

ผลการวิจัย

1. ผลการทดสอบสิ่งสกักรับหนู

1.1 จากการทดสอบให้สิ่งสกักรับหนูใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย (ก) กับหนูในขนาดต่าง ๆ กัน โดยให้สิ่งสกักรับหนูเทียบกับเมล็ดมันแกว 1, 2, และ 3 เมล็ด ในขนาด 2.0, 2.8, 3.0 ม.ล. ตามลำดับ ในหนู 3 ตัว ผลปรากฏว่าหนูมีอาการหายใจแรง หอบ มีเสมหะ ภายหลังจากที่ได้รับสิ่งสกักรับหนูที่ให้ออกฤทธิ์ในขนาด 1 เมล็ด จะไม่ตาย ภายหลังจาก 6 - 8 ชั่วโมง หนูมีอาการดีขึ้น ตามตารางที่ 2

1.2 จากการทดสอบให้สิ่งสกักรับหนูใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย (ข) กับหนูในขนาดสูง โดยให้ในขนาด 3.0 ม.ล., 4.0 ม.ล. , 5.0 ม.ล. 6.0 ม.ล. และ 7.0 ม.ล. จากผลปรากฏว่าหนูมีอาการหายใจเร็ว มีเสมหะ การทรงตัวเสีย เดินเอียง ปากจุกซัด การหายใจซัด ซ้ำ มือเท้าเกร็ง ซัก และตายภายหลังจากให้ยา 20 - 25 นาที ตามตารางที่ 3

1.3 จากการทดสอบให้สิ่งสกักรับหนูที่ใช้การสกัดด้วย petroleum ether, ethyl acetate, ether ซึ่งมีลักษณะเป็นน้ำมัน ให้กับหนูโดยคิดเทียบให้ในขนาด 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 ม.ล. ตามลำดับ (1 ม.ล. ของน้ำมันได้จากเมล็ดมันแกวประมาณ 3 กรัม หรือ 20 เมล็ด) ผลปรากฏว่า หนูมีอาการทางระบบหายใจ หายใจเร็ว มีเสมหะเพียงเล็กน้อย ซึ่งแสดงว่าในส่วนสกักรับหนูที่เป็นน้ำมันอาจมีสารที่เป็นพิษจากเมล็ดมันแกวถูกสกัดออกมาเพียงเล็กน้อยในทุกตัวไม่มีอาการชักปรากฏ

1.4 จากการทดสอบให้สิ่งสกักรับหนูหลังจากสกัดเอาไขมันออกและสกัดด้วย chloroform ในขนาด 10 ม.ล. (ตาม 1.3.1) นำมาแขวนตะกอนในน้ำ จำนวน 2 ม.ล. ให้กับหนู ผลปรากฏว่าหนูมีอาการหายใจเร็วขึ้นในระยะแรก การทรงตัวเสีย มีเสมหะ นอนนิ่ง มีไข้สูงมาก หลังจากนั้น 6 - 8 ชั่วโมง หนูมีอาการดีขึ้น และหนูทุกตัวที่ได้รับสิ่งสกักรับหนูไม่ตายตามตารางที่ 4

1.5 จากการทดสอบให้สิ่งสกักรับหนูหลังจากสกัดเอาไขมันออกสกัดด้วย methyl alcohol ในขนาด 10 ม.ล. (ตาม 1.3.2). นำมาแขวนตะกอนในน้ำจำนวน 2 ม.ล. ให้กับหนู ผลปรากฏว่าหนูมีอาการหายใจเร็ว ในระยะแรก ต่อมาหอบถี่ นอนนิ่ง มีกระตุกลำตัวเล็กน้อย การหายใจ

เริ่มช้าลง หายใจขัด ปากจุกซี้ด ท้องอืด ชัก หนูทุกตัวตาย ภายหลังให้สิ่งสกัด 3 ชั่วโมง 30 นาที ตามตารางที่ 5

1.6 จากการทดสอบให้สิ่งสกัดหลังการสกัดเอาไขมันออกสกัดด้วย ethyl alcohol ในขนาด 10 ม.ล. (ตาม 1.3.3) นำมาแขวนตะกอนในน้ำจำนวน 2 ม.ล. กับหนู ผลปรากฏว่า หนูมีอาการหายใจเร็วขึ้นในระยะแรก ต่อมาไม่เคลื่อนไหว ท้องพองโต สะอึกเสียงดัง และอาการจะค่อยๆดีขึ้น ภายหลังให้สิ่งสกัด 6 - 8 ชั่วโมง หนูทุกตัวไม่ตาย ตามตารางที่ 6

1.7 จากการทดสอบให้สิ่งสกัดหลังการสกัดเอาไขมันออกสกัดด้วย methylene chloride ในขนาด 10 ม.ล. (ตาม 1.3.4) นำมาแขวนตะกอนในน้ำจำนวน 2 ม.ล. กับหนู ผลปรากฏว่า หนูมีอาการหายใจเร็วขึ้นในระยะแรก ต่อมาเริ่มนอนนิ่ง ปากจุกซี้ด การหายใจเริ่มช้าลง มีอาการกระตุก ชัก หนูตายภายหลังให้สิ่งสกัด 25 นาที - 1 ชั่วโมง ตามตารางที่ 7

1.8 จากการทดสอบให้สิ่งสกัดหลังการสกัดเอาไขมันออกสกัดด้วย acetone ในขนาด 10 ม.ล. (ตาม 1.3.5) นำมาแขวนตะกอนในน้ำจำนวน 2 ม.ล. กับหนู ผลปรากฏว่า หนูมีอาการหายใจเร็วขึ้นในระยะแรก ปากจุกซี้ด หนูมีอาการกระตุกหึ่งตัว การทรงตัวเสีย มีนซึม การหายใจเริ่มช้าลง ก่อนตายชักเกร็ง หนูที่ได้รับสิ่งสกัดตาย 3 ตัว ภายหลังให้สิ่งสกัด 30 นาที - 2 ชั่วโมง 30 นาที ตามตารางที่ 8

## 2. ผลการทดสอบสิ่งสกัดกับปลาทอง

2.1 จากการทดสอบให้สิ่งสกัดที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายโดยให้ในขนาด 2 ม.ล. แขวนตะกอนในน้ำ 1000 ม.ล. ผลปรากฏว่าปลามีอาการผูกหายใจเหนื่อน้ำบ่อยๆ การทรงตัวเสีย เหงือกมีเลือดกั่ง กระตุกบริเวณหลัง ท้องพองโต ปลาตายหมดภายหลังให้สิ่งสกัด 2 ชั่วโมง 5 นาที ตามตารางที่ 9

2.2 จากการทดสอบให้สิ่งสกัดที่เป็นน้ำมัน จากการสกัดด้วย petroleum ether, ethyl acetate, ether จำนวน 2 ม.ล. ในน้ำ 1000 ม.ล. ผลปรากฏว่าปลามีอาการกระวนกระวาย ผูกหายใจเหนื่อน้ำบ่อยๆ ท้องพองโต ลอยตัวนิ่ง หงายท้อง หายใจช้า ปลาตายหมดภายหลังให้สิ่งสกัด 2 ชั่วโมง 55 นาที ตามตารางที่ 10

2.3 จากการทดสอบการให้สิ่งสกัดที่สกัดไขมันออก สกัดด้วย chloroform จำนวน 2 ม.ล. ในน้ำ 1000 ม.ล. ให้ปลาทอง ผลปรากฏว่า ปลามีอาการเคลื่อนไหวช้าลง ผูกหายใจ เหนื่อน้ำบ่อย ๆ ท้องพอง ลอยตัวนิ่ง หงายท้อง เหงือกมีเลือดคั่ง การหายใจช้า กระตุก ปลาตายหมด ภายหลังให้สิ่งสกัด 2 ชั่วโมง 10 นาที ตามตารางที่ 11

2.4 จากการทดสอบให้สิ่งสกัดที่สกัดไขมันออก สกัดด้วย methyl alcohol จำนวน 2 ม.ล. ในน้ำ 1000 ม.ล. แขนงตะกอนในน้ำให้กับปลาทอง ผลปรากฏว่า ปลามีอาการกระวนกระวาย หายใจเร็วขึ้น ต่อมาการหายใจช้า ลอยตัวนิ่ง หงายท้อง ปลาตายหมดภายหลังให้สิ่งสกัด 2 ชั่วโมง 20 นาที ตามตารางที่ 12

2.5 จากการทดสอบให้สิ่งสกัดจากการสกัดเอาไขมันออก สกัดด้วย ethyl alcohol จำนวน 2 ม.ล. ในน้ำ 1000 ม.ล. แขนงตะกอนในน้ำให้กับปลาทอง ผลปรากฏว่าปลาผูกหายใจ เหนื่อน้ำบ่อย ปลาหายใจเร็ว หางงอโค้ง มีอาการกระตุก ท้องพอง เหงือกมีเลือดคั่ง การหายใจช้า ลอยตัวนิ่ง หงายท้อง ปลาตายหมดภายหลังให้สิ่งสกัด 2 ชั่วโมง 35 นาที ตามตารางที่ 13

2.6 จากการทดสอบให้สิ่งสกัดจากการสกัดไขมันออก สกัดด้วย methylene chloride จำนวน 2 ม.ล. ในน้ำ 1000 ม.ล. แขนงตะกอนในน้ำ ให้กับปลาทอง ผลปรากฏว่ามีอาการกระวนกระวาย ผูกหายใจเหนื่อน้ำบ่อย ๆ หางงอ กระตุก ลอยตัวนิ่ง ท้องพองโต เหงือกมีเลือดคั่ง การหายใจช้าลง ปลาตายหมดภายหลังให้สิ่งสกัด 1 ชั่วโมง 50 นาที ตามตารางที่ 14

