 2015) สารสำคัญของพังแหรที่เป็นสารเด่นเกี่ยวข้องกับการรักษาการติดเชื้อในแต่ละส่วนของพืช คือ ส่วนใบมีส่วนประกอบของสารทรีมาทอล (trematol) แทนนิน (tannins) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นต้น (Accra, 1992) ส่วนเปลือกต้นมีส่วนประกอบของสารสโคโปเลติน (scopoletin) ทรีมาทอล (trematol) สเวอร์โรไซด์ (sweroside) เป็นต้น (Ogunkoya *et al*., 1977; Tchamo *et al*., 2000) ส่วนรากพบสารเบต้า-ซิโตสเตอรอล (β-sitosterol) เป็นต้น (Dijoux-Franca *et al*., 2001; Noungoue *et al*., 2001) สำหรับพิษวิทยาของสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของพังแหร Srisuk *et al*. (2014) ศึกษาสารสกัดหยาบส่วนเปลือกต้นพบว่าสามารถยับยั้งการผลิตสารพรอสตาแกลนดิน (Prostaglandins) ที่ก่อให้เกิดการอักเสบของเซลล์แมคโครฟาจ (Macrophage) ได้ และไม่เป็นพิษต่อเซลล์มนุษย์ สารสกัดเฉพาะส่วนใบใช้เกี่ยวกับการรักษาโรคหลอดลมอักเสบติดเชื้อ หนองในซึ่งมีสาเหตุมาจากแบคทีเรียก่อโรค และสารสกัดส่วนเปลือกต้นให้ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดปอดติดเชื้อ (Rout *et al*., 2012)

จึงเห็นได้ว่าพังแหรเป็นหนึ่งในพืชสมุนไพรกลุ่มไม้ต้นในวงศ์กัญชาที่มีความน่าสนใจเกี่ยวกับการรักษาโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย การศึกษาทางพฤกษเคมีและรูปแบบทางเคมีของพืชจึงเป็นพื้นฐานสำคัญในการกำหนดทิศทางการพัฒนาต่อยอดพืชสมุนไพรดังกล่าว ซึ่งยังไม่มีการศึกษามาก่อน ผู้วิจัยได้เล็งเห็นถึงความสำคัญดังกล่าวจึงได้ศึกษาเปรียบเทียบรูปแบบทางเคมีในแต่ละส่วนของพังแหรที่มีการกระจายพันธุ์หรือตั้งตัวได้ในแต่ละถิ่นอาศัยในพื้นที่ตัวแทนที่มีความหลากหลายของประเภทสังคมพืชสูง เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการคัดเลือกพืชสมุนไพรและแหล่งพืชสมุนไพรไทย อันนำไปสู่การจัดทำข้อมูลมาตรฐานทางสมุนไพรไทยต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างและการระบุชนิดพืช

สำรวจและเก็บตัวอย่างพังแหรในพื้นที่กลุ่มป่าภูเมี่ยง-ภูทอง ทั้งในพื้นที่ป่าดิบเขา ป่าผสมผลัดใบ ป่าสนเขา ชายป่าและพื้นที่เสื่อมโทรม และพื้นที่เกษตรกรรมข้างเคียง แล้วตรวจสอบข้อมูลการกระจายพันธุ์และนิเวศวิทยาของพืชจากตัวอย่างพรรณไม้รักษาสภาพที่เก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์ของประเทศไทยที่ขึ้นทะเบียนไว้ใน Index Herbarium สุ่มเก็บตัวอย่างในแต่ละประเภทพื้นที่ตั้งแต่เดือนมีนาคมถึงกันยายน พ.ศ. 2562 ซึ่งเป็นช่วงเดือนที่มีความถี่ในการพบช่อดอกและช่อผลที่สมบูรณ์มากที่สุดตามการตรวจเอกสาร ข้อมูลตัวอย่างพรรณไม้รักษาสภาพ และจากการออกสำรวจภาคสนาม ตามระยะเวลาการขออนุญาตเข้าศึกษาวิจัยในพื้นที่ โดยมีอุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้าเป็นตัวแทนสังคมพืชของแต่ละชนิดป่าในกลุ่มป่าดังกล่าว สำหรับพื้นที่ประเภทชายป่า พื้นที่เสื่อมโทรมและพื้นที่เกษตรกรรมใกล้เคียงได้สุ่มเก็บกระจายในทุกพื้นที่ของกลุ่มป่าที่มีการพบตัวอย่างพืช โดยแบ่งเป็นตัวอย่างแต่ละส่วนของพืชตามน้ำหนักแห้ง ได้แก่ ใบพืชที่สมบูรณ์ไม่มีโรคและแมลง เปลือกต้นสีน้ำตาลอมเขียวจากกิ่งหรือต้นที่มีเส้น

รอบวง 10-15 เซนติเมตร ส่วนละ 300 กรัม ช่อดอกและช่อผลรวมกัน 200 กรัมตามลำดับ แล้วบันทึกข้อมูลทางภูมิศาสตร์ นิเวศวิทยา ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืช เพื่อนำมาประกอบการระบุชนิด ตามรูปวิธานของ Phuphathanaphong (2015) ตัวอย่างพืชที่นำมาศึกษาจัดทำเป็นตัวอย่างพรรณไม้รักษาสภาพ (herbarium specimens) ทั้งตัวอย่างพรรณไม้แห้งและตัวอย่างดองในส่วนของช่อดอกและช่อผลในเอทิลแอลกอฮอล์ (70% ethanol) ประกอบข้อมูลการระบุชนิดและเป็นตัวอย่างอ้างอิงในการศึกษา

2. การเตรียมสารสกัดพืชด้วยวิธีการสกัดแบบแบ่งส่วน (Partition extraction)

