



## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาฤทธิ์ต้านมาลาเรียและความเป็นพิษของสมุนไพร  
ในตำรับยามหานิลแทงทองและตำรับยาเขียวหอม

(Study of Anti-malarial Activity and Toxicity of Medicinal Plants  
in Mahanil-Tang-Thong and Keaw-Hom Formulations)

โดย รองศาสตราจารย์ ดร.ชูชาติ พันธุ์สวัสดิ์  
สำนักวิชาแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

ได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุนภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย

## บทคัดย่อ

โรคมาลาเรียเป็นโรคติดต่อปรสิตที่ส่งผลกระทบต่อมนุษย์โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่เขตร้อน ปัญหาที่สำคัญในการป้องกันและรักษามาลาเรียเกิดจากเชื้อมาลาเรียมีการพัฒนาตัวให้ดื้อต่อยาหลายชนิดได้อย่างรวดเร็ว จึงจำเป็นต้องมีการพัฒนายาต้านมาลาเรียตัวใหม่ที่มีประสิทธิภาพ พืชสมุนไพรเป็นหนึ่งในแหล่งที่มาของยาที่มีศักยภาพและมีความน่าสนใจในการนำไปพัฒนายาต้านมาลาเรีย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรียและทดสอบความเป็นพิษของสมุนไพรตำรับยามหานิลแห่งทองและตำรับยาเขียวหอม โดยทำการศึกษาฤทธิ์ต้านมาลาเรียของพืชสมุนไพร 26 ชนิด จำนวน 52 ตัวอย่างต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรียชนิด *Plasmodium falciparum* สายพันธุ์ K1 (สายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาคลอโรควิน) ในหลอดทดลองโดยใช้การทดสอบการวัดปฏิกิริยาของเอนไซม์ lactate dehydrogenase protein (pLDH) และทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรียของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Plasmodium berghei* ในหนูทดลองด้วยวิธี 4-day suppressive test โดยการป้อนสารสกัดตัวอย่างขนาด 200, 400 และ 600 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว รวมทั้งศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดต่อ Vero cell ด้วยวิธี 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT) และทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันในหนูทดลองซึ่งได้รับสารสกัดขนาด 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว และสังเกตความเป็นพิษเป็นระยะเวลา 14 วัน ผลการศึกษาในหลอดทดลองพบสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านมาลาเรียที่ดีที่สุด ( $IC_{50} < 10 \mu\text{g/ml}$ ) จำนวน 6 ตัวอย่าง โดยเป็นสมุนไพรในตำรับยามหานิลแห่งทอง จำนวน 3 ตัวอย่าง ได้แก่ สารสกัดเอทานอลของเมล็ดมะกอกซึ่งมีฤทธิ์ดีที่สุด ( $IC_{50} = 2.46 \mu\text{g/ml}$ ) รองลงมาคือสารสกัด เอทานอลจากไม้สักและแก่นจันทน์เทศ โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 3.21 และ 8.87  $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ และเป็นสมุนไพรในตำรับยาเขียวหอม จำนวน 3 ตัวอย่าง ได้แก่ สารสกัดเอทานอลของดอกสารภี ( $IC_{50} = 1.50 \mu\text{g/ml}$ ) เหง้าว่านร้อนทอง ( $IC_{50} = 5.33 \mu\text{g/ml}$ ) และดอกบุนนาค ( $IC_{50} = 7.39 \mu\text{g/ml}$ ) สารสกัดเอทานอลจากแก่นจันทน์เทศและเหง้าว่านร้อนทองซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อมาลาเรียที่ดี และพบความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำ โดยมีค่าระดับความเข้มข้นที่ทำให้เซลล์ตายร้อยละ 50 ( $CC_{50}$ ) มากกว่า 80  $\mu\text{g/ml}$  พืชสมุนไพรทั้งสองชนิดนี้จึงถูกนำไปศึกษาฤทธิ์ต้านมาลาเรียต่อในหนูทดลอง โดยพบว่าสารสกัดเอทานอลจากแก่นจันทน์เทศที่ขนาด 200, 400 และ 600 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว สามารถยับยั้งเชื้อมาลาเรียได้ร้อยละ 8.59, 31.0 และ 52.58 ตามลำดับ จากการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันไม่พบการเปลี่ยนแปลงของค่าเคมีคลินิกในเลือดเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม อีกทั้งไม่พบการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของตับและไต สำหรับสารสกัดเอทานอลจากเหง้าว่านร้อนทองพบว่ามียูธิต้านมาลาเรียที่ดี สารสกัดที่ขนาด 200, 400 และ 600 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม น้ำหนักตัว สามารถยับยั้งเชื้อมาลาเรียได้ร้อยละ 51.57, 54.94 และ 60.53 ตามลำดับ โดยขนาดของสารสกัดที่ขนาด 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว พบว่ามีความเป็นพิษต่อสัตว์ทดลอง มีผลให้สัตว์ทั้งหมดตายในช่วง 24 ชั่วโมงที่ทำการศึกษา จากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดเอทานอลจากแก่นจันทน์เทศและสกัดเอทานอลจากเหง้าว่านร้อนทองมียูธิต้านเชื้อมาลาเรียทั้งการศึกษาในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลอง ดังนั้นในการศึกษาต่อไปควรแยกสารบริสุทธิ์จากพืชสมุนไพรทั้ง 2 ชนิดนี้โดยใช้ หลักการ bioassay-guided isolation และศึกษาข้อมูลความเป็นพิษของสารที่แยกได้เพื่อนำสารออกฤทธิ์ไปพัฒนาเป็นยาต้านมาลาเรียตัวใหม่ต่อไป