2.7 จากการทดลองให้สิ่งสกัดจากการสกัดไขมันออกสกัดด้วย acetone จำนวน 2 ม.ล. ในน้ำ 1000 ม.ล. แขนงตะกอนในน้ำให้กับปลาทอง ผลปรากฏว่าปลามีอาการกระวนกระวาย ผูกหายใจเหนื่อน้ำบ่อย ๆ การหายใจเร็วขึ้น หางงอโค้ง กระตุก ลอยตัวนิ่ง ท้องพองโต เหงือกมีเลือดคั่ง หงายท้อง การหายใจช้าลง ปลาตายหมดหลังให้สิ่งสกัด 1 ชั่วโมง 50 นาที ตามตารางที่ 15

3. ผลการทดสอบการแสดงฤทธิ์ของสิ่งสกัดหลังจากการสกัดเอาไขมันออก ซึ่งสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ เปรียบเทียบกับ acetylcholine ต่อ isolated organ guinea-pig ileum<sup>8</sup>

โดยการทดลองให้ acetylcholine 1 : 1000 0.2 ม.ล. กอนกับ tissue จากการบันทึกผลการหดตัวของ ileum ล้างออกให้ระยะพัก 3 นาที ให้สิ่งสกัด 0.1 ม.ล. บันทึก

ผลการหาค่า ล้างออกให้ระยะพัก 3 นาที เช่นเดียวกันต่อไปให้ acetylcholine ในขนาด เท่าเดิม เพื่อคุณสมบัติของ acetylcholine ต่อ ileum อีกครั้งภายหลังให้สิ่งสกัด

### 3.1 ให้สิ่งสกัดจาก chloroform (fraction 1)

การหาค่าของ tissue ไม่ได้เกิดขึ้นทันที เช่นการให้ acetylcholine ต้องใช้เวลาประมาณ 1 นาที จึงมีการหาค่าประมาณ 3 ใน 13 (ประมาณ 23 เปอร์เซ็นต์) ของ การหาค่าที่เกิดขึ้นจากการให้ acetylcholine และเมื่อให้ acetylcholine อีก การ หาค่าได้ไม่เท่าเดิมประมาณ 3 ใน 13 (ประมาณ 23 เปอร์เซ็นต์) เมื่อให้ในครั้งแรก (รูปที่ 6)

### 3.2 ให้สิ่งสกัดจาก methyl alcohol (fraction 2)

การหาค่าของ tissue ไม่เกิดขึ้นทันทีที่ให้สิ่งสกัดต้องใช้เวลาประมาณ 1 นาที การหาค่าปรากฏขึ้นประมาณ 1 ใน 10 (10 เปอร์เซ็นต์) เมื่อเทียบกับการหาค่าที่เกิด ขึ้นจากการให้ acetylcholine เมื่อให้ acetylcholine จะทำให้การหาค่าเกิดขึ้น ประมาณ 3 ใน 10 (ประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์) เมื่อให้ในครั้งแรก (รูปที่ 7)

### 3.3 ให้สิ่งสกัดจาก ethyl alcohol (fraction 3)

การหาค่าของ tissue ไม่เกิดขึ้นทันทีที่ให้สิ่งสกัดต้องใช้เวลาประมาณ 1 นาที การหาค่าปรากฏประมาณ 1 ใน 10 (ประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์) เมื่อเปรียบเทียบกับ การหาค่าที่เกิดขึ้นจากการให้ acetylcholine ก่อน เมื่อให้ acetylcholine อีก การหาค่าประมาณ 5 ใน 10 (ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์) เมื่อให้ในครั้งแรก (รูปที่ 8)

### 3.4 ให้สิ่งสกัดจาก methylene chloride (fraction 4)

การหาค่าของ tissue จะไม่ปรากฏทันทีที่ให้สิ่งสกัดต้องใช้เวลาประมาณ 1 นาที การหาค่าจะปรากฏประมาณ 6 ใน 10 (ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์) ของการหาค่าที่เกิด จากการใช้ acetylcholine ต่อมาเมื่อให้ acetylcholine อีก การหาค่าพบประมาณ 3 ใน 10 (ประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์) เมื่อให้ในครั้งแรก (รูปที่ 9)

### 3.5 ให้สิ่งสกัดจาก acetone (fraction 5)

การหาค่าของ tissue ไม่ปรากฏทันทีที่ให้สิ่งสกัด และเมื่อมีการหาค่า จะปรากฏขึ้นเพียงเล็กน้อย ซึ่งต่อมาเมื่อให้ acetylcholine อีก การหาค่าของ tissue ปรากฏขึ้นประมาณ 6 ใน 10 (ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์) เมื่อให้ในครั้งแรก (รูปที่ 10)

#### 4. ผลการทดสอบคุณสมบัติทางเคมี ทางกายภาพของสิ่งสกัดที่สกัดเอาไขมันออก

4.1 ลักษณะและการละลายของสิ่งสกัดที่ได้จากตัวทำละลาย ส่วนใหญ่สิ่งสกัดที่ได้มีลักษณะใกล้เคียงกันคือ เป็น amorphous, hygroscopic สีน้ำตาล หรือน้ำตาลเหลือง จนถึงน้ำตาลแดง มีกลิ่นหอมเฉพาะ ส่วนใหญ่ไม่ละลายในน้ำ ละลายได้เล็กน้อยใน ether ละลายได้ใน alcohol และละลายได้ดีใน chloroform และ methylene chloride ใน alkaline solution ให้สีเหลืองเข้ม น้ำละลายที่ได้จากสิ่งสกัดแต่ละตัวทำละลายมีความเป็นกรรคอนตอกระคายฉิมัส

สำหรับสิ่งสกัดที่ได้จาก acetone เป็นผลึกผสมกับ amorphous ลักษณะ hygroscopic สีน้ำตาลเหลือง กลิ่นหอมเฉพาะ ไม่ละลายน้ำ ส่วนที่เป็น amorphous ละลายได้เล็กน้อยในน้ำ ether ละลายได้ใน alcohol ละลายได้ดีใน chloroform และ methylene chloride ส่วนที่เป็นผลึกไม่ละลายใน alcohol ใน alkaline solution ให้ น้ำละลาย สีเหลืองเข้ม

4.2 ผลการทดสอบ saponins ในสิ่งสกัดหลังการสกัดไขมันออก และสกัดด้วย chloroform, ค่าย methyl alcohol, ค่าย ethyl alcohol, ค่าย methylene chloride, และค่าย acetone

4.2.1 General properties นำสิ่งสกัดที่ได้จากตัวทำละลายต่าง ๆ แยกใส่ในหลอดแก้ว ใส่น้ำลงไปเขย่า จะไม่เกิดฟอง

4.2.2 Hemolysis properties นำสิ่งสกัดที่ได้จากตัวทำละลายต่าง ๆ เขวนตะกอนในน้ำเกลือ 0.9 เปอร์เซ็นต์ ลงใน washed red cells suspended ในน้ำเกลือ 0.9 เปอร์เซ็นต์ การทดสอบไม่มี hemolysis เกิดขึ้น

4.2.3 Emulsifying properties นำสิ่งสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ เขวนตะกอนในน้ำ เติมน้ำมันมะพร้าวลงไปอัตราส่วน 1 : 2 เมื่อนำมาเขย่าจะไม่เกิด emulsion

4.3 ผลการทดสอบหา alkaloids ในสิ่งสกัดโดยการทำปฏิกิริยากับ precipitated alkaloid reagent ใหล้สไปนทางลบ แสดงถึงไม่มี alkaloid

#### 4.4 ผลการทดสอบ Thin-Layer Chromatography (TLC.)

4.4.1 ผลที่ได้จากการใช้ส่วนที่เป็นน้ำมันทำ TLC. เปรียบเทียบกับน้ำมันจาก seed (olive oil)

ผล. ลักษณะของ zone จากน้ำมันที่ได้จากเมล็ดมันแกว เช่นเดียวกับ zone ที่ปรากฏจาก olive oil ซึ่งมีบางส่วนที่ให้ fluorescence เล็กน้อย เมื่อฉายไฟ U.V. light จากการใช้ทำ TLC. สิ่งสกัดที่ได้จากการสกัดโดยตรงด้วย petroleum ether, ethyl acetate และ ether มี triglycerides มาก เมื่อ spray ด้วย chromic sulphuric acid จะให้สีน้ำตาลเข้มกับ zone ของส่วนที่เป็น triglycerides

4.4.2 ผลของการทดสอบสิ่งสกัด ซึ่งสกัดไขมันออกแล้ว และนำมาสกัดด้วย chloroform, ด้วย methyl alcohol, ด้วย ethyl alcohol, ด้วย methylene chloride และด้วย acetone ทำ TLC. พบว่าแต่ละสิ่งสกัดมีการแยกเป็นส่วน ๆ เห็นได้ชัด ซึ่งเมื่อฉายแสงสว่างธรรมดาจะพบสีน้ำตาล ขมุก และเหลืองในแต่ละ zone และเมื่อ U.V. light จะปรากฏว่ามี blue fluorescence อยู่ส่วนบนสุด และมี bluish-green อยู่ปะปนกับส่วนล่าง เมื่อนำมา spray ด้วย 10% antimony trichloride และ heat 110° เซลเซียส นาน 10 นาที จะปรากฏสีต่าง ๆ ชัดเข้มนั้น เมื่อฉาย U.V. light ซึ่งมีปรากฏเช่นเดิม ดังในรูปที่ 11, 12, 13, 14 และ 15 ตามลำดับ จากสิ่งสกัดที่ได้จากตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ เมื่อทำ TLC. พบว่าสิ่งสกัดที่ได้ประกอบด้วยสารมากกว่า 1 สาร ซึ่งปะปนกันออกมา

