

การสกัด การแยกสาร และการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย

ของใบมะขวิด (*Limonia acidissima* Linn.)

EXTRACTION ISOLATION AND STUDY ON ANTI-MALARIA ACTIVITY OF *LIMONIA ACIDISSIMA* LINN. LEAFS

สุวรรณภา จันคณา

มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสกัดสาร และแยกสารจากใบมะขวิด พร้อมทั้งนำสารที่สกัดและแยกได้ไปทดสอบการออกฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย โดยนำใบมะขวิดแห้งจากจังหวัดเพชรบูรณ์มาสกัดร้อนด้วยเครื่องสกัดซอกเล็ต (soxhlet extraction) ตัวทำละลายที่ใช้คือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และเอทานอล ได้สารสกัดหยาบเฮกเซน สารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน สารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตท และสารสกัดหยาบเอทานอล โดยมีเปอร์เซ็นต์สารสกัดหยาบต่อน้ำหนักพืชแห้งคือ 1.579, 1.425, 1.355 และ 9.203% ตามลำดับ นำสารสกัดหยาบทั้งหมดไปทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ *Plasmodium falciparum* ที่ก่อให้เกิดโรคมาลาเรียด้วยวิธี Microculture Radioisotope Technique พบว่าสารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน และสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตทออกฤทธิ์ต้านเชื้อ *Plasmodium falciparum* โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.35 และ 4.11 ตามลำดับ นำสารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทนมาแยกโดยวิธี Column chromatography และทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีการตกผลึกใหม่ได้สารบริสุทธิ์

คำสำคัญ: มะขวิด ต้านมาลาเรีย การสกัด และการแยก

ABSTRACT

The aims of the research were to extract and isolate *Limonia acidissima* leaflets moreover evaluate on how it potential anti-malarial activity. The air-dried leaflets of *Limonia acidissima* from Phetchabun province were extracted by soxhlet extraction with hexane, dichloromethane, ethyl acetate and ethanol to give the hexane, dichloromethane, ethyl acetate and ethanol extracts in 1.579, 1.425, 1.355 and 9.203 %dry weight, respectively. All four type extracts were tested for anti-malarial activity. The results demonstrated that the dichloromethane and ethyl acetate extracts had anti-malarial activity with IC_{50} value of 3.35 and 4.11 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Isolation of the dichloromethane extract with column chromatography followed by recrystallization gave pure compound.

Keywords: *Limonia acidissima* Linn., Anti-malarial activity, Extraction, Isolation

บทนำ

มะขวิด มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Limonia acidissima* Linn. อยู่ในวงศ์ RUTACEAE มีชื่อพ้องคือ *limonia* Swing มีลักษณะลำต้นเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง ลำต้นสูงมีหนาม ใบคล้ายใบมะกรูด ดอกเล็กสีขาว ผลกลมโตคล้ายมะกรูดแต่สั้นกว่า ผลสุกรับประทานได้คล้ายส้มโอ รสเปรี้ยวอมหวาน มียางเหนียวใช้เป็นกาบได้ ขึ้นตามป่าเบญจพรรณและป่าโปร่งทั่วไป (สำนักงานปลัดกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2550: เว็บไซต์) มะขวิดมีสรรพคุณ คือ แก้ฟกบวม แก้ฝีเน่าเปื่อยพุพอง ฆ่าพยาธิผิวหนัง แก้ท้องร่วง แก้ตกเลือด (คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2550: เว็บไซต์) รักษาโรคมาลาเรีย (สำนักความหลากหลายทางชีวภาพ, 2550: เว็บไซต์)

