

การศึกษาฤทธิ์เอสโตรเจนจากสมุนไพรพื้นบ้านในเขตจังหวัดอุบลราชธานีที่มีฤทธิ์ต่อ การทำงานของเนื้อเยื่อที่อาศัยฮอร์โมนเอสโตรเจน

จารุวรรณ วงบุตดี¹, สุภารัตน์ คำแดง², สุรัชย์ จูมพระบุตร², ลักษณา เจริญใจ²

บทคัดย่อ

การศึกษาฤทธิ์เอสโตรเจนจากสมุนไพรพื้นบ้านในเขตจังหวัดอุบลราชธานีที่มีฤทธิ์ต่อการทำงานของเนื้อเยื่อที่อาศัยฮอร์โมนเอสโตรเจน

จารุวรรณ วงบุตดี¹, สุภารัตน์ คำแดง², สุรัชย์ จูมพระบุตร², ลักษณา เจริญใจ²

ว. เกษตรศาสตร์อีสาน 2555; 8(1) : 34-39

Received : 24 September 2011

Accepted : 20 January 2012

บทนำ: ไฟโตเอสโตรเจนเป็นสารที่มีฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนที่ได้จากพืช และมีสูตรโครงสร้างทางเคมีจัดอยู่ในกลุ่มของ isoflavones, coumestans และ lignans ได้มีการศึกษามากมายที่แสดงว่าไฟโตเอสโตรเจนสามารถใช้ในการรักษาภาวะหมดประจำเดือนได้ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์สารสกัดสมุนไพรพื้นบ้านในจังหวัดอุบลราชธานีต่อการทำงานของเนื้อเยื่อที่อาศัยฮอร์โมนเอสโตรเจน **วิธีดำเนินการวิจัย:** หนูถีบจักรเพศเมีย (Swiss albino) อายุ 21 วัน ถูกตัดรังไข่ (ovariectomized; OVX) ได้รับสารสกัดสมุนไพรขนาด 250 และ 500 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน ติดต่อกันเป็นเวลา 5 วัน **ผลการศึกษาและสรุปผล:** สารสกัดสมุนไพรน้ำเต้าหลวงในชั้นน้ำที่ขนาด 250 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน สามารถทำให้น้ำหนักเปียกของมดลูกเพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุมที่ถูกตัดรังไข่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดสมุนไพรน้ำเต้าหลวงในชั้นน้ำขนาด 250 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน สามารถเพิ่มน้ำหนักเปียกของมดลูกได้

คำสำคัญ: ไฟโตเอสโตรเจน เอสโตรเจน เนื้อเยื่อที่อาศัยการทำงานของเอสโตรเจน น้ำหนักเปียกของมดลูก สมุนไพร

Abstract

Study of estrogenic effect on estrogen-dependent tissues of phytoestrogen extraction of Thai medicinal plants in Ubon Ratchatani province

Jaruwan Wongbutdee¹, Suparat Kamdang², Surachai Joomprabutra², Laksana Charoenchai²

IJPS, 2012; 8(1) : 34-39

Introduction: Phytoestrogens are a group of compounds from plants, which have estrogenic effect. Depending on chemical structure, these compounds are classified as isoflavones, coumestans and lignans groups.

¹ วิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุข

² คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี 34190

* ติดต่อผู้พิมพ์: Tel: 086-7992498, 045-353900 (5865), Fax: 045-353901, E-mail: jw_beer@yahoo.com

¹ College of medicine and public health

² Faculty of Pharmaceutical sciences, Ubon Ratchatani University, Warinchamrab District, Ubon Ratchatani 34190

* Corresponding author: Tel: 086-7992498, 045-353900 (5865), Fax: 045-353901, E-mail: jw_beer@yahoo.com

Many studies have shown that phytoestrogens can be used for treatment of postmenopausal. This research aims to study the estrogenic effects on estrogen-dependent tissues of phytoestrogen extraction of Thai medicinal plants in Ubon Ratchatani province. **Methods:** Wean ovariectomized mice were administered of herbal extracts at dose 250 and 500 mg/ kg BW/day for 5 days and their uterine wet weight were observed. **Results and Conclusion:** Mice treated water extract fraction of Num Tao Laung mice at 250 mg/ kg BW/day showed significantly increased uterine wet weight compared with OVX control ($p < 0.05$). This result suggested that water extract fraction of Num Tao Laung can increase uterine wet weight.

