

ฤทธิ์ปรับภูมิคุ้มกันของ Chikusetsusaponin IVa จากผักเป็ดน้ำ

Immunomodulating Activity of Chikusetsusaponin IVa from

Alternanthera philoxeroides

อาริยา รัตนทองคำ^{*1}, บั๋งอร ศรีพานิชกุลชัย^{2,3}, ตริเพชร์ กาญจนภูมิ²

Ariya Rattanathongkom¹, Bung-orn Sripanidkulchai^{2,3}, Tripetch Kanchanapoom²

¹ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

² คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

³ ศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพจากสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Received: 15 September 2008

Accepted: 22 October 2008

Abstract

Alternanthera philoxeroides has been used as antipyretic, dressing for wounds and ulcers in Thai traditional medicine. The present study aims to investigate the immunomodulating activity of this plant by using splenocyte proliferation test. The results showed that methanol (MeOH) extract, diethyl ether (Et₂O) and *n*-butanol (*n*-BuOH) fractions of *A. philoxeroides* were not cytotoxic to host cells up to the concentration tested (200 µg/ml). For immunomodulating study, MeOH extract, Et₂O and *n*-BuOH fractions suppressed splenocyte proliferation. Et₂O fraction at a concentration of 50 µg/ml significantly suppressed splenocyte proliferation ($p < 0.05$). Whereas chikusetsusaponin IVa increased splenocyte proliferation in dose-dependent manner and at a concentration of 25 µg/ml the compound significantly increased splenocyte proliferation ($p < 0.05$).

Keywords: *Alternanthera philoxeroides*, chikusetsusaponin IVa, splenocyte

บทคัดย่อ

ผักเป็ดน้ำเป็นพืชสมุนไพรไทยที่ใช้เพื่อการลดไข้ และพอกบาดแผล ในการศึกษาครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ปรับภูมิคุ้มกันของผักเป็ดน้ำเมื่อทดสอบด้วยวิธีการวัดการเพิ่มจำนวนของ splenocyte พบว่า สารสกัดหยาบส่วนเมธานอล ไดเอทิลอีเทอร์ และเอ็น-บิวทานอล ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ใช้ทดสอบ เมื่อทดสอบความสามารถในการปรับภูมิคุ้มกันของสารสกัดหยาบทั้งสาม พบว่า สารสกัดหยาบทั้งสามมีผลต่อการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของ splenocyte โดยเฉพาะสารสกัดหยาบส่วนไดเอทิลอีเทอร์ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของ splenocyte อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ ในขณะที่สารสำคัญ

* ผู้เขียนที่สามารถติดต่อได้ : อาริยา รัตนทองคำ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002
โทรศัพท์ 0-4320-2405 โทรสาร 0-4320-2862 E-mail : ariya@kku.ac.th

chikusetsusaponin IVa มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของ splenocyte ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น และที่ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สามารถเพิ่มจำนวนของ splenocyte อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

คำสำคัญ : ผักเป็ดน้ำ, chikusetsusaponin IVa, splenocyte

บทนำ

ผักเป็ดน้ำ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb. อยู่ในวงศ์บานไม่รู้โรย (Family: Amaranthaceae) เป็นพืชล้มลุก ลำต้นทอดคลาน หรืออยู่ริมน้ำ พบทั่วไปตามแอ่งน้ำ หนอง บึง ในตำรายาแผนโบราณใช้ทั้งต้นเพื่อลดไข้ ขับน้ำนม และเป็นยาพอกฝี ต้นอ่อนสามารถใช้เป็นอาหารของคนและสัตว์ จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าสารสกัดจากส่วนน้ำสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ human immunodeficiency virus (Zhang et al., 1988) และสารสกัดส่วนใบโตเลี่ยมอีเทอร์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ dengue virus (Jiang et al., 2005) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากผักเป็ดน้ำยังสามารถยับยั้ง respiratory syncytical virus ได้อีกด้วย (Jiang et al., 2007) ในการศึกษาทางพิษเคมีพบว่าผักเป็ดน้ำ ประกอบด้วยสารสำคัญ คือ สาร phaeophytin a, pheophytin a', oleanolic acid, β -sitosterol, 3- β -hydroxystigmast-5-en-7-one, α -spinasterol, 24-methylenecycloartanol, cycloeucalenol, phytol, alternanthin B และ N-trans-feruloyl-3,5-dimethoxytyramine (Fang et al., 2007; Fang et al., 2006)

การศึกษาที่ผ่านมาสาร chikusetsusaponin IVa สามารถพบได้ในพืช *Panax japonicus* และ *Chenopodium ficifolium* (Gohar et al., 2002; Lin et al., 1976) โดยสารดังกล่าวมีฤทธิ์ในการป้องกันการทำลายของเซลล์ตับในหนูทดลองเมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยสารคาร์บอนเตตระคลอไรด์ และ กาแลคโตซามีน (Hikino et al., 1985) แต่สำหรับบทบาทต่อระบบภูมิคุ้มกันนั้นยังไม่มีการศึกษา

จากข้อมูลเบื้องต้นจึงเป็นไปได้ว่าพืชชนิดนี้น่าจะมีบทบาทต่อทางระบบภูมิคุ้มกันซึ่งเกี่ยวข้องกับการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไวรัส ซึ่งระบบภูมิคุ้มกันเป็นกลไกการป้องกันตนเองอย่างหนึ่งของร่างกาย การเพิ่มภูมิคุ้มกันให้แก่ร่างกายจึงเป็นวิธีการหนึ่งที่เกี่ยวข้อง

กับการรักษาการติดเชื้อต่าง ๆ ในร่างกายโดยเฉพาะอย่างยิ่งการติดเชื้อไวรัส ในช่วงสิบปีที่ผ่านมางานวิจัยทางวิทยาศาสตร์มากมาย รายงานถึงฤทธิ์ต่อระบบภูมิคุ้มกันของสมุนไพรในเขตร้อน เช่น ฟาทะลายโจร มีฤทธิ์เพิ่มจำนวนของ lymphocytes (Kumar et al., 2004; Puri et al., 1993), echinacea (*Echinacea purpurea* (L.) Moench) มีฤทธิ์เพิ่มการทำงานของเม็ดเลือดขาว, T-lymphocytes, macrophages และ natural killer cells ส่งผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดแบคทีเรียและสิ่งแปลกปลอมอื่นๆ นอกจากนี้ยังพบว่า echinacea มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อต่างๆ อีกด้วย เช่น เชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย และไวรัส (Brinkeborn et al., 1999) จากการวิจัยทางการแพทย์มีการใช้ไมโตเจนหลายชนิดเพื่อกระตุ้นหรือยังยั้งการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันได้แก่ การใช้ phytohaemagglutinating (PHA) หรือ concanavalin A (ConA) ในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ของ T-lymphocyte หรือ การใช้ lipopolysaccharide (LPS) ในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ของ B-lymphocyte เป็นต้น

เนื่องจากผักเป็ดน้ำสามารถลดการติดเชื้อไวรัส ซึ่งอาจมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ดังนั้นการศึกษาดังนี้จึงต้องการศึกษาผลของสารสกัดหยาบและสารสำคัญ chikusetsusaponin IVa จากส่วนเอ็น-บิวทานอลของผักเป็ดน้ำต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย

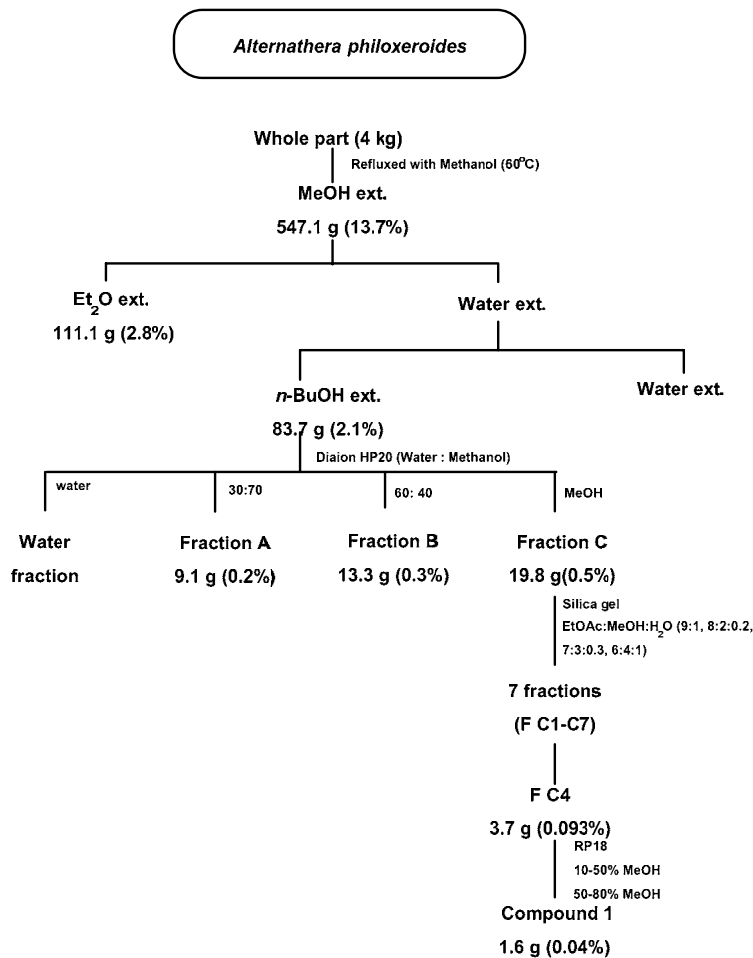
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. สารเคมี ได้แก่ เมธานอล ไดเอทิลอีเทอร์ และ เอ็น-บิวทานอล เป็นชนิด AR grade อาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI-1640, fetal bovine serum (FBS), phytohaemagglutinin (PHA) เป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Gibco ประเทศสหรัฐอเมริกา trypan blue, 3(4,5-dimethyl thiazol-2-yl) 2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT), dimethyl sulfoxide (DMSO), pokeweed mitogen (PWM) เป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Sigma ประเทศสหรัฐอเมริกา

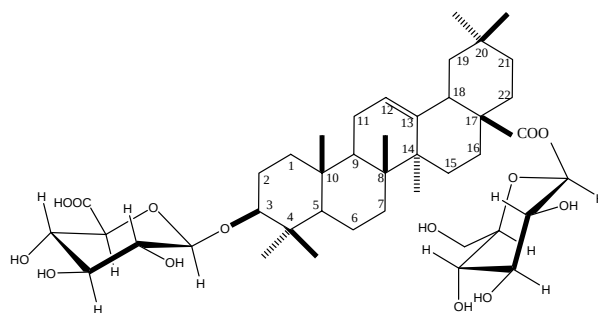
2. การเตรียมสารสกัดหยาบและสารสำคัญของพืช
ผักเป็ดน้ำที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เก็บในเดือนสิงหาคมจากแหล่งน้ำในจังหวัดขอนแก่น และทำเป็นตัวอย่างแห้งเก็บไว้ที่คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (KKU-A-002) นำส่วนต้นและรากของพืชมาตัดให้มีขนาดเล็กลงจากนั้นอบให้แห้งและบดให้เป็นผงละเอียด นำผงพืช (4.0 กิโลกรัม) มาทำการสกัดด้วยเมทานอลโดยการต้มที่อุณหภูมิ 60°C ทำซ้ำ 3 ครั้ง ได้สารสกัดในส่วนเมทานอล 13.7% และสกัดแยกตามลำดับส่วนความเข้มข้นด้วยไดเอทิลอีเทอร์ และเอ็น-บิวทานอล นำสารละลายที่ได้จากการสกัดด้วย ไดเอทิลอีเทอร์ และเอ็น-บิวทานอลมาระเหยภายใต้ความดันต่ำและทำให้แห้งด้วยเครื่อง freeze drier ได้ปริมาณสารสกัดแต่ละส่วน 2.8 และ 2.1% ตามลำดับ

จากนั้นนำสารสกัดเอ็น-บิวทานอลมาผ่านคอลัมน์ Diaion HP20 ซะล้างด้วยน้ำและเมทานอล ได้ 3

fractions (A-C) เมื่อนำทั้งสาม fractions มาทดสอบด้วย Thin layer chromatography พบว่าสารสำคัญหลักมีมากใน fraction C จึงนำ fraction C มาสกัดแยกต่อด้วยวิธีทางโครมาโตกราฟีชนิดต่าง ๆ ได้สารออกมา 7 fractions (Fraction C1-7) จากนั้นนำ fraction C4 ไปสกัดแยกต่อด้วย reverse-phase column chromatography ซะล้างด้วย 50-80% เมทานอล ได้สารสำคัญหลัก 0.04% (รูปที่ 1) นำสารดังกล่าวไปวิเคราะห์หาโครงสร้างทางเคมีโดยวิธีการทางสเปกโตรสโกปี และเปรียบเทียบกับข้อมูลที่เคยมีรายงานการวิจัยมาก่อนแล้ว (Gohar et al., 2002; Lin et al., 1976) พบว่าสารสำคัญหลักที่ได้คือ 3-O-β-D-glucopyranosiduronic acid 28-O-β-D-glucopyranosyl-oleanolate หรือ chikusetsusaponin IVa (รูปที่ 2)



รูปที่ 1 การสกัดและแยกสารบริสุทธิ์จากผักเป็ดน้ำ (*Alternanthera philoxeroides*)



รูปที่ 2 สารสำคัญ 3-O-β-D-glucopyranosiduronic acid 28-O-β-D-glucopyranosyloleanolate หรือ chikusetsusaponin IVa จากผักเป็ดน้ำ

3. สัตว์ทดลอง

สัตว์ทดลองที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นหนูสายพันธุ์ BALB/c อายุ 4 สัปดาห์ ได้รับมาจาก National Laboratory Animal Center มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ

4. การทดสอบฤทธิ์ประจักษ์ร่วมกัน

4.1 การเตรียมเซลล์ splenocyte

นำหนูมาฆ่าด้วยวิธี cervical dislocation แยกม้ามมาออกด้วยวิธีปราศจากเชื้อ จากนั้นนำมาแยกเป็นเซลล์เดี่ยวในอาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI-1640 ที่ผสมด้วย 10% FBS และกำจัดเม็ดเลือดแดงออกจากสารละลาย ACK (0.15 M NH_4Cl , 10 mM KHCO_3 , 0.1 mM Na_2EDTA , pH 7.4) แล้วนำไปปั่นที่ 1,500 g เป็นเวลา 10 นาที นำเซลล์ splenocyte ที่แยกได้ไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI-1640 และตรวจสอบความมีชีวิตของเซลล์ด้วย trypan blue และปรับให้มีความเข้มข้น 2×10^6 cells/ml

4.2 การเตรียมสารตัวอย่างเพื่อทดสอบ

นำสารสกัดหยาบส่วนเมทานอล ไดเอทิลอีเทอร์ เอ็น-บิวทานอล และสาร chikusetsusaponin IVa มาละลายในสารละลาย DMSO ความเข้มข้น 5% และกรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.2 μm นำส่วนใสมาใช้ในการทดลองต่อไป

4.3 ทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดกับเซลล์ splenocytes

นำเซลล์ปริมาณ 100 μl (2×10^6 cells/ml) ใส่ลง 96-well plate เติมสารตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาณ 50 μl นำไปบ่มเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 48 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 37°C และมี CO_2 5% ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงปริมาณของเซลล์ splenocyte ด้วยวิธี MTT

assay (Mosmann, 1983) โดยการเติมสารละลาย MTT (1 $\mu\text{g/ml}$) ปริมาณ 50 μl นำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 37°C และมี CO_2 5% เป็นเวลา 3-5 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 nm ด้วยเครื่องอ่านไมโครเพลตชนิดมัลติโหนด (microplate reader บริษัท Bio-Rad, model 3600) นำค่าที่ได้มาไปคำนวณหาค่า 50% cytotoxic dose (CC_{50})