โรคมาลาเรีย (malaria) หรือไข้จับสั่น หรือไข้ป่า เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อโปรโตซัวพลาสโมเดียม แหล่งระบาดของมาลาเรียอยู่ตามจังหวัดชายแดน โดยเฉพาะบริเวณที่เป็นภูเขาสูง ป่าทึบ และมีแหล่งน้ำ ล้ำธาร อันเป็นแหล่งแพร่พันธุ์ของยุงก้นปล่อง จังหวัดที่พบผู้ป่วยมาลาเรียส่วนใหญ่ ได้แก่ แม่ฮ่องสอน ตาก ตราด ระนอง กาญจนบุรี จันทบุรี สระแก้ว ประจวบคีรีขันธ์ ราชบุรี และชุมพร การติดต่อของโรค ติดต่อกันโดยการถูกยุงก้นปล่องตัวเมียที่มีเชื้อมาลาเรียกัด อาการของผู้ป่วยโรคมาลาเรียหลังจากได้รับเชื้อมาลาเรียประมาณ 1-2 สัปดาห์ ผู้ป่วยจะมีอาการนำคล้ายกับเป็นหวัด คือ มีไข้ ปวดศีรษะ ปวดเมื่อยตามตัว อาจมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน เบื่ออาหารได้ ลักษณะเฉพาะของโรคที่เรียกว่า ไข้จับสั่น คือ มีอาการหนาวสั่น ไข้สูง และตามด้วยเหงื่อออก จะพบได้ในผู้ป่วยบางรายเท่านั้น มาลาเรียเป็นโรคที่รักษาให้หายขาดได้ ถ้าได้รับการวินิจฉัยที่ถูกต้อง รวดเร็ว และได้รับการรักษาด้วยยาที่มีประสิทธิภาพ ตรงตามชนิดของเชื้อที่เป็นสาเหตุ การซื้อยารักษาด้วยตนเอง หรือกินยาไม่ครบ อาจทำให้เกิดปัญหาเชื้อดื้อยา หรือทำให้เป็นโรครุนแรงขึ้น และอาจเป็นอันตรายถึงชีวิตได้ (คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล, 2550: เว็บไซต์) ในปัจจุบันเชื้อมาลาเรียในประเทศไทยมีการพัฒนาตัวให้ดื้อต่อยารักษามาลาเรียหลายชนิด การดื้อยาเป็นไปอย่างรวดเร็ว เนื่องจากมีการใช้ยาไม่ถูกต้อง ใช้ยาเกินความจำเป็น โดยจังหวัดตราดเป็นจุดเริ่มต้นของการดื้อยา ปัจจุบันมีแนวโน้มการดื้อยาเพิ่มขึ้น (เสาวนิต วิชัยทกะ, 2551: เว็บไซต์)

จากแนวโน้มการดื้อยารักษามาลาเรียดังกล่าว ถ้าประเทศไทยมียารักษามาลาเรียเพิ่มขึ้นจะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อคนไทย โดยมะขวิดเป็นสมุนไพรที่มีสรรพคุณรักษามาลาเรีย พบได้ทั่วไปในประเทศไทย และจากการค้นหาข้อมูลการวิจัยทางวิทยาศาสตร์ พบว่ายังไม่มีรายงานเกี่ยวกับการศึกษาฤทธิ์ต้านมาลาเรียในใบมะขวิด ดังนั้นการวิจัยในด้านการสกัด การแยกสาร และการศึกษากฤทธิ์ต้านมาลาเรียในใบมะขวิด จะก่อให้เกิดองค์ความรู้ใหม่ที่มีประโยชน์ทั้งในด้านวิชาการ ด้านสุขภาพ ด้านการรักษา และเพิ่มคุณค่าให้กับใบมะขวิด ซึ่งอาจมีการพัฒนาไปเป็นพืชที่มีประโยชน์ใน

ด้านการรักษาต่อไป นอกจากนี้ยังอาจทำให้คนไทยมีสมุนไพรที่สามารถรักษามาลาเรียเพิ่มขึ้น โดยมีงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ยืนยัน

วัตถุประสงค์งานวิจัย

1. เพื่อหาตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารสำคัญซึ่งออกฤทธิ์ต้านมาลาเรียจากใบมะขวิด
2. เพื่อทดสอบการออกฤทธิ์ต้านมาลาเรียของสารสกัดหยาบที่สกัดได้จากใบมะขวิด
3. เพื่อแยกสารจากใบมะขวิด พร้อมทั้งศึกษาองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารที่แยก

ได้

วัสดุอุปกรณ์และวิธีทดลอง

1. พืช (Plant materials)

ใบมะขวิด (*Limonia acidissima*) โดยทำการเก็บพืชในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2552 จากอำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์

2. สารเคมี (Chemicals)

- 1) เฮกเซน (Hexane)
- 2) ไคลอโรโรมีเทน (Dichloromethane)
- 3) เอทิลอะซิเตท (Ethyl acetate)
- 4) เอทานอล (Ethanol)
- 5) โพแทสเซียมโบรไมด์ (Potassium bromide)
- 6) วานิลลิน (Vanillin)

7) แผ่นทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (Thin layer chromatography plate sheets 20x20 cm silica gel 60 F₂₅₄)