## Abstract

Malaria is a serious infectious disease that affects to human especially in tropical area. The emergence and rapid spread of antimalarial drug resistance has played a significant problem for prophylaxis and treatment that challenge to develop new antimalarial drugs which are more effective. Medicinal plants are one of the potential sources of antimalarial drugs and there is an increasing interest for development of novel drug. This study aimed to investigate antimalarial activity and toxicity of medicinal plants in Mahanil-Tang-Thong and Keaw-Hom formulations. A total of 26 medicinal plants, 52 samples was determined against chloroquine resistance strain of *Plasmodium falciparum* K1 strain *in vitro* by using lactate dehydrogenase method (pLDH). *In vivo* anti-malarial activity against *Plasmodium berghei* ANKA strain was assessed in the mice by 4-day suppressive test. Extracts were administered orally at different doses of 200, 400, and 600 mg/kg body weight. The levels of parasitaemia and body weight change of the mice were determined. The *in vitro* cytotoxic activity were assessed on vero cells by [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] (MTT) assay. The acute toxicity of the extracts was also investigated in the mice for 14 days after the administration of a single oral dose of 2,000 mg/kg. The results showed that extracts from 6 medicinal plants exhibited potent antimalarial activity ( $IC_{50} < 10 \mu\text{g/ml}$ ) against *P. falciparum*, there are 3 medicinal plants in Mahanil-Tang-Thong and 3 medicinal plants in Keaw-Hom formulations. For Mahanil-Tang-Thong, the ethanol seed extract of *Spondias pinnata* showed the highest suppression of parasitemia with  $IC_{50}$  value of 2.46  $\mu\text{g/ml}$ , followed by ethanol wood extract of *Tectona grandis* and wood extract of *Myristica* with  $IC_{50}$  values of 3.21 and 8.87  $\mu\text{g/ml}$ , respectively. For Keaw-Hom formulation, ethanol flower extract of *Mammea siamensis* possessed the highest activity with an  $IC_{50}$  value of 1.50  $\mu\text{g/ml}$ , followed by ethanol rhizome extract of *Globba malaccensis* and ethanol flower extract of *Mesua ferrea* with  $IC_{50}$  values of 5.33 and 7.39  $\mu\text{g/ml}$ , respectively. Since, an ethanol wood extract of *Myristica fragrans* and an ethanol rhizome extract of *Globba malaccensis* exhibited potent antimalarial activity with low toxicity on vero cell ( $CC_{50} > 80 \mu\text{g/ml}$ ). Therefore, these two medicinal plants were selected to further assess for *in vivo* anti-malarial activity. An extract of *Myristica fragrans* at doses of 200, 400, and 600 mg/kg body weight suppressed the levels of parasitaemia by 8.59, 31.10, and 52.58%, respectively. For the acute toxicity, there were no significant alterations in the biochemical parameters and in the liver and kidney histopathology. An ethanol rhizome extract of *Globba malaccensis* possessed good antimalarial activity, at doses of 200, 400, and 600 mg/kg body weight were significantly suppressed percentage of parasitemia by 51.57, 54.94 and 60.53%, respectively. The extract at a dose of 2,000 mg/kg body weight exhibited toxic effect on mice, all of mice died within 24 hours after administration. Extracts of *Myristica fragrans* and *Globba malaccensis* possessed promising antimalarial activity, Consequently, further work including bioassay-guided isolation and advanced toxicity investigation may yield new anti-malarial drug candidates from the two medicinal plants.