

นิพนธ์ต้นฉบับ

การศึกษาเนื้อเยื่อพลันและพิษกิงเนื้อเยื่อพลันของปอปิด*

จันทนี อิทธิพานิชpongศรี**

เล็ก อัศวพลังชัย*** สมบัติ ระมาตร์**

โสภิต ธรรมารี** มนฑิรา ตันตีเกยูร**

Itthipanichpong C, Ousavaplangchai L, Ramart S, Thamaree S, Tankeyoon S. Acute and subacute toxicity study of *Helicteres isora* L. Chula Med J 1988;32(8): 713-719

Helicteres isora L., a Thai local plant, has been used as antidiarrheal agent in the folk remedy for a long time but scientific knowledge about its toxicity was still limited. Therefore it was subjected to preliminary evaluation of acute and subacute toxicity.

The acute toxicity study showed that *H. isora* L possessed low toxicity in Swiss albino mice by causing no toxic effect to all animals even when the high dose of 20 g/kg body weight was given by oral, intravenous and intraperitoneal route.

The subacute toxicity study was carried out by feeding the decoction of *H. isora* L. to three groups of Swiss albino mice, 20 in each, at the dose of 1 g/kg and 5 g/kg in the first and the second groups respectively for 10 weeks. The third group receiving distilled water for 10 weeks was the control group. The result of the experiment showed the increase in body weight of the three groups of animals. ($p < .001$). The weight of the heart in the first and the second group were significantly lower than the control group. ($p < .05$, $p < .01$)

There was a significant increase in the serum SGOT and the BUN in the first and second group in comparison with the control group 1 ($p < .01$, $p < .01$, $p < .05$) and there was also a significant increase in the serum SGPT in the second group. ($p < .05$). The histopathological investigation of the three groups showed no microscopic change in the heart, lung, spleen, large intestine, small intestine and kidney. The swelling of hepatocyte was found to a small degree in all three groups of mice.

Reprint request : Itthipanichpong C, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine,
Chulalongkorn University, Bangkok 10500, Thailand

Received for publication. May 2, 1988.

* ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากเงินทุนวิจัยรัฐค่าใช้จ่ายโดยตรง

** ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

*** ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โรคอุจจาระร่วงเป็นปัญหาสาธารณสุขของประเทศไทย ต้องพัฒนา หรือกำลังพัฒนา องค์การอนามัยโลกได้ประเมินความเจ็บป่วยของประชากรในประเทศไทยแล้วนี่ว่า มีผู้เจ็บป่วยด้วยโรคอุจจาระร่วงปีละ 750-1000 ล้านคน ในจำนวนนี้มีผู้เสียชีวิตถึง 3.5 ล้านคน⁽¹⁾ ประชากรในประเทศไทยก็เจ็บป่วยด้วยโรคอุจจาระร่วง และเสียชีวิตเป็นจำนวนมาก ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งประชาชนที่อยู่ในชนบทห่างไกล นับเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญอย่างหนึ่ง ซึ่งกระทรวงสาธารณสุข และนักวิชาการได้ร่วมมือกันในการแก้ปัญหานี้ ทั้งในด้านการป้องกัน การควบคุมและการบำบัดรักษา รวมทั้งได้พยายามค้นคว้าศึกษาถึงสาเหตุของยาสมุนไพรบางชนิดที่มีสรรพคุณในการรักษาโรคห้องร่วง เพื่อเป็นแนวทางที่จะนำมาใช้ในการสาธารณสุขมูลฐานต่อไป

พืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณในการรักษาโรคบิดได้มีหลายชนิด⁽²⁾ เช่น โมกหลวง ราชตัด ปรุง ปอปีด ขมิ้นเครื่อ ไฟล แห้วหมู กระชาย ข้าวพุด ปอกระเจา เป็นต้น พืชสมุนไพรเหล่านี้ ได้ถูกนำมาใช้ในการรักษาโรคบิดมาตั้งแต่สมัยโบราณ และบางชนิดก็ยังคงใช้กันอยู่จนถึงปัจจุบัน ประกอบกับนโยบายด้านการสาธารณสุขของประเทศไทยสนับสนุนให้มีการนำสมุนไพรมาใช้ในการสาธารณสุขมูลฐานตามแผนพัฒนาประเทศไทยฉบับที่ 6 จึงทำให้มีการศึกษาสมุนไพรในด้านต่าง ๆ กว้างขวางมากขึ้น