Keywords: phytoestrogen, estrogenic effect, estrogen-dependent tissues, uterine wet weight, herbal

บทนำ

ไฟโตเอสโตรเจน (phytoestrogen) เป็นสารที่มีฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนที่ได้จากพืชและมีสูตรโครงสร้างทางเคมีจัดอยู่ในกลุ่มของ isoflavones, coumestans และ lignans ไฟโตเอสโตรเจนออกฤทธิ์ได้ทั้งเสริมและต้านเอสโตรเจนในกรณีที่มีเอสโตรเจนในร่างกายมากเกินไป ไฟโตเอสโตรเจนจะไปจับกับตัวรับของเซลล์ (receptor) ของเอสโตรเจน เกิดการยับยั้งการทำงาน และต้านการออกฤทธิ์ของเอสโตรเจน (anti-oestrogenic effect) ในขณะที่เมื่อร่างกายเกิดการขาดฮอร์โมนเอสโตรเจน เช่น ในหญิงวัยหมดประจำเดือน ไฟโตเอสโตรเจนจะไปจับกับตัวรับของเซลล์เอสโตรเจน และออกฤทธิ์เหมือนฮอร์โมนเอสโตรเจน (Trickey, 1998) จึงเชื่อว่าไฟโตเอสโตรเจนช่วยลดอาการหลังหมดประจำเดือน จากการทดสอบฤทธิ์ของ genistein ซึ่งเป็นสารสกัด phytoestrogen ที่ได้จากถั่วเหลืองพบว่าสามารถป้องกันภาวะกระดูกบางในหนูถีบจักรที่ถูกตัดรังไข่ (Ishimi *et al.*, 2000) ดังนั้นเอสโตรเจนจึงเป็นสารที่จำเป็นต่อกระดูกสมุนไพรที่มีรายงานว่าไฟโตเอสโตรเจนนั้นมีอยู่หลายชนิด แต่ที่มีการใช้อย่างกว้างขวางในต่างประเทศเพื่อใช้เป็นฮอร์โมนทดแทนในสตรีวัยทอง ได้แก่ สารสกัดจากถั่วเหลือง (*Glycine max*) (Wagner *et al.*, 1997) และกวาวเครือขาว (*Pueraria mirifica*) (Chansakaow *et al.*, 2000) ในประเทศไทยยังไม่มีมีการส่งเสริมการนำสารสกัดจากสมุนไพรที่มีไฟโตเอสโตรเจนมาใช้ในการทดแทนฮอร์โมนเพศในภาวะหมดประจำเดือนอย่างจริงจัง จากการสืบค้นข้อมูลการใช้สมุนไพรจากภูมิปัญญาพื้นบ้านในพื้นที่แถบจังหวัดอุบลราชธานี (Wongsatit *et al.*, 1997, 1998a, 1998b, 1999) เพื่อทำการคัดเลือกสมุนไพรมาทำการศึกษาพบว่าไม่มีการระบุชนิดของสมุนไพรที่ได้รับการนำมาใช้ในสตรีวัยทองอย่างเฉพาะเจาะจง จากการสำรวจภูมิปัญญาพื้นบ้าน