4.4 ทดสอบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ splenocyte

นำเซลล์ปริมาณ 100 μl (2×10^6 cells/ml) ใส่ลง 96-well plate เติมสารตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่มีค่าต่ำกว่าค่า CC_{50} ปริมาณ 50 μl และสารไมโตเจน ปริมาณ 50 μl ซึ่งในการทดสอบครั้งนี้ใช้ไมโตเจน 2 ชนิด คือ PHA (อัตราส่วนความเข้มข้นสารต่ออาหารเลี้ยงเซลล์ 1:40) และ PWM (ความเข้มข้น 0.5 $\mu\text{g/ml}$) ส่วนหลุมควบคุมจะมีเฉพาะเซลล์กับสารตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จากนั้นนำไปบ่มเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 48 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 37°C และมี CO_2 5% ทำการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงปริมาณของเซลล์ splenocyte ด้วยวิธี MTT assay นำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่า proliferation index (PI) ด้วยสมการดังต่อไปนี้

$$\text{PI} = \frac{\text{O.D. test sample with mitogen}}{\text{O.D. test sample without mitogen}}$$

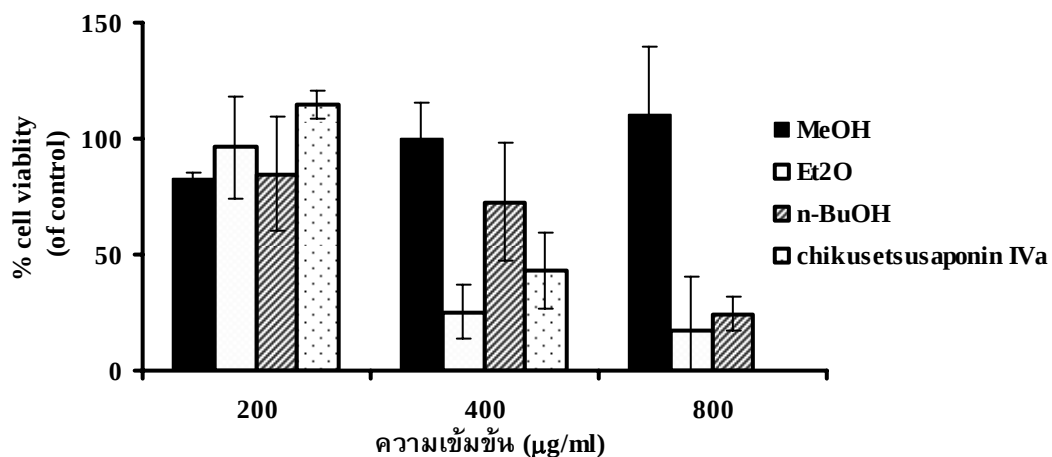
5. การแสดงค่าและวิเคราะห์ทางสถิติ

การทดลองทำซ้ำ 3 ครั้ง ผลที่ได้แสดงด้วยค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ส่วนความแตกต่างของค่าเฉลี่ยวิเคราะห์ด้วย ANOVA ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

ผลการทดลอง

จากการทดสอบความเป็นพิษของสารตัวอย่างต่อเซลล์ splenocyte พบว่า สารสกัดหยาบส่วนเมทานอล ไดเอทิลอีเทอร์ เอ็น-บิวทานอล และ สารสำคัญ chikusetsusaponin IVa มีความเป็นพิษเพิ่มขึ้นเมื่อมีความเข้มข้นสูงขึ้น โดยที่สารสกัดหยาบส่วนเมทานอลมีความเป็นพิษต่ำสุดให้ค่า CC_{50} มากกว่า 800 $\mu\text{g/ml}$

