

บทที่ 5

อภิปรายผลการวิจัย

จากการสืบค้นข้อมูลจากตำราการแพทย์แผนไทยพบว่า มะหาด, ราชพฤกษ์ และแก้ว มีสรรพคุณในการขับพยาธิ โดยมะหาดนั้น ส่วนของแก่นไม่มีสรรพคุณในการขับพยาธิตัวดีด (วิทย์, 2531; Charoenlarp et al., 1981; โฉน และคณะ 2508; เพียร, 2529; นิจศิริ, 2547), ขับพยาธิไส้เดือน (วิทย์, 2531; นันทวันและอรนุช, 2539) ส่วนเนื้อในฝักแก่ของราชพฤกษ์นั้นมีสรรพคุณเป็นยาระบายและขับพยาธิ (วิทย์, 2531; http://www.panmai.com/Direction/Tree_SW_2.htm, 9 กันยายน 2547) และใบของแก้วมีสรรพคุณเป็นยาขับพยาธิตัวดีด (ธงชัยและนิวัตร, 2544; เทพพนม และคณะ, 2533; นันทวันและอรนุช, 2539; วงศ์สถิตย์และคณะ 2540; <http://www.pixiart.com/archives/herb/10-1.html>, 4 มิถุนายน 2547) จากสรรพคุณในการมีฤทธิ์ในการขับพยาธิของพืชทั้งสามชนิดที่มีต่อพยาธิตัวดีดและพยาธิตัวกลม แต่ยังไม่มีการทดสอบฤทธิ์ที่มีต่อพยาธิใบไม้ในลำไส้ขนาดเล็ก *Haplorchis taichui* ซึ่งพยาธิชนิดดังกล่าวอาศัยอยู่ในลำไส้ เช่นเดียวกับพยาธิตัวดีดและพยาธิตัวกลม ดังนั้นสารสกัดที่ได้จากพืชทั้งสามชนิดอาจมีประสิทธิภาพในการฆ่าพยาธิใบไม้ *H. taichui* ได้ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ได้นำสารสกัดด้วยน้ำจาก มะหาด ราชพฤกษ์ และแก้ว นำมาศึกษาทดลองกับตัวเต็มวัยของพยาธิใบไม้ *H. taichui* ในสภาพทดลอง เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชแต่ละชนิด โดยหาความเข้มข้นของสารสกัดที่น้อยที่สุดและระยะเวลาในการออกฤทธิ์ฆ่าพยาธิทั้งหมด

จากการสกัดด้วยน้ำของพืชทั้ง 3 ชนิดพบว่าเปอร์เซ็นต์ของสารสกัดที่ได้้นั้นพบว่า ราชพฤกษ์มีเปอร์เซ็นต์สูงสุดคือ 47.55 รองลงมาคือ มะหาด 13.4 และ แก้ว 2.02 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดที่ได้ทั้งหมดจะถูกนำไปเตรียมเป็นสารละลายตั้งต้นเพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่าพยาธิ *H. taichui* โดยตรวจสอบจากการเคลื่อนไหวของพยาธิโดยเปรียบเทียบกับพยาธิในกลุ่มควบคุมที่เลี้ยงใน Tyrod's solution

ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากมะหาดพบว่าความเข้มข้นของสารสกัดที่น้อยที่สุดที่มีฤทธิ์ในการทำให้พยาธิตายโดยไม่มีการเคลื่อนไหวของพยาธิภายใน 10 วินาทีนั้นคือ 0.25 mg/ml ราชพฤกษ์ คือ 2.5 mg/ml ส่วน แก้วคือ 12.5 µg/ml โดยทั้งสามมีระยะเวลาในการออกฤทธิ์ที่เท่ากันคือ 12 ชั่วโมง จากการศึกษาสภาพการเคลื่อนไหวของพยาธิใบไม้ *H. taichui* ในสภาพทดลองนั้นพบว่าจะมีการเคลื่อนไหวอยู่ตลอดเวลาใน Tyrod's solution โดยได้ทำการทดสอบความมีชีวิตของ