4.4.3 ผลการทดสอบส่วนผสมของสิ่งสกัดที่สกัดเอาไขมันออก เปรียบเทียบกับ pure rotenone บน TLC. ซึ่งจากการให้สิ่งสกัดกับสภาพองแล้วมีอาการปรากฏขึ้นคล้ายกับการแสดงฤทธิ์ของ rotenone

ผลการทดสอบปรากฏว่า ในส่วนผสมของสิ่งสกัดจะมีลักษณะของส่วนที่แยกให้ ปรากฏใกล้เคียงกับ pure rotenone ซึ่งในแสงสว่างธรรมดาให้สีน้ำตาลแดง และเป็นส่วนที่ไม่ fluorescence เมื่อฉายไฟ U.V. light ซึ่งในส่วนผสมของสิ่งสกัดที่นำมาใช้อาจมีสารที่มี zone ใกล้เคียงกับ pure rotenone (รูปที่ 16)

### 5. ผลการทดสอบสิ่งสกัดด้วย ultraviolet absorption spectrophotometer

โดยนำสิ่งสกัดหลังการสกัดเอาไขมันออก มาละลายใน solvent (alcohol) เพื่อหา absorbance (OD) จากผลการทดสอบสิ่งสกัดที่ได้จากการสกัดด้วย chloroform, ค่าย methyl alcohol, ค่าย ethyl alcohol, ค่าย methylene chloride และค่าย acetone นำมาอ่านในช่วง ultraviolet 200 - 340 nm พบว่าสารดังกล่าวมีการดูดซึมแสงสูงสุดที่ 240 - 290 nm และสิ่งสกัดจากการใช้ methylene chloride เป็นตัวทำละลาย มีค่าดูดซึมแสงที่ 240 nm ชัดเจนกว่าสิ่งสกัดในตัวทำละลายอื่นๆ (รูปที่ 17) และได้ค่า  $E_{1\%}^{1\text{cm}}$  คือค่า specific absorbancy 1533

Geissman<sup>5</sup> ได้รายงานผลงานของ Eisenbeiss and Schmid ว่าสาร **erosnin** ที่ได้จาก *Pachyrrhizus erosus*, Urb. มีจุดดูดซึมแสงสูงสุดที่ 240 nm อาจเป็น furanocoumarin มีสูตรโครงสร้างใกล้เคียงกับ pachyrrhizin ที่ได้จากเมล็ดมันแกว มีจุดดูดซึมแสงสูงสุดที่ 244 nm.

ตารางที่ 2 ผลการใช้ น้ำสกัด (ก) กับหนู

ตัวที่	เพศ	น้ำหนัก (กรัม)	จำนวนของสิ่งสกัด (ม.ล.)	อาการ
1	ตัวผู้	286	2.0	หลังให้ยา 15 นาที ปรากฏหนูเริ่มมีซึม หายใจหอบถี่ ไม่รู้สึกตัว มีเสียงสะอึกดัง และ อาการต่อมา มีการถ่ายเหลว ท้องอืด ไม่ เคลื่อนไหว
2	ตัวผู้	280.5	2.8	หลังให้ยา 15 นาที อาการที่พบไม่คล้ายรู้สึกตัว เวลาต่อมามีอาการหายใจเหมือนขาดออกซิเจน การทรงตัวเสีย มีการชักกระตุก ปัสสาวะออก มาก หายใจหอบถี่ ปากจมูกซีด การหายใจ หยุดภายหลังจากให้ยารวม 50 นาที
3	ตัวผู้	317.5	3.0	หลังให้ยาไป 20 นาที มีอาการมีซึม หายใจ หอบถี่ อาการต่อมาเหมือนขาดออกซิเจน การ หายใจหยุดหลังให้ยา $1 \frac{1}{2}$ ชั่วโมง ก่อนการ หายใจหยุด หนูจะมีอาการอู้งามหน้ากำแนต ขา หลังเหยียด ชักกระตุกเล็กน้อย



ตารางที่ 3 ผลการใช้น้ำสกัด (ข) กับหนู

ตัวที่	เพศ	น้ำหนัก (กรัม)	จำนวนของสิ่งสกัด (ม.ล.)	อาการ
1	ตัวเมีย	214.0	3.0	หลังให้ยาประมาณ 12 นาที หนูเริ่มมีอาการ หายใจไม่สะดวก กระวนกระวาย การหายใจ หอบถี่ ปากอ้า มีเสียงของการหายใจหอบ ไม่รู้สึกรัดตัว เมื่อเคาะกะโหลก ๆ การทรงตัวเสีย เค้นเอียง ตัวเริ่มสั่น มือเท้าเกร็ง ปากจุก ซีด อุ้งมือหน้ากำแน่น ขาหลังเหยียด การ หายใจเหมือนขาดออกซิเจน และการหายใจ เริ่มช้าลง หยุดภายหลังจากให้ยา 25 นาที
2	ตัวผู้	208.0	4.0	อาการปรากฏเช่น (1) ภายหลังจากให้ยา 10 นาที การหายใจหยุดภายหลังจากให้ยา 20 นาที
3	ตัวผู้	280.5	5.0	อาการปรากฏเช่น (1) ภายหลังจากให้ยา 20 นาที การหายใจหยุดหลังการให้ยา 30 นาที
4	ตัวผู้	308.7	6.0	อาการปรากฏหลังการให้ยา 8 นาที หนูจะ มีอาการหายใจลำบาก มีน้มน้ำ ไม่รู้สึกรัดตัว ไม่ เคลื่อนไหว มือเท้าเกร็ง มือเท้ากระตุก ภายหลังจากให้ยา 24 นาที

ตารางที่ 3 ผลการให้น้ำสกัด (ข) กับหนู (ต่อ)

ตัวที่	เพศ	น้ำหนัก (กรัม)	จำนวนของสิ่งสกัด (ม.ล.)	อาการ
5	ตัวผู้	329.0	7.0	อาการปรากฏภายหลังการให้ยา 14 นาที มีอาการ เช่น (1) การหายใจหยุดภาย หลังการให้ยา 25 นาที

ตารางที่ 4 ผลการให้สิ่งสกัดด้วย chloroform กับหนู

ตัวที่	เพศ	น้ำหนัก (กรัม)	จำนวนของสิ่งสกัด (ม.ล.)	อาการ
1	ตัวผู้	286	10	หลังให้ยา 10 นาที หนูมีอาการซึม การหายใจเริ่มหอบถี่แรงขึ้น ไม่เคลื่อนไหว ไม่รู้สึกตัว ท้องอืด ปากจุกแข็ง ภายหลัง 6 ชั่วโมง หนูค่อยเริ่มมีอาการดีขึ้น
2	ตัวผู้	280	10	หลังให้ยา 15 นาที หนูมีอาการมีเสียง การหายใจเร็ว หอบ ปากจุกแข็ง ท้องอืด ไม่ค่อยรู้สึกตัว ภายหลัง 6 ชั่วโมง อาการดีขึ้น จนเกือบปกติ
3	ตัวผู้	283	10	อาการเช่น (1) ภายหลังให้ยา 25 นาที หนูไม่คอยเคลื่อนไหว ภายหลังให้ยา 6 ชั่วโมง หนูมีอาการดีขึ้น
4	ตัวผู้	274	10	ภายหลังให้ยา 10 นาที หนูไม่เคลื่อนไหว นอนนิ่งซึม หายใจหอบ ท้องอืด อาการค่อยดีขึ้น 6 ชั่วโมงผ่านไป อาการเกือบปกติ
5	ตัวเมีย	258	10	อาการเช่นเดียวกับ (4)

ตารางที่ 4 ผลการใช้สิ่งสกัดด้วย chloroform กับหนู (ต่อ)

ตัวที่	เพศ	น้ำหนัก (กรัม)	จำนวนของสิ่งสกัด (ม.ล.)	อาการ
6	ตัวผู้	316	10	อาการปรากฏมีอาการมีไข้ หายใจหอบถี่ ไม่เคลื่อนไหว นอนนิ่ง ปากจุกมูกติด ท้องอืด ภายหลังการให้ยา 6 ชั่วโมง หนูมีอาการดีขึ้น
7	ตัวผู้	345	10	อาการปรากฏเช่น (6)

ตารางที่ 5 ผลการใช้สิ่งสกัดด้วย methyl alcohol กับหนู

ตัวที่	เพศ	น้ำหนัก (กรัม)	จำนวนของสิ่งสกัด (ม.ล.)	อาการ
1	ตัวเมีย	253	10	อาการปรากฏหลังให้ยา 30 นาที หายใจ หอบถี่ กระวนกระวาย ไม่รู้สึกตัว ต่อมา อีก 2 ชั่วโมง มีอาการชัก กระตุก หายใจขัด แล้วเริ่มซาลง มือเท้าเหยียด ปากจุกซึก หน้าท้องเกร็ง การหายใจหยุดภายหลังให้ ยา 4 ชั่วโมง
2	ตัวผู้	333	10	อาการปรากฏหลังให้ยา 25 นาที มีอาการ กระวนกระวาย หายใจหอบถี่ ไม่รู้สึกตัว การ ทรงตัวเสีย ต่อมาอนึ่ง หายใจซาลง ปาก จุกซึก ชัก บิดตัวไปมา มือเท้าเกร็ง ต่อมา หายใจเป็นพัก ๆ การหายใจหยุดภายหลังให้ ยา 3 $\frac{1}{2}$ ชั่วโมง
3	ตัวผู้	341	10	อาการปรากฏหลังให้ยา 25 นาที หายใจหอบ กระวนกระวาย มีนิม ไม่รู้สึกตัว ไม่เคลื่อนไหว ไหว หายใจเร็ว หอบแรงขึ้น ปากจุกซึก การ หายใจเหมือนซากออกซิเจน มีเสียงคัง ชัก กระตุก การหายใจหยุดภายหลังให้ยา 4 ชั่วโมง

ตารางที่ 5 ผลการใช้สิ่งสกัดด้วย methyl alcohol กับหนู (ต่อ)

ตัวที่	เพศ	น้ำหนัก (กรัม)	จำนวนของสิ่งสกัด (ม.ล.)	อาการ
4	ตัวผู้	354	10	อาการเซ้น (3)
5	ตัวผู้	306	10	อาการเซ้น (3)
6	ตัวผู้	289	10	อาการเซ้น (2) การหายใจหยุดลงให้ยา $3 \frac{1}{2}$ ชั่วโมง
7	ตัวผู้	354	10	อาการเซ้น (3)

ตารางที่ 6 ผลการใช้สิ่งสกัดด้วย ethyl alcohol กับหนู

ลำดับที่	เพศ	น้ำหนัก (กรัม)	จำนวนของสิ่งสกัด (ม.ล.)	อาการ
1	ตัวผู้	350.5	10	เมื่อให้ยาไป 20 นาที หนูเริ่มมีอาการ มีซึม เมื่อเคาะข้างกรงจะไม่วิ่งตัว นอนนิ่ง ไม่เคลื่อนไหว การหายใจเริ่มหอบ ถี่ มีอาการสะอึกเสียงดัง ภายหลังให้ยา 6 ชั่วโมง อาการปกติ
2	ตัวผู้	275.5	10	อาการเหมือน (1)
3	ตัวผู้	335.5	10	ภายหลังการให้ยา 20 นาที หนูเริ่มมีอาการ มีซึม หายใจหอบถี่ ต่อมาอาการไม่เคลื่อนไหว นอนนิ่ง การหายใจเร็ว หอบ จะไม่วิ่ง ตัวเมื่อเคาะข้างกรง การหายใจค่อยดีขึ้นจน เกือบปกติ ภายหลังให้ยา 6 ชั่วโมง
4	ตัวผู้	333.0	10	อาการเหมือน (1)
5	ตัวผู้	230.5	10	อาการเหมือน (1)
6	ตัวผู้	311.5	10	อาการเหมือน (1)
7	ตัวผู้	252.5	10	อาการเหมือน (1)

ตารางที่ 7 ผลการให้สิ่งสกัดด้วย methylene chloride กับหนู

ตัวที่	เพศ	น้ำหนัก (กรัม)	จำนวนของสิ่งสกัด (ม.ล.)	อาการ
1	ตัวผู้	336.7	10	อาการปรากฏหลังให้สิ่งสกัด 15 นาที หนูมี อาการหอบถี่ มีไข้ นอนนิ่ง เหงงหน้าและธารวน กระวายเป็น การทรงตัวเสีย ปาก จุกแข็ง เคาะใกล้ ๆ จะไม่รู้สึกตัว มีลักษณะ การหายใจเหมือนขาดออกซิเจน การหายใจ ช้า ชัก เป็นช่วง ๆ การหายใจหยุดภายหลัง ให้ยา 40 นาที
2	ตัวผู้	338.0	10	อาการปรากฏหลังให้สิ่งสกัด 20 นาที อาการ มีไข้ การหายใจหอบถี่ ชัก กระตุก อาการ อย่างอื่นเหมือน (1) การหายใจหยุดหลังให้ ยา 1 ชั่วโมง
3	ตัวผู้	317.2	10	อาการปรากฏหลังให้สิ่งสกัด 15 นาที มีอาการ กระวนกระวาย หายใจหอบถี่ มีไข้ เมื่อเคาะ จะไม่รู้สึกตัว อีก 15 นาที ต่อมา มีอาการเหมือน ขาดออกซิเจน ชักกระตุก การหายใจหยุดเป็น พัก ๆ หยุดหายใจภายหลังให้ยา 45 นาที



ตารางที่ 7 ผลการให้สิ่งสกัดด้วย methylene chloride กับหนู (ต่อ)

ตัวที่	เพศ	น้ำหนัก (กรัม)	จำนวนของสิ่งสกัด (ม.ล.)	อาการ
4	ตัวผู้	341.7	10	อาการปรากฏภายหลังให้สิ่งสกัด 20 นาที อาการอย่างอื่นเหมือน (3)
5	ตัวผู้	274.7	10	เมื่อให้สิ่งสกัด 15 นาที หนูนอนนิ่ง ไม่ เคลื่อนไหว หายใจหอบถี่ ปากจุกซีด การ หายใจช้าลง หยุ่ภายหลังให้ยา 25 นาที
6	ตัวผู้	300.0	10	อาการปรากฏเหมือน (1)
7	ตัวผู้	323	10	อาการเช่น (1)

ตารางที่ 8 ผลการให้สิ่งสกัดด้วย acetone กับหนู

ตัวที่	เพศ	น้ำหนัก (กรัม)	จำนวนของสิ่งสกัด (ม.ล.)	อาการ
1	ตัวผู้	242.7	10	ภายหลังให้ยา 20 นาที หนูมีอาการหายใจเร็ว และมีอาการกระตุกเล็กน้อย การทรงตัวเสีย ปากจุกซึก การหายใจช้าลง และตายภายหลังให้ยา 2 ชั่วโมง 30 นาที
2	ตัวผู้	268.0	10	ภายหลังให้ยา 30 นาที หนูมีอาการหายใจเร็ว ปากจุกซึก การทรงตัวเสีย กระวนกระวายเล็กน้อย หายใจช้าลง เกิด air hunger ชัก เกร็ง ตายภายหลังให้ยา 1 ชั่วโมง 10 นาที
3	ตัวผู้	283.0	10	ภายหลังให้ยา หนูมีอาการกระวนกระวาย ค่อมจะหายใจเร็วขึ้นกว่าเคม . การทรงตัวเสีย มีนิ่ม ปากซึก การหายใจช้า เมื่อหลังให้ยา 6 ชั่วโมง หนูมีอาการคืบขึ้น
4	ตัวผู้	287.5	10	อาการเช่นตัวที่ (1) เมื่อภายหลังให้ยา 6 ชั่วโมง หนูเริ่มมีอาการคืบขึ้น

ตารางที่ 8 ผลการให้สิ่งสกัดด้วย acetone กับหนู (ต่อ)

ตัวที่	เพศ	น้ำหนัก (กรัม)	จำนวนของสิ่งสกัด (ม.ล.)	อาการ
5	ตัวผู้	255.5	10	<p>ภายหลังให้ยา 10 นาที หนูมีอาการกระวนกระวาย หายใจเร็วขึ้น หลังให้ยา 30 นาที หนูมีอาการกระตุกทั้งตัว และปากจุกซี่ด นอนนิ่ง หายใจช้าลง ชัก คายภายหลังให้ยา 30 นาที</p>

ตารางที่ 9. ผลการให้สิ่งสกัดค้ายน้ำ (ข) กับปลาทอง 10 ตัว

ระยะเวลาหลังให้ สิ่งสกัด (นาที)	อาการ
1	เมื่อให้สิ่งสกัด ปรากฏทางโค้งงอไปทางค้ำข้าง ผูกหายใจเหนือน้ำ บอย ๆ กระวนกระวาย
3	การว่ายน้ำเริ่มช้าลง บางตัวลอยตัวนิ่ง
6	การทรงตัวเปลี่ยน ลำตัวเริ่มกระตุก หายใจเหนือน้ำ ว่ายน้ำจนกระทั่ง ใสปลา
10	มีการคั้งของเลือดบริเวณหัวและเหงือก บริเวณท้องพองใหญ่ 3 ตัว เริ่มมีอาการกระตุกที่เป็นบริเวณหลัง
15	3 ตัว เริ่มมีการเคลื่อนไหวช้าลง หัวคั้งลงกันจาขณะที่ใส
20	ปลาทั้งหมดค่อย ๆ ลอยตัวนิ่งขึ้นตอนบน
25	3 ตัว มีอาการกระตุกมากขึ้น
40	อาการเพิ่มมากขึ้น หงายท้อง
55	อาการลงเค็ม
70	เกือบทุกตัวมีอาการเพิ่มมากขึ้น การหายใจเริ่มช้าลง
85	ปลาคาย 5 ตัว
100	คายเพิ่มอีก 1 ตัว
115	คายเพิ่มอีก 2 ตัว
125	คายหมด

ตารางที่ 10 ผลการให้สิ่งสกัดที่เป็นน้ำมัน กับปลาทอง 10 ตัว



ระยะเวลาหลังให้ สิ่งสกัด (นาที)	อาการ
5	เริ่มกระวนกระวายเคลื่อนไหวเร็วขึ้น ผูกหายใจเหนือน้ำบ่อย ๆ
10	แสดงอาการอย่างเค็มแต่มากขึ้น
15	อาการเคลื่อนไหวช้าลงบ้างแต่ผูกหายใจมากขึ้น
20	ปลามีอาการกระตุกเล็กน้อยในบางตัว
30	ปลามีการกระตุกและกระโดดพ้นผิวน้ำ ส่วนท้องพองออกเล็กน้อย
40	ปลาเริ่มอ่อนกำลังลง และมีอาการหายใจลำบาก แต่มีอาการคั่นรน โดยพุ่งตัวอย่างแรงชวษณะ
50	การเคลื่อนไหวต่าง ๆ ลดลง ลอยตัวนิ่ง ไม่ได้ตอบสนองการกระตุ้น
60	บางตัวเริ่มเสียการทรงตัว มีการกระตุกเล็กน้อย ต่อมาจะหมดแรง หงายท้อง
70	ตาย 4 ตัว เมื่อตายท้องพองโต
80	ส่วนที่เหลืออ่อนกำลังลง ลอยตัวนิ่ง หงายท้อง การหายใจเป็น ครั้งคราว มีอาการคั้งของเลือดที่เหงือกซีดเจ็น
90	ปลาตายอีก 2 ตัว ส่วนที่เหลือยังคงมีการหายใจช้าลง
100	ปลาตายอีก 2 ตัว
140	ปลาตายหมด