ทางการแพทย์ว่าด้วยการใช้สมุนไพรที่พบได้ในท้องถิ่นในเขตพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี พบว่ามีพืชหลายชนิดที่ใช้เป็นสมุนไพรเดี่ยวในการบำรุงน้ำนมหลายชนิด เช่น น้ำเต้าต้น (*Crescentia cujete*), น้ำเต้าหลวง (*Polyalthia parviflora*), กันครก (*Polyalthia debilis*), ต้องแสง (*Polyalthia evecata*), ไชเตน (*Dasymaschalon blumei*), นมถาผี (*Sophora exigua*), กันถั่วย (*Rhodamnia dumetorum*), เต๋อขน (*Ficus hirta*), หุ่นไห (*Erythroxylon cuneatum*), ฟ้ายี่ง่า (*Polygala chinensis*), และลางใจ (*Euonymus similis*) (Wongsatit *et al.*, 1997, 1998a, 1998b, 1999) ตามข้อมูลทางพฤกษศาสตร์พื้นบ้านที่มีการใช้กันมานาน อย่างไรก็ตามสมุนไพรทั้งหมดนี้ยังไม่มียารายงานการวิจัยที่สัมพันธ์กับการออกฤทธิ์บำรุงน้ำนม ดังนั้นการศึกษารังนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารสกัดสมุนไพรพื้นบ้านในจังหวัดอุบลราชธานีที่มีฤทธิ์ต่อการทำงานของเนื้อเยื่อที่อาศัยฮอร์โมนเอสโตรเจนโดยวัดจากน้ำหนักเปียกของมดลูก ซึ่งเป็นผลมาจากการขาดฮอร์โมนเอสโตรเจน อันเป็นข้อมูลสำคัญที่จะนำไปสู่การพัฒนาสมุนไพรเพื่อใช้ทดแทนฮอร์โมนเอสโตรเจนในสตรีวัยทอง

วิธีดำเนินการวิจัย

สมุนไพร

การสกัดสมุนไพรใช้วิธี percolation หมักผงพืชด้วยส่วนผสมระหว่างเมทานอลและไดคลอโรมีเทนในอัตราส่วน 40 : 60 เป็นเวลา 3 วัน โดยไซสารสกัดที่ได้ออกทุกวันและเติมตัวทำละลายอินทรีย์ใหม่ทุกวัน (ใช้สัดส่วนผงพืช 500 กรัม ต่อ ตัวทำละลายอินทรีย์ 1,000-1,200 มล.) นำส่วนสกัดที่ได้ไปทำให้แห้งโดยระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ออกด้วย rotary evaporator

สารสกัด (crude extract) นำมาทำการแยก (partition) โดยใช้เฮกเซน เอทิล อะซิเตด และน้ำ (15-20 ml x 3-4 ครั้ง) จากนั้นทำให้แห้งโดยใช้ rotary evaporator หรือ desiccator vacuum หรือ freeze dry แยกเก็บแต่ละส่วนและตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมีเบื้องต้นด้วย TLC (Thin Layer Chromatography)

คัดเลือกสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต่อการทำงานของเนื้อเยื่อที่อาศัยฮอร์โมนเอสโตรเจนได้สารสกัดสมุนไพรทั้งหมดดังนี้ สารสกัดสมุนไพรน้ำเต้าหลวง หุ่นไห และนมจืด ในชั้นเฮกเซน สารสกัดสมุนไพรน้ำเต้าหลวง ต้องแสง และฟุ้งก้านในชั้นน้ำ และสารสกัดสมุนไพรเต๋อชุน และกันครก ในชั้นเอทิล อะซิเตด

สัตว์ทดลอง

หนูไม่ซัยสายพันธุ์ Swiss albino เพศเมีย อายุ 3 สัปดาห์ น้ำหนัก 15 - 20 กรัม จัดซื้อจากสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา นำสัตว์ทดลองมาเก็บเลี้ยงไว้ในห้องสัตว์ทดลองล่วงหน้าอย่างน้อย 1 สัปดาห์ เพื่อให้สัตว์ทดลองคุ้นกับสภาวะแวดล้อมในห้องเลี้ยงสัตว์ที่ควบคุมสิ่งแวดล้อม โดยให้อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ความมืด/สว่าง 12/12 ชั่วโมง ความชื้นสัมพัทธ์ 50-60% ให้กินอาหารเม็ดสำเร็จรูปตามมาตรฐานของสำนักสัตว์ทดลองแห่งชาติ หลังจากนั้นทำการตัดรังไข่ออกทั้ง 2 ข้าง พักสัตว์ทดลอง 5 วัน แล้วทำการทดลองต่อ

การทดลอง

ให้สารสกัดสมุนไพรที่ขนาด 250 และ 500 มก./กก. น้ำหนักตัวโดยการป้อน หรือ 17 β -estradiol ขนาด 2.5 ไมโครกรัม/กก. น้ำหนักตัว โดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนัง ทุกวันติดต่อกันเป็นเวลา 5 วัน 24 ชั่วโมงหลังได้รับสารสกัดสมุนไพรหรือ 17 β -estradiol ครั้งสุดท้าย ทำการสลับหนูแล้วทำการผ่าตัดเพื่อตัดแยกมดลูกมาชั่งน้ำหนักทันที