เลือกใช้ส่วนใบสีเขียวสมบูรณ์ไม่อ่อนหรือแก่เกินไปที่ไม่มีโรคและแมลง รวมทั้งเปลือกต้นสีน้ำตาลอมเขียวจากลำต้นหรือกิ่งที่มีเส้นรอบวง 10-15 เซนติเมตร ช่อดอกและช่อผลของพังแหร มาตากให้แห้งในที่ร่ม บนกระดาษเยื่อบางที่สามารถระบายอากาศได้ดีจนแห้งสนิท นำไปบดด้วยเครื่องบดไฟฟ้าให้ละเอียด ผงที่ได้จำนวน 300 กรัมของน้ำหนักแห้งของส่วนใบและเปลือกต้น และจำนวน 200 กรัมของน้ำหนักแห้งของช่อดอกและช่อผล แล้วนำไปแช่ในเมทานอลปริมาตร 500 มิลลิลิตรในขวดแก้วเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 7-10 วัน นำมากรองเอาเฉพาะส่วนสารละลายด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารละลายที่กรองได้มาทำให้แห้ง ด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบลดความดัน (rotary evaporator) ได้สารสกัดหยาบ (crude extract) แยกชั้นสารสกัดหยาบนี้ด้วยกรวยแยกสารขนาด 500 มิลลิลิตร โดยใช้สมบัติการละลายของสารในน้ำกลั่นและตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม ปริมาตรตัวทำละลายชนิดละ 200 มิลลิลิตร ได้เป็นส่วนของสารสกัดที่ละลายในน้ำกลั่น (hydrophilic extract) และส่วนที่ละลายในตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม (lipophilic extract) โดยใช้เวลาพักสารตัวทำละลายให้เกิดการแบ่งชั้นในกรวยแยกเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นจึงนำเฉพาะสารสกัดในส่วน lipophilic extract มาระเหยจนแห้ง ชั่งน้ำหนักแล้วเติม methanol ในอัตราส่วนสารสกัด 0.1 กรัมต่อเมทานอล 1 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชาทึบแสงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำสารสกัดส่วนนี้มาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค chromatography ต่อไป

3. การตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี

โครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (Thin Layer Chromatography: TLC) ใช้แผ่น TLC ที่เคลือบด้วย silica gel 60F254 ความหนา 0.2-0.5 มิลลิเมตร ขนาด 20 × 20 เซนติเมตร ของบริษัท Merck กับระบบตัวทำละลาย (solvent system) ที่เหมาะสม คือ hexane : ethyl acetate ในอัตราส่วน 8:2 และ 7:3 (ทิวธวัฒ และคณะ, 2556) ระยะทางที่สารสกัดเคลื่อนที่ 18 เซนติเมตร วิเคราะห์กลุ่มสารต่าง ๆ จากการตรวจสารเรืองแสง และปฏิกิริยาการเกิดสี (colour detection) ด้วยน้ำยาพ่นแบบเฉพาะเจาะจง (specific reagents) ของ (Merck, 1980) ตรวจสารกลุ่ม terpenoids ด้วย anisaldehyde sulfuric acid reagent ตรวจสารกลุ่ม alkaloids ด้วย Dragendorff's reagent ตรวจสารกลุ่ม phenolic compounds ด้วย Vanillin sulfuric acid reagent ตรวจสอบสารกลุ่ม Coumarin ด้วย 10% NaOH in ethanol ตรวจสอบสารกลุ่ม Sterols ด้วยสารละลาย Bismuth chloride และตรวจสอบ

สารเรืองแสงภายใต้แสง UV ที่ระดับความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร และ 365 นาโนเมตร แล้วคำนวณหาค่า Rf ของแถบสารแต่ละชนิดที่ให้ผลการทดสอบเป็นบวก (positive test) ตามวิธีการแปล ผลการทดสอบทางพฤกษเคมีของ (Merck, 1980) บนแผ่น TLC ด้วยสูตร การคำนวณ

Relative front (Rf) = ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ / ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่

โครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography: HPLC) เตรียมตัวอย่างสารสกัดส่วน lipophilic extract ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายใน methanol (HPLC grade) ปริมาณ 1 มิลลิลิตร แล้วกรองด้วย syringe filter nylon ขนาด 0.45 ไมโครเมตร ลงในขวดสีชาขนาดเล็ก (vial) สำหรับการตรวจสอบด้วยเทคนิค HPLC โดยใช้ระบบตัวทำละลาย ช่วงเวลา และการเตรียมการวิเคราะห์ ดังนี้ HPLC technology ของ PerkinElmer (Flexar series) ที่สามารถตรวจสอบด้วยแสงยูวี UV photodiode array detector ที่ระดับความยาวคลื่น 230, 254, 360 นาโนเมตรได้ โดยใช้คอลัมน์ที่มีคุณสมบัติ reversed phase BDS hypersil C18 (Thermoscientific) ขนาดคอลัมน์ 250 x 4.6 มิลลิเมตร กำหนดปริมาณการฉีดสารตัวอย่างเข้าเครื่อง 20 ไมโครลิตร ด้วยอัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ใช้เวลาในการตรวจสอบทั้งหมด 30 นาทีต่อ ตัวอย่างด้วยระบบตัวทำละลาย methanol gradient 60-100% (HPLC grade, Merck) ในสารละลายบัฟเฟอร์ (aqueous buffer) ที่มีส่วนผสมระหว่าง tetrabutyl ammonium hydroxide ความเข้มข้น 0.15 โมลาร์ และ ortho-phosphoric acid ความเข้มข้น 0.015 โมลาร์ แล้วปรับค่า pH เท่ากับ 3 จากนั้นดูรูปแบบของโครมาโทแกรม แล้วบันทึกค่า Retention time (Rt) หน่วยวัดเป็นนาที (min) หมายถึงเวลาที่สารหรือกลุ่มสารปรากฏในแต่ละตัวอย่างทดสอบ (Napiroon *et al*., 2018)

4. การศึกษาความสัมพันธ์กับถิ่นอาศัยด้วยการวิเคราะห์แบบจัดกลุ่ม (Cluster analysis)

การวิเคราะห์การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของลักษณะนิเวศวิทยาถิ่นอาศัยและลักษณะทางเคมีของพังแหรในบริเวณพื้นที่กลุ่มป่าภูเมี่ยง-ภูทองด้วยวิธี cluster analysis เป็นวิธีวิเคราะห์สถิติแบบหลายตัวแปร (multivariate statistical analysis; MSA) โดยจำแนกและแสดงลักษณะการจัดกลุ่มของถิ่นอาศัยที่พังแหรสามารถกระจายพันธุ์และตั้งตัวได้และการปรากฏของสารสำคัญจากสารสกัดส่วนต่าง ๆ ของพืช โดยมีพื้นฐานการคำนวณและการเปรียบเทียบจากค่า Bray-Curtis similarity index ของประชากรพังแหรที่พบในแต่ละถิ่นอาศัยในพื้นที่กลุ่มป่า ก่อนการคำนวณข้อมูลบางค่าได้ปรับข้อมูลให้อยู่ในรูปแบบเดียวกันด้วยการแปลงข้อมูลให้อยู่ในรูป log (x+1) เพื่อให้ข้อมูลมีการกระจายที่เท่าเทียมกันโดยแสดงผลการวิเคราะห์ในรูปแบบของแผนภาพต้นไม้ (dendrogram) ซึ่งมีระดับการจัดกลุ่มแบบ hierarchical clustering ด้วยค่า Bray-Curtis similarity ที่ระดับต่าง ๆ กันแล้ววิเคราะห์ความสัมพันธ์ ของลักษณะทางเคมีของสารสกัดพังแหรแต่ละส่วนกับนิเวศวิทยาถิ่นอาศัยประเภทต่าง ๆ ในพื้นที่กลุ่มป่าภูเมี่ยง-ภูทอง ตามวิธีการ