ตารางที่ 11 ผลการให้สิ่งสกัดด้วย chloroform กับปลาทอง 10 ตัว

ระยะเวลาหลังให้ สิ่งสกัด (นาที)	อาการ
5	หลังจากได้สิ่งสกัด ปลาทองโคล้งอไปทางคานข้าง ลอยตัวนิ่ง ผุด หายใจเหนือน้ำบ่อย ๆ
10	การเคลื่อนไหวช้าลง
15	ลอยตัวนิ่ง
20	อาการยังคงเดิม
25	สังเกตท้องพองโต มีการคั่งของเลือดที่เหงือก
30	ลอยตัวนิ่ง ผุดหายใจเหนือน้ำบ่อย ๆ
35	การทรงตัวเสีย
40	3 ตัว มีอาการกระดูกมากขึ้น ฟุ้งตัวขนเทาชนะ
45	มีอีก 3 ตัว มีอาการกระดูกเพิ่มขึ้น
50	3 ตัว อ่อนแรง มีอาการกระดูกเป็นพัก ๆ ท้องพอง
60	ปลาคาย 1 ตัว
65	ปลาคายอีก 2 ตัว
70	ลอยตัวนิ่ง หายใจช้าลง
80	ปลาคายอีก 2 ตัว
90	อาการคงเดิม
100	ตายเพิ่มอีก 1 ตัว ที่เหลือจะหายใจช้าลง
110	อาการคงเดิม
120	ปลาคายหมด

ตารางที่ 12 ผลการให้สิ่งสกัดด้วย methyl alcohol กับปลาทอง 10 ตัว

ระยะเวลาหลังให้ สิ่งสกัด (นาที)	อาการ
5	อาการปรากฏหลังให้สิ่งสกัด ปลาผุดหายใจเหนือน้ำบ่อย ๆ ว่ายน้ำไปมา <b>เร็ว</b>
10	ปลามีอาการกระตุกหลัง
15	เริ่มเคลื่อนไหวตัวช้าลง
20	ปลาเริ่มลอยตัวนิ่ง
25	มีอาการกระตุกบริเวณหลังเป็นครั้งคราว
30	ปลาเริ่มว่ายน้ำไปมา กระวนกระวาย การทรงตัวเสีย
35	2 ตัว อ่อนแรง
40	เหงือกของปลาเกิดการคั่งของเลือด (Congestion)
45	ลอยตัวนิ่ง บางตัวหงายท้อง ว่ายน้ำพุ่งชนภาชนะ
50	มี 2 ตัว มีอาการกระตุกเป็นพัก ๆ หายใจช้าลง หน้าท้องพอง
55	ตาย 1 ตัว
60	ตาย 1 ตัว
75	ลอยตัวและเคลื่อนไหวตัวช้า ๆ
90	ตาย 1 ตัว บางตัวที่เหลือตะแคงตัว
100	ตาย 1 ตัว
110	อาการคงเดิม
120	ตายเพิ่มอีก 2 ตัว
130	ตายอีก 2 ตัว
140	ปลาตายหมด

ตารางที่ 13 ผลการให้สิ่งสกัดด้วย ethyl alcohol กับปลาทอง 10 ตัว

ระยะเวลาหลังให้ สิ่งสกัด (นาที)	อาการ
5	ปลามีอาการกระวนกระวาย บุคหายใจเหนือน้ำบ่อย ๆ ทางงอ หลัง กระตุก
10	การทรงตัวเริ่มเสีย
15	ปลาบางตัวเคลื่อนไหวช้าลง หยุดนิ่ง ทิ้งตัวลงก้นอ่าง
20	ยังมีอาการกระวนกระวายบ้าง
25	ปลาเริ่มกระตุกที่หลังมากขึ้น ลอยตัวนิ่ง
30	มี 4 ตัว มีการกระตุกหลังมาก วายพุ่งชนภาชนะ
35	เมื่อมีอาการกระตุก ต่อมาจะลอยตัว การหายใจมีเป็นพัก ๆ ที่เหงือก มีการคั่งของเลือด (Congestion)
40	มีอาการไม่ตอบโต้เมื่อกระตุ้น
50	หายใจช้าลง ท้องพองขึ้น
65	ตาย 1 ตัว
80	อาการของปลาส่วนใหญ่คงเดิม
95	อาการเช่นเดิม
110	ตาย 3 ตัว เหงือกของปลาเห็นการคั่งของเลือดชัด
125	ตายเพิ่มอีก 2 ตัว
140	ตายอีก 3 ตัว
155	ปลาตายหมด

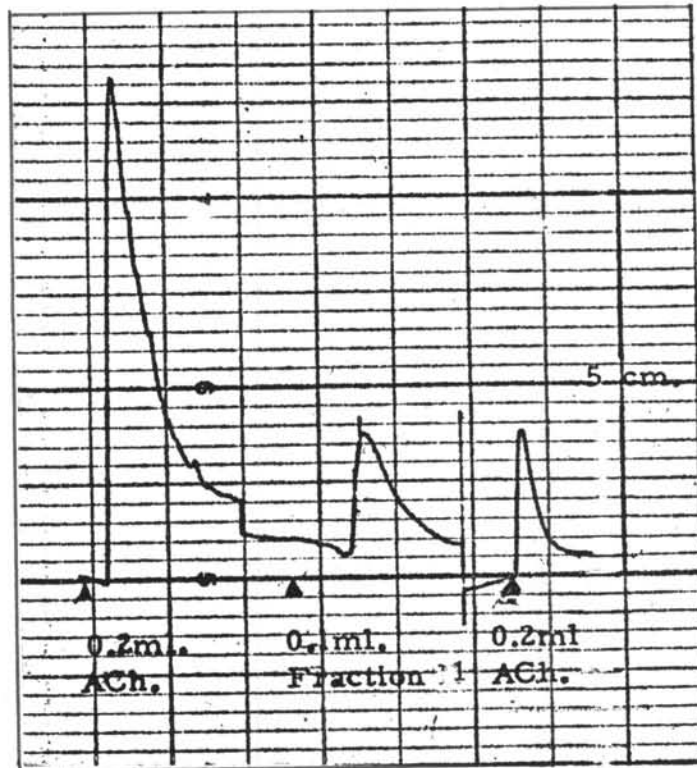


ตารางที่ 14: ผลการให้สิ่งสกัดด้วย methylene chloride (Dichloromethane)  
กับปลาทอง 10 ตัว

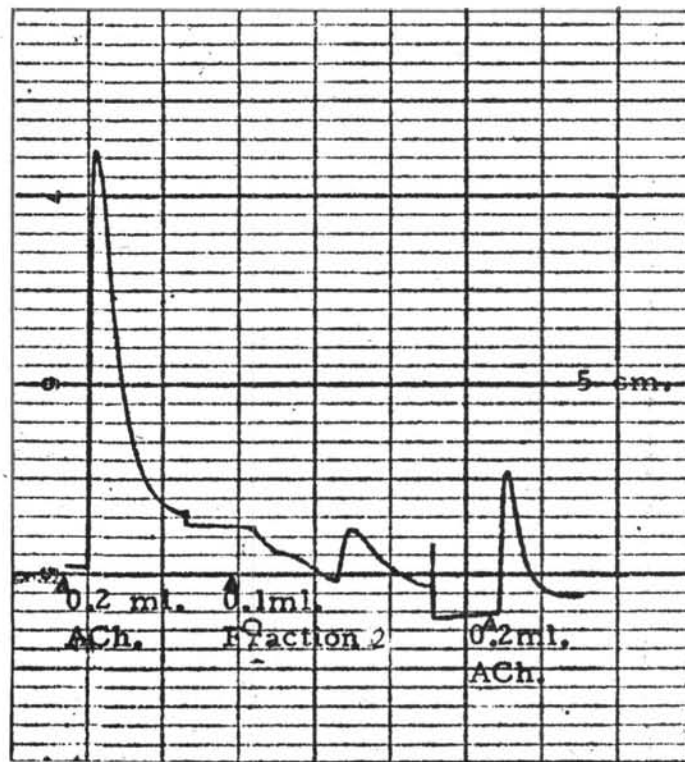
ระยะเวลาหลังให้ สิ่งสกัด (นาที)	อาการ
2	ปลามีอาการหายใจไม่สะดวก ดูหายใจเหนื่อย ๆ
5	มีหางโค้งมาทางข้างลำตัว
10	บางตัวว่ายน้ำชันนาคณะ
15	การเคลื่อนไหวเริ่มช้าลง และบางตัวลอยตัวนิ่งเฉย
20	อาการคงเดิม
25	มีการกระตุก และการทรงตัวเสีย
30	เริ่มตะแคงตัว เคลื่อนไหวตัวด้วยความกระวนกระวาย
35	เริ่มมีเลือดคั่งบริเวณหัวและเหงือก
40	ปลาเริ่มอ่อนแรง
45	2 ตัว หายท้อง และหายใจช้าลง
50	อาการส่วนใหญ่ตะแคงตัว
55	2 ตัว หายใจช้าลง และจะลอยตัวนิ่งก้นนาคณะ
60	ทั้งตัวลงก้นนาคณะ สังเกตท้องเริ่มพองมากขึ้น
70	ตาย 1 ตัว ส่วนที่เหลือลอยตัวหงายท้อง ตะแคงนิ่ง การหายใจช้าลง
80	ตาย 3 ตัว
90	ตายอีก 3 ตัว
100	ตาย 2 ตัว
110	ปลาตายหมด