จากการศึกษาถูกต้องของยาสมุนไพร 30 ชนิด ที่มีฤทธิ์ในการรักษาโรคห้องร่วงและบิด⁽³⁾ พบร่วม ยาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งการบีบตัวของลำไส้อย่างชัดเจน ได้แก่ ปอปีด พื้ทางลายโจร ยาคุมชาตุ และยาชาตุบรรจบ ควรที่จะได้ศึกษาถึงพิษของยาเหล่านี้ เพื่อให้สามารถนำสมุนไพรเหล่านี้ไปใช้ได้ โดยมีหลักการหรือฐานทางวิทยาศาสตร์รับรองในด้านของความปลอดภัย ขณะผู้วิจัยจึงมีความเห็นว่า ควรที่จะได้ศึกษาถึงความเป็นพิษเฉียบพลัน (acute toxicity) และพิษกึ่งเฉียบพลัน (subacute toxicity) ของปอปีด

ปอปีด มีชื่อเรียกว่าต่าง ๆ กัน ดังนี้ คือ มะบีด, ปอหัน, ปอลิ๊งชี, ลูกปีด มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Helicteres isora* L. เป็นพืชอยู่ในวงศ์ Sterculiaceae ลักษณะ เป็นไม้พุ่มขนาด 2-3 เมตร ใบยาว 10-20 ซม. กว้าง 7-9 ซม. ฐานใบเว้าไม่เท่ากัน ขอบใบหยักแบบฟันเลื่อย ใบทั้งสองด้านมีขนอ่อนปกคลุม ดอกขาว 2 ซม. เกิดที่ซอกใบโดยก้มมักเป็นกระจุก 2-3 ดอก ก้านดอกมีสีอิฐ ผลยาวบิดเป็นเกลียวคล้ายเขือครัว เมื่อแก่จะมีสีดำ ดอกออกตั้งแต่เดือนเมษายน-ตุลาคม ผลมีตั้งแต่เดือนธันวาคม-มกราคม ขึ้นตามป่าเบญจพรรณทั่วไป⁽⁴⁾

สารเคมีที่พบ เปลือกตันมี cellulose 18.6%, hemi-cellulose 15.8%, lignin 2.89%, pectin 0.4% น้ำมัน 3.11%, phytosterol, hydroxycarboxylic acid, saponins, phlobatannin⁽⁵⁾

ส่วนที่ใช้ คือเปลือกตัน ผล ราก โดยเปลือกตันและรากมีสรรพคุณเป็นยาบำรุงชาตุ ส่วนผลแพทช์ชนบทนำมาใช้เป็นยาแก้บิด, แก้ปวดเบ่ง, ขับลม หรือนำมาตำพอกแก้ปวดเคล็ดบวม⁽⁶⁾ ขนาดที่นำมาใช้ คือ ใช้ผลแห้ง 10-15 กรัม ต้มอาบน้ำรับประทาน รักษาอาการของระบบทางเดินอาหาร⁽⁴⁾

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาถึงพิษเฉียบพลัน (Acute toxicity) ของปอปีด โดยการหาขนาดของยาต้มปอปีดที่ทำให้หนูถีบจagger ตายร้อยละ 50

2. เพื่อศึกษาถึงพิษกึ่งเฉียบพลัน (subacute toxicity) หลังจากให้ยาแก้หนูถีบจaggerเป็นเวลา 10 สัปดาห์

วัสดุและวิธีการ

วัสดุ

1. สัตว์ทดลอง ใช้หนูถีบจaggerพันธุ์ Swiss albino ทั้งสองเพศจากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล น้ำหนักตัวตั้งแต่ 28-35 กรัม (อายุประมาณ 2-3 เดือน) เสียงในห้องที่มีอุณหภูมิ 25 ± 3 องศาเซลเซียส ได้รับแสงสว่างวันละ 12 ชั่วโมง ตั้งแต่ 6.00 น. ถึง 18.00 น. ให้อาหารสำเร็จรูปจากบริษัท F.E. Zuellig และน้ำโดยไม่จำกัดปริมาณ