วิเคราะห์ canonical correspondence analysis (CCA) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป PC-ORD Version 5 (MjM Software Design, USA)

ผลการวิจัย

1. ความหลากชนิดและการระบุชนิดพังแหร

จากการสำรวจและสุ่มเก็บรวบรวมตัวอย่างพืชสมุนไพรพังแหรในพื้นที่แต่ละประเภทของกลุ่มป่าภูเมี่ยง-ภูทอง ตั้งแต่เดือนมีนาคมถึงกันยายน พ.ศ. 2562 พบว่ามีการปรากฏของพังแหรในประเภทพื้นที่ และถิ่นอาศัยต่าง ๆ โดยมีการเก็บตัวอย่างพืชและจัดทำตัวอย่างพรรณไม้รักษาสภาพ ทั้งตัวอย่างพรรณไม้แห้งและตัวอย่างดอง (ช่อดอกและช่อผล) สำหรับการใช้อ้างอิงในการศึกษาทางพฤกษเคมี จำนวน 9 หมายเลขตัวอย่าง (Table 1) โดยพบว่าพืชสมุนไพรพังแหรสามารถตั้งตัวและกระจายพันธุ์ได้ดีในพื้นที่หลากหลายทั้งในป่าธรรมชาติหรือป่าอนุรักษ์ ได้แก่ ป่าดิบเขา ป่าสนเขา และป่าเต็งรัง ซึ่งชนิดป่าดังกล่าวมีความโดดเด่นและมีพื้นที่ครอบคลุมมากที่สุดของกลุ่มป่าภูเมี่ยง-ภูทอง จากการสำรวจยังพบว่าพังแหรมีลักษณะของการเป็นพรรณไม้เบิกนำ (pioneer species) ตามธรรมชาติในพื้นที่เปิดโล่ง ช่องว่างของป่า ร่องน้ำหรือริมลำธาร หรือบริเวณแนวกันไฟ นอกจากนี้พังแหรยังสามารถตั้งตัวและกระจายพันธุ์ได้ดีตามพื้นที่ชายป่า และพื้นที่เสื่อมโทรมหรือพื้นที่ปลูกป่าฟื้นฟูซึ่งมีลักษณะเป็นพื้นที่โล่งและทุ่งหญ้าได้ดี รวมถึงพื้นที่เกษตรกรรมข้างเคียง ได้แก่ สวนผลไม้ แปลงผัก ไร่มันสำปะหลัง และไร่ข้าวโพด

สำหรับกระบวนการทางอนุกรมวิธานเพื่อการระบุชนิดนั้น พบว่ามีพืชในสกุลพังแหร (*Trema*) สอง ชนิดที่มีลักษณะ คล้ายกัน แต่เมื่อพิจารณาจากลักษณะจุลสัณฐานวิทยาของพืชในส่วนของสิ่งปกคลุมแผ่นใบด้านล่างด้านท้องใบพบว่ามีความแตกต่างกัน (Figure 1) ซึ่งจากลักษณะทางจุลสัณฐานวิทยาดังกล่าวสามารถสร้างรูปวิธานเปรียบเทียบความแตกต่างของทั้งสองชนิดโดยใช้ข้อมูลจากตัวอย่างพืชที่สำรวจ ตัวอย่างพรรณไม้แห้ง ประกอบกับข้อมูลรูปวิธานการระบุชนิดของ Phuphathanaphong (2015) ใน Flora of Thailand ดังนี้

รูปวิธานระบุชนิดของพืชสกุลพังแหรที่ศึกษา (*Trema orientalis*) และชนิดใกล้เคียง

1. กิ่งอ่อนและก้านใบมีขนสั้นนุ่มสีน้ำตาลอมเทาปกคลุม หูใบรูปหอกแกมรูปแถบ ยาว 5-10 มิลลิเมตร

2. แผ่นใบด้านล่างมีขนยาว ยาว 0.5-1 เซนติเมตร สลับกับขนสั้นหยิก ยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร ปกคลุมหนาแน่นทั่วแผ่นใบ

Trema orientalis

2. แผ่นใบด้านล่างมีขนสั้น ยาวน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.5 เซนติเมตร ปกคลุมกระจายทั่วแผ่นใบ

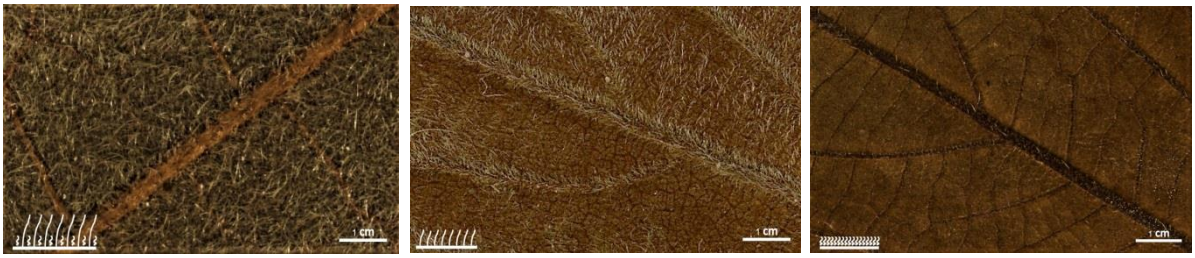
Trema tomentosa

1. กิ่งอ่อนและก้านใบมีขนหยาบแข็งปกคลุมหนาแน่น หูใบรูปเส้นด้าย ยาว 3-5 มิลลิเมตร

Trema augustifolia

Table 1 Areas and habitats of *T. orientalis* at the Phu Meang-Phu Thong forest group were collected leaf, stem bark, inflorescence and infructescence in during March to September, 2019.

Areas	Habitats	Mean above Sea Level (m)	Collector No.
Hill Evergreen Forest	Exposed areas	1,500-1,600	Jaiboon & Chaipalee 006
Mixed deciduous forest	Exposed areas	500-700	Jaiboon & Chaipalee 003
Coniferous forest	Exposed areas	900-1,000	Jaiboon & Chaipalee 015
Edge and disturbed forest	Exposed areas	1,200-1,300	Jaiboon & Chaipalee 002
	Grasslands	800-900	Jaiboon & Chaipalee 008
Agricultural areas			
	Fruit orchard	400-500	Jaiboon & Chaipalee 007
	Vegetable plot	100-200	Jaiboon & Chaipalee 001
	Cassava plantation	200-300	Jaiboon & Chaipalee 019
	Maize plantation	200-300	Jaiboon & Chaipalee 040



(A) ***Trema orientalis*** **(B)** ***Trema tomentosa*** **(C)** ***Trema augustifolia***

Figure 1 Indumentum characters on abaxial leaf surface: (A) Long hairs and short crisped hairs (collector no. Jaiboon & Chaipalee 006); (B) Erect hairs (collector no. Larsen *et al*. 31089, BKF); (C) Tomentose (collector no. Th. Wongprasert 997-120, BKF)..