ตารางที่ 15 ผลการให้สิ่งสกัดด้วย acetone กับปลาทอง 10 ตัว

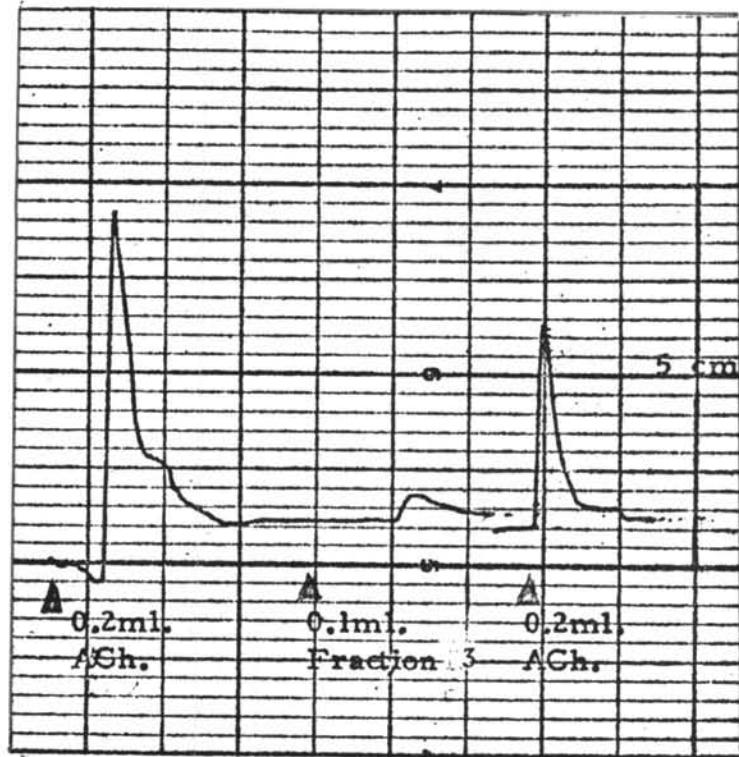
ระยะเวลาหลังให้ สิ่งสกัด (นาที)	อาการ
2	เมื่อให้สิ่งสกัดปลาอาการกระวนกระวาย ผุดผายใจเห็นน้ำบ่อย ๆ
10	มีการกระตุกที่ลำตัว การทรงตัวเสีย ท้องเริ่มพอง
15	การเคลื่อนไหวช้าลง ลอยตัวนิ่งกับอ่าง
25	เหงือกมีสีแดงเลือด อาการอย่างอื่นคงเดิม
35	อาการเพิ่มขึ้นเล็กน้อย
45	ส่วนใหญจะลอยตัวนิ่งหายใจช้าลง
70	หมดแรง การหายใจช้ากว่าเดิม
80	ปลาคาย 5 ตัว
95	ปลาคาย 3 ตัว
105	ปลาคายหมด



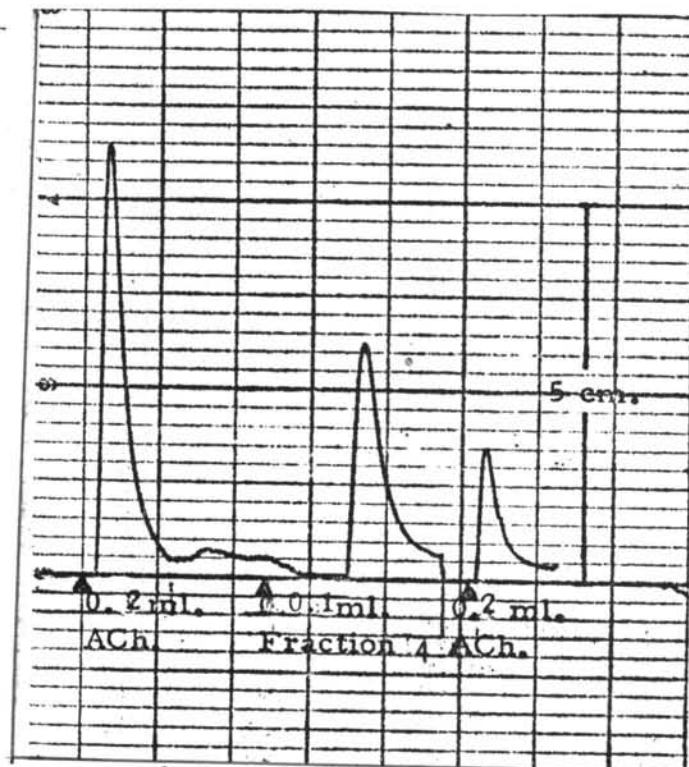
รูปที่ 6 แสดงผลการออกฤทธิ์ของสิ่งสกัด fraction 1 เทียบกับ acetylcholine ต่อ ileum



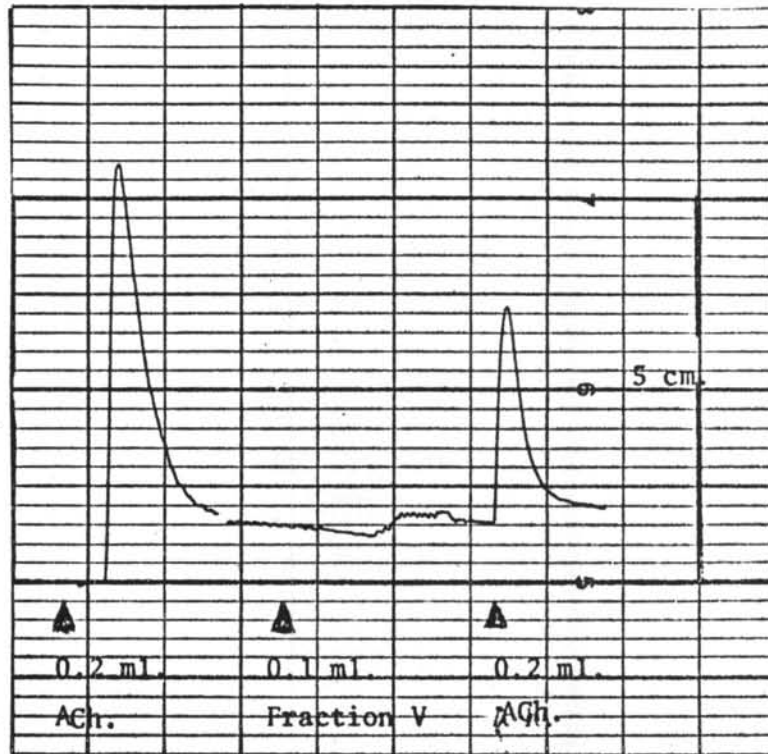
รูปที่ 7 แสดงผลการออกฤทธิ์ของสิ่งสกัด fraction 2 เทียบกับ acetylcholine ต่อ ileum



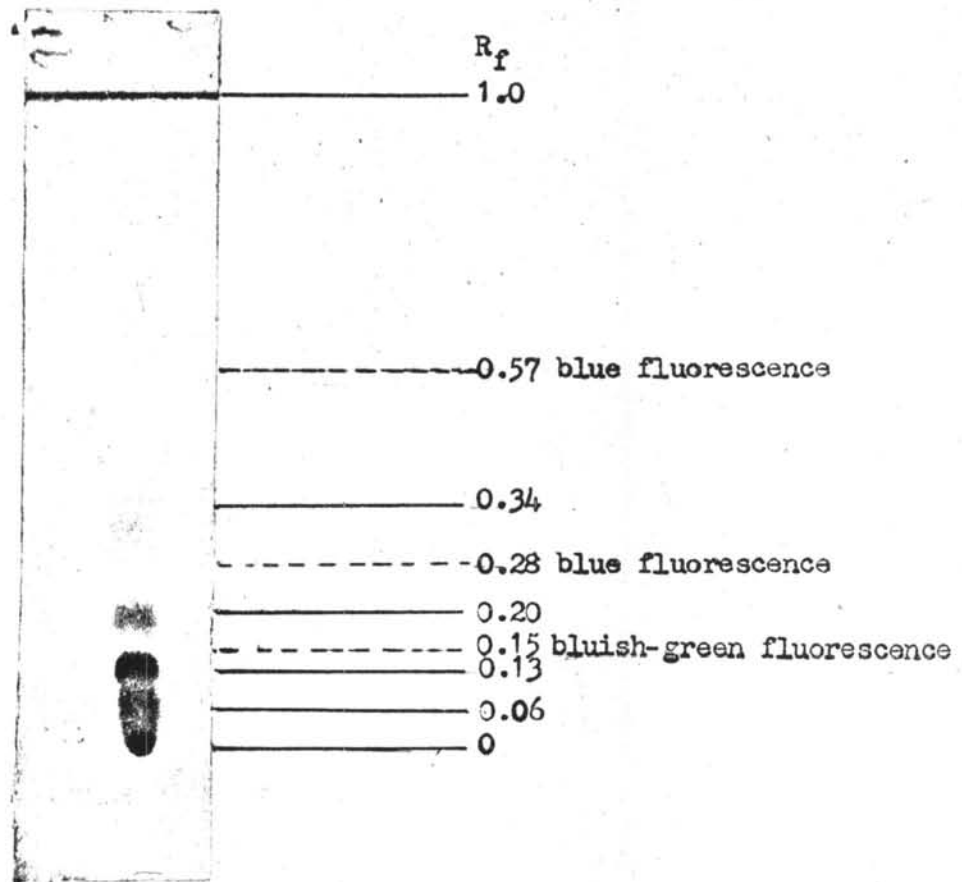
รูปที่ 8 แสดงผลการออกฤทธิ์ของสิ่งสกัด fraction 3 เทียบกับ acetylcholine ต่อ ileum



