

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบ ระวังปวด ลดไข้ และทดสอบความเป็นพิษ
เฉียบพลันของสารสกัดและสารสำคัญจากแก่นแสมสาร
ในสัตว์ทดลอง

(Studies on the anti-inflammatory, analgesic, antipyretic activities and
acute toxicity of *Cassia garrettiana* heartwood extract and its
active constituent in experimental animals)

คณะนักวิจัย

รศ. ดร. วันทนา เจริญมงคล

ผศ. ดร. ฉัตรชัย วัฒนากิริมย์สกุล

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินรายได้มหาวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
ประจำปีงบประมาณ 2557 รหัสโครงการ PHA570402S

บทคัดย่อ

ได้เตรียมสารสกัดเมทานอลของแก่นแสมสาร และต่อมาใช้กระบวนการแยกเป็นชั้น ได้ชั้นเฮกเซน ชั้น ไดคลอโรมีเทน ชั้นเอทิลอะซิเตท และชั้นน้ำ โดยได้สารสกัดชั้นเอทิลอะซิเตทในปริมาณสูง ทำการทดสอบฤทธิ์ระงับปวดเบื้องต้นของสารสกัดแต่ละชั้น โดยการเหนี่ยวนำให้เกิดโรติงด้วยกรดอะซิดิกในหนูถีบจักร พบว่าชั้นเอทิลอะซิเตทมีฤทธิ์ดีที่สุด ในชั้นเอทิลอะซิเตทและในสารสกัดที่มี piceatannol ในปริมาณสูง มี piceatannol คิดเป็นร้อยละ 11.70 น/น และ 39.16 น/น ตามลำดับ การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลัน พบว่า ไม่มี หนูถีบจักรตายหลังจากป้อนสารสกัดทางปากที่ขนาดสูง 5 ก/กก การป้อนสารสกัดชั้นเอทิลอะซิเตท (ขนาด 50, 100 และ 200 มก/กก) สามารถลดจำนวนการเกิดโรติง โดยยับยั้งร้อยละ 54.9, 68.5 และ 71.0 ตามลำดับ ได้ผลทำนองเดียวกันกรณีป้อนสารสกัดที่มี piceatannol ในปริมาณสูง (ขนาด 10, 20 และ 40 มก/กก) โดยยับยั้งร้อยละ 53.1, 69.2 และ 80.3 ตามลำดับ ในการทดสอบฟอร์มาลิน เมื่อให้สารสกัดชั้นเอทิลอะซิเตท หรือสารสกัดที่มี piceatannol ในปริมาณสูง พบว่าสามารถลดเวลาการเลียได้ทั้งช่วงเริ่มและช่วงหลังอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งสารสกัดชั้นเอทิลอะซิเตท หรือสารสกัดที่มี piceatannol ในปริมาณสูง ไม่มีผลต่อการปวดที่เหนี่ยวนำด้วยความร้อน สารสกัดชั้นเอทิลอะซิเตทสามารถลดอุณหภูมิที่เวลา 2, 3 และ 4 ชั่วโมง เมื่อวัดที่ลำไส้ตรงของหนูขาว สารสกัดที่มี piceatannol ในปริมาณสูง ที่ขนาด 20 และ 40 มก/กก สามารถลดอุณหภูมิที่ช่วงเวลาเดียวกัน การทาสารสกัดชั้นเอทิลอะซิเตท หรือสารสกัดที่มี piceatannol ในปริมาณสูง สามารถลดการบวมที่หูของหนูถีบจักร โดยการยับยั้งสูงสุดที่ร้อยละ 45.25 และ 45.85 ตามลำดับ สารสกัดชั้นเอทิลอะซิเตท (200 มก/กก) และสารสกัดที่มี piceatannol ในปริมาณสูง (40 มก/กก) ลดการบวมที่อุ้งเท้าซึ่งเหนี่ยวนำด้วยคาร์ราจินอย่างมีนัยสำคัญที่เวลา 4 ชั่วโมง ได้ร้อยละ 75.81 เท่ากัน สารสกัดชั้นเอทิลอะซิเตทลดน้ำหนักของแกรนูโลมาได้ร้อยละ 11.41, 15.92 และ 26.13 ตามลำดับ ทำนองเดียวกัน สารสกัดที่มี piceatannol ในปริมาณสูง ลดน้ำหนักของแกรนูโลมาได้ร้อยละ 16.82, 26.73 และ 27.93 ตามลำดับ ทั้งสารสกัดชั้นเอทิลอะซิเตท (200 มก/กก) หรือสารสกัดที่มี piceatannol ในปริมาณสูง (40 มก/กก) ลดการบวมที่ข้อเท้าในวันที่ 13 ใกล้เคียงกัน ที่ร้อยละ 63.27 และ 69.25 ตามลำดับ ผลการทดลองเหล่านี้แสดงว่า สารสกัดชั้นเอทิลอะซิเตท และสารสกัดที่มี piceatannol ในปริมาณสูง มีฤทธิ์ระงับปวด ลดไข้ และต้านการอักเสบ ใกล้เคียงกัน โดยกลไกการออกฤทธิ์ด้านการอักเสบอาจเกี่ยวข้องกับการยับยั้ง PGE₂, NO และหรือสารสื่อกลางอักเสบอื่น ๆ