2. รูปแบบทางเคมีของสารสกัดส่วน lipophilic extracts ของพังแหรในแต่ละถิ่นอาศัย

2.1 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ

ผลการวิเคราะห์ทางพฤกษเคมีของสารสกัด lipophilic extracts ในแต่ละส่วนของพืชที่ในแต่ละประเภทพื้นที่ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี 2 แบบ คือ โครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (TLC) ซึ่งได้ทำการตรวจสอบกลุ่มสารสำคัญ (major compounds screening) ด้วยน้ำยาพ่นแบบเฉพาะเจาะจง และแปลผลการตรวจสอบเชิงคุณภาพแล้วนั้น พบว่าส่วนของพืชที่แตกต่างกันมีรูปแบบของลักษณะทางเคมี

หรือรูปแบบการปรากฏของสารแตกต่างกัน แต่ลักษณะหรือรูปแบบดังกล่าวของพืชในส่วนเดียวกันไม่มีความแตกต่างกัน กล่าวคือ สารสกัดส่วนใบจากตัวแทนทั้ง 5 ประชากร มีการตรวจพบสารสำคัญและให้ผลการทดสอบเป็นบวก (positive test) กับสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิก และเทอร์พีนอยด์ แต่ไม่พบสารสำคัญในกลุ่มแอลคาลอยด์ คูมาริน และสเตอรอล ในขณะที่เปลือกต้นตรวจพบสารสำคัญและให้ผลการทดสอบเป็นบวกกับกลุ่มฟีนอลิก เทอร์พีนอยด์ และคูมาริน แต่ไม่พบสารสำคัญในกลุ่มแอลคาลอยด์ และกลุ่มสเตอรอล ส่วนของช่อดอกช่อผลตรวจสอบพบสารสเตอรอล ซึ่งไม่พบในส่วนอื่นของพืชในการศึกษานี้ สำหรับการแปลผล การทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสีด้วยน้ำยาพ่นแบบเฉพาะเจาะจงกับแถบกลุ่มสาร (band) ที่แยกออกจากกัน เป็นแถบเดี่ยว (Single band) บนแผ่น TLC ที่ค่า Rf values ต่างๆกันและให้ผลการทดสอบเป็นบวก (Table 2)

2.2 การวิเคราะห์เชิงปริมาณ

สำหรับการตรวจวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ให้ผลของรูปแบบโครมาโทแกรมของสารสกัด lipophilic extracts ของพืชในแต่ละประเภทถิ่นอาศัยไม่แตกต่างกันในส่วนเดียวกันของพืช (Figure 2) แต่พบว่าในปริมาณการตรวจสอบที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรทุกตัวอย่างประชากร มีปริมาณความเข้มข้นของสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบเด่นในสารสกัดแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบ ณ ค่าช่วงเวลาตรวจสอบเดียวกัน (retention time) ซึ่งให้ผลค่าความเข้มข้นการดูดกลืนแสงของสาร (intensity of absorbance) ในหน่วย mAU (milli-Absorbance Units) ที่แสดงถึงปริมาณความเข้มข้นที่สารหรือกลุ่มสารนั้นเป็นองค์ประกอบอยู่ในสารสกัด พบว่าส่วนของสารสกัดใบในประชากรที่ 4 ที่มีถิ่นอาศัยบริเวณชายป่าและพื้นที่เสื่อมโทรม และประชากรที่ 5 ที่มีถิ่นอาศัยบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมมีปริมาณสารสูงสุดที่เป็นพีคเด่น ณ ช่วงเวลา 2.732 นาที ส่วนพีคเด่น ณ เวลา 27.245 นาที ประชากรที่ 1 ที่มีถิ่นอาศัยบริเวณป่าดิบเขา ประชากรที่ 4 ที่ มีถิ่นอาศัยบริเวณชายป่าและพื้นที่เสื่อมโทรม และประชากร ที่ 5 ที่มีถิ่นอาศัยบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมมีปริมาณสารไม่แตกต่างกัน สำหรับสารสกัดส่วนเปลือกต้น ผลการตรวจวิเคราะห์พบการปรากฏของพีคเด่นจำนวน 4 พีค โดยสารสกัดตัวแทนประชากรที่ 5 ที่มีถิ่นอาศัยเป็นพื้นที่เกษตรกรรม พบปริมาณสารสูงที่สุด ณ ช่วงเวลา 2.764 ตัวแทนประชากรที่ 4 ที่มีถิ่นอาศัยบริเวณชายป่าและพื้นที่เสื่อมโทรมมีปริมาณสาร ณ ช่วงเวลา 25.891 และ 29.576 ตามลำดับส่วนพีคเด่น ณ เวลา 23.18 สารสกัดจากตัวแทนประชากรที่ 1 ที่มีถิ่นอาศัยบริเวณป่าดิบเขา และประชากรที่ 5 ที่มีถิ่นอาศัยบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมแสดงปริมาณสารสูงสุด ในส่วนของสารสกัดช่อดอกและช่อผลพบว่า ตัวแทนประชากรที่ 5 ที่มีถิ่นอาศัยบริเวณพื้นที่เกษตรกรรมมีปริมาณสารสูงสุด ณ ช่วงเวลา 2.782 และ 26.737 นาที ส่วนพีคเด่น ณ ช่วงเวลา 27.607 และ 29.429 นาที ตัวแทนประชากรที่ 4 จากพื้นที่ชายป่าและพื้นที่เสื่อมโทรมแสดงผลการตรวจพบสารมีปริมาณสูงสุด (Figure 3)

Table 2 Major secondary metabolites found in plant parts lipophilic extracts of *T. orientalis*

Plant samples	Major secondary metabolites				
	Alkaloids	**Terpenoids**	**Phenolic compounds**	**Coumarins**	**Sterols**
Population 1	-	L, STB, INF	L, STB, INF	STB, INF	INF
Population 2	-	L, STB, INF	L, STB, INF	STB, INF	INF
Population 3	-	L, STB, INF	L, STB, INF	STB, INF	INF
Population 4	-	L, STB, INF	L, STB, INF	STB, INF	INF
Population 5	-	L, STB, INF	L, STB, INF	STB, INF	INF

Notes: Population 1 = Plant samples from Hill Evergreen Forest, Population 2 = Plant samples from Mixed deciduous forest, Population 3 = Plant samples from Coniferous forest, Population 4 = Edge and disturbed forest, Population 5 = Agricultural areas. Plant part lipophilic extracts: L = Leaf lipophilic extracts, STB = Stem bark lipophilic extracts, INF = Inflorescence and Infructescence lipophilic extracts.