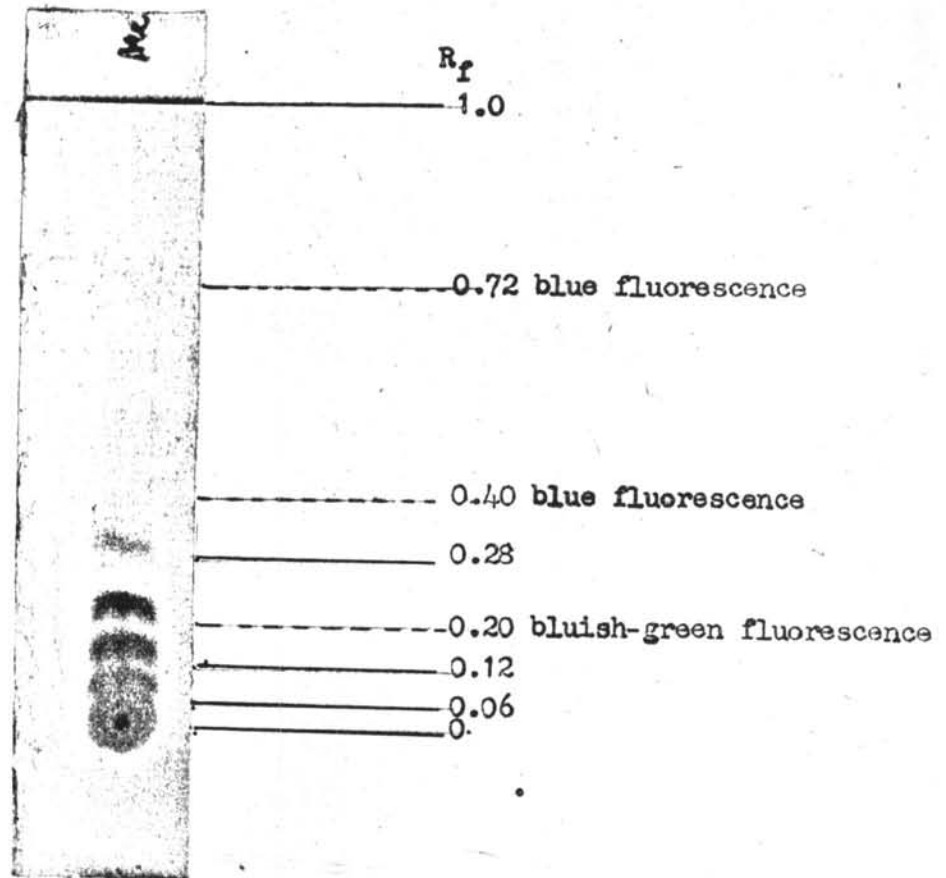
รูปที่ 9 แสดงผลการออกฤทธิ์ของสิ่งสกัด fraction 4 เทียบกับ acetylcholine ต่อ ileum



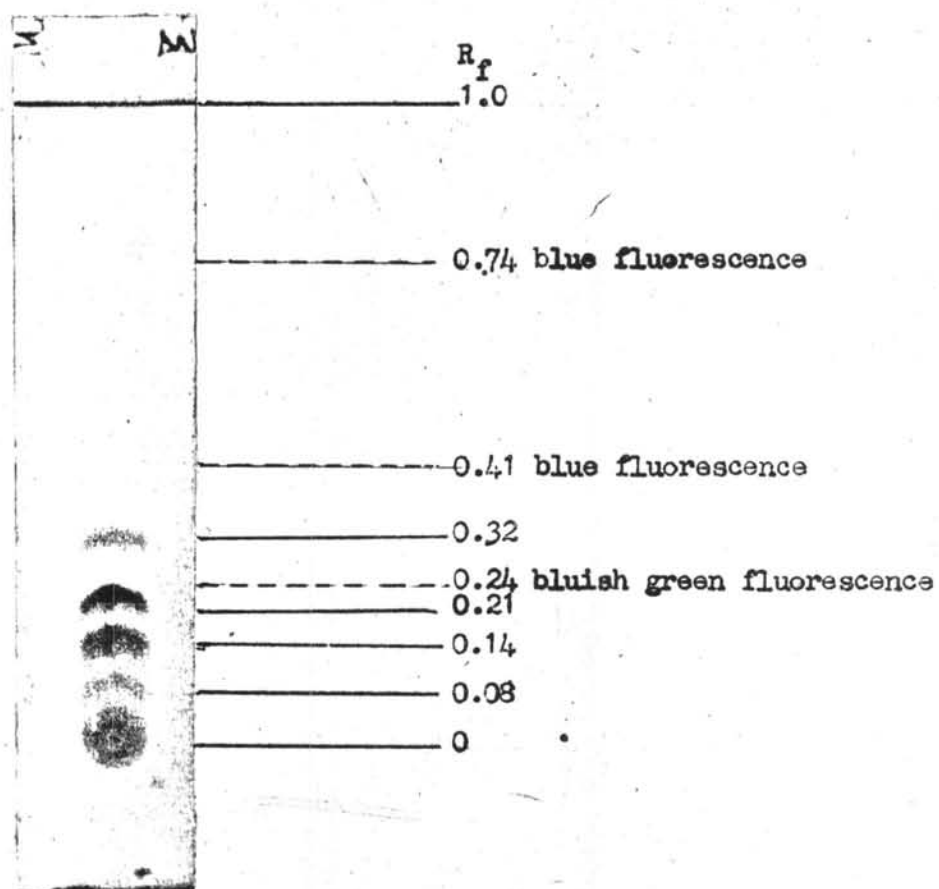
รูปที่ 10 แสดงผลการออกฤทธิ์ของสิ่งสกัด fraction 5  
เทียบกับ acetylcholine ท่อ ileum