2. สมุนไพรผลปอปีดแห้งซึ่งมาจากร้านขายยาไทย ร้านเดียวตลอดการทดลอง เตรียมยาต้ม ปอปีด ให้มีความเข้มข้น 20%, 50%, 100%, 200%

3. anesthetic ether

4. neutral formalin 10%

5. น้ำยาสำเร็จ สำหรับเควาะห์เอนไซม์ SGOT, SGPT

6. diacetylmonoxime

7. น้ำยาข้อมล slide hematoxylin และ eosin.

วิธีการ

1. เตรียมน้ำยาสมุนไพรให้มีความเข้มข้น 20%, 50%, 100%, 200%

2. การศึกษาแบ่งเป็น 2 ตอน คือ

2.1 ศึกษาถึงความเป็นพิษเฉียบพลัน (Acute toxicity)

2.2 ศึกษาถึงความเป็นพิษกึ่งเพี้ยนเปลี่ยน (Subacute toxicity)

2.1 การศึกษาพิษเพี้ยนเปลี่ยน (Acute toxicity)

2.1.1 สุ่มหนูถีบจักรทั้ง 2 เพศ อายุ่งละเท่า ๆ กัน เป็นกลุ่มกลุ่มละ 6 ตัว จำนวน 5 กลุ่ม

2.1.2 ให้ยาต้มปอปีดแก่หนูถีบจักร โดยวิธีกรอกเข้าทางปาก (intubation) หรือฉีดเข้าช่องท้อง (intraperitoneal) หรือฉีดเข้าเส้นเลือดดำที่หาง (intravenous) โดยให้ยาขนาด 1, 5, 10, 20 กรัมต่อ กิโลกรัมน้ำหนักตัว และกลุ่มควบคุมให้น้ำกากลันตัวละ 0.2 มล.

2.1.3 สังเกตอาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นแก่สัตว์ทดลอง ในระยะเวลา 72 ชั่วโมง และนับจำนวนหนูที่ตายจากพิษของยา

2.1.4 ถ้ามีสัตว์ทดลองตาย ก็จะนำมาศึกษา LD₅₀ อีกครั้ง โดยจะเพิ่มจำนวนสัตว์ทดลองให้มากขึ้นเป็นกลุ่มละ 8-10 ตัว และจัดขนาดของยาที่จะให้แก่หนูใหม่ ตามวิธีของ Litchfield. J.T. and Wilcoxon F.⁽⁷⁾

2.2 การศึกษาพิษกึ่งเพี้ยนเปลี่ยน

2.2.1 สุ่มหนูถีบจักรเข้าสู่กลุ่มศึกษาจำนวน 3 กลุ่ม กลุ่มละ 20 ตัว โดยใช้หนูทั้ง 2 เพศ อายุ่งละเท่า ๆ กัน

2.2.2 จากการใช้ผลปอปีดประมาณ 15 กรัม ต้มน้ำรับประทานในคนหนัก 70 กิโลกรัม⁽⁴⁾ จึงจัดขนาดของยาหรือน้ำกากลันให้แก่หนูถีบจักรเป็นเวลา 10 สัปดาห์ตั้งนี้

กลุ่มที่หนึ่ง กรอกยาต้มปอปีดในขนาด 1 กรัมต่อ กิโลกรัมต่อวันเป็นขนาดที่มากกว่าขนาดที่ใช้ในคนรwa 5 เท่า (ใช้น้ำยาความเข้มข้น 20%)

กลุ่มที่สอง กรอกยาต้มปอปีดในขนาด 5 กรัมต่อ กิโลกรัมต่อวัน เป็นขนาดที่มากกว่าขนาดที่ใช้ในคนรwa 25 เท่า (ใช้น้ำยาความเข้มข้น 100%)

กลุ่มที่สาม กรอกน้ำกากลันตัวละ 0.2 มล. ทุกวัน

2.2.3 บันทึกน้ำหนักทุกสัปดาห์ สังเกตการเจริญเติบโต และอาการเปลี่ยนแปลง เมื่อครบ 10 สัปดาห์ แล้ว ทำให้หนูถีบจักรสลบ โดยใช้ anesthetic ether เพื่อ

ก. เจาะเลือดจาก abdominal aorta นำ serum มาศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับ enzyme SGOT, SGPT⁽⁸⁾ และ BUN⁽⁹⁾

ข. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะภายใน ได้แก่ น้ำหนักของ ตับ ไต ปอด หัวใจ ม้าม

และการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยา (histopathology) ของอวัยวะเหล่านั้น โดยการนำอวัยวะมาแช่ในน้ำยา neutral formalin ความเข้มข้น 10% หลังจากนั้นนำไปฝังใน paraffin ตัดชิ้นเนื้อให้บางรwa 5 ไมครอน ย้อมด้วยสี hematoxylin และ eosin

ผลของการวิจัย

การศึกษาพิษเพี้ยนเปลี่ยน (Acute toxicity)

เมื่อให้ยาต้มปอปีดแก่หนูถีบจักรเพียงครั้งเดียว ในขนาด 1, 5, 10, 20 กรัมต่อ กิโลกรัมน้ำหนักตัว โดยการกรอกเข้าทางปาก ฉีดเข้าช่องท้องและฉีดเข้าเส้นเลือดดำที่หาง ไม่พบอาการเปลี่ยนแปลงในหนู และไม่พบว่ามีหนูตายในเวลา 72 ชั่วโมง

การศึกษาพิษกึ่งเพี้ยนเปลี่ยน (Subacute toxicity)

ผลการศึกษาน้ำหนักตัวของสัตว์ทดลองในแต่ละกลุ่ม เปรียบเทียบนำน้ำหนักตัวตอนเริ่มแรกทำการศึกษา กับนำน้ำหนักเมื่อครบ 10 สัปดาห์ พบร่วมกัน ป่วยสัปดาห์ที่ 10 หนูถีบจักรทุกกลุ่มมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < .001$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม 1, 2 และ 3 พบร่วมกัน ความแตกต่างของน้ำหนักเริ่มแรกทำการทดลอง และน้ำหนักเมื่อครบ 10 สัปดาห์ ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในภาพที่ 1

น้ำหนักของอวัยวะภายใน ภายหลังจากที่ได้รับยาต้มปอปีด เป็นเวลา นาน 10 สัปดาห์ พบร่วมกัน ป่วยสัปดาห์ที่ 10 ระหัวงั้ง 3 กลุ่มไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ น้ำหนักหัวใจในกลุ่มที่ 1 และ 2 ซึ่งได้รับยา 1 กรัมต่อ กิโลกรัม และ 5 กรัมต่อ กิโลกรัม ต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < .05$ และ $p < .01$ ตามลำดับ) แสดงในภาพที่ 2

การเปลี่ยนแปลงของระดับ serum enzyme SGOT SGPT และ BUN ได้แสดงในภาพที่ 3 โดยระดับ enzyme SGOT ในกลุ่มที่หนึ่งและสองจะสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < .01$) และระดับของ enzyme SGPT ในกลุ่มที่สองก็จะสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < .05$) ส่วนระดับของ BUN ในกลุ่มที่หนึ่งจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับกลุ่มที่สอง และกลุ่มควบคุม ($p < .01$) ในกลุ่มที่สองจะมีระดับ BUN สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน ($p < .05$)

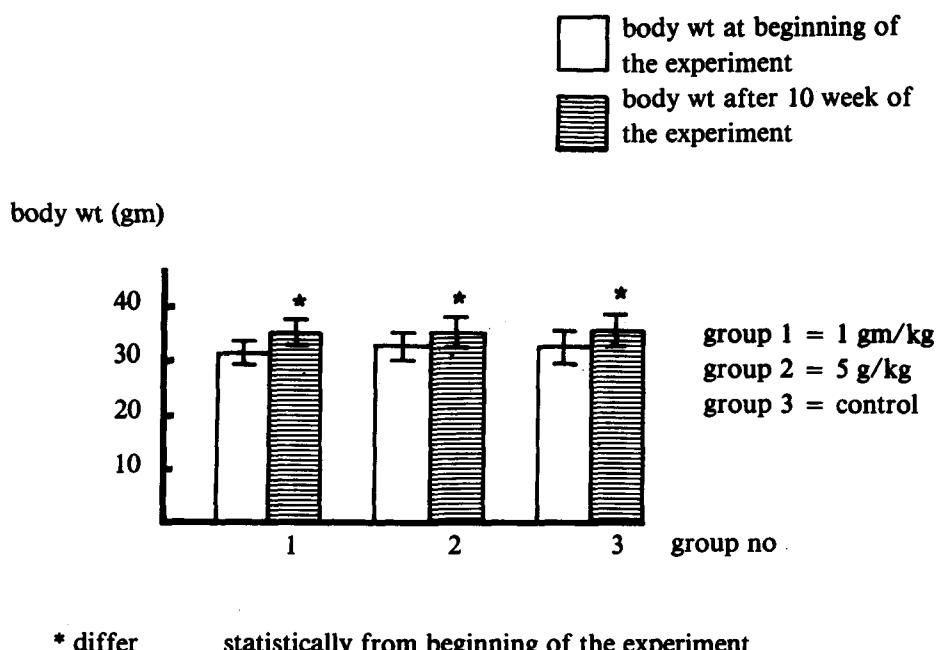
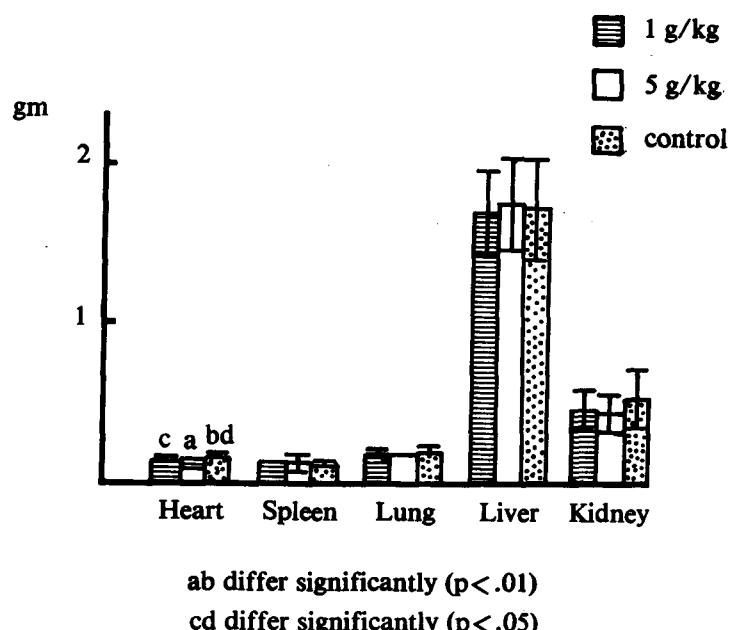
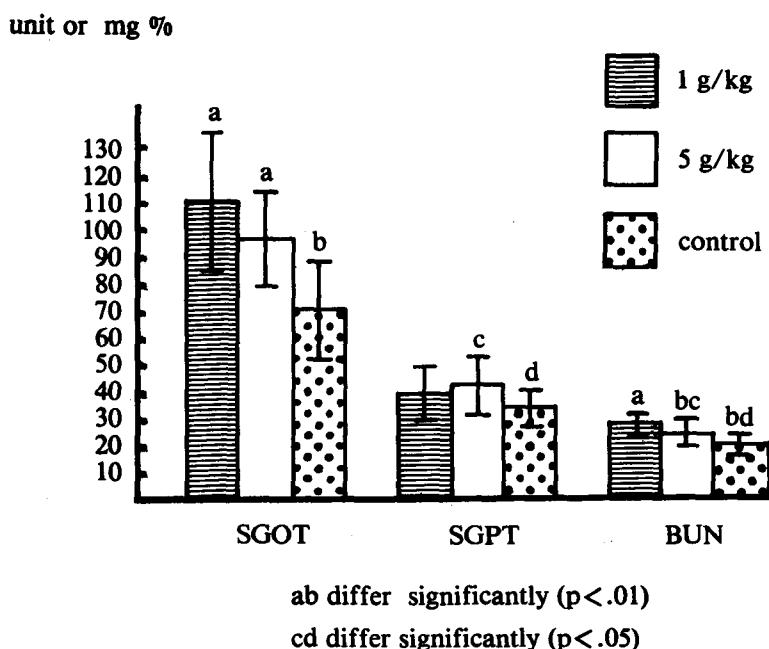
Figure 1 Effect of *H. isora* L. decoction on body weight of the experimental mice.**Figure 2** Effect of *H. isora* L. decoction on the weight of heart, spleen, lung liver and kidney of the experimental mice.