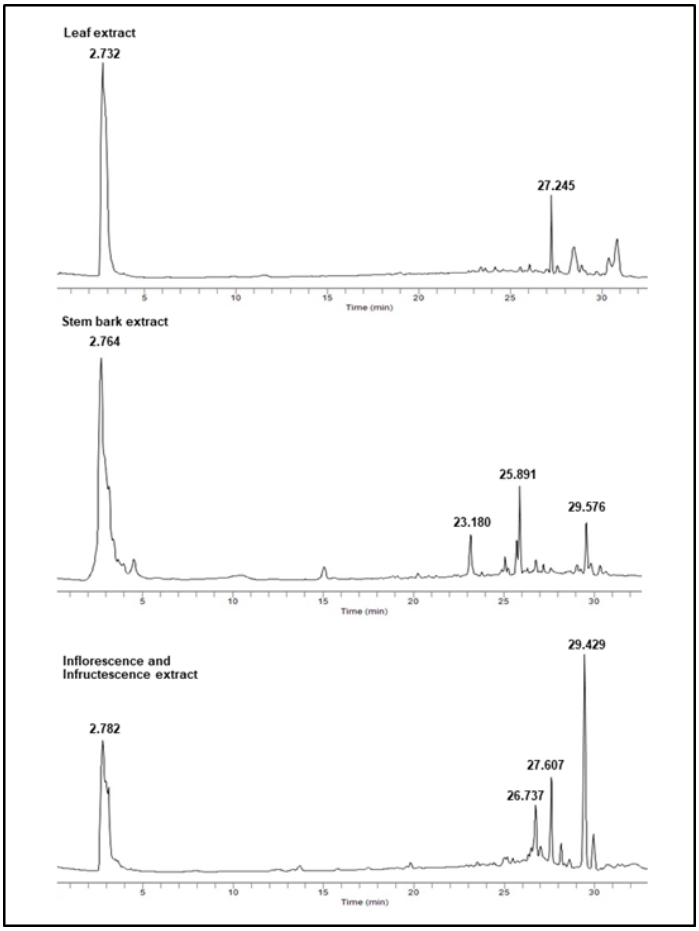


Figure 2 HPLC chromatograms in each plant part lipophilic extracts of *T. orientalis* at different retention times.

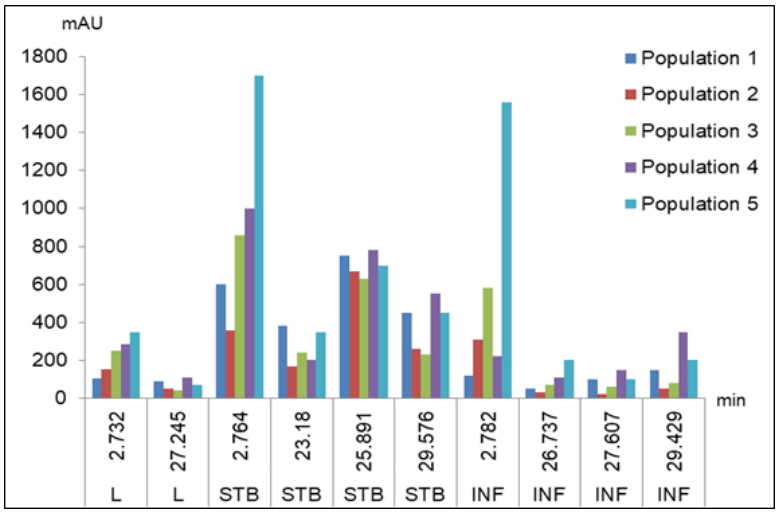


Figure 3 The comparison of retention times (min) and intensity of absorbance (mAU) in plant parts lipophilic extracts (10 mg/mL concentration) from different habitats.

3. รูปแบบสารเคมีของพืชในแต่ละถิ่นอาศัย

การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางเคมีที่ปรากฏเป็นแถบเดี่ยว (single band) ในแต่ละค่า Rf บนแผ่น TLC โดยใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) เฮกเซน : เอทิลอะซิเตต ในสัดส่วนร้อยละโดยปริมาตร 7:3 และให้ผลการทดสอบเป็นบวกกับน้ำยาพ่นแบบเฉพาะเจาะจงของสารสกัดส่วนต่าง ๆ ของพืชในแต่ละถิ่นอาศัย ด้วยวิธี cluster analysis ของ Bray-Curtis พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มความคล้ายคลึงได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยลักษณะทางเคมีของสารสกัดส่วนใบทั้ง 5 ประเภทถิ่นอาศัย โดยมีความคล้ายคลึงกัน 90% ในขณะที่กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยลักษณะทางเคมีของสารสกัดส่วนเปลือกต้น ช่อดอกและช่อผลของแต่ละประชากรทั้ง 5 ถิ่นอาศัย ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยได้อีก 2 กลุ่ม คือ กลุ่มย่อยสารสกัดจากส่วนเปลือกต้น และกลุ่มย่อยสารสกัดจากส่วนช่อดอกและช่อผล โดยกลุ่มที่ 2 มีลักษณะทางเคมีของกลุ่มสารแตกต่างจากกลุ่มที่ 1 ประมาณ 75% หรือมีความคล้ายคลึงกันประมาณ 25% (Figure 4)

สำหรับผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงนิเวศระหว่างลักษณะทางเคมีของกลุ่มสารสำคัญทางพฤกษเคมีกับส่วนต่าง ๆ ของพืชในแต่ละถิ่นอาศัย ด้วยวิธี canonical correspondence analysis (CCA) นั้นพบว่าลักษณะทางเคมีของสารสกัดส่วนใบในทุกประเภทถิ่นอาศัยมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันจากการปรากฏลักษณะทางเคมีที่ค่า Rf เดียวกัน และผลการทดสอบกลุ่มสารสำคัญเป็นบวกเหมือนกัน แต่พบว่าไม่มีการปรากฏของสารสำคัญกลุ่มคูมารินและสเตอรอล สำหรับสารสกัดส่วนลำต้นนั้นพบว่ามีความสัมพันธ์ของลักษณะทางเคมีที่ค่า Rf ของแถบสารเดี่ยว ที่ให้ผลบวกกับการทดสอบสารสำคัญกลุ่มคูมารินคล้ายกับส่วนของลำต้นบางส่วน โดยเฉพาะที่ค่า Rf เท่ากับ 3.72, 6.63, 10.80, 11.60 และ 13.40 ในขณะที่สารสกัดส่วนช่อดอกและช่อผลในทุกตัวอย่างประชากร จากแต่

