

ABSTRACT

Aim of the study: To determine the anti-inflammatory, analgesic and antioxidant activities and chemical isolation of *Memecylon edule* Roxb. used traditionally in Thailand. **Materials and methods:** Hexane, (Hex), ethyl acetate (EtOAc), methanol (MeOH) and 50% methanol (MeOH50) fractions of the dry leaves were tested in vitro for their interleukin-10 production; the most active fraction was further studied in vivo for its anti-inflammatory and analgesic activities using the ethylphenylpropionate (EPP)-induced mouse ear edema and the writhing test with mice. All fractions except Hex were tested for their radicals scavenging activity towards 1'-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH•). The active fraction was further studied for chemical isolation. The chemical compounds were purified by chromatographic methods and their structures were established on the basis of spectroscopic analyses (UV, MS and NMR). The major isolated compounds were tested for anti-inflammatory activity. **Results:** The EtOAc showed the highest stimulation for interleukin-10 production. In the EPP test, this fraction was significantly active 30 min after topical application at all doses used (0.5,1.0,2.0mg/ear); after 4h and at 1.0mg/ear EtOAc was slightly less active (inhibition 47.8%) than the reference, indomethacin, at the same dose (62.4%). At 200mg/kg orally, the EtOAc caused a significant inhibition of the writhing response by 56.6% which was like indomethacin at 10 mg/kg. EtOAc, MeOH and MeOH50 exhibited radical scavenging activity. The order of IC₅₀ values was: ascorbic acid (9.1g/mL)>trolox (11.6g/mL)>MeOH (46.9g/mL)>MeOH50 (152.1g/mL)>EtOAc (1742.2g/mL). The methanolic extracts gave a new compound 2-butanone 4-glucopyranoside 6'-O-gallate (**1**) with 8 known compounds, namely, 3,3'-di-O-methylelagic acid 4-O-β-D-glucopyranoside (**2**), epigallocatechin-3-O-gallate (EGCG) (**3**), (2R, 3R)-dihydromyricetin- 4'-β- D-glucopyranoside (**4**), myricetin-3-O-α-L-rhamnopyranoside (**5**), benzyl-(6-O- α-Larabinofuranosyl) O-β- D-glucopyranoside(**6**), benzyl-(6-O-α-L-rhanmopyranosyl) O-β-D-glucopyranoside (**7**), 2-phenylethyl-(6-O-β-D-apiofuranosyl)-O-β-D-glucopyranoside (**8**) and methyl benzoate 2-(6-O- α-L-rhamnosyl)-O-β-D-glucopyranoside (**9**). All compounds were isolated for the first time from this plant. The major compounds (**2**, **3** and **5**) exhibited significant anti-inflammatory activity. **Conclusion:** The results provide support for the traditional use of *M. edule* leaves in relieving inflammation and their good source for phenolic compounds and these compounds may contribute anti-inflammatory activity of the extract.

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบ ฤทธิ์แก้ปวด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งการสกัดแยกสารสำคัญจากใบเหมือดแอซึ่งเป็นสมุนไพรที่มีการใช้ในทางการแพทย์แผนโบราณ **วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินงาน** สารสกัดเฮกเซน (Hex), เอทิลอะซิเตต (EtOAc), เมทานอล (MeOH) และ 50% เมทานอล (MeOH50)

จากใบแห้งของต้นเหมีอดแอ ถูกนำมาทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการสร้าง interleukin-10 ในหลอดทดลอง สารสกัดที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดจะถูกนำไปทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบและฤทธิ์แก้ปวดในสัตว์ทดลอง โดยใช้ ethylphenylpropionate (EPP) เป็นสารกระตุ้นให้เกิดอาการปวด และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อ 1'-diphenyl-2-picrylhydrazylradical (DPPH•) ของสารสกัดสารสกัดที่มีประสิทธิภาพดีในการด้านการอักเสบ ยับยั้งอาการปวด และต้านอนุมูลอิสระ จะถูกนำไปสกัดแยกองค์ประกอบทางเคมีให้ได้สารบริสุทธิ์โดยใช้วิธีการทางโครมาโตกราฟี และพิสูจน์สูตรโครงสร้างด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปี เช่น UV, MS and NMR สารบริสุทธิ์ที่แยกได้และเป็นองค์ประกอบหลักจะถูกนำไปทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบ ผลการดำเนินงาน สารสกัดเอทิลอะซีเตตมีฤทธิ์กระตุ้นการสร้าง interleukin-10 สูงสุด การทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบในสัตว์ทดลองพบว่าสารสกัดเอทิลอะซีเตตทุกขนาด (0.5, 1.0, 2.0 mg/ear) มีฤทธิ์ด้านการอักเสบหลังจากการทาสารสกัด 30 นาที และหลังจากทาสารสกัดขนาด 1.0 mg/ear นาน 4 ชั่วโมง พบว่ามีฤทธิ์ด้านการอักเสบ (47.8 %) น้อยกว่าสารมาตรฐาน indomethacin ที่ขนาดเดียวกัน (62.4 %) และการทดสอบความทนทานต่อการปวด (writhing response) โดยการให้สารสกัดเอทิลอะซีเตตขนาด 200 mg/kg กำหนดทดลองพบว่าสามารถยับยั้งได้ 56.6 % ซึ่งใกล้เคียงกับการให้ indomethacin ขนาด 10 mg/kg สารสกัด EtOAc, MeOH และ MeOH50 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากค่า IC_{50} กับสารมาตรฐาน พบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีลำดับดังนี้ ascorbic acid ($9.1 \mu\text{g/mL}$) > trolox ($11.6 \mu\text{g/mL}$) > MeOH ($46.9 \mu\text{g/mL}$) > MeOH50 ($152.1 \mu\text{g/mL}$) > EtOAc ($1742.2 \mu\text{g/mL}$) เมื่อนำสารสกัดเมทานอลไปสกัดแยกสารบริสุทธิ์ พบว่าได้สารใหม่ 1 ชนิด คือ 2-butanone 4-glucopyranoside 6'-O-gallate (1) และสารที่เป็นที่รู้จักแล้ว 8 ชนิด คือ 3,3'-di-O-methylelagic acid 4-O- β -D-glucopyranoside (2), epigallocatechin-3-O-gallate (EGCG) (3), (2R, 3R)-dihydromyricetin- 4'- β - D-glucopyranoside (4), myricetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside (5), benzyl-(6-O- α -L-arabinofuranosyl) O- β - D-glucopyranoside (6), benzyl-(6-O- α -L-rhamnopyranosyl) O- β -D-glucopyranoside (7), 2-phenylethyl-(6-O- β -D-apiofuranosyl)-O- β -D-glucopyranoside (8) และ methyl benzoate 2-(6-O- α -L-rhamnosyl)-O- β -D-glucopyranoside (9) เมื่อนำสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบหลัก 3 ชนิด (2, 3 and 5) ที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์ด้านการอักเสบ พบว่าสารทั้ง 3 ชนิดมีฤทธิ์ด้านการอักเสบอย่างมีนัยสำคัญ สรุป สารสกัดและสารเคมีที่แยกได้จากใบเหมีอดแอมีฤทธิ์ด้านการอักเสบ ซึ่งสอดคล้องกับการใช้ทางการแพทย์แผนโบราณโดยสารที่แยกได้ส่วนใหญ่เป็นสารฟีนอลิก ซึ่งสารเหล่านี้เป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์ด้านการอักเสบ