

ญาณวรุตม์ คำชื่น : ผลของสารสกัดหยาบจากรากเจตมูลเพลิงแดงต่อพยาธิใบไม้ตับ

*Opisthorchis viverrini* (THE EFFECTS OF CRUDE EXTRACT OF *PLUMBAGO*

*INDICA* ROOT ON LIVER FLUKE, *OPISTHOCHIS VIVERRINI*). อาจารย์ที่ปรึกษา :

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นภวรรณ เสาวคนธ์, 157 หน้า.

*Opisthorchis viverrini* เป็นพยาธิใบไม้ตับของมนุษย์ในตระกูล Opisthorchiidae ซึ่งเป็นสาเหตุของ Opisthorchiasis ซึ่งในปัจจุบันยังไม่มีวัคซีนที่ใช้ในการรักษาการติดเชื้อจากปรสิตในกลุ่มดังกล่าวโดยตรง Praziquantel (PZQ) เป็นยาแผนปัจจุบันที่ได้รับการแนะนำว่ามีประสิทธิภาพมากที่สุดในการรักษาการติดเชื้อจากพยาธิดังกล่าว Plumbagin (PB) เป็นสารประกอบธรรมชาติที่สกัดได้จากรากของพืชในสกุล Plumbago สารประกอบนี้ใช้เป็นยาแผนโบราณสำหรับการรักษาโรคต่าง ๆ รวมถึงการติดเชื้อพยาธิ วัตถุประสงค์ของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เพื่อศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากรากเจตมูลเพลิงแดง (*Plumbago indica*) ต่อพยาธิใบไม้ตับ *Opisthorchis viverrini* โดยการประเมินจากค่า relative motility (RM) และ survival index (SI) ต่อตัวอ่อนพยาธิในระยะ newly excysted juveniles (NEJs) และ อายุ 4 สัปดาห์ นอกจากนี้ยังทำการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงผิวของพยาธิและโครงสร้างที่เกี่ยวข้องด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (LM) กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) เพื่อศึกษาถึงเป้าหมายการการออกฤทธิ์ของยา ส่วนประสิทธิภาพของยาเมื่อใช้ในสิ่งมีชีวิตและผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นนั้นศึกษาโดยการวัดค่า worm recovery การตรวจแอนไชม์ตับและตัวบ่งชี้ทางจุลพยาธิวิทยาเนื้อเยื่อ

ผลการศึกษาพบว่า PB ออกฤทธิ์ในการฆ่า NEJs ร้อยละ 100 ที่คล้ายกับ PZQ ที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ภายใน 24 ชั่วโมง ขณะที่สารสกัดหยาบจากรากเจตมูลเพลิงแดง (cPI) แสดงผลใกล้เคียงกับ PZQ เมื่อใช้ cPI ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ที่ทำให้พยาธิตายถึงร้อยละ 93 ขณะที่การศึกษาในตัวอ่อนพยาธิอายุ 4 สัปดาห์พบว่า ตัวอ่อนไม่สามารถเคลื่อนที่ได้อย่างสมบูรณ์เมื่อบ่มด้วย PZQ ที่ 1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แต่ไม่ตายอย่างสมบูรณ์ภายใน 24 ชั่วโมง ในขณะที่ PB และ cPI สามารถฆ่าพยาธิได้สูงถึงร้อยละ 70 และ 30 ตามลำดับ โดย PZQ และ PB ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรสามารถฆ่าพยาธิร้อยละ 100 และ 96 ในขณะที่ cPI ที่ความเข้มข้นเดียวกันนี้สามารถฆ่าพยาธิได้เพียงแค่ร้อยละ 74 เมื่อทำการศึกษาผ่านกล้อง SEM พบว่า PZQ PB และ cPI สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงบนผิวของพยาธิที่คล้ายกัน แต่มีความรุนแรงของการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างกัน ประกอบด้วยการบวมของผิว เกิดตุ่มน้ำ ผิวแตกประทุ การเกิดรอยถลอกและการหลุดลอกของชั้นผิว เมื่อทำการศึกษาด้วย TEM พบว่าผลที่ได้มีความ

