# การเปลี่ยนแปลงปริมาณของโดปามีนและซีโรโทนินที่ตอบสนองต่อบาราคอล ในสมองหนูแรท

นาย นพดล อินทรทัต

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสรีรวิทยา สหสาขาวิชาสรีรวิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2543

ISBN 974-347-119-7

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I20096860 10 ธ.ค. 2547

# ALTERATION OF DOPAMINE AND SEROTONIN CONTENTS IN RAT BRAIN AFTER BARAKOL TREATMENT

NOPPADOL INTARATAT

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Physiology

Inter-Departmental Program in Physiology

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 2000

ISBN 974-347-119-7

| | |
|---|---|
| Thesis Title | ALTERATION OF DOPAMINE AND SEROTONIN CONTENTS IN RAT BRAIN AFTER BARAKOL TREATMENT |
| By | Mr. Noppadol Intaratat |
| Field of Study | Physiology |
| Thesis Advisor | Professor Ratree Sudsuang, Ph.D. |
| Thesis Co-advisor | Assistant Professor Weerachai Singhaniyom, Ph.D. |

---

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master 's Degree

..... Dean of Graduate School

(Professor Suchada Kiranandana, Ph.D.)

THESIS COMMITTEE

..... Chairman

(Associate Professor Prasong Siriviriyakul, M.D.)

..... Thesis Advisor

( Professor Ratree Sudsuang, Ph.D.)

..... Thesis Co-advisor

(Assistant Professor Weerachai Singhaniyom, Ph.D.)

..... Member

(Assisstant Professor Pongsak Kunluan, M.Sc.)

..... Member

(Associate Professor Chainarong Cherdchu, Ph.D.)

นพดล อินทรทัต : การเปลี่ยนแปลงปริมาณของโดปามีนและซีโรโทนินที่ตอบสนองต่อบาราคอลในสมองหนูแรท. (ALTERATION OF DOPAMINE AND SEROTONIN CONTENTS IN RAT BRAIN AFTER BARAKOL TREATMENT) อ. ที่ปรึกษา : ศ.ดร.ราตรี สุดทรวง, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ผศ.ดร.วีระชัย สิงหนิยม จำนวนหน้า 51 หน้า. ISBN 974-347-119-7.

บาราคอลเป็นสารสำคัญที่สกัดได้จากใบอ่อนและดอกขี้เหล็ก ซึ่งพบว่ามีฤทธิ์กดการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง แต่ยังไม่ทราบกลไกการออกฤทธิ์ที่แน่นอนของบาราคอล แต่มีแนวโน้มที่บาราคอลจะออกฤทธิ์รบกวนการทำงานของสารสื่อประสาทโดปามีนหรือซีโรโทนินในระบบประสาทส่วนกลาง ดังนั้นในการทดลองนี้จึงใช้เทคนิค HPLC-ECD ร่วมกับ Punching technique ในการวัดปริมาณของโดปามีนหรือซีโรโทนินในสมองส่วนต่างๆ ของหนูแรทหลังจากฉีดด้วยบาราคอลว่ามีการเปลี่ยนแปลงหรือไม่ พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงระดับของซีโรโทนินในบริเวณต่างๆ ของสมองที่ทำการวัด ส่วนปริมาณของโดปามีนพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงเกิดที่บริเวณคอร์เดทส่วนต้นตำแหน่งที่ 2 โดยพบว่ามีการลดลงของปริมาณของโดปามีนในบริเวณดังกล่าวเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วนในตำแหน่งอื่นๆ ไม่พบการลดลงของโดปามีน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าบาราคอลน่าจะออกฤทธิ์ผ่านทางสารสื่อประสาทโดปามีนในระบบประสาทส่วนกลาง

ภาควิชา...สรีรวิทยา..... ..... ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา...สรีรวิทยา .....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา 2543 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

## 4075225430 : MAJOR Physiology

KEY WORD: Barakol / Dopamine / Serotonin / Rat brain /

NOPPADOL INTARATAT : ALTERATION OF DOPAMINE AND SEROTONIN CONTENTS IN RAT BRAIN AFTER BARAKOL TREATMENT. (การเปลี่ยนแปลงปริมาณของโดปามีนและซีโรโทนินที่ตอบสนองต่อบาราคอลในสมองหนูแรท) THESIS ADVISOR : PROF. RATREE SUDSUANG, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR : ASSIST. PROF. WEERACHAI SINGHANIYOM, Ph.D., 51 pp. ISBN 974-347-119-7.

Barakol is an active ingredient purified from fresh and young leaves Cassia siamea, Lamk.. This substance has been shown to have depressive effects. Previous reports suggested that barakol may exert its effect in the central nervous system. There is no definite proof of the basic mechanism of barakol, but there is evidence suggesting that barakol may alter the effect of dopamine or serotonin in the brain. This study employed the high accuracy method of HPLC-ECD and punching technique to measure dopamine and serotonin contents in rat brain before and after treatment with barakol. The results reveal that serotonin concentration was not changed in any selective brain area of the rat. Although, the dopamine concentration was not changed in any selective brain area of the rat except in the caudate head 2. In this area dopamine content was decreased when compared with the control group. This evidence suggested that barakol acts on dopaminergic system in the central nervous system.