รูปที่ 11 Thin - Layer Chromatography ของสิ่งสกัดจาก  
chloroform

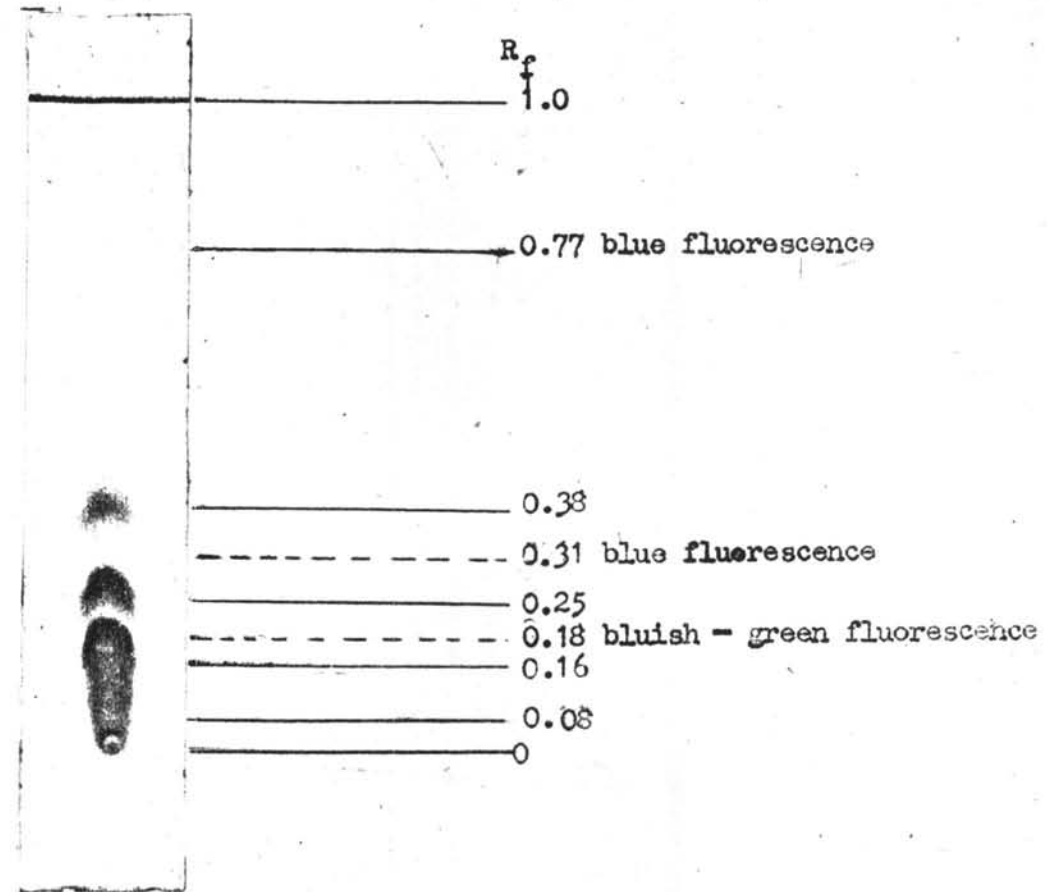


รูปที่ 12 Thin - Layer Chromatography ของสิ่งสกัดจาก methyl alcohol

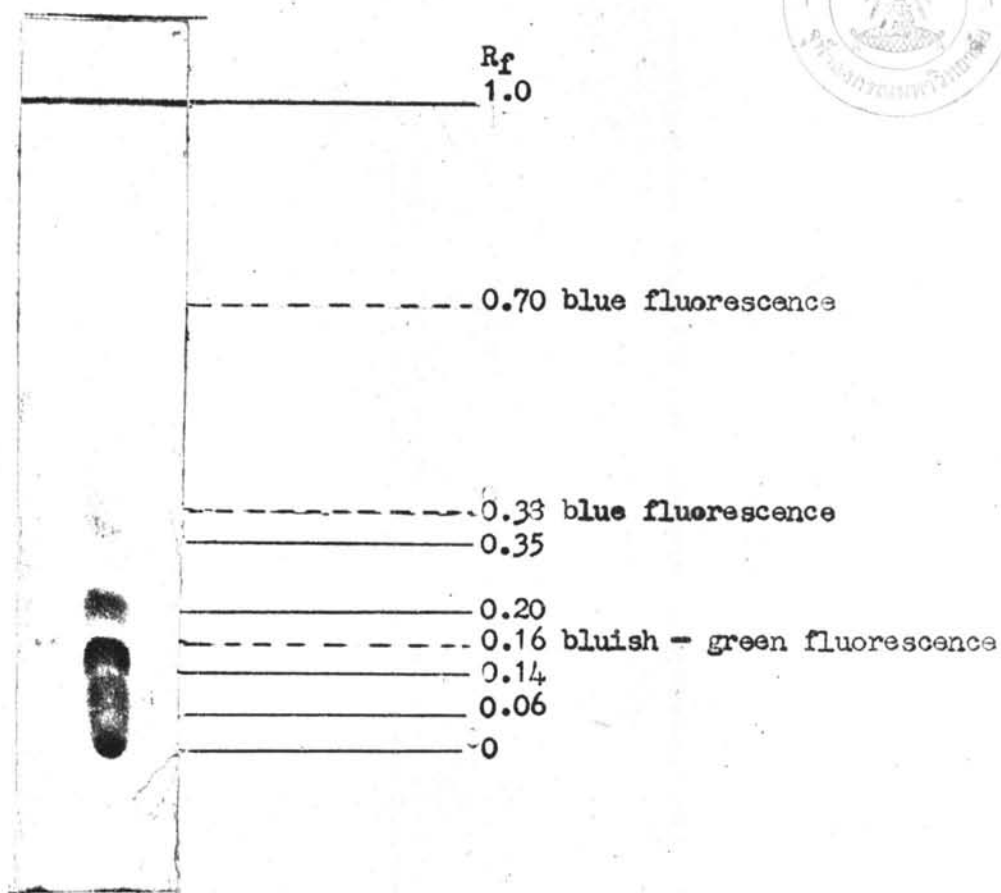


รูปที่ 13 Thin - Layer Chromatography ของสิ่งสกัดจาก ethyl alcohol

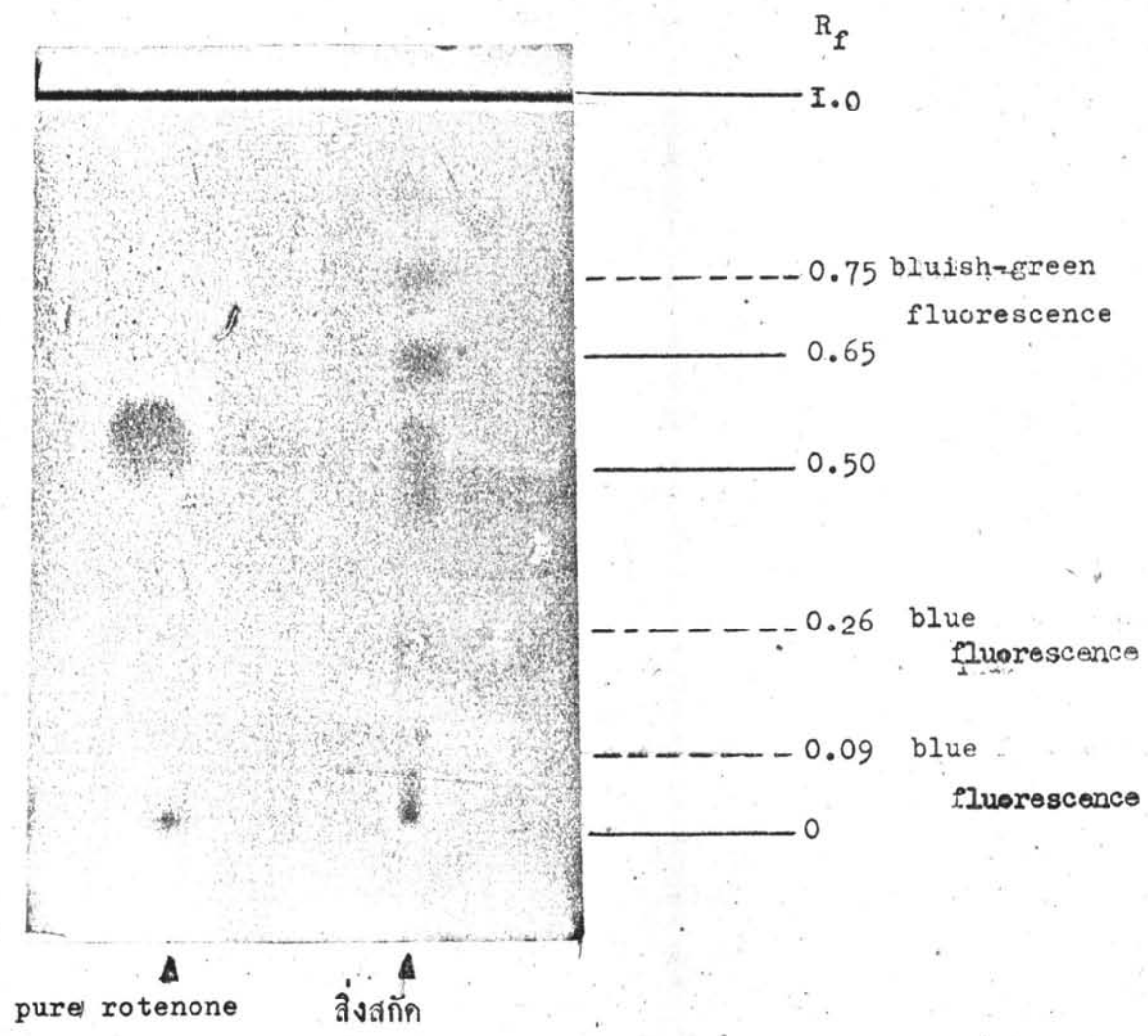




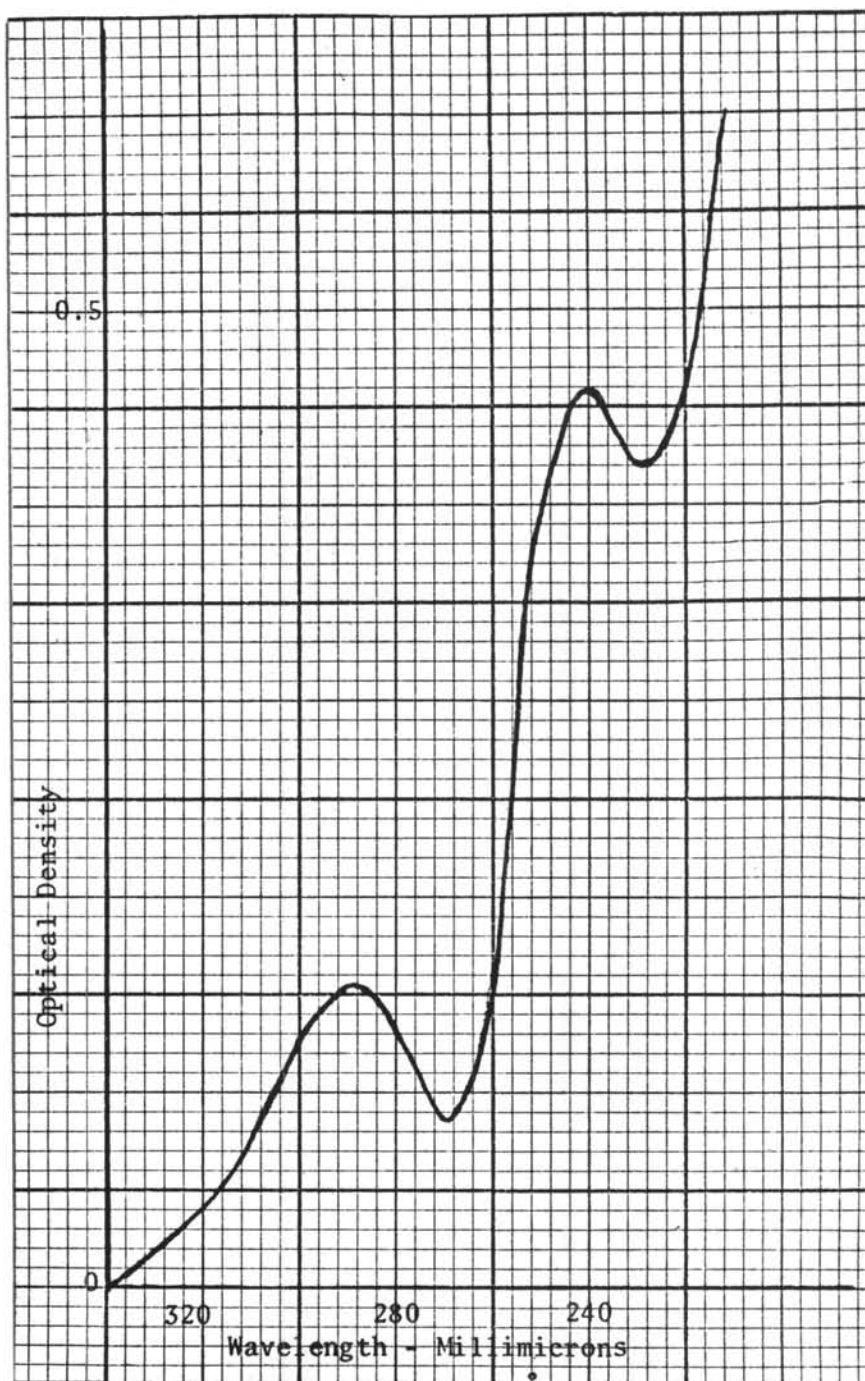
รูปที่ 14 Thin - Layer Chromatography ของสิ่งสกัดจาก  
methylene chloride



รูปที่ 15 Thin - Layer Chromatography ของสิ่งสกัดจาก acetone



รูปที่ 16 Thin - layer Chromatography ของสิ่งสกัดเปรียบเทียบกับ pure rotenone



รูปที่ 17 แสดง Ultraviolet Absorption Spectrum ของสิ่งสกัด  
( methylene chloride )