

Thesis Title	Screening of Anthelmintic Bioactive Compounds from Some Thai Indigenous Plants	
Author	Miss Korakot Atjanasuppat	
Degree	Master of Science (Biology)	
Thesis Advisory Committee	Assoc. Prof. Dr. Weerah Wongkham	Chairperson
	Dr. Puttinan Meepaowpan	Member

ABSTRACT

The methylene chloride and methanol extracts of 32 plant species were screened for the *in vitro* anthelmintic activity with the 3 species of worm; *Caenorhabditis elegans* at all developmental stages, adult stage of *Paramphistomum epiclitum* and cercaria stage of *Schistosoma mansoni*. Albendazole, mebendazole and praziquantel, were used as positive control in the assay. The cytotoxic activity was evaluated with the 2 cancer cell lines; human amelanotic melanoma (C32) and human cervical carcinoma (HeLa), and the normal human fibroblast (NLM). Ellipticine was used as reference antitumor drug. Immobilized death worms were observed after 3 hours of exposure to the extracts. The cytotoxic activity was evaluated by the SRB standard assay. The anthelmintic drugs development tendency was evaluated by the 2 indexes in this study; the inhibit concentration at 50% death (IC₅₀) and the selectivity

index (SI) against the cell lines. The active plants with higher SI than the positive control have been identified in 3 groups; (1) plants with anthelmintic activity including; *Plumbago indica*, *Piper chaba*, *Piper nigrum*, *Hibiscus esculentus* and *Cordyline fruticosa*, (2) plants with cytotoxic activity including; *Bouea burmanica*, and (3) plant with both activities including; *Cucurbita longa* and *Michelia champaca*. Plumbagin, the pure compound from root of *Plumbago indica* exhibited the strongest anthelmintic activity against *C. elegans* with IC_{50} at 9.71 $\mu\text{g/ml}$. Neither of the extracts showed active activity to *P. epicalitum*. The methylene chloride extract from fruit of *P. chaba* presented the excellent antischistosome activity with IC_{50} at 0.77 $\mu\text{g/ml}$. The strongest cytotoxic activity was presented from the methylene chloride extract from bark of *M. champaca* against C32 with IC_{50} at 0.18 $\mu\text{g/ml}$. These active plant extracts showed higher selectivity index ($SI > 100$ times) to normal cell (NLM) than the positive controls.

Keywords: anthelmintic agent, cytotoxic activity, IC_{50} , selectivity index, SRB assay,

Thai medicinal plant

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การคัดกรองเพื่อหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อต้าน หนอนพยาธิจากพืชท้องถิ่นของไทยบางชนิด	
ผู้เขียน	นางสาวกรกต อรรถนสุพัตติ	
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ. ดร. วีระ วงศ์คำ ดร. พุฒินันท์ มีเผ่าพันธ์	ประธานกรรมการ กรรมการ
บทคัดย่อ		

การคัดกรองสารออกฤทธิ์กำจัดหนอนพยาธิจากพืช 32 สปีชีส์ ที่สกัดด้วย methylene chloride และ methanol ต่อหนอน 3 ชนิดได้แก่ *Caenorhabditis elegans* ทุกชั้นการเจริญ *Paramphistomum epiclitum* ตัวเต็มวัย และ *Schistosoma mansoni* จั่น cercaria โดยใช้ยาถ่ายพยาธิ albendazole mebendazole และ praziquantel เป็นสารควบคุมในการทดลอง นอกจากนี้ได้นำเซลล์เชื้อสายมะเร็งสองชนิด ได้แก่ เซลล์มะเร็งผิวหนัง (C32) และ เซลล์เชื้อสายมะเร็งปากมดลูก (HeLa) รวมถึงเซลล์ปกติของมนุษย์ (NLM) มาใช้ในการหาค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ โดยมียารักษามะเร็ง ellipticin เป็นชุดควบคุม ได้สังเกตการตายของหนอนจากการหยุดการเคลื่อนที่ภายหลังได้รับสารสกัดเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ส่วนความเป็นพิษต่อเซลล์ประเมินด้วยวิธีตรวจมาตรฐาน SRB แนวโน้มของการนำสารสกัดไปพัฒนาเป็นยาถ่ายพยาธิประเมินได้จากตัวชี้วัด 2 ค่า คือความเข้มข้นที่ทำให้หนอนหรือเซลล์ตายร้อยละ 50 (IC₅₀) และค่าดัชนีการเลือกออกฤทธิ์ (SI) ของสารสกัด ที่มีต่อตัวอย่างทดลองเมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ จากการทดลองสามารถแบ่งพืชที่มีค่า SI สูงกว่าชุดควบคุมออกเป็น 3 กลุ่มคือ (1) พืชที่มีฤทธิ์ในการกำจัดเฉพาะหนอนเท่านั้น ได้แก่ *Plumbago indica* *Piper chaba* *Piper nigrum* *Hibiscus esculentus* และ *Cordyline fruticosa* (2) พืชที่เป็นพิษต่อเซลล์ได้แก่ *Bouea burmanica* และ (3) พืชที่ออกฤทธิ์ต่อทั้งหนอนและเซลล์ได้แก่ *Cucuma longa* และ *Michelia champaca* สารที่มีฤทธิ์สูงที่สุดต่อ *C. elegans* ได้แก่ plumbagin ซึ่งเป็นสารบริสุทธิ์ที่ได้จากรากของ *P. indica* โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 9.71 µg/ml โดยไม่พบพืชที่ออกฤทธิ์ต่อ *P. epiclitum* ส่วนสารสกัดด้วย methylene chloride

จากผลของ *P. chaba* แสดงฤทธิ์ดีเยี่ยมต่อ *S. mansoni* โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ $0.77 \mu\text{g/ml}$ นอกจากนี้สารสกัดจากเปลือกต้นของ *M. champaca* ด้วย methylene chloride มีฤทธิ์สูงสุดต่อเซลล์เชื้อสาย C32 โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ $0.18 \mu\text{g/ml}$ สารออกฤทธิ์ที่สกัดจากพืชเหล่านี้แสดงให้เห็นถึงค่าดัชนีการเลือกออกฤทธิ์ ($SI > 100$ เท่า) ต่อเซลล์ปกติ (NLM) สูงกว่ายาชุดควบคุม

คำสำคัญ: anthelmintic agent, cytotoxic activity, IC_{50} , selectivity index, SRB assay,
Thai medicinal plant



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved