

## บทคัดย่อภาษาไทย

ปัจจุบันยาฆ่าพยาธิในท้องตลาดไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอในการยับยั้งการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ ในตระกูล Opisthorchis การค้นหายาฆ่าพยาธิจึงเป็นเรื่องเร่งด่วน มีรายงานว่าสารสกัดบริสุทธิ์ plumbagin (PB) สามารถยับยั้งการเคลื่อนไหวกของหนอน *Caenorhabditis elegans* พยาธิใบไม้ในเลือด *Schistosoma mansoni* และพยาธิใบไม้ในกระเพาะ *Paramphistomum cervi* ผู้วิจัยตั้งสมมุติฐานว่าสารสกัดหยาบจากรากเจตมูลเพลิงแดงน่าจะมีฤทธิ์เป็นยาฆ่าพยาธิได้เช่นเดียวกับ PB ดังนั้นวัตถุประสงค์การวิจัยครั้งนี้เพื่อศึกษาผลของสารสกัด PB และสารสกัดหยาบจากรากเจตมูลเพลิงแดง (crude extract of *Plumbago indica* : cPI) ต่อพยาธิ *O. viverrini* ระยะ newly excystment juveniles (NEJs) และ 4 สัปดาห์ โดยประเมินค่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนย้ายของตัวอ่อน ความสัมพันธ์การเคลื่อนไหว เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต เปอร์เซ็นต์การป้องกันการติดเชื้อพยาธิ และการเปลี่ยนแปลงของผิวของพยาธิด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยพยาธิถูกแบ่งออกเป็น 11 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ตัว คือ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม, กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่ม vehicle, กลุ่มที่ 3-5 พยาธิถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ RPMI-1640 ผสมด้วยยาฆ่าพยาธิ praziquatel (PZQ) ใช้เป็นกลุ่ม positive control ที่ความเข้มข้น 0.1, 1.0, และ 10  $\mu\text{g/ml}$  เรียงตามลำดับ กลุ่มที่ 6-8 พยาธิถูกเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมด้วย PB และกลุ่มที่ 9-11 พยาธิถูกเลี้ยงในอาหารที่ผสมด้วย cPI โดยความเข้มข้นที่เท่ากับ PZQ หลังจากการประเมินการเปลี่ยนแปลงการเคลื่อนไหวที่ชั่วโมงที่ 1, 3, 6, 12 และ 24 ด้วยกล้องจุลทรรศน์ stereomicroscope พยาธิถูกนำไปผ่านขบวนการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของผิวโดยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (SEM) ผลการทดลองพบว่าค่าเฉลี่ยของ relative motility (RM) value ของพยาธิในระยะ NEJs และระยะ 4 สัปดาห์ในกลุ่มที่ได้รับ PZQ ที่ความเข้มข้น 10  $\mu\text{g/ml}$  มีค่า RM values ลดลงต่ำกว่ากลุ่มพยาธิที่ถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อผสมด้วย PB และ cPI แต่ค่าเฉลี่ยของ SI value ของกลุ่มที่ได้รับ cPI มีค่าใกล้เคียงกลุ่มที่ได้รับ PZQ เมื่อประเมินการเปลี่ยนแปลงผิวพยาธิภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ SEM พบว่าผิวของพยาธิในระยะ NEJs และระยะ 4 สัปดาห์เกิดตุ่มพอง ตุ่มแตก การกัดเซาะของผิวและมีการหลุดลอกของผิวพยาธิหลังชั่วโมงที่ 12 เมื่อตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การป้องกันการติดเชื้อพยาธิพบว่าในกลุ่มที่ได้รับ PZQ มีเปอร์เซ็นต์การป้องกันการติดเชื้อพยาธิสูงที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ PB และ cPI อย่างไรก็ตามกลุ่มที่ได้รับ PB และ cPI ค่ามากกว่า 70% ของการป้องกันการติดเชื้อพยาธิ ผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงว่าสารสกัดหยาบจากรากเจตมูลเพลิงแดงมีประสิทธิภาพเป็นยาฆ่าพยาธิใบไม้ตับได้ในระดับดี ซึ่งควรพัฒนาต่อยอดในการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบนี้ต่อไป

## บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

Presently, the commercial anthelmintic drug cannot effectively inhibit *Opisthorchis* spp. infection. The drug discovery is urgent. It was reported that the anthelmintic effect of purified plumbagin of *Plumbago indica* root inhibited the motility of *Caenorhabditis elegans*, *Schistosoma mansoni* and *Paramphistomum cervi*. We hypothesized that the crude extract from *P. indica* is possible to be used as an anthelmintic drugs. Therefore, this work aimed to investigate the anthelmintic effect of plumbagin (PB) and crude extract of *P. indica* root (cPI) on newly excystment juvenile (NEJs) and 4 week of *O. viverrini* on % larval migration, relative motility (RM) assay, survival index (SI), % protection, and observation of histopathological changes. Flukes were divided in to 11 treatment groups (n=10 per group). Group 1 was negative control, group 2 was vehicle (0.1% DMSO), groups 3-5; flukes were incubated with RPMI-1640 medium containing praziquatel (PZQ), to be used as the positive control in the serial concentrations; 0.1, 1.0, and 10  $\mu\text{g/ml}$ , respectively. Groups 6-8, were incubated with medium mixed with PB at 0.1, 1.0, and 10  $\mu\text{g/ml}$  and groups 9-11 were incubated with cPI of similar dosages. After *in vitro* experiments, the RM values were evaluated after 1, 3, 6, 12 and 24 h incubation using scoring under the stereomicroscopy. Then, they were collected from each observation time to run tissue processing for histopathological changes using SEM. The results showed that mean RM values of PZQ-treated groups at the concentration 10  $\mu\text{g/ml}$  in both NEJs and 4-week of *O. viverrini* were progressively decreased more than PB and cPI-treated groups but the mean SI values of cPI were similar to PZQ group. Observation under the SEM, revealed that NEJs and 4-week *O. viverrini* showed numerous blebs, disruption of blebs, erosion and desquamation of tegument after 12 h exposure. The percentage of worm protection in the PZQ-treated group was higher than PB and cPI groups. However, PB and cPI groups showed more than 70% worm protection. Our results suggest that cPI, which could be an effective anthelmintic drug and further investigation on the biologic activity of fraction of cPI should be performed.