ละประเภทถิ่นอาศัยให้ผลบวกกับการทดสอบกลุ่มสารสเตอรอล แต่ไม่พบในสารสกัดส่วนอื่นของพืชในการศึกษานี้ ซึ่งแสดงในรูปของการวิเคราะห์ ordination analysis (Figure 5)

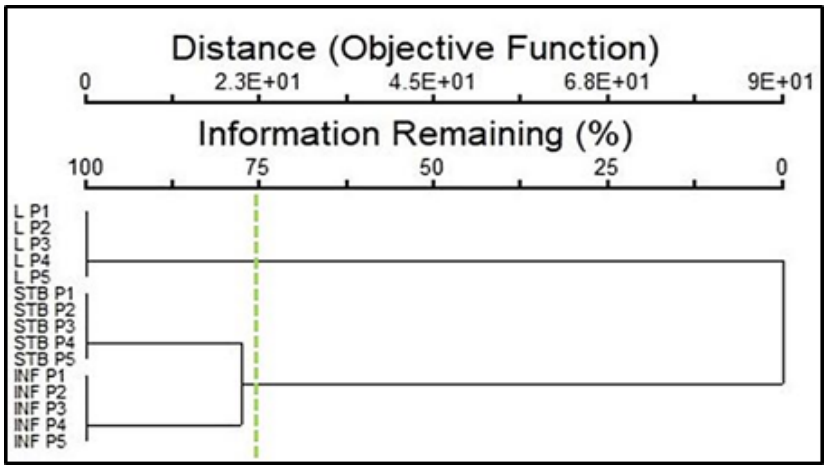


Figure 4 Cluster analysis dendrogram based on similarity of Rf values of secondary metabolites positive test and plant sample in each habitat, L= Leaf extracts, STB = Stem bark extracts, INF = Inflorescence and Infructescence extracts.

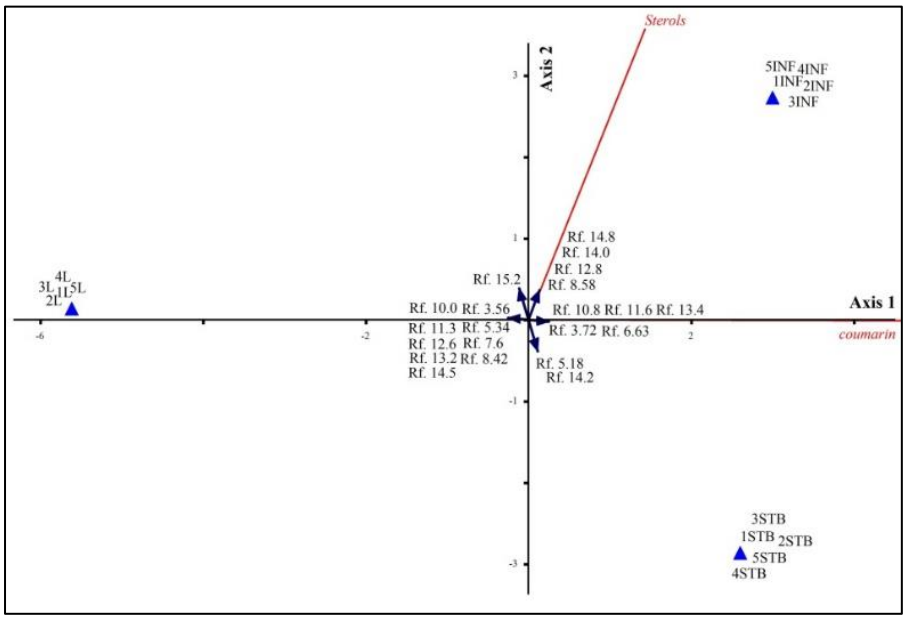


Figure 5 Ordination analysis by Canonical Correspondent Analysis (CCA) method of Rf values of secondary metabolites positive test and plant sample in each habitat, L= Leaf extracts, STB = Stem bark extracts, INF = Inflorescence and Infructescence extracts. The number in front of abbreviation alphabets that means to the habitat of population, 1 = Hill Evergreen Forest, 2 = Mixed deciduous forest, 3 = Coniferous forest, 4 = Edge and disturbed forest, 5 = Agricultural areas

วิจารณ์ผล

พังแหรในพื้นที่กลุ่มป่าภูเมี่ยง-ภูทอง สามารถพบการตั้งตัวและการกระจายพันธุ์ได้ทุกพื้นที่ทั้งถิ่นอาศัยในป่าธรรมชาติ และพื้นที่เกษตรกรรมข้างเคียง โดยเฉพาะพื้นที่เปิดโล่งหรือช่องว่างในป่า (gap) เนื่องจากพังแหรมีลักษณะของการเป็นพรรณไม้เบิกนำ (pioneer species) ในธรรมชาติ สอดคล้องกับรายงานการสำรวจสำรวจพืชสมุนไพรที่ใช้รักษาอาการไข้ของ Chantaraphol *et al*. (2014) ที่มีการรายงานการสำรวจพบพืชสมุนไพรพังแหรในสภาพถิ่นอาศัยที่คล้ายคลึงกันกับการสำรวจนี้ นอกจากนี้ Yang *et al.* (2013) และ Zhang *et al* (2018) ได้รายงานศึกษาระบบอนุกรมวิธานเชิงชีววิทยาระดับโมเลกุลของพืชวงศ์กัญชา พบว่าพรรณพืชที่สำรวจและนำมาศึกษาส่วนใหญ่ในวงศ์กัญชา (Cannabaceae) รวมทั้งสกุลพังแหร (*Trema*) มีการกระจายพันธุ์และตั้งตัวได้ดีในถิ่นอาศัยที่หลากหลายของเขตร้อน ในประเทศไทยมีรายงานการพบพืชสกุลพังแหรทั้งหมดจำนวน 5 ชนิด โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อยตามลักษณะสัณฐานวิทยาและลักษณะจุลสัณฐานวิทยา ซึ่งชนิดที่มีลักษณะคล้ายคลึงกันกับพังแหร (*Trema orientalis*) ที่ศึกษาครั้งนี้ คือชนิด *Trema tomentosa* จากการศึกษาวิจัยพบว่าลักษณะทางจุลสัณฐานวิทยาสามารถใช้ในการบ่งบอกความแตกต่างของทั้ง 2 ชนิดได้ และช่วยในการระบุชนิดพืชให้ถูกต้องก่อนนำมาศึกษาทางพฤกษเคมี สำหรับชีพลักษณ์ของพังแหรพบว่าในช่วงเดือนที่ศึกษาพบการออกดอกและเป็นผลของพืชในทุกช่วงเดือน สอดคล้องกับรายงานของ Phuphathanaphong (2015) และ Sungkeaw (2019) ที่รายงานว่าสามารถพบการออกดอกและเป็นผลตลอดทั้งปี