Figure 3 Effect of *H. isora* L. decoction on the level of serum SGOT, SGPT and BUN on the experimental mice.



ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาของอวัยวะต่าง ๆ ของหนูถีบจักรทั้ง 3 กลุ่ม ไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของหัวใจ ปอด ม้าม ลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ การบวมของเซลล์ตับเป็นสิ่งที่พบได้เล็กน้อยทั้งในกลุ่มที่หนึ่งสอง และสาม

อภิปรายผล

การศึกษาถึงพิษเฉียบพลัน (acute toxicity) โดยการให้ยาต้มปอปีดแก่หนูถีบจักรเพียงครั้งเดียว ด้วยวิธีรกรอกยาเข้าทางปาก ฉีดเข้าเส้นเลือดดำที่หาง และฉีดเข้าช่องท้อง ในขนาดสูงถึง 20 กรัมต่อ กิโลกรัม ให้ผลปอปีด 15 กรัมต่ำมน้ำรับประทาน ไม่ปรากฏว่ามีอาการผิดปกติก็เดือนในสัตว์ทดลอง และไม่ทำให้สัตว์ทดลองตายในเวลา 3 วัน แสดงให้เห็นว่าปอปีดมีพิษน้อยมาก เพราะขนาดที่จะทำให้หนูถีบจักรตายนั้น ต้องมากกว่า 20 กรัมต่อ กิโลกรัมขึ้นไป โดยปกติแล้วพิษสมุนไพรส่วนใหญ่ที่นำมาใช้เป็นยาตามตั้งแต่ครั้งสมัยโบราณนั้น มักจะมีพิษน้อย เพราะถ้ามีรายงานการเกิดพิษขึ้น คงจะไม่นำมาใช้กันต่อมานั่นถึงสมัยปัจจุบันอย่างแน่นอน

ผลของการศึกษาพิษกึ่งเฉียบพลัน (subacute toxicity) ของปอปีด เมื่อรกรอกยาแก่หนูครบ 10 สัปดาห์ ทำให้หนูทุกกลุ่ม มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นจากน้ำหนักตัวเมื่อเริ่ม

ทำการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < .001$) และความแตกต่างของน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นของทั้ง 3 กลุ่มไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่า การได้รับยาต้มปอปีดทุกวันเป็นเวลา 10 สัปดาห์นั้น จะไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตตามปกติของหนูถีบจักร

ความแตกต่างของน้ำหนักอวัยวะภายใน พบว่า น้ำหนักหัวใจในกลุ่มที่ได้รับยาทั้ง 2 กลุ่ม มีขนาดเล็กกว่า กลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และพบว่ามีการเพิ่มของระดับ enzyme SGOT ในหนูกลุ่มที่ได้รับยาทั้ง 2 กลุ่มด้วย แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางด้านจุลพยาธิวิทยาของหัวใจในหนูทั้ง 3 กลุ่ม ซึ่งเป็นปากฎการณ์ที่พบได้เสมอในการศึกษาทางด้านพิษวิทยา กล่าวคือ อาจมีการเปลี่ยนแปลงระดับ enzyme ตัวใดตัวหนึ่ง โดยที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยา เนื่องจาก SGOT เป็น leakage enzyme ที่พบในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของหนู ได้แก่ ที่ตับ หลอดเลือด สมอง intestinal epithelium testis กล้ามเนื้อหัวใจ กล้ามเนื้อขา (10) Herzfeld และ Knox พบว่า SGOT enzyme มี specific activity สูงสุดที่กล้ามเนื้อหัวใจของหนู (11) ดังนั้น การที่ enzyme มีระดับสูงใน serum อาจเป็นสิ่งที่บอกรายงานว่ามี damage เกิดขึ้นที่กล้ามเนื้อหัวใจ ซึ่งควรจะได้มีการศึกษาถึง serum creatine phosphokinase activity ควบคู่กันไป เพื่อยืนยันว่า damage นั้นเกิดขึ้นที่หัวใจ

leakage enzyme อีกตัวหนึ่ง คือ SGPT เป็น enzyme ที่พบได้ในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของหมู เช่น กัน ได้แก่ ที่หัวใจ สำไส้ กล้ามเนื้อ ปอด ไต ม้าม เม็ดเลือด Chen และคณะ พบว่า SGPT enzyme มี specific activity สูงสุด ที่ดับ การที่มีระดับของ serum enzyme SGPT สูง ก็อาจจะเป็นตัวบ่งชี้ว่ามี hepatic injury เกิดขึ้น ซึ่งจะต้องยืนยันโดยการตรวจหาระดับ enzyme ตัวอื่นร่วมไปด้วย ได้แก่ enzyme SGOT ผลจากการทดลองพบว่า กลุ่มที่ 2 ซึ่งได้รับยาขนาด 5 กรัมต่อวัน จะมีระดับ enzyme SGPT สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และมีระดับ enzyme SGOT สูงกว่ากลุ่มควบคุมเช่นกัน การตรวจทางจุลพยาธิวิทยาพบว่ามีการบรวมของเซลล์ตับเล็กน้อยในหมูทั้ง 3 กลุ่ม ไม่มีความแตกต่างกัน อาจจะเป็นไปได้ในการณ์ที่เกิด hepatic damage ในขันที่ยังไม่รุนแรงนัก คือเพียงแต่มีการเพิ่มของระดับ enzyme แต่ยังไม่ถึงขันที่จะพบความผิดปกติทางจุลพยาธิวิทยาอย่างเด่นชัด

ระดับ BUN ในหมูที่ได้รับยาต้มปอปีดทั้ง 2 กลุ่ม จะสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และกลุ่มที่หนึ่งจะมีระดับ BUN สูงกว่ากลุ่มที่สอง และผลการตรวจอ้างทางจุลพยาธิวิทยา ไม่พบการเปลี่ยนของเนื้อเยื่อไตในหมูทั้งสามอย่างชัดเจน ซึ่งการเพิ่มระดับของ BUN มีสาเหตุได้หลายประการ ควรที่จะได้ศึกษาโดยละเอียดต่อไป

สรุป

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้ เป็นเพียงข้อมูลพื้นฐานทางพิชีวิทยาของปอปีดในหมูเท่านั้น ซึ่งได้รับยาขนาด 1 และ 5 กรัมต่อวัน นาน 10 สัปดาห์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง คือในกลุ่มที่รับยา ทั้ง 2 กลุ่ม มีขนาดของหัวใจเล็กลง และมีการเพิ่มของระดับ enzyme SGOT, BUN เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วนระดับ SGPT สูงกว่ากลุ่มควบคุม เฉพาะในกลุ่มที่ได้รับยาขนาด 5 กรัมต่อวัน กลับนั้น ฉะนั้นควรที่จะได้มีการศึกษาโดยละเอียด ต่อไปถึงสาเหตุที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่ออวัยวะต่าง ๆ เหล่านี้ โดยจัดขนาดของยาให้เหมาะสม และศึกษาในระยะเวลาที่นานขึ้น ซึ่งอยู่ในขั้นตอนของการศึกษาถึงพิษเรื้อรัง (Chronic toxicity) และศึกษาถึง parameter ต่าง ๆ ให้กว้างขวาง ยิ่งขึ้น ตามขั้นตอนของการศึกษาทางพิชีวิทยา เพื่อให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์ยิ่งขึ้นต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ

1. เงินทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย
2. คุณปิยะรัมพร พุ่มสุวรรณ แห่งสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ช่วยเหลือในการวิเคราะห์ข้อมูล

อ้างอิง

1. รายงานการปฏิบัติการ เรื่อง โรคอุจจาระร่วง ณ ห้องประชุม จังจิตต์ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี ถนนพระราม 6 กม. วันที่ 10-12 มีนาคม 2524 (มหาวิทยาลัยมหิดลร่วมกับกระทรวงสาธารณสุข)
2. พยากรณ์ เมื่อนอนวงศ์ญาติ. ยาแก้ไข้. ใน : ทับพ์ ตันสุภาพ, สรุภ์เกียรติ อาษาสุภาพ. คู่มือในการใช้สมุนไพร อันดับที่ 2. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์เมืองศิลป์ มีเดีย. 2524.52-55
3. โสภิต ธรรมอารี, จันทิมา ปโขติกา, มนศิริ ตันต์เกญร, จันท์ อิทธิพานิชพงศ์. รายงานการวิจัยเรื่อง การศึกษาฤทธิ์ของยาสมุนไพรบางชนิดที่ใช้รักษาระดับต่ำ ผลการทดลองและการประเมินสำรับเล็ก (ทุนไฮซ่า แมดิคัล บอร์ด ฝ่ายวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย) 2527. 99
4. สำลี ใจดี, สุนทร วิทยานารถไพบูลย์, รพีเพล ภิวราท, จิราพร ลิ้มปานานันท์, นิตยา เกียรติยิ่งวงศ์สุลล, วิชิต รัตนนาวินบุล. ปอด. ใน : สุนทร วิทยานารถ, วิชิต รัตนนาวินบุล, สำลี ใจดี, เพียงพร พันธ์อ่อน, พรสิทธิ์ พัฒนาธุรกษ์, นิตยา เกียรติยิ่งวงศ์สุลล, วิบูลย์ ไกรคุณวัฒนพงษ์, จิราพร ลิ้มปานานันท์,

วิทยา จันทสุคร, สุพรรัตน์ เหลืองชวพลวงศ์, เอกน จิตต์รักรักษ์.

การใช้สมุนไพรเล่น 2. กรุงเทพฯ : บริษัทสารมวลชน, 2524.87

5. Sastri BN, Helicteres Linn. In: A Dictionary of Indian Raw Material and Industrial Products. Vol.5. The Wealth of India. Calcutta. The Council of Scientific & Industrial Research, New Delhi and Printed at Sree Saraswati Press, 1959.29
6. เสจิม พงษ์บุญรอด. ปิดหรือปิดในไม้เทศเมืองไทย. กรุงเทพฯ : การพิมพ์ไชยวนัน, 2519. 314-315
7. Litchfield JT, Wilcoxon F. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J Pharmacol Exp Ther 1949 Jun; 99:99-133
8. Sigma Technical Bulletin No 505-1, (Sigma Chemical Co, Louis, Mo)
9. Marsh WH, Fingerhut B, Miller H. Automated and manual direct methods for the determination of blood urea. Clin Chem 1965 Jun;

11(6): 624-627

10. Papadimitriou JM, Duijn P Van. The ultra-structural localization of the isozymes of aspartate aminotransferase in murine tissues. *J Cell Biol* 1970 Oct; 47(1): 84-94
11. Herzfeld A, Knox WE. The distribution of aspartate aminotransferases in normal and

neoplastic rat and mouse tissue. *Enzyme* 1971; 12:699-703

12. Chen SH, Donahne RP, Scott CR. The genetics of glutamicpyruvic transaminase in mice: inheritance electrophoretic phenotypes and post natal changes. *Biochem Genet* 1973 Sep; 10(1): 23-28