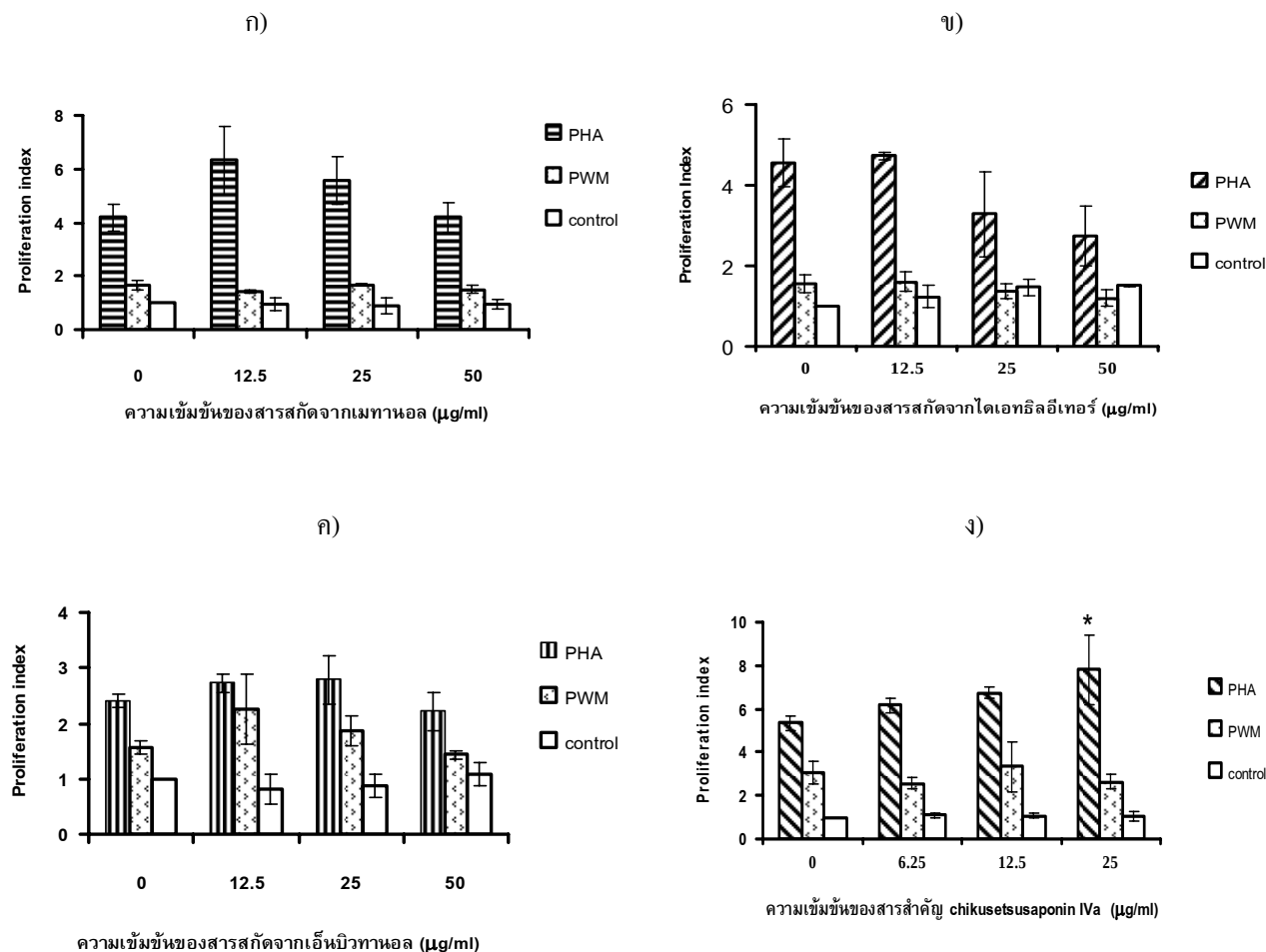
ในขณะที่สารสกัดหยาบส่วนไดเอทิลอีเทอร์ เอ็น-บิวทานอล และสารสำคัญ chikusetsusaponin IVa มีค่า CC_{50} เท่ากับ 378.28, 606.7 และ 386.62 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 ผลของสารสกัดหยาบส่วนเมทานอล ไดเอทิลอีเทอร์ เอ็น-บิวทานอล และสารสำคัญ Chikusetsusaponin IVa จากผักเป็ดน้ำต่อความมีชีวิตของเซลล์ splenocyte