สำหรับการศึกษาทางด้านพฤกษเคมีของสารสกัดส่วน lipophilic extracts ของพังแหรในแต่ละส่วนของพืชที่มีถิ่นอาศัยแตกต่างกัน ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบางให้ผลการตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพของสารสกัดส่วนต่าง ๆ ของพืชจากตัวแทนประชากรแต่ละถิ่นอาศัยด้วยรูปแบบทางเคมีของแถบสารหรือกลุ่มสารที่เป็นแถบเดี่ยวแยกจากกันชัดเจนด้วยค่า Rf และให้ผลการทดสอบเป็นบวกกับน้ำยาพ่นแบบเฉพาะเจาะของกลุ่มสารสำคัญบนแผ่น TLC นั้นแสดงเอกลักษณ์ทางเคมีของสารสกัดส่วนต่าง ๆ อย่างชัดเจน ในขณะที่การตรวจสอบกลุ่มสารสำคัญพบว่าสารสกัดทุกส่วนของพืชตรวจสอบพบสารกลุ่มเทอร์พีนอยด์ และฟีนอลิก แต่ไม่พบสารสำคัญกลุ่มแอลคาลอยด์ คูมาริน และสเตอรอล นอกจากนี้พบว่าคูมารินมีความโดดเด่นและพบมากในเปลือกต้น ช่อดอกและช่อผล ในขณะที่สเตอรอลตรวจพบในช่อดอกและช่อผลเท่านั้น สอดคล้องกับการศึกษาเชิงคุณภาพเกี่ยวกับรูปแบบทางเคมีของพืชอื่นที่มีรายงานเกี่ยวกับความแตกต่างของรูปแบบทางเคมีและเป็นเอกลักษณ์ทางเคมีของพืชจากการศึกษารูปแบบดังกล่าวในแต่ละส่วนของพืชเปรียบเทียบกัน (Napiroon *et al*., 2013) สำหรับการรวมสกัดของส่วนช่อดอกและช่อผลนั้นผู้วิจัยได้สังเกตลักษณะช่อดอกของพังแหรและรายงานทางชีพลักษณะพบว่าในช่อดอกนั้นมีการบานของดอกและการติดผลในลักษณะเป็นช่อดอกผสมแบบช่อกระจุกแยกแขนง (thyrse) ซึ่งหลังการปฏิสนธิจะติดผลที่โคนช่อดอกก่อน ดังนั้นจึงไม่พบช่อใด

ที่เป็นเฉพาะช่อดอกหรือช่อผลโดยสมบูรณ์ทั้งช่อในช่วงสำรวจ จึงต้องอาศัยการเก็บร่วมกันทั้งช่อที่มีดอกและผลเพื่อนำมาสกัด

ในส่วนของผลตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง พบว่ารูปแบบทางเคมีของสารสกัดแต่ละส่วนของพืชในถิ่นอาศัยต่าง ๆ มีรูปแบบการปรากฏของสารเด่นไม่แตกต่างกัน แต่ปริมาณความเข้มข้นการดูดกลืนแสงแต่ละพีคซึ่งแสดงถึงปริมาณความมากน้อยของสารหรือกลุ่มสารที่ยังไม่ทราบชนิดสารนั้นมีความแตกต่างกัน ณ ช่วงเวลาการตรวจสอบเดียวกัน ลักษณะทางเคมีดังกล่าวมีประโยชน์ในการช่วยพยากรณ์เชิงปริมาณและสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดแต่ละส่วนในการนำไปศึกษาต่อยอดการคัดเลือกสารชีวภาพหรือโอกาสในการแยกสารบริสุทธิ์ที่มีปริมาณสูงในพืชสมุนไพรเพื่อนำไปทำการระบุชนิดสารดังกล่าวต่อไป สอดคล้องกับลักษณะการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Napiroon *et al.* (2018) ที่ได้ทำการคัดเลือกแยกสารบริสุทธิ์จากรูปแบบทางเคมีของสารสกัดพืชที่ปรากฏพีคเด่นและมีปริมาณค่าความเข้มข้นการดูดกลืนแสงสูงก่อนนำสารที่แยกได้ไปพิสูจน์โครงสร้างทางเคมีและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นประโยชน์ต่อไป โดยเฉพาะในด้านการพัฒนายาจากสารสำคัญของสมุนไพร

จึงเห็นได้ว่าการศึกษาวิจัยครั้งนี้ชี้ให้เห็นถึงความเกี่ยวข้องของรายงานการใช้ประโยชน์เดิมของพังแหรที่กล่าวถึงส่วนเปลือกต้น ช่อดอกและช่อผลเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพและประโยชน์การรักษาที่ค่อนข้างมาก สอดคล้องการกับการศึกษาของผู้วิจัยที่พบว่าในสารสกัดส่วนเปลือกต้น ช่อดอกและช่อผล มีความหลากหลายของสารหรือกลุ่มสารและมีสารนั้นในปริมาณสูงในทุกตัวแทนประชากรที่ศึกษาในแต่ละถิ่นอาศัยของบริเวณพื้นที่ตัวอย่างกลุ่มป่าภูเมี่ยง-ภูทองซึ่งมีความหลากหลายของสังคมพืชสูง ซึ่งมีโอกาสที่สารสำคัญบางชนิดของพืชโดยเฉพาะในกลุ่มสารเด่นจะมีโอกาสเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับการรักษาการติดเชื้อ

สรุป

ความสัมพันธ์ระหว่างพฤกษเคมีของสารสกัด lipophilic extracts จากส่วนใบ เปลือกต้น ช่อดอกและช่อผลของพังแหรกับถิ่นอาศัยประเภทต่าง ๆ พบว่ารูปแบบและลักษณะทางเคมีของแต่ละส่วนมีความคล้ายคลึงกัน หรือมีกลุ่มสารเด่นที่เป็นเอกลักษณ์ของแต่ละส่วนปรากฏเหมือนกัน แต่มีความแตกต่างในเชิงปริมาณความเข้มข้นของสารซึ่งตรวจวัดได้จากการวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงของสารที่ปรากฏ ณ ช่วงเวลาเดียวกันในแต่ละส่วนของพืช ซึ่งมีประโยชน์ในการพยากรณ์ติดตามสารสำคัญหรือสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีปริมาณสูงในพังแหรเพื่อโอกาสในการแยกสารบริสุทธิ์ และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประโยชน์ต่อไป ภาพรวมข้อมูลชี้ให้เห็นความสัมพันธ์ทางนิเวศวิทยาของพืชที่มีผลต่อความเหมาะสมในการตั้งตัวและการกระจายพันธุ์ของพังแหร ที่ส่วนมากพบประชากรได้มากในพื้นที่เปิดโล่ง ชายป่า หรือพื้นที่เกษตรกรรม และมีการใช้ประโยชน์แบบดั้งเดิมเป็นพืชสมุนไพรที่มีสารสำคัญทางพฤกษเคมีเกี่ยวข้องกับการรักษาการติดเชื้อ และการลดไข้ตลอดจนประโยชน์ในการเป็นฐานข้อมูลสำหรับ

โอกาสในการพัฒนายาและผลิตภัณฑ์จากสารชีวภาพของพังแหรในอนาคตต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนวิจัยมุ่งเป้าประจำปีงบประมาณ 2563 คลัสเตอร์สมุนไพรไทย สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) (สวก.) ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม และสำนักบริหารพื้นที่อนุรักษ์ที่ 11 (พิษณุโลก) ในการอำนวยความสะดวกตลอดการวิจัยให้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

Accra, G. 1992. **Ghana Herbal Pharmacopeia**, The Adventist Press, Ghana.

Adinortey, M. B., I. K. Galyuon and N. O. Asamoah. 2013. *Trema orientalis* Linn. Blume: A potential for prospecting for drugs for various uses. **Pharmacognocy Reviews** 7(13): 67-72.

Chantaraphol, P., S. Thanthian and O. Neamsuwan. 2014. Diversity of Medicinal Plants for Fever Healing from Khao Phanom Benja National Park, Krabi Province. **Khon Kean University Science Journal**42(2): 313-326. (*in Thai*)

Chuakul, W. 2009. Traditional herbs for fever treatments. **Thai Pharmaceutical and Health Science Journal**4(4):435-449. (*in Thai*)

Clarke, K. R. and R.M. Warwick. 1994. **Change in Marine Community: an Approach to Statistical Analysis and Interpretation.** Plymouth Marine Laboratory, Plymouth.

Dijoux-Franca, M. G., T. D. Noungoué, B. Cherel, M. Cussac, E. Tsamo and A. M. Mariotte. 2001. New dihydrophenanthrene and phenyldihydroisocoumarin constituents of *Trema orientalis*. **Journal of Natural Products** 64: 832-835.

Haston, E., J. E. Richardson, P. F. Stevens, M. W. Chase and D. J. Harris. 2009. The Linear Angiosperm Phylogeny Group (LAPG) III: a linear sequence of the families in APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society** 56: 128-131.

Kostic, M., B. Pejic and P. Skundric. 2008. Quality of chemically modified hemp fibres. **Bioresource Technology** 99: 94-99.

Marks, M. D., L. Tian, J. P. Wenger, S. N. Omburo, W. Soto-Fuentes and J. He. Identification of candidate genes affecting D9-tetrahydrocannabinol biosynthesis in *Cannabis sativa*. **Journal of Experimental Botany** 60: 3715-3726.

Merck, E. 1980. **Dyeing Reagents for Thin Layer and Paper Chromatography**, B. Grim Healthcare Co. Ltd., Germany.

Napiroon, T., D. Sookchaloem, S. Vajrodaya and T. Phetkhong. 2013. Taxonomy and Phytochemistry of Terrestrial Aroids (Araceae) in Saiyok National park, Kanchanaburi province. **Thai Journal of Forestry**32:71-84. (*in Thai*)

Napiroon, T., M. Bacher, H. Balslev, K. Tawaitakham, W. Santimaleeworagun and S. Vajrodaya Scopoletin from *Lasianthus lucidus* Blume (Rubiaceae): A potential antimicrobial against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*, **Journal of Applied Pharmaceutical Science** 8(9): 001-006.

Noungoue, T. D., G. Cartier, M. G. Dijoux-Franca and A. M. Tsamo. 2001. Xanthones and others constituents of *Trema orientalis*. **Pharmaceutical Biology** 39: 202-205.

Ogunkoya, L., O. O. Olubajo and D. S. Sondha. 1977. A new triterpenoid alcohol from *Trema orientalis*. **Phytochemistry** 16: 1606-1608.

Pumthong, I. and O. Neamsuwan 2015. Medicinal Plant Used for Treating Fever in Phangan Island Phangan District, Surattani Province, pp. 52-62. *In* S. Suphatheerakul *et al*., eds. T**he 1st National Conference in Traditional Thai Medicine: NC-TTM 1** . December, 23-25. 2558. Hansa J.B. Hat Yai Hotel, Songkhla. (*in Thai*)

Phuphathanaphong, L. 2015. **Cannabaceae**. In: Flora of Thailand Vol. 13 Part 1. Santisuk, T. and Balslev, H. (eds.). Prachachon Co. Ltd., Bangkok.

Pongpattananurak, N. 2014. Prioritizing Forest Complexes of Thailand Using Landscape Metrics. **Thai Journal of Forestry** 33(2): 61-76. (*in Thai*)

Rout, J., A. L. Sajem, M. Nath and M. Sengupta. 2012. Antibacterial efficacy of bark extracts of an ethnomedicinal plant *Trema orientalis* Blume. **Current Trends in Biotechnology and Pharmacy** 6(4): 464-471.

Srisuk, K., S. Simakhan, P. Katemul, P. Kunkeaw, E. Srisuk, K. Rimpheng, B. Chewpreecha and K. Leadprathom. 2014. Anti-inflammatory activity of some medicinal plants from Ban Ang-Ed official community forest, Chantaburi Province. **Burapha Science Journal** (Supplement issue): 304-311. (*in Thai*)

Sungkeaw, S. 2019. **Field Dendrology**. Parbpim Ltd. Part., Bangkok. (in Thai)

Tchamo, D. N., M. G. Dijoux-Franca, A. M. Mariotte, E. Tsamo, J. B. Daskiewicz and C. Bayet. 2000. Prenylated xanthones as potential P-glycoprotein modulators. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters** 10: 1343-1345.

Yang, M. Q., V. R. Velzen, F. T. Bakker, A. Sattarian, D. Z. Li and T. S. Yi. 2013. Molecular phylogenetics and character evolution of Cannabaceae. **Taxon** 62(3):473-48.

Zhang, H. L., J. J. Jin, M. J. Moore, T. S. Yi and D. Z. Li. 2018. Plastome characteristics of Cannabaceae. **Plant Diversity** 40:127-13.