ตารางที่ 1 น้ำหนักเปียกของมดลูกที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรในชั้นเฮกเซน ที่ขนาด 250 และ 500 มก./กก. น้ำหนักตัววันติดต่อกันเป็นเวลา 5 วัน

กลุ่ม	n	น้ำหนักเปียกของมดลูก (g/kg BW) ที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ขนาด	
		250 mg/kg BW	500 mg/kg BW
Intact control	10	5.1464 $\pm$ 0.40*	5.1464 $\pm$ 0.40*
OVX control	10	0.7059 $\pm$ 0.02	0.7059 $\pm$ 0.02
17 β -estradiol	10	6.0934 $\pm$ 0.25*	6.0934 $\pm$ 0.25*
น้ำเต้าหลวง	4	0.9051 $\pm$ 0.21	0.9924 $\pm$ 0.01
หุ่นไห	4	0.8462 $\pm$ 0.09	0.9189 $\pm$ 0.08
นมจืด	5	0.9413 $\pm$ 0.15	0.6899 $\pm$ 0.06

ค่าที่แสดงเป็นค่า mean $\pm$ SEM, n = จำนวนสัตว์ทดลอง

* p<0.05 vs. OVX control

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ค่าเฉลี่ย (mean) และ SEM (standard error of means) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มการทดลองวิเคราะห์โดย one-way ANOVA และใช้ post hoc Schieffe's test ที่ระดับความเชื่อมั่น p<0.05

ผลการศึกษาวิจัย

เมื่อให้สารสกัดสมุนไพรที่ขนาด 250 และ 500 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน พบว่า น้ำหนักเปียกของมดลูกของหนูกลุ่ม Intact control มีค่า 5.1464 ± 0.40 ก./กก. น้ำหนักตัว และมดลูกมีน้ำหนักเปียกลดลงเมื่อหนูถูกตัดรังไข่ออก (OVX control) โดยมีขนาด 0.7059 ± 0.02 ก./กก. น้ำหนักตัว แตกต่างจากหนูปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) และการให้ 17 β -estradiol ทดแทนสามารถเพิ่มน้ำหนักเปียกของมดลูกกลับปกติคือน้ำหนักเปียกเท่ากับ 6.0934 ± 0.25 ก./กก. น้ำหนักตัว ผลของสารสกัดสมุนไพรขนาด 250 และ 500 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน ในชั้นเฮกเซน น้ำ และเอทิล อะซิเตด พบว่าสารสกัดสมุนไพรในชั้นเฮกเซนไม่สามารถเพิ่มน้ำหนักเปียกของมดลูก เมื่อเทียบกับกลุ่ม Intact control ส่วนสารสกัดสมุนไพรในชั้นน้ำพบว่ามีเพียงสารสกัดสมุนไพรน้ำเต้าหลวงที่ขนาด 250 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน สามารถเพิ่มน้ำหนักเปียกของมดลูกขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่ม OVX control โดยมีน้ำหนักเปียกของมดลูกเท่ากับ 3.5984 ± 0.44 ก./กก. น้ำหนักตัว และมีน้ำหนักเปียกของมดลูกไม่แตกต่างกับกลุ่ม Intact control ในขณะที่สารสกัดสมุนไพรในชั้นเอทิล อะซิเตด มีน้ำหนักเปียกของมดลูกไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับน้ำหนักเปียกของมดลูกของหนูกลุ่ม OVX control (ตารางที่ 1, 2 และ 3)

ตารางที่ 2 น้ำหนักเปียกของมดลูกที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรในชั้นน้ำที่ขนาด 250 และ 500 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน ติดต่อกันเป็นเวลา 5 วัน

กลุ่ม	n	น้ำหนักเปียกของมดลูก (g/kg BW) ที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ขนาด	
		250 mg/kg BW	500 mg/kg BW
Intact control	10	5.1464 ± 0.40*	5.1464 ± 0.40*
OVX control	10	0.7059 ± 0.02	0.7059 ± 0.02
17 β -estradiol	10	6.0934 ± 0.25*	6.0934 ± 0.25*
น้ำเต้าหลวง	6	0.5984 ± 0.44*	0.9471 ± 0.07
ต้องแสง	4	0.7566 ± 0.08	0.8005 ± 0.06
ฟ้าอิ้ว	5	0.8112 ± 0.03	0.6606 ± 0.04