8) ซิลิกาเจล (Silica gel 60 F₂₅₄ 0.063-0.200 mm for column chromatography)

3. เครื่องมือและอุปกรณ์ (Instrumentation)

- 1) เครื่องกลั่น (Distillation apparatus)
- 2) เครื่องสกัดซอกเลต (Soxhlet extractor)
- 3) เครื่องระเหยแบบลดความดัน หรือเครื่องลดปริมาตร (Rotary evaporator, (Buchi B-545)

4) เครื่องส่องรังสี UV ความยาวคลื่น 254 nm และ 366 nm (Camag)

5) เครื่องวัดจุดหลอมเหลว (Buchi B-545)

6) เครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ (FT-IR Spectrometer, Model Spectrum 2000 PERKIN ELMER)

4. วิธีทดลอง (Methods)

- 1) นำใบมะขวิดตากในที่ร่มให้แห้ง บดให้ละเอียด
- 2) นำใบมะขวิดที่เตรียมในข้อ 1 มาสกัดร้อนด้วยเครื่องสกัดชอกเลต ตัวทำละลายที่ใช้คือ เฮกเซน
- 3) นำสารละลายที่ได้จากข้อ 2 ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดัน จะได้สารสกัดหยาบด้วยเฮกเซน (crude hexane extract)
- 4) นำกากใบมะขวิดที่ผ่านการสกัดด้วยเฮกเซนในข้อ 2 มาทำการสกัดร้อนด้วยเครื่องสกัดชอกเลต ตัวทำละลายที่ใช้คือ ไดคลอโรมีเทน ทำวิธีเดียวกับข้อ 2 และ 3 จะได้สารสกัดหยาบด้วยไดคลอโรมีเทน (crude dichloromethane extract)
- 5) นำกากใบมะขวิดที่ผ่านการสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนในข้อ 4 มาทำการสกัดร้อนด้วยเครื่องสกัดชอกเลต ตัวทำละลายที่ใช้คือ เอทิลอะซิเตท ทำวิธีเดียวกับข้อ 2 และ 3 จะได้สารสกัดหยาบด้วยเอทิลอะซิเตท (crude ethyl acetate extract)
- 6) นำกากใบมะขวิดที่ผ่านการสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทในข้อ 5 มาทำการสกัดร้อนด้วยเครื่องสกัดชอกเลต ตัวทำละลายที่ใช้คือ เอทานอล ทำวิธีเดียวกับข้อ 2 และ 3 จะได้สารสกัดหยาบด้วยเอทานอล (crude ethanol extract)
- 7) นำสารสกัดหยาบด้วยเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และเอทานอล ไปทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรียโดยวิธี Microculture Radioisotope Technique ที่ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC)
- 8) นำสารสกัดหยาบส่วนที่ออกฤทธิ์ต้านมาลาเรียมาทำการวิเคราะห์ห่อังค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นโดยวิธี Thin Layer Chromatography ทำการแยกโดยวิธี column chromatography ตัวทำละลายที่ใช้คือ hexane, 80% 50% 20% hexane ใน dichloromethane, dichloromethane, 80% 50% 20% dichloromethane ใน ethyl acetate, ethyl acetate, 80% 50% ethyl acetate ใน ethanol และ ethanol และทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีตกผลึกใหม่ (recrystallization)
- 9) ทำการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของสารบริสุทธิ์โดยวิธี IR spectroscopy และวัดจุดหลอมเหลวของสารบริสุทธิ์

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

ผลการสกัดใบมะขวิดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และเอทานอล โดยใช้เครื่องสกัดชอกเลต แสดงดังตาราง 1

ตาราง 1 ผลการสกัดใบมะขวิดด้วยตัวทำละลายต่างๆ

สารสกัดหยาบ	ลักษณะสารละลาย ที่ได้จากการสกัด	ลักษณะ สารสกัดหยาบ	น้ำหนักพืช แห้งที่ใช้ (g)	น้ำหนักสาร สกัดหยาบที่ ได้ (g)	%สารสกัดหยาบ ต่อน้ำหนักพืช แห้ง
สารสกัดหยาบ เฮกเซน	สารละลายสีเขียว เข้มข้นเหลือง	ของแข็งหนืด สีเขียวเข้ม	218.49	3.45	1.58
สารสกัดหยาบ ไดคลอโรมีเทน	สารละลาย สีเขียวปนดำ	ของแข็งหนืด สีเขียวปนดำ	218.49	3.11	1.42
สารสกัดหยาบ เอทิลอะซิเตท	สารละลาย สีเขียวเข้ม	ของแข็งหนืด สีเขียวเข้ม	218.49	2.96	1.36
สารสกัดหยาบ เอทานอล	สารละลายสีเขียว ปนน้ำตาล	ของแข็งหนืด สีเขียวปน น้ำตาล	218.49	20.11	9.20