คำสำคัญ: แสมสาร สารสกัดที่มี piceatannol ในปริมาณสูง ปวด ไข้ อักเสบ

II

Abstract

The methanolic extract of *C garrettiana* heartwood was prepared and then a fractionation process was performed to obtain hexane, dichloromethane, ethyl acetate, and aqueous fractions. High yield of ethyl acetate fraction was obtained. An antinociceptive screening of each fraction was carried out in acetic acid-induced writhing in mice. It was found that ethyl acetate fraction showed a great activity on this test. The piceatannol content in ethyl acetate fraction and piceatannol-rich extract was 11.70 % w/w and 39.16 % w/w, respectively. In acute toxicity study, no lethality was observed after oral administration of the extract even at a high dose of 5 g/kg in mice. Oral administration of ethyl acetate fraction (50, 100 and 200 mg/kg) decreased the number of writhings with 54.9 %, 68.5 %, and 71.0 % inhibition, respectively. A similar result was also observed after oral administration of piceatannol-rich extract (10, 20 and 40 mg/kg) with 53.1%, 69.2% and 80.3% inhibition, respectively. In formalin test, either ethyl acetate fraction or piceatannol-rich extract significantly diminished the licking time in both early and late phases. Neither ethyl acetate nor piceatannol-rich extract had effect on heat-induced pain. The ethyl acetate fraction decreased the rat rectal temperature at 2, 3 and 4 h. Piceatannol-rich extract at a dose of 20 and 40 mg/kg suppressed the rectal temperature at the same time intervals. Topical application of both ethyl acetate fraction and piceatannol-rich extract suppressed mouse ear edema with a maximal inhibition of 45.25% and 45.85%, respectively. The ethyl acetate fraction (200 mg/kg) and piceatannol-rich extract (40 mg/kg) produced a significant suppression of paw edema induced by carrageenan at 4 h with the same percentage inhibition of 75.81. The ethyl acetate fraction decreased the granuloma weight with 11.41 %, 15.92 %, and 26.13 % inhibition, respectively. Similarly, piceatannol-rich extract suppressed the granuloma weight with 16.82 %, 26.73 %, and 27.93 % inhibition, respectively. Either ethyl acetate fraction (200 mg/kg) or piceatannol-rich extract (40 mg/kg) attenuated the joint swelling at day 13 with a similar reduction of 63.27% and 69.25%, respectively. These results demonstrated that ethyl acetate fraction and piceatannol-rich extract of *C garrettiana* heartwood possess analgesic, antipyretic and anti-inflammatory activities with an apparently similar efficacy. The probable mechanism(s) of anti-inflammatory activity might be at least attributed to suppression of PGE₂, NO and/or other inflammatory mediators.

Key words: *Cassia garrettiana*; piceatannol-rich extract; pain; fever; inflammation

III

LIST OF FIGURES

Figure		Page
1	Structure (A) and ¹ H NMR spectrum (B) of piceatannol	14
2	Calibration curve of piceatannol	15
3	HPLC chromatograms of the authentic piceatannol (A), ethyl acetate fraction (B) and piceatannol-rich extract (C)	17
4	Effects of ethyl acetate fraction and piceatannol-rich extract from methanol extract of <i>C. garrettiana</i> heartwood and indomethacin on acetic acid-induced writhing in mice	20
5	Effects of ethyl acetate fraction and piceatannol-rich extract from methanol extract of <i>C. garrettiana</i> heartwood, indomethacin and morphine on formalin-induced paw licking in mice	21
6	Effects of ethyl acetate fraction and piceatannol-rich extract from methanol extract of <i>C. garrettiana</i> heartwood and indomethacin on brewer's yeast-induced pyrexia in rats	24
7	Effects of ethyl acetate fraction and piceatannol-rich extract from methanol extract of <i>C. garrettiana</i> heartwood and indomethacin on croton oil-induced ear edema in mice	25
8	Effects of ethyl acetate fraction and piceatannol-rich extract from methanol extract of <i>C. garrettiana</i> heartwood and indomethacin on carrageenan-induced paw edema in rats	27
9	Effects of ethyl acetate fraction and piceatannol-rich extract from methanol extract of <i>C. garrettiana</i> heartwood and indomethacin on CFA-induced rat arthritis	29

IV

LIST OF TABLES

Table	Page
1 Yield of each fraction from methanolic extract of <i>C. garrettiana</i> heartwood	13
2 ¹ H-NMR shift values of piceatannol	15
3 Content of piceatannol in ethyl acetate fraction	16
4 Content of piceatannol in piceatannol-rich extract	16
5 Effects of each fraction (hexane, dichloromethane, ethyl acetate, and aqueous fractions) from methanol extract of <i>C. garrettiana</i> heartwood and indomethacin on acetic acid-induced writhing in mice	19
6 Effects of ethyl acetate fraction and piceatannol-rich extract from methanol extract of <i>C. garrettiana</i> heartwood, indomethacin and morphine on heat-induced pain in mice	22
7 Effects of ethyl acetate fraction and piceatannol-rich extract from methanol extract of <i>C. garrettiana</i> heartwood and indomethacin on cotton pellet-induced granuloma formation in rats	28