ค่าที่แสดงเป็นค่า mean ± SEM, n = จำนวนสัตว์ทดลอง

* p<0.05 vs. OVX control

ตารางที่ 3 น้ำหนักเปียกของมดลูกที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรในชั้นเอทิล อะซีเตตที่ขนาด 250 และ 500 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน ติดต่อกันเป็นเวลา 5 วัน

กลุ่ม	n	น้ำหนักเปียกของมดลูก (g/kg BW) ที่ได้รับสารสกัดสมุนไพรที่ขนาด	
		250 mg/kg BW	500 mg/kg BW
Intact control	10	5.1464 ± 0.40*	5.1464 ± 0.40*
OVX control	10	0.7059 ± 0.02	0.7059 ± 0.02
17 β -estradiol	10	6.0934 ± 0.25*	6.0934 ± 0.25*
เดือชน	3	0.6331 ± 0.05	1.0454 ± 0.09
กันครก	5	0.7604 ± 0.01	0.7200 ± 0.07

ค่าที่แสดงเป็นค่า mean ± SEM, n = จำนวนสัตว์ทดลอง

* p<0.05 vs. OVX control

อภิปรายผลและสรุป

จากผลการทดลองให้สารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต่อการทำงานของเนื้อเยื่อที่อาศัยฮอร์โมนเอสโตรเจนในชั้นเฮกเซน น้ำ และเอทิล อะซีเตต ที่ขนาด 250 และ 500 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน เป็นเวลา 5 วัน พบว่ามีเพียงสารสกัดสมุนไพรน้ำเต้าหลวงในชั้นน้ำที่ขนาด 250 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน ทำให้น้ำหนักเปียกของมดลูกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับหนูกลุ่ม OVX control ซึ่งสอดคล้องกับ Perel และคณะ (1970) ที่ทำการทดลองโดยให้ coumestrol แก่หนูแรทที่ถูกตัดรังไข่ พบว่า coumestrol สามารถเหนี่ยวนำการเจริญเติบโตของมดลูกในหนูแรทที่ถูกตัดรังไข่ และสอดคล้องกับผลการทดลองของ Markaverich และคณะ และ Medlock และคณะ (Markaverich, 1995 and Medlock, 1995) ที่พบว่า coumestrol ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของเอสโตรเจน

ทำให้น้ำหนักมดลูกเพิ่มขึ้น นอกจากนี้การศึกษาของ Ashby และคณะ (1999) ซึ่งทดลองโดยให้ coumestrol แก่หนูแรทที่ยังไม่เจริญเต็มที่ พบว่ามีผลทำให้เพิ่มน้ำหนักของมดลูก ปากมดลูก และช่องคลอด และมีผลทำให้มดลูกมีขนาดเพิ่มขึ้น (uterine hyperplasia) ผลของการวิจัยยังสอดคล้องกับการรายงานผลวิจัยของ She-Fang และคณะ (2003) ซึ่งพบว่าสารสกัดถั่วเหลืองทำให้น้ำหนักมดลูกเพิ่มขึ้นในหนูแรทที่ถูกตัดรังไข่ เนื่องจากถั่วเหลืองมี genistein และ daidzein ซึ่งเป็น phytoestrogen ที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีจัดอยู่ในกลุ่มของ isoflavonoid และ Perel และคณะ (1970) ได้ทดลองให้ genistein แก่หนูแรทที่ถูกตัดรังไข่ พบว่า genistein สามารถเหนี่ยวนำการเจริญเติบโตของมดลูกในหนูแรทที่ถูกตัดรังไข่ได้ และได้มีการศึกษาพบว่า coumestrol และ genistein เป็นสาร phytoestrogen ที่มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการเจริญเติบโต

ของมดลูกในหนูถีบจักรที่ถูกตัดรังไข่ (Bickoff *et al.*, 1957 and Wong *et al.*, 1962) และในแพะได้ (Braden *et al.*, 1967, Lindner, 1967, and Shutt *et al.*, 1969)

