

ข

บทคัดย่อภาษาไทย

ปัจจุบันยาฆ่าพยาธิในท้องตลาดไม่สามารถฆ่าพยาธิใบไม้กระเพาะ และพยาธิตัวกลมได้ การค้นหายาฆ่าพยาธิจึงเป็นเรื่องเร่งด่วน มีรายงานว่าสารสกัดบริสุทธิ์ plumbagin สามารถยับยั้งการเคลื่อนไหวของ *Caenorhabditis elegans* และพยาธิใบไม้ในเลือด *Schistosoma mansoni* ระยะ cercariae วัตถุประสงค์การศึกษาครั้งนี้เพื่อศึกษาผลของสารสกัด plumbagin จากรากเจตมูลเพลิงแดงต่อพยาธิ *Haemachys placei* และพยาธิใบไม้กระเพาะ *Paramphistomum cervi* โดยประเมินค่าความสัมพันธ์การเคลื่อนไหว (relative motility; RM value) ที่เปลี่ยนแปลง และการเปลี่ยนแปลงของผิวของพยาธิด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้พยาธิชนิดละ 240 ตัว แบ่งออกเป็น 6 กลุ่มการทดลอง กลุ่มละ 10 ตัว คือ กลุ่มที่ 1, 2, 3 และ 4 พยาธิถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ M-199 ผสมด้วยสารสกัดบริสุทธิ์ plumbagin ที่ความเข้มข้น 0.01, 0.1, 1.0, และ 10 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ กลุ่มที่ 5 พยาธิถูกเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมด้วยยา albendazole (ABZ) เป็นกลุ่ม positive control และกลุ่มที่ 6 พยาธิเลี้ยง 0.1% DMSO เป็นกลุ่มควบคุม พยาธิถูกประเมินการเปลี่ยนแปลงการเคลื่อนไหวที่ชั่วโมงที่ 3, 6, 12 และ 24 ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ stereo-microscope หลังจากนั้นพยาธิถูกนำไปผ่านขบวนการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของผิวโดยย้อมสี H&E ผลการทดลองพบว่าพยาธิทั้งสองชนิดที่ถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อผสมด้วยสารสกัด plumbagin ที่ความเข้มข้น 10 $\mu\text{g/ml}$ มีค่า RM values ลดลงต่ำกว่ากลุ่มพยาธิที่ถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อผสมด้วย ABZ ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 3 ถึงชั่วโมงที่ 12 และชั่วโมงที่ 24 มีเคลื่อนไหวของพยาธิ *P. cervi* ในสารสกัด plumbagin น้อยมาก เมื่อประเมินการเคลื่อนไหวภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo-microscope พบว่าผิวของพยาธิ *P. cervi* เกิดตุ่มพองและมีการหลุดลอกของผิวตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 และลักษณะผิวเปลี่ยนแปลงเป็นสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำเมื่อสิ้นสุดการทดลอง เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบแสงผ่านพบว่าผิวพยาธิ *P. cervi* เกิดตุ่มพอง ผิวพยาธิถูกการกัดกร่อนและเกิดการหลุดลอกของผิวของพยาธิตามลำดับ ส่วนพยาธิ *H. placei* หลังจากเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดบริสุทธิ์ plumbagin ที่ความเข้มข้น 10 $\mu\text{g/ml}$ พบว่ามีการเคลื่อนไหวลดลงที่ชั่วโมงที่ 3 และ 6 หลังจากนั้นไม่มีการเคลื่อนไหวของพยาธิตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 และ 24 จึงตรวจสอบการตายของพยาธิโดยใช้การติดสี methylene blue (vital dye) พบว่าติดสีน้ำเงินเข้ม เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ stereo-microscope พบว่าผิวของพยาธิ *H. placei* บวมแต่ไม่มีการหลุดลอกของผิว และพยาธิในกลุ่มที่ทดสอบสารสกัด plumbagin ความเข้มข้น 0.1 และ 1 $\mu\text{g/ml}$ พบว่ามีผลต่อการเคลื่อนไหวของพยาธิ *H. placei* เคลื่อนที่ช้าลงที่ชั่วโมงที่ 12 และ 24 เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบแสงผ่านพบว่าผิวพยาธิ *H. placei* ไม่เปลี่ยนแปลง แต่โครงสร้างส่วน parenchymal cells และ vitelline cells เกิด apoptosis จากผลการทดลองเสนอว่า สารสกัดบริสุทธิ์ plumbagin จากรากของต้นเจตมูลเพลิงแดงสามารถยับยั้งการเคลื่อนไหวของพยาธิ *P. cervi* และ *H. placei* ในระยะตัวเต็มวัย

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

Presently, the commercial anthelmintic drug can inhibit paramphistomum spp. and nematode infection. The drug discovery is urgent. Reportedly, the anthelmintic effect of purified plumbagin of *P. indica* inhibited the motility of *Caenorhabditis elegans* and infective cercariae stage of *Schistosoma mansoni*. Therefore, this work aimed to investigate the anthelmintic effect of purified plumbagin (PB) of *P. indica* root on adult *Paramphistomum cervi* and *Haemonchus placei* on relative motility (RM) assay and histopathological changes. Two hundred and forty flukes in each specie were divided in to 6 treatment groups (n=10 per group). Groups 1, 2, 3, and 4 flukes were incubated with M-199 medium containing plumbagin in the serial concentrations; 0.01, 0.1, 1.0, and 10 $\mu\text{g/ml}$, respectively. Group 5, as incubated with medium mixed with albendazole (ABZ) at 10 $\mu\text{g/ml}$ as the positive control and group 6, and they were incubated with medium containing 0.1% DMSO as the negative control. Flukes were evaluated the RM values on 3, 6, 12 and 24 h incubation using scoring under the stereo-microscopy. Then, they were collected from each observation time to run tissue processing for histopathological changes using H&E staining. The results showed that RM values of PB-treated groups at the concentration 10 $\mu\text{g/ml}$ in *P.cervi* and *H.placei* were progressively decreased more than ABZ-treated group since 3 to 12 h exposure, and few activity of *P. cervi* was observed at 24 h exposure. Observation under the stereo-microscope, adult *P.cervi* appeared numerous blebs and peeling of tegument after 12 h exposure. Moreover, the tegumental surface of *P.cervi* became the dark brown to black color at the end of experiment. Light microscopic observation showed the numerous blebs, erosion and desquamation of tegument of *P.cervi*. *H.placei* were partial move on 3 h and 6 h incubation in PB at concentration 10 $\mu\text{g/ml}$. At 12 h and 24 h exposure, they were dead which were confirmed by vital dye staining. The swelling tegumental surface of *H.placei* was occurred, but their tegument did not peel off. The slowly motility of *H.placei* was observed after 12 h and 24 h incubation with plumbagin at 0.1 and 1 $\mu\text{g/ml}$. Light microscopic observation showed similar tegumental layer as normal group of *H.placei*. But, the parenchymal cells and vitelline cells in deeper of parasites-treated plumbagin were found apoptotic appearance. These results suggest that plumbagin of *P. indica* could be against the motility of adult stage of *P.cervi* and *H.placei*.