เมื่อนำสารตัวอย่างมาทดสอบกับไมโตเจนชนิด PHA พบว่า สารสำคัญ chikusetsusaponin IVa สามารถเพิ่มปริมาณของเซลล์ splenocyte ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น และที่ความเข้มข้น 25 $\mu\text{g/ml}$ สามารถเพิ่มปริมาณของเซลล์ splenocyte ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ ในขณะที่สารสกัดหยาบส่วนเมทานอล ไดเอทิลอีเทอร์ และเอ็น-บิวทานอล มีผลยับยั้งการเพิ่มปริมาณของเซลล์ splenocyte (รูปที่ 4) โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารสกัดหยาบส่วนไดเอทิลอีเทอร์ที่ความเข้มข้น 50 $\mu\text{g/ml}$ ยับยั้งการเพิ่มปริมาณของเซลล์ splenocyte ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$ ส่วนสารสกัดหยาบส่วนเมทานอลและเอ็น-บิวทานอล สามารถยับยั้งการเพิ่มปริมาณของเซลล์ splenocyte แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อนำสารตัวอย่างมาทดสอบกับไมโตเจนชนิด PWM พบว่า สารสกัดจากเมทานอล ไดเอทิลอีเทอร์ และสารสำคัญ chikusetsusaponin IVa ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของเซลล์ splenocyte ในขณะที่สารสกัดจากเอ็น-บิวทานอลมีผลยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ splenocyte ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 4)



รูปที่ 4 ผลของสารสกัดหยาบและสารสำคัญ chikusetsusaponin IVa จากผักเป็ดน้ำต่อจำนวนของเซลล์ splenocyte เมื่อกระตุ้นหรือไม่กระตุ้นด้วยไมโตเจน (PHA และ PWM) ก) สารสกัดจากเมทานอล ข) สารสกัดจากไดเอทิลอีเทอร์ ค) สารสกัดจากเอthin-บิวทานอล และ ง) สารสำคัญ chikusetsusaponin IVa (* $p < 0.05$)

วิจารณ์และสรุปผล

ผลการวิจัยครั้งนี้พบว่า สารสำคัญ chikusetsusaponin IVa จากผักเป็ดน้ำซึ่งเป็นสารในกลุ่ม triterpenoid saponins สามารถเพิ่มปริมาณของ splenocyte เมื่อถูกกระตุ้นด้วยไมโตรเจนชนิด PHA ในขณะที่สารสกัดหยาบส่วนเมทานอล ไดเอทิลอีเทอร์ และเอthin-บิวทานอล มีผลยับยั้งการเพิ่มปริมาณของเซลล์ splenocyte ทั้งนี้อาจเป็นผลจากส่วนประกอบอื่นที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบ ในทางตรงกันข้ามเมื่อกระตุ้นด้วยไมโตรเจนชนิด PWM พบว่า สารสกัดจากเมทานอล ไดเอทิลอีเทอร์ และสารสำคัญ chikusetsusaponin IVa ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของเซลล์ splenocyte แต่สารสกัดจากเอthin-บิวทานอลมีผลยับยั้งการเพิ่มจำนวนของ

เซลล์ splenocyte การศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสารไมโตรเจนทั้งสองชนิดนี้มีผลต่อการกระตุ้น lymphocyte ต่างชนิดกัน โดยที่ PHA มีผลในการกระตุ้น T-lymphocyte (Nakamura et al., 1986) ในขณะที่ PWM มีผลต่อการกระตุ้น B-lymphocyte (Schreck et al., 1982) จากการศึกษาในครั้งนี้สารสำคัญ chikusetsusaponin IVa มีผลต่อการกระตุ้น T-lymphocyte มากกว่า B-lymphocyte ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาซึ่งพบว่า สารในกลุ่ม triterpenoid saponin มักใช้เป็น adjuvant เพื่อช่วยในการกระตุ้น cell-mediated immune system และชักนำให้มีการผลิตแอนติบอดีเพิ่มขึ้น (Oda et al., 2000) เช่นเดียวกับการศึกษาในพืช *Quillaja saponaria* Molina. มีสารสำคัญหลักเป็นกลุ่ม quillaia saponin มีคุณสมบัติที่

เป็น adjuvant ที่ดีมากสำหรับการผลิตวัคซีนในคนและสัตว์ (Behboudi et al., 1997) สำหรับการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของ splenocyte พบได้ในการศึกษาสารสกัดหยาบส่วนเอธานอลจากพืช *Semen persicae* และ *Siegesbeckia orientalis* สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของ splenocyte เมื่อถูกกระตุ้นด้วย concanavalin A และ lipopolysaccharide (LPS) ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น (Sun and Wang, 2006; Zhang et al., 2006)