จากผลการทดลองแสดงว่าสารสกัดน้ำเต้าห้วงที่ขนาด 250 มก./กก. น้ำหนักตัว/วัน มีแนวโน้มที่จะมีฤทธิ์เอสโตรเจนในการกระตุ้นการเจริญของมดลูก แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับพิษของน้ำเต้าห้วง ดังนั้นจึงควรศึกษาถึงพิษของสมุนไพรน้ำเต้าห้วงต่อสัตว์ทดลองเสียก่อนที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในคน

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดินของมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี และขอขอบคุณบุคลากรคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่มีส่วนร่วมทำให้การวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ดี

References

- Ashby J, Tinwell H, Soames A, *et al.* Induction of hyperplasia and increased DNA content in the uterus of immature rats exposed to coumestrol. *Environ Health Perspect* 1999; 107(10): 819-822.
- Bickoff EG, Booth AN, Lyman RL, *et al.* Coumestrol, a new estrogen isolated from forage crops. *Science*, N.Y. 1957; 126, 969.
- Braden AWH, Hart NK, and Lamberton JA. The estrogenic activity and metabolism of certain isoflavones in sheep. *Aust J agric Res* 1967; 18: 335.
- Chansakaow S, Ishikawa T, Seki H, *et al.* Identification of deoxymiroestrol as the actual rejuvenating principle of "Kwao Keur", *Pueraria mirifica* The known miroestrol may be an artifact. *J Nat Prod* 2000; 63(2): 173-175.
- Ishimi Y, Arai N, Wang X, *et al.* Difference in effective dosage of genistein on bone and uterus in ovariectomized mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 274(3): 697-701.
- Lindner HR. Study of the fate of phyto-estrogens in the sheep by determination of isoflavones and coumestrol in the plasma and adipost tissue. *Aust J agric Res* 1967; 18: 305.
- Markaverich BM, Webb B, Densmore LC, *et al.* Effects of coumestrol on estrogen receptor function and uterin growth in ovariectomized rats. *Environ Health Perspect* 1995; 103(6): 574-581.
- Medlock LK, Branham SW, and Sheehan MD. The effects of phytoestrogens on neonatal rat uterine growth and development. *Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1995; 208(3): 307-313.
- Perel E and Lindner HR. Dissociation of uterotrophic action from implantation-inducing activity in two non-steroidal oestrogens (Coumestrol and Genistein). *J Reprod Fert* 1970; 21: 171-175.
- She-Fang Y, Saga I, Ichimura K, and *et al.* Coumestrol as well as isoflavones in soybean extract prevent bone resorption in ovariectomized rats. *Endocr Regul* 2003; 37(3): 145-152.
- Shutt DA, Braden AWH, and Lindner HR. Plasma coumestrol levels in sheep following administration of synthetic coumestrol or ingestion of medic hay (*Medicago littoralis*). *Aust J agric Res* 1969; 20: 65.
- Trickey R. Women, Hormones and the Menstrual Cycle Sydney. *Allen and Unwin* 1998; 62.
- Wagner JD, Cefalu WT, Anthony MS, and *et al.* Dietary Soy Protein and Estrogen Replacement Therapy Improve Cardiovascular Risk Factors and Decrease Aortic Cholesteryl Ester Content in Ovariectomized Cynomolgus Monkeys. *Metabolism* 1997; 46: 698-705.
- Wong E and Flux DS. The oestrogenic activity of red clover isoflavones and some of their degradation products. *J Endocr* 1962; 24:341

- Wongsatit C and Noppamas S. Traditional herbal in Ubon Ratchatani province (1). *Journal of Herbs* 1997; 4(2): 29-61.
- Wongsatit C and Promjit S. Traditional herbal in Ubon Ratchatani province (2). *Journal of Herbs* 1998 a; 5(1): 21-52.
- Wongsatit C and Chaweewan J. Traditional herbal in Ubon Ratchatani province (3). *Journal of Herbs* 1998 b; 5(2): 28-56.
- Wongsatit C. Traditional herbal in Ubon Ratchatani province (4). *Journal of Herbs* 1999; 6(1), 17-33.