

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

ฤทธิ์ต้านภาวะอารมณ์ซึมเศร้าและความเป็น

พิษของบาราคอล

ผู้เขียน

นาง วนิตา พุ่มไพศาลชัย

ปริญญา

วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เภสัชศาสตร์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ. ดร. สยาม แก้ววิชิต ประธานกรรมการ

ผศ. ดร. ธวัช เต๋อโสสถิตกุล กรรมการ

ผศ. ดร. วิรัตน์ นิวัฒน์นันท์ กรรมการ

นพ. กิตติพงษ์ สานิชวรรณกุล กรรมการ

บทคัดย่อ

บาราคอลเป็นสารสำคัญในสมุนไพรหทัยเหล็ก ออกฤทธิ์เพิ่มการทำงานของตัวรับโดปามีนซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อภาวะอารมณ์ซึมเศร้า วัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านภาวะอารมณ์ซึมเศร้าและความเป็นพิษของบาราคอลเมื่อให้ทางปาก พัฒนาวิธีวิเคราะห์หาบาราคอลในเลือดของคนโดยวิธีไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโตกราฟี (HPLC) และศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของบาราคอลในอาสาสมัครที่มีสุขภาพแข็งแรง

การศึกษาฤทธิ์ต้านภาวะอารมณ์ซึมเศร้าจะแบ่งเป็น 2 ส่วนคือ 1) การทดสอบหาฤทธิ์ต้านภาวะอารมณ์ซึมเศร้าด้วยวิธีบังคับให้หนูว่ายน้ำ และ 2) การทดสอบฤทธิ์ต้านภาวะอารมณ์ซึมเศร้าที่เกิดจากการถอนเมทแอมเฟตามีน การทดสอบหาฤทธิ์ต้านภาวะอารมณ์ซึมเศร้าด้วยวิธีบังคับให้หนูว่ายน้ำ หนูขาวจะได้รับน้ำกลั่น อิมิพรามีน 25 มก./กก. หรือบาราคอลในขนาด 5-30 มก./กก. อย่างไม่อย่างหนึ่งทางปากติดต่อกัน 7 วัน ในวันที่ 5-7 หลังได้รับยา 2 ชั่วโมง จะบังคับให้หนูขาวว่ายน้ำวันละ

5 นาที จับเวลาที่หนูขาวลอยตัวนิ่งในที่สุดท้ายเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ผลการศึกษาพบว่าหนูขาวในกลุ่มที่ได้รับบาราคอลและอิมิพรามินจะลดพฤติกรรมลอยตัวนิ่งซึ่งเป็นพฤติกรรมที่สัมพันธ์กับอาการซึมเศร้าลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ส่วนการทดสอบฤทธิ์ต้านภาวะอารมณ์ซึมเศร้าที่เกิดจากการถอนเมทแอมเฟตามีน จะทำการชักนำให้หนูขาวเกิดอารมณ์ซึมเศร้าด้วยการฉีดเมทแอมเฟตามีนขนาด 1-7 มก./กก. วันละครึ่งโดยค่อยๆ เพิ่มขนาดยาให้ 1 มก./กก. แบบขั้นบันไดในทุก 4 วัน เมื่อครบกำหนดหยุดฉีดเมทแอมเฟตามีน จากนั้นหนูขาวแต่ละกลุ่มจะได้รับ น้ำกลั่น บาราคอลในขนาด 2-30 มก./กก. หรืออิมิพรามิน

25 มก./กก. อย่างใดอย่างหนึ่งทางปากวันละครึ่งติดต่อกัน 7 วัน ในวันที่ 4-7 บังคับให้หนูขาวว่ายน้ำจับเวลาที่หนูขาวแสดงพฤติกรรมลอยตัวนิ่งในวันที่ 5 และวันที่ 7 ผลการศึกษาพบว่าในวันที่ 5 ของการให้ยา บาราคอลขนาด 5-30 มก./กก. สามารถลดพฤติกรรมลอยตัวนิ่งลงได้อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่บาราคอลขนาด 2 มก./กก. และอิมิพรามินไม่มีผลต่อพฤติกรรมลอยตัวนิ่งในทางสถิติ แต่ในวันที่ 7 กลับพบว่าบาราคอลขนาด 2-15 มก./กก. และอิมิพรามินสามารถลดพฤติกรรมลอยตัวนิ่งลงได้

($p < 0.05$) ในขณะที่หนูขาวกลุ่มที่ได้รับบาราคอล 30 มก./กก. พฤติกรรมลอยตัวนิ่งไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม

การศึกษาความเป็นพิษของบาราคอลเมื่อให้ทางปากแบ่งออกเป็น 3 ส่วนคือ 1) การศึกษาพิษเฉียบพลันและพิษต่อตับ 2) พิษกึ่งเฉียบพลัน และ 3) พิษเรื้อรัง สำหรับการศึกษาพิษชนิดเฉียบพลันจะทำการหาขนาดของบาราคอลที่ทำให้หนูถีบจักรตายครั้งหนึ่ง และพิษเฉียบพลันต่อตับเมื่อให้หนูขาวได้รับสารต่างๆ ทางปากหนึ่งครั้ง พบว่าขนาดของบาราคอลที่ทำให้หนูถีบจักรตายครั้งหนึ่งเท่ากับ 2.33 ก./กก. (ช่วงความเชื่อมั่น 95% คือ 2.29-2.54 ก./กก.) บาราคอลในขนาด 60-200 มก./กก. และผงใบชี่เหล็กแห้ง 1,200 มก./กก. (เทียบเท่ากับบาราคอล 28 มก./กก.) ไม่มีผลต่อค่าเคมีคลินิกในเลือดอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่นและไม่พบการตายของเซลล์ตับ ในขณะที่สารสกัดหยาบแอลกอฮอล์ของใบชี่เหล็กขนาด 1,200 และ 2,400 มก./กก. (เทียบเท่ากับบาราคอล 68.7 และ 137.4 มก./กก. ตามลำดับ) จะพบการตายของเซลล์ตับในลักษณะที่สัมพันธ์กับขนาดยา ซึ่งให้เห็นว่าใบชี่เหล็กมีสารพิษอื่นที่ไม่ใช่บาราคอลซึ่งสามารถทำลายเซลล์ตับและสารเหล่านี้พบได้มากในสารสกัดแอลกอฮอล์ของใบชี่เหล็ก

การศึกษาพิษกึ่งเฉียบพลัน หนูขาวจะได้รับบาราคอลทางปากในขนาด 60-240 มก./กก. ติดต่อกัน 4 สัปดาห์ กลุ่มติดตามผลหลังหยุดยาจะได้รับบาราคอลในขนาดสูงสุดในระยะเวลาเท่ากัน แล้วหยุดยา 2 สัปดาห์ พบว่าอัตราการเจริญเติบโตของหนูที่ได้รับบาราคอลจะลดลงในขณะที่ น้ำหนักของอวัยวะภายในเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ พบการสะสมของไขมันในเซลล์ตับและหัวใจ ระดับบิลิรูบินเพิ่มขึ้น ระดับไตรกลีเซอไรด์และอัลคาไลน์ฟอสฟาเตสลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในลักษณะที่สัมพันธ์กับขนาดยา หนูขาวกลุ่มที่ได้รับบาราคอลในขนาด 240 มก./กก. จะมีจำนวนเม็ดเลือดแดง ฮีมาโตคริต และฮีโมโกลบินลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตามหลังหยุดยาค่าต่างๆ ที่เปลี่ยนแปลงไปจะกลับเข้าสู่ระดับปกติ

สำหรับการศึกษาพิษเรื้อรังในหนูขาวที่ได้รับบาราคอลในขนาด 5-30 มก./กก. ติดต่อกัน 6 เดือน พบว่าบาราคอลไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต ไม่พบการเปลี่ยนแปลงใดๆ ของค่าชีวเคมีในเลือด ยกเว้นระดับบิลิรูบินที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในลักษณะที่สัมพันธ์กับขนาดยา ผลการตรวจพยาธิสภาพหนูกลุ่มที่ได้รับบาราคอลจะพบการสะสมของไขมันในเซลล์ตับ แต่ไม่พบการตายของเซลล์ตับ หลังหยุดยาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นจะกลับเข้าสู่ระดับปกติ

การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของบาราคอลเมื่อได้รับประทานในขนาด 30 มก. หนึ่งครั้งในอาสาสมัครชายไทยที่สุขภาพแข็งแรงจำนวน 9 คน ทำการเก็บตัวอย่างเลือดเป็นระยะเป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์หาระดับของบาราคอลในพลาสมาด้วยวิธี HPLC ที่ผ่านการหาความถูกต้องของการวิเคราะห์มาแล้ว หลังจากนั้นจึงคำนวณหาค่าคงที่ทางเภสัชจลนศาสตร์ ผลการศึกษาพบว่าวิธี HPLC สำหรับวิเคราะห์ระดับบาราคอลในพลาสมาของคนพัฒนาได้จากการศึกษาครั้งนี้มีความเหมาะสม และมีประโยชน์สำหรับนำไปใช้ศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ เภสัชจลนศาสตร์ของบาราคอลในคนพบว่ามีลักษณะเป็นแบบห้องเดียว โดยระดับยาในเลือดสูงสุด 4.19 ± 0.21 นาโนกรัม/มล. ที่เวลา 3.22 ± 0.57 ชั่วโมง มีค่าคงที่ของการดูดซึมและการขจัดออก 1.10 ± 0.24 และ 0.18 ± 0.02 ต่อชั่วโมง ตามลำดับ ระยะครึ่งชีวิตของการดูดซึมและการขจัดออกเป็น 0.66 ± 0.15 และ 3.89 ± 0.50 ชั่วโมง ตามลำดับ

สรุปผลการวิจัยครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าบาราคอลในขนาดต่างๆ (2-5 มก./กก.) อาจสามารถใช้เป็นยาต้านภาวะอารมณ์ซึมเศร้าติดต่อกันเป็นเวลานานได้โดยไม่พบพิษที่ร้ายแรง ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่จะใช้รักษาผู้ป่วยที่เกิดอาการซึมเศร้าจากการถอนเมทแอมเฟตามีน อย่างไรก็ตามหากใช้บาราคอล

ลติดต่อกันเป็นเวลานานควรติดตามระดับบิลิรูบินในเลือด และควรหลีกเลี่ยงการใช้ในผู้ป่วยที่ตับทำงานไม่ปกติ



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title	Antidepressive Effect and Toxicity of Barakol	
Author	Mrs. Wanida Pumpaisalchai	
Degree	Doctor of Philosophy (Pharmacy)	
Thesis Advisory Committee	Asst. Prof. Dr. Sayam Kaewvichit	Chairperson
	Asst. Prof. Dr. Tawat Taesotikul	Member
	Asst. Prof. Dr. Wirat Niwatananun	Member
	Mr. Kittipong Sanichwankul	Member

ABSTRACT

Barakol, an active principle of *Cassia siamea* Lamk (Caesalpinaceae), exhibits as a dopamine receptor agonist which involved in pathophysiology of depression. This study aimed to evaluate antidepressive effect and toxicity of oral administration of barakol in animals, as well as to develop a HPLC method for quantification of barakol in human plasma, and determine the pharmacokinetics of barakol in healthy male adults.

Evaluation of antidepressive effect of barakol was assigned in two parts : 1) screening of antidepressive effect by the forced swimming test; 2) determination of antidepressive effect of barakol by chronic methamphetamine withdrawal model. For screening of antidepressive effect by the forced swimming test, rats were received either water, imipramine 25 mg/kg or barakol 5, 10, 15, 30 mg/kg orally for 7 days. Two hours after the administration of dose on the 5th-7th day, rats were forced to swim for 5 minutes. The duration of immobility, indicating of depressive-like behavior, was recorded during the 5-minute test of the last day. The results showed that all of the barakol- and imipramine-treated groups significantly reduced immobility time in comparison to the water-controlled group ($p < 0.05$).

For determination of antidepressive effect of barakol by chronic methamphetamine withdrawal model, rats were daily received a 4-days escalating-dose of methamphetamine from 1 to 7 mg/kg/d, i.p. At the end of methamphetamine treatment, each group of rats was received water, imipramine 25 mg/kg or barakol 2, 5, 10, 15 and 30 mg/kg/d, p.o., for a further period of 7 days. At the 4th to 7th day, each rat was forced to swim individually. The immobility time was recorded at the 5th and 7th day test session. The results demonstrated that at the 5th day barakol 5-30 mg/kg significantly reduced immobility time, whereas, barakol 2 mg/kg and imipramine did not. At the 7th day, barakol 30 mg/kg failed to decrease the immobility time while imipramine- and 2-15 mg/kg barakol-treated rats exhibited a significant decrease.

The barakol toxicity testing consisted of 1) acute toxicity test; 2) subacute toxicity test and 3) chronic toxicity test. For acute toxicity test, median lethal dose (LD50) and hepatotoxic effect of a single oral dose of barakol were determined. Results showed LD50 was 2.33 g/kg (95% confidence limit 2.29-2.54 d/kg). Rats treated with barakol 60- 200 mg/kg; grounded-dried young leaves of *Cassia siamea* 1,200 mg/kg (equivalent to barakol 28 mg/kg) did not showed any hepatotoxic effects while paracetamol 1,500 mg/kg; and alcoholic extract of *Cassia siamea* 1,200, and 2,400 mg/kg (containing barakol 68.7 and 137.4 mg, respectively) caused hepatic necrosis in a dose dependent manner.

For subacute toxicity test, rats were daily given oral administration of barakol 60-240 mg/kg dose for 4 weeks. The recovery group was dosed at 240 mg/kg of barakol and maintained for 2 further weeks without drug administration. The results showed that barakol suppressed growth rate, significant increased internal organ weight in the dose dependent manner, increased fat accumulation in liver and heart cells, increased bilirubin level, decreased triglyceride and alkaline phosphatase ($p < 0.05$). The highest dose of barakol, 240 mg/kg, also reduced RBC, Hct and Hb ($p < 0.05$). After drug cessation these changes were declined to normal range.

For chronic toxicity test, rats were dosed daily with barakol 5-30 mg/kg orally for a period of six months. The results showed no significant change of

growth rate and blood chemistry parameters except increase of bilirubin ($p < 0.05$) in the dose-dependent manner. From histological examination, the barakol-treated rats showed fatty change in liver in the dose-dependent manner. These changes had a trend to return to the normal after drug cessation.

The study of pharmacokinetics of barakol, 30 mg oral dose, was performed in 9 healthy Thai male volunteers. Blood samples were collected over 12 hours, and analyzed for barakol plasma concentrations using a validated HPLC method. Pharmacokinetic parameters were subsequently determined.

The HPLC method for quantification of barakol