สอดคล้องกับผลของ SEM โดยพบการถูกทำลายของชั้นผิว การสลายตัวของไมโทคอนเดรียและการย่อยสลายเม็ดแกรนูล ซึ่งปรากฏในกลุ่มการรักษา PZQ PB และ cPI เมื่อทำการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า ค่า worm recovery ของกลุ่มที่ได้รับ cPI มีค่าแตกต่างจากกลุ่มที่ไม่ได้รับการรักษาอย่างมีนัยสำคัญ และ cPI จะมีประสิทธิภาพมากขึ้นเมื่อเพิ่มค่าความเข้มข้นมีค่าไม่แตกต่างจากเท่ากับ PB ที่ความเข้มข้นเดียวกัน สำหรับการประเมินระดับเอนไซม์ในตับ (ALT และ AST) ที่ 24 ชั่วโมงและ 7 วันหลังจากได้รับ cPI พบว่าพารามิเตอร์ทั้งสองมีผลไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับ cPI และเมื่อทำการทดสอบความเป็นพิษในสัตว์ทดลองพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมและการตายของสัตว์ทดลองเกิดขึ้นหลังจากได้รับ cPI ที่ความเข้มข้นสูงสุด (3000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และผลจากการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาชี้ให้เห็นว่าเกิดพยาธิสภาพขึ้นที่ตับและไตที่ 24 ชั่วโมงและพยาธิสภาพดังกล่าวได้ฟื้นตัวดีขึ้นในเวลา 7 วันหลังจากได้รับ cPI จากการศึกษาข้างต้นชี้ให้เห็นว่าสารสกัดหยาดจากรากเจตมูลเพลิงแดงนี้มีประสิทธิภาพเพียงพอและสามารถพัฒนาต่อไปเพื่อใช้เป็นยาในการรักษาผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับกลุ่มนี้ และหากไม่ได้รับการรักษาการติดเชื้อนี้มีโอกาสที่จะพัฒนาไปเป็นมะเร็งท่อน้ำดีต่อไปได้ในอนาคต



สาขาวิชาปรีคลินิก  
ปีการศึกษา 2562

ลายมือชื่อนักศึกษา Ny...  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา Dr. N. Imran  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม S. E.

YANWARUT CAMCHUEN : THE EFFECTS OF CRUDE EXTRACT OF  
*PLUMBAGO INDICA* ROOT ON LIVER FLUKE, *OPISTHORCHIS*  
*VIVERRINI*. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. NARUWAN SAOWAKON,  
Ph.D. 157 PP.

*PLUMBAGO INDICA*/ PLUMBAGIN/ *OPISTHORCHIS VIVERRINI*/ TOXICITY/  
TEGUMENTAL CHANGES

*Opisthorchis viverrini* is the human liver flukes in the family Opisthorchiidae that causes the opisthorchiasis. Nowadays, the parasitic vaccine is not yet available. Praziquantel (PZQ) is an effective drug recommended for treatment of opisthorchiasis. Plumbagin (PB) is a natural compound extractable from the root of many plants, especially in the *Plumbago* genus plant. This compound is used as a traditional ayurvedic medicine for treatment of several ailments including antiparasitic activity. This study aimed to investigate the possible anthelmintic effects of crude extract of *P. indica* root (cPI) against *O. viverrini* by estimating relative motility (RM) and survival index (SI) on newly excysted juveniles (NEJs) and 4-week-old flukes. The alterations of tegumental and associated structures after drug treatment were also investigated by light (LM), scanning electron (SEM), and transmission electron microscopy (TEM) to elucidate the target of action of cPI. The therapeutic effect of cPI in animal model and its adverse effect were studied by detecting the percent of worm recovery, liver enzyme test, and histopathological changes

The results showed that within 24 h of incubation, PB at 1 µg/ml killed 100% of NEJs which similar to 1 µg/ml PZQ while cPI showed an anthelmintic effect



similar as PZQ at 1 µg/ml when we used cPI at 10 µg/ml that cause of worm dead to 93%. In the 4-week old flukes, the complete immobility of flukes was found when incubated with PZQ at 1 µg/ml but flukes were not completely dead within 24 h while PB and cPI killed flukes up to 70% and 30%, respectively. At 10 µg/ml, PZQ and PB could kill 4-week-old flukes up to 100% and 96% while cPI showed only 74% of worm killing. When observed by SEM, the PZQ, PB, and cPI caused progressive severe rupture tegument, bleb surface, and erosion formation. TEM study corresponded with SEM result, the bleb formation in the tegumental syncytium and mitochondria and secretory granule degradation appeared in PZQ, PB, and cPI treatment groups. The numbers of fluke recovery in cPI showed significantly lower than the untreated group and cPI exhibited more effective when the increasing concentration and effect of cPI were equal to PB as shown by higher percent of worm protection. Liver enzymatic levels (ALT and AST) were evaluated at 24 h and 7 days following oral administration. Both parameters showed similar percent to the control group. The toxicity test revealed no alterations in behavior and mortality in hamsters after receiving a high dose of 3000 mg/kg cPI. Liver and kidney exhibited histopathological changes at 24 h and recovery in 7 days post-administration. Overall, further investigation of cPI as natural medicine targeting cholangiocarcinoma and/or positive *O. viverrini* infection in human clinical trials should be useful.

School of Preclinic

Academic Year 2019

Student's Signature \_\_\_\_\_

Advisor's Signature \_\_\_\_\_

Co-advisor's Signature \_\_\_\_\_