พยาธิชนิดนี้ได้มานานกว่า 48 ชั่วโมง ในสภาพทดลองที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งการเคลื่อนไหวของพยาธินั้นเป็นสภาพที่บ่งบอกถึงสภาพความมีชีวิตของพยาธิ เมื่อพยาธิหยุดการเคลื่อนไหวและตายลง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอันเนื่องมาจากสารสกัดด้วยน้ำจากพืชทั้ง 3 ชนิด ซึ่งคล้ายคลึงกับการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นหลังจากพยาธิสัมผัสกับยาถ่ายพยาธิ พบว่าพยาธิจะหดตัวสั้นจนกลม หยุดการเคลื่อนไหว หลังจากนั้นพยาธิจะมีลักษณะหงิกงอ (เทวราช, 2537) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ เกิดขึ้นเนื่องจากยามีผลไปลด metabolism บางอย่างของพยาธิ เช่น glucose uptake, lactate release, glycogen และ ATP ซึ่งสาเหตุของการเปลี่ยนแปลงนี้อาจเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของ intracellular calcium homeostasis (Day *et al.*, 1992) ส่วนความเข้มข้นที่มีของสารสกัดที่แตกต่างกันนั้น อาจเนื่องจากสารที่มีฤทธิ์ต่อพยาธินั้นเป็นคนละชนิดกัน ซึ่งในแก่นไม้ของมะหาดนั้นมีรายงานว่าพบสารออกฤทธิ์ที่มีผลต่อการฆ่าพยาธิตัวดี คือ 2, 4, 3', 5' tetrahydroxystilbene (Manmontree, 1949; Mongolsuk *et al.*, 1957; Sambhandharaksa *et al.*, 1965; โฉนและคณะ, 2508; สมพรและคณะ, 2526) ในขณะที่เนื้อในฝักของราชพฤกษ์นั้นมีสารประเภท Anthraquinones (ประภาศรี, 2523) ซึ่งสารชนิดนี้มีฤทธิ์ไปกระตุ้นการบีบตัวของลำไส้ ซึ่งอาจเป็นผลให้มีการขับพยาธิออกมา ส่วน แก้ว มีรายงานว่าส่วนของใบนั้นมีสารต้านเชื้อจุลินทรีย์พวก *Mycococcus pyogenes* และ *Escherichia coli* (Lily, 1980) โดยสารเคมีที่เป็นส่วนประกอบหลักในใบของแก้ว ได้แก่กลุ่ม alkaloid, coumarins, flavonoids (Takeshi and Kurnia, 1996; Takeshi *et al.*, 1996; Takeshi and Kurnia, 1997; Attaur *et al.*, 1997) แต่ยังไม่มียางานสารที่ออกฤทธิ์ต่อพยาธิใบไม้ *H. taichui* ซึ่งจำเป็นต้องทำการศึกษาต่อไปเพื่อทราบว่าสารชนิดใดที่ออกฤทธิ์ต่อพยาธิ *H. taichui* จากผลของสารสกัดที่มีฤทธิ์ต่อการเคลื่อนไหวของพยาธิ ซึ่งได้กำหนดเป็นระดับคะแนนนั้น ซึ่งในช่วงระยะเวลาที่พยาธิสัมผัสกับสารสกัดของพืชสมุนไพรทั้งสามชนิดนั้น พยาธิมีการตอบสนองกับสารสกัดโดยมีระดับการเคลื่อนไหวที่ช้าลงก่อนที่จะตาย ทั้งนี้อาจเนื่องจากผลของสารสกัดของพืชสมุนไพรทั้งสามชนิดมีฤทธิ์ต่อพยาธิ ซึ่งอาจเกิดขึ้นภายในตัวของพยาธิ ซึ่งกลไกการเข้าทำปฏิกิริยาของสารในพืชสมุนไพรแต่ละชนิดนั้น อาจก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงซึ่งจำเป็นต้องมีการศึกษาต่อไป เพื่อที่จะทำให้ทราบถึงการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับเนื้อเยื่อภายในตัวพยาธิด้วย ซึ่งอาจทำการศึกษาต่อด้วยเทคนิคจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscopy)

ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากมะหาด ราชพฤกษ์ และแก้ว ต่อพยาธิ *H. taichui* ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ นั้น สารสกัดจากมะหาดและแก้วนั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงที่เห็นได้ชัดเจน โดยพบการโป่งพองออกของพื้นผิวคล้ายกับพองอากาศ และมีการโป่งพองออกที่บริเวณส่วนหัวและส่วนท้ายของลำตัว ในกลุ่มพยาธิที่สัมผัสกับสารสกัดจากมะหาด แต่การโป่งพองพื้นผิวลำตัว

ของพยาธิที่สัมผัสกับแก้วจะรุนแรงกว่าและเห็นโป่งพองคล้ายฟองอากาศที่ชัดเจนกว่า ส่วนสีของตัวพยาธิที่แตกต่างกันนั้น โดยพยาธิที่สัมผัสกับสารสกัดจากมะหาดนั้น จะมีสีน้ำตาลนั้น เนื่องจากสารสกัดของมะหาดนั้นมีสีน้ำตาล เมื่อสารสกัดดังกล่าวถูกพยาธิดูดซึมเข้าไป จึงเป็นสาเหตุทำให้พยาธิมีสีน้ำตาลดังกล่าว ขณะที่ในกลุ่มพยาธิที่สัมผัสกับสารสกัดจากแก้วนั้นมีสีขาวใส ก็เนื่องจากสารสกัดมีสีขาว ส่วนพยาธิในกลุ่มที่สัมผัสกับสารสกัดจากราชพฤกษ์นั้นพบการเปลี่ยนแปลงที่น้อยกว่า โดยพบการโป่งพองออกคล้ายเนื้อเยื่อเพียงเล็กน้อยที่บริเวณส่วนท้ายของลำตัว ส่วนตัวพยาธิที่มีสีน้ำตาลก็เนื่องจากสีของสารสกัดมีสีน้ำตาลเช่นเดียวกับมะหาด

ผลจากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงสภาพพื้นผิวของพยาธิใบไม้ *H. taichui* ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนหลังจากสัมผัสกับสารสกัดของพืชทั้ง 3 ชนิด เมื่อเทียบกับควบคุมพบว่าพยาธิในกลุ่มที่สัมผัสกับสารสกัดจากแก้วและมะหาดนั้นจะเกิดการบวมของผนังลำตัวเป็น bleb (กระเปาะ) และแตกออก เกิดเป็นบาดแผลและเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นก็จะเกิดการหลุดลอกออกของพื้นผิวลำตัว โดยพบว่าความเสียหายที่เกิดขึ้นนั้นพยาธิที่สัมผัสกับสารสกัดของแก้วนั้นจะมีความรุนแรงกว่ามะหาด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Wongsawad, et al. (2004) ที่ศึกษาผลของสารสกัดจากมะหาดที่มีต่อพื้นผิวของพยาธิใบไม้ *H. taichui* ในสภาพทดลอง โดยใช้สารสกัดของมะหาดในระดับความเข้มข้นที่สูงกว่าการวิจัยครั้งนี้ โดยพบการเปลี่ยนแปลงพื้นผิวที่คล้ายกับรายงานนี้แต่มีการเปลี่ยนแปลงที่รุนแรง โดยรูปแบบของการเกิด bleb ของสารสกัดชนิดนี้ไม่เด่นชัด พบว่าจะเกิดกระเปาะกระจายไปทั่วตัวไม่สามารถระบุว่าจะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงที่บริเวณใดก่อน แต่รูปแบบการเปลี่ยนแปลงพื้นผิวดังกล่าวคล้ายกับการศึกษาผลของยาถ่ายพยาธิ praziquantel โดย Apinhasmit and Sobhon (1996) ที่ทำการศึกษาในพยาธิ *Opistochis viverrini* ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงที่คล้ายคลึงกันแต่ต่างกันที่พยาธิดังกล่าวจะเกิดการเปลี่ยนแปลงที่บริเวณด้านท้ายของ นอกนั้นในการศึกษาผลของยา praziquantel ในพยาธิ *Fibricola seoulensis* ก็เกิดเปลี่ยนแปลงที่คล้ายกัน แต่ในพยาธิชนิดนี้จะมีบริเวณของการเกิดการแตกออกของกระเปาะที่บริเวณขอบด้าน ventral ของส่วนหัวของลำตัว และบริเวณรอยต่อระหว่างส่วนหัวและส่วนท้ายของลำตัว (Lee, 1985) ซึ่งบริเวณพื้นผิวที่มีการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างกันนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพยาธิ ทั้งนี้อาจเนื่องจากลักษณะของเนื้อเยื่อแต่ละบริเวณของพยาธิแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน แต่มีสิ่งที่เหมือนกันคือรูปแบบของการเกิดกระเปาะและการแตกออก ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดที่มีอยู่ในมะหาดและแก้วนั้น ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพพื้นผิวของพยาธิที่คล้ายยาถ่ายพยาธิ praziquantel (Apinhasmit and Sobhon, 1996) ในขณะที่ในช่วงแรกหลังสัมผัสกับสารสกัดมะหาด พบว่าส่วนของ spine จะมีลักษณะที่งุ่มงอลงซึ่งคล้ายกับการรายงานของ ภัตสรณ์พัฒน์และคณะ (2546) ที่ศึกษาผลของกระเทียมที่มีพยาธิใบไม้ *Stellantchasmus falcatus* ซึ่งจัดเป็นพยาธิใบไม้ที่อยู่ใน Family เดียวกันกับพยาธิใบไม้

H. taichui โดยพบว่าสารสกัดจากกระเทียมทำให้ comb plate หายไป และทำให้ความยาวของส่วนซี่ฟันนั้นลดลง ซึ่งกรณีดังกล่าวอาจเกิดจากการงุ้มลงของปลายซี่หนาม (spine) เช่นเดียวกับการทดลองนี้ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับพยาธิใบไม้ *H. taichui* นั้นมีการเปลี่ยนแปลงที่สอดคล้องทั้งในภาพถ่ายพยาธิและในสารสกัดจากพืชสมุนไพร ดังนั้นจึงเป็นยืนยันถึงคุณสมบัติการเป็นยาถ่ายพยาธิของทั้งมะหาดและแก้ว ได้เป็นอย่างดี ซึ่งควรจะมีการศึกษาถึงชนิดของสารที่ออกฤทธิ์จำเพาะต่อพยาธิชนิดนี้จากทั้งมะหาดและแก้ว

ส่วนศึกษาการเปลี่ยนแปลงสภาพพื้นผิวของพยาธิใบไม้ *H. taichui* ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนหลังจากสัมผัสกับสารสกัดของราชพฤกษ์นั้นค่อนข้างจะมีความแตกต่างกับมะหาดและแก้ว เมื่อรวมถึงการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบสโคริโอ ซึ่งพบการเปลี่ยนแปลงที่น้อยมาก แต่เมื่อทำการศึกษาดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าเกิดสภาพการเปลี่ยนแปลงที่มีการโป่งพองของพื้นผิวเป็นกระเปาะ (bleb) และมีการแตกออกของกระเปาะดังกล่าวด้วย แต่รูปแบบของการเปลี่ยนแปลงนั้น จะมีการหลุดออกของ spine และพื้นผิวของพยาธิมากกว่าที่มีการแตกออกของกระเปาะแล้วตามด้วยการเสียสภาพพื้นผิวของรุนแรงเช่นในมะหาดและแก้ว ซึ่งอาจเนื่องจากความแตกต่างของสารที่อยู่พืชแต่ละชนิด ซึ่งก็มีความจำเป็นที่ต้องมีการศึกษาต่อไปถึงสารที่มีฤทธิ์จำเพาะต่อพยาธิชนิดนี้เช่นกัน

ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าวนี้เป็นการยืนยันถึงประสิทธิภาพของพืชทั้งสามชนิด ที่มีฤทธิ์ในการเป็นยาถ่ายพยาธิ ซึ่งผลจากการวิจัยครั้งนี้ได้ทราบถึงความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่มีฤทธิ์ในการฆ่าพยาธิในสภาพทดลองแล้ว เพื่อให้เกิดการพัฒนาต่อไปจำเป็นจะต้องทำการศึกษาในสัตว์ทดลองด้วยและทำการศึกษาศักดิ์สารที่มีฤทธิ์เฉพาะที่มีผลต่อพยาธิใบไม้ชนิดนี้ด้วย จึงจะทำให้เกิดการวิจัยในเชิงบูรณาการ อันจะเป็นการพัฒนาสมุนไพรไทยสู่การแข่งขันในเชิงพาณิชย์ต่อไป