ในการศึกษาครั้งจะเห็นได้ว่าสารสำคัญ chikusetsusaponin IVa จากผักเป็ดน้ำมีบทบาทในการเพิ่มภูมิคุ้มกันให้แก่ร่างกาย ซึ่งอาจมีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งการติดเชื้อต่าง ๆ ของร่างกายได้อีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณนิรามัย ฝางกระโทก ที่ช่วยแนะนำเทคนิคในการทำวิจัย และขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพจากสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้เงินสนับสนุนในการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Behboudi S, Morein B, Villacres-Eriksson M. 1997. *In vivo* and *in vitro* induction of IL-6 by *Quillaja saponaria* molina triterpenoid formulations. *Cytokine* 9: 682-687.

Brinkeborn RM, Shah DV, Degenring FH. 1999. Echinaforce and other echinacea fresh plant preparations in the treatment of the common cold. A randomized, placebo controlled, double-blind clinical trial. *Phytomedicine* 6: 1-6.

Fang J, Jia W, Gao W, et al. 2007. Antitumor constituents from *Alternanthera philoxeroides*. *J Asian Nat Prod Res* 9: 511-515.

Fang JB, Duan HQ, Zhang YW, et al. 2006. Chemical constituents from herb of *Alternanthera philoxeroides*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 31: 1072-1075.

Gohar AA, Maatooq GT, Niwa M, et al. 2002. A new triterpene saponin from *Chenopodium ficifolium*. *Z Naturforsch [C]* 57: 597-602.

Hikino H, Kiso Y, Kinouchi J, et al. 1985. Antihepatotoxic actions of ginsenosides from *Panax ginseng* roots1. *Planta Med* 51: 62-64.

Jiang WL, Luo XL, Kuang SJ. 2005. Effects of *Alternanthera philoxeroides* griseb against dengue virus in vitro. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao* 25: 454-456.

Jiang WL, Yang ZQ, Chen W, et al. 2007. Effects of *Alternanthera philoxeroides* griseb against respiratory syncytial virus infection in mice. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* 27: 62-64.

Kumar RA, Sridevi K, Kumar NV, et al. 2004. Anticancer and immunostimulatory compounds from *Andrographis paniculata*. *J Ethnopharmacol* 92: 291-295.

Lin TD, Kondo N, Shoji J. 1976. Studies on the constituents of *Panacis japonici* rhizoma. V.1 the structure of chikusetsusaponin I, Ia, Ib, IVa and glycoside p1. *Chem Pharm Bull* 24: 253-261.

Mosmann T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 65: 55-63.

- Nakamura A, Nagai K, Suzuki S, et al. 1986. A novel method of screening for immunomodulating substances, establishment of an assay system and its application to culture broths of microorganisms. *J Antibiot (Tokyo)* 39: 1148-1154.
- Oda K, Matsuda H, Murakami T, et al. 2000. Adjuvant and haemolytic activities of 47 saponins derived from medicinal and food plants. *Biol Chem* 381: 67-74.
- Puri A, Saxena R, Saxena RP, et al. 1993. Immunostimulant agents from *Andrographis paniculata*. *J Nat Prod* 56: 995-999.
- Schreck C, Lamberson H, Davey F. 1982. Characterization of the B lymphocyte response to pokeweed mitogen. *Ann Clin Lab Sci* 12: 455-462.
- Sun HX, Wang H. 2006. Immunosuppressive activity of the ethanol extract of *Siegesbeckia orientalis* on the immune responses to ovalbumin in mice. *Chem Biodivers* 3: 754-761.
- Zhang SM, He YS, Tabba HD, et al. 1988. Inhibitor against the human immunodeficiency virus in aqueous extracts of *Alternanthera philoxeroides*. *Chin Med J (Engl)* 101: 861-866.
- Zhang YB, Qin F, Sun HX. 2006. Immunosuppressive activity of *Semen persicae* ethanol extract on specific antibody and cellular response to ovalbumin in mice. *Chem Biodivers* 3: 967-974.