Department..... Physiology ..... Student's signature.....

Field of study...Physiology..... Advisor's signature.....

Academic year 2000..... ..... Co-advisor's signature.....

# ACKNOWLEDGMENT

I would like to express my sincere gratitude and appreciation to my advisors, Professor Dr. Ratree Sudsuang, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University and Assistant Professor Dr. Weerachai Singhaniyom, Faculty of Health Science, Srinakharinwirot University for their kindness, guidance and encouragement throughout the course of this study, and editing this dissertation.

I am grateful to Associate Professor Dr. Chainarong Cherdchu, Department of Pharmacology, Phramongkutklao College of Medicine and Assistance Professor Sumalee Singhaniyom, Department of Biostatistic, Faculty of Public Health, Mahidol University for their valuable technical advice and support in laboratory work.

I am grateful to Assistance Professor Pongsak Kunluan, Department of Physiology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University for providing the facilities uses in this experiment.

I would like to extend my sincere thanks to Miss Siraporn Choysri and all staff of the Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Srinakharinwirot University and that of the Department of Pharmacology, Phramongkutklao College of Medicine for their help and mental support.

Finally, I wish to express my appreciation and gratitude to my parents for their love, understanding and encouragement and support throughout this study. I am also indebted to all experimental animals for their sacrifice which make this study possible.

# CONTENTS

Page

Thai abstract..... iv
English abstract..... v
Acknowledgment..... vi
Contents..... vii
List of tables..... viii
List of figures..... ix
List of abbreviation..... xi
Chapter
1. Introduction..... 1
2. Literature review..... 4
3. Materials and method..... 11
4. Results..... 23
5. Discussion and conclusion..... 42
References..... 47
Biography..... 51

# LIST OF TABLES

Table Page

1. Spectroscopic characteristics of anhydrobarakol hydrochloride..... 28
2. Effect of anhydrobarakol hydrochloride at various doses on rat locomotion activity..... 30
3. The effect of anhydrobarakol hydrochloride (B.HCl) at various doses on rat brain region dopamine..... 34
4. The effect of anhydrobarakol hydrochloride (B.HCl) at various doses on rat brain region serotonin..... 35
5. The effect of anhydrobarakol hydrochloride (B.HCl) at various doses on rat brain region DOPAC..... 36
6. The effect of anhydrobarakol hydrochloride (B.HCl) at various doses on rat brain region 5-HIAA..... 37

# LIST OF FIGURES

Figure Page

1. Detailed drawing of several parts of *Cassia siamea*, Lamk..... 2
2. Chemical structures of barakol..... 5
3. Conversion reaction among barakol, anhydrobarakol and anhydronium salt (anhydrobarakol hydrochloride)..... 7
4. Flow chart diagram demonstrating a step-wise preparations of anhydrobarakol hydrochloride..... 13
5. Opto-varimex system using for analysis of locomotion activity..... 15
6. Chromatographic instrument used for measure of quantitative analysis catecholamines..... 17
7. The illustration of selective brain section in any area..... 20
8. The illustration of selective brain section in any area..... 21
9. Flowchart diagram show step-wise of Determination of monoamines in brain nuclei by high performance liquid chromatography with electrochemical detection..... 22
10. UV absorption spectrum of anhydrobarakol hydrochloride..... 24
11. IR absorption spectrum of anhydrobarakol hydrochloride..... 25
12. $^{1}H$ NMR spectrum of anhydrobarakol hydrochloride, in $D_2O$ (at 200 MHz)..... 26
13. Mass spectra of anhydrobarakol hydrochloride..... 27
14. Dose response curve of percent decrease of locomotion activity after treatment with anhydrobarakol hydrochloride dose..... 31
15. Chromatogram of external standard (A) and the supernatant from brain nuclei (Caudate tail 2) of rat (B)..... 32
16. Effect of anhydrobarakol hydrochloride at 10-60 mg/kg bodyweight on rat brain region dopamine..... 38
17. Effect of anhydrobarakol hydrochloride at 10-60 mg/kg bodyweight on rat brain region serotonin..... 39

Figure Page

18. Effect of anhydrobarakol hydrochloride at 10-60 mg/kg bodyweight on rat brain region DOPAC..... 40
19. Effect of anhydrobarakol hydrochloride at 10-60 mg/kg bodyweight on rat brain region 5-HIAA..... 41
20. Scematic of basal ganglia circuits in normal and Parkinson's patients..... 45

# LIST OF ABBREVIATION

| | |
|---|---|
| pg | picogram |
| µg | microgram |
| mg | milligram |
| g | gram |
| kg | kilogram |
| µl | microliter |
| ml | milliliter |
| M | molar |
| °C | degree of celsius |
| i.p. | intraperitoneal |
| psi | pound per square inch |
| nm | nanometer |