จากตาราง 1 เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์สารสกัดหยาบต่อน้ำหนักพืชแห้ง พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอลมีเปอร์เซ็นต์สารสกัดหยาบต่อน้ำหนักพืชแห้งมากที่สุด แสดงว่าตัวทำละลายเอทานอลสามารถสกัดสารสำคัญจากใบมะขวิดได้มากที่สุด ในขณะที่สารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตทมีเปอร์เซ็นต์สารสกัดหยาบต่อน้ำหนักพืชแห้งน้อยที่สุด แสดงว่าตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทสกัดสารสำคัญจากใบมะขวิดได้น้อยที่สุด

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรียของสารสกัดหยาบใบมะขวิดด้วยตัวทำละลายต่างๆ แสดงดังตาราง 2

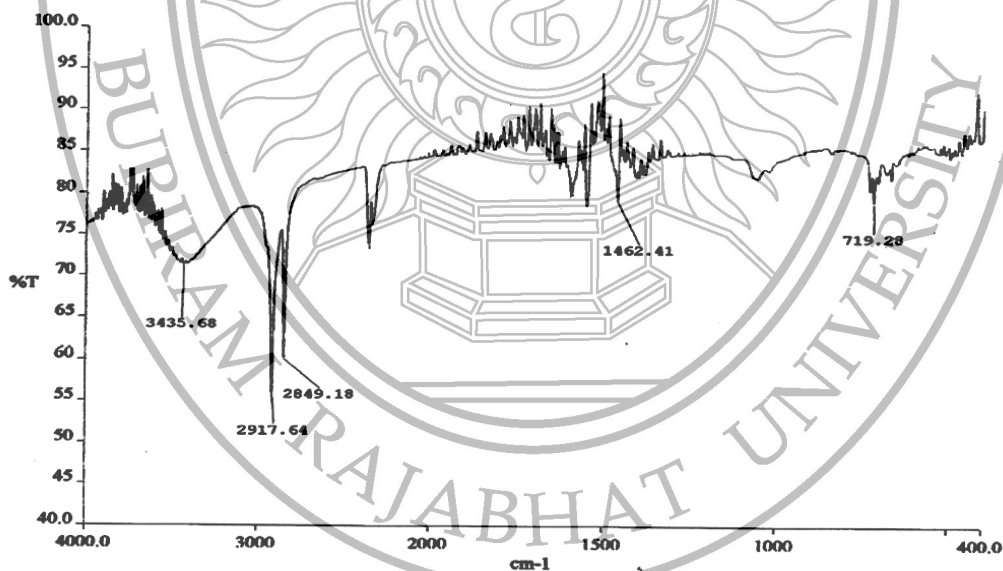
ตาราง 2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรียของสารสกัดหยาบใบมะขวิด

สารสกัดหยาบ	Activity	IC ₅₀ (µg/mL)
สารสกัดหยาบเฮกเซน	Inactive	-
สารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน	Active	3.35
สารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตท	Active	4.11
สารสกัดหยาบเอทานอล	Inactive	-

จากตาราง 2 พบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน และเอทิลอะซิเตทออกฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.35 $\mu\text{g/mL}$ และ 4.11 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ ค่า IC_{50} บอกระดับประสิทธิภาพที่สามารถยับยั้งเชื้อมาลาเรีย ชนิด *Plasmodium falciparum* ได้เป็นจำนวนครึ่งหนึ่งหรือ 50% จากข้อมูลดังกล่าว แสดงว่า สารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน และสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตท ออกฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรียได้ดี โดยสารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทนสามารถยับยั้งเชื้อมาลาเรียได้ดีกว่าสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตท

นำสารสกัดหยาบ ไดคลอโรมีเทนมาทำการแยกโดยวิธี column chromatography ได้สาร 32 ส่วน (32 fractions) พบว่าสารส่วนที่ 15 มีของแข็ง จึงนำไปทำให้บริสุทธิ์ โดยวิธีตกผลึกใหม่ ได้สารบริสุทธิ์ A1 ทำการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของสารโดยวิธี IR spectroscopy และวัดจุดหลอมเหลวของสาร ตาราง 3 สารบริสุทธิ์ที่ได้จากการตกผลึกใหม่

สารบริสุทธิ์	ตัวทำละลายที่ใช้ในการตกผลึก	จุดหลอมเหลว ($^{\circ}\text{C}$)	ลักษณะของสาร	น้ำหนักสาร (g)	% สารบริสุทธิ์ต่อน้ำหนักพืชแห้ง (g)
A1	dichloromethane และ EtOAc	87	ของแข็งสีขาว	0.003	0.001



ภาพ 1 IR-Spectrum ของสารบริสุทธิ์ A1

จากการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของสารโดยวิธี IR spectroscopy พบพีกที่ 3435.68 cm^{-1} เป็นพีกของ OH stretching พีกที่ 2917.64 และ 2849.18 cm^{-1} เป็นพีกของ C-H stretching ซึ่งจากการ

วิเคราะห์ด้วย IR-spectrum และจุดหลอมเหลวของสาร พบว่าสารบริสุทธิ์ A1 ควรเป็นสารประกอบที่มีหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิล (hydroxyl group, OH)

สรุปผล

การสกัดสารสำคัญจากใบมะขวิด ใช้วิธีการสกัดร้อนด้วยเครื่องสกัดซอกเลต (soxhlet) ได้สารสกัดหยาบเฮกเซน สารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน สารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตท และสารสกัดหยาบเอทานอล โดยมีเปอร์เซ็นต์สารสกัดหยาบต่อน้ำหนักพืชแห้งคือ 1.579, 1.425, 1.355 และ 9.203% ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสารที่เป็นองค์ประกอบในใบมะขวิดส่วนใหญ่เป็นสารที่มีขั้วสูง จากนั้นนำสารสกัดหยาบทั้งหมดไปทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรีย ด้วยวิธี Microculture Radioisotope Technique จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านมาลาเรีย พบว่าสารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน และสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตท ออกฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย โดยสารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทนออกฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรียได้ดีกว่าสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตท แสดงว่าใบมะขวิดมีฤทธิ์ต้านมาลาเรีย ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ต้านมาลาเรียจากใบมะขวิดคือ ไดคลอโรมีเทน และเอทิลอะซิเตท โดยไดคลอโรมีเทนเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุด

นำสารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทนมาแยกด้วยวิธี Column Chromatography ได้สาร 32 ส่วน พบว่าสารส่วนที่ 15 มีของแข็ง จึงนำไปทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีตกผลึกใหม่ ได้สารบริสุทธิ์ A1 นำสารบริสุทธิ์มาวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของสารโดยวิธี IR spectroscopy และวัดจุดหลอมเหลวของสาร พบว่าสารดังกล่าวน่าจะเป็นสารประกอบที่มีหมู่ฟังก์ชันไฮดรอกซิล (hydroxyl group, OH)

งานวิจัยการสกัดสาร การแยกสาร และการศึกษาฤทธิ์ต้านมาลาเรียของใบมะขวิดนี้ ทำให้ทราบว่าใบมะขวิดมีฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย ส่งผลให้ประชาชนสามารถนำใบมะขวิดมาใช้เป็นยาสมุนไพรในการรักษาโรคมมาลาเรียได้ อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ควรดำเนินงานต่อ โดยควรมีการแยกสารบริสุทธิ์มากขึ้นเพื่อให้ได้สารที่ออกฤทธิ์ต้านมาลาเรีย พร้อมทั้งทราบโครงสร้างของสารดังกล่าว เพื่อนำความรู้ดังกล่าวไปใช้ควบคุมคุณภาพใบมะขวิดในการใช้เป็นยาสมุนไพรรักษาโรคมมาลาเรีย นอกจากนี้ควรมีการทดสอบความเป็นพิษของใบมะขวิดด้วยเพื่อให้ประชาชนสามารถนำใบมะขวิดมาใช้เป็นยาได้อย่างปลอดภัย

เอกสารอ้างอิง

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร. (2550). สมุนไพรไทย-มะขวิด (ออนไลน์), 2 มิถุนายน

2552. <http://student.nu.ac.th/46313433/Thaiherb/makhit.htm>.

คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล. (2550). มาลาเรีย (ออนไลน์), 8 กันยายน 2552.

<http://www.tm.mahidol.ac.th/tmho/malaria.htm>.

ฐานข้อมูลองค์ความรู้สมุนไพรไทย. (2002). รายละเอียดมะขวิด (ออนไลน์), 20 ธันวาคม 2551.

<http://dit.dru.ac.th/herb/detail1.php?pdid=101>.

- พันพรรณ. (2552). **ต้นมะขวิด** (ออนไลน์), 2 กันยายน 2552. www.flickr.com/photos/aken.
- ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. (1998). **มะขวิด** (ออนไลน์), 2 มิถุนายน 2552. <http://www.gpo.or.th/herbal/group17/group171.htm>.
- รัตนา อินทรานุปกรณ์.(2547). การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. กรุงเทพฯ: แอคทีฟพรีนซ์.
- สถาบันการแพทย์แผนไทย กระทรวงสาธารณสุข. (2007). **มะขวิด** (ออนไลน์), 20 ธันวาคม 2551. <http://healthnet.md.chula.ac.th/text/forum2/juice/juice047.htm>.
- สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. (2544). **มะขวิด** (ออนไลน์), 2 มิถุนายน 2552. http://www.tistr.or.th/essentialoils/plant_%E0%B8%A1%E0%B8%B0%E0%B8%82%E0%B8%A7%E0%B8%B4%E0%B8%94.htm.
- สารานุกรมเสรี. (ม.ป.ป). **เข็มมาลาเรีย** (ออนไลน์), 20 กันยายน 2552. www.wikipedia.org/wiki/Imgoot.jpg.
- สารานุกรมสมุนไพร รวบรวมพืชพรรณไทย. (2540). **มะขวิด** (ออนไลน์), 5 สิงหาคม 2552. www.thaiherb.Most.go.Th/plantdetail.
- สำนักความหลากหลายทางชีวภาพ. (2550). **ข้อมูลพืชสมุนไพร** (ออนไลน์), 14 ธันวาคม 2552. http://chm-thai.onep.go.th/chm/data_herb/fever.aspx?DataSet1_currentPage=6.
- สำนักงานปลัดกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. (2550). **ฐานข้อมูลสมุนไพร มะขวิด** (ออนไลน์), 2 มิถุนายน 2552. <http://thaiherb.most.go.th/plantdetail.php?id=464>.
- สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. (ม.ป.ป). **โรคมาลาเรีย** (ออนไลน์), 10 กันยายน 2552. www.wikipedia.org/wiki.
- เสาวนิต วิชัยทัตตะ. (2551). **นโยบายยาและสถานการณ์และการเฝ้าระวังการดื้อยา** (ออนไลน์), 18 มกราคม 2553. <http://www.thaivbd.org/cms/images/situation/simalaria52.doc>.
- GANGRADE S.K., JAIN N.K., MOGHE M.N. (2002). *Limonia acidissima* Linn. A multipurpose Tree species having essential oil. **Indian Perumer**, 46(2), 109-113.
- Manjusha, Patil, K.M., Zambare. G.N., Khandelwal., K.R., Bodhankar S.L. (2006). Hepatoprotective activity of aqueous extract of leaves of *Feronia elephantum correa* against thioacetamide and allyl alcohol intoxication in rats. **Society of Toxicology**. (n.p).
- Netnapis Khewkhom. (2008). Antimicrobial activity of 16 plant extracts of the

Rutaceae family against phytopathogenic fungi. **Agricultural sci. j**, 39 (3), 119-123.

N. K. B. ADIKARAM. (1989). Antifungal activity, acid and sugar content in the wood apple (*Limonia acidissima*) and their relation to fungal development. **Plant Pathology**, 38, 258-265.

Sain C. and Markmee S. (2003). Isolation of anti-malarial active compound from Yanang (*Tiliacora triandra Diels*). **Kasetsart Journal Natural science**, 37, 47-51.

Saroj K. Mondal, Mondal, Bimalendu Ray, Jean Franois Thibault and pradyot K. Ghosal. (2002). Cell-wall polysaccharides from the fruits of *Limonia acidissima* isolation, purification and chemical investigation. **Carbohydrate Polymers**, 48(2), 148-156.

Stevanovic. (2008). Study on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of hot water extract from *Picea mariana* bark and its proanthocyanidin-rich fractions. **Food Chemistry**, 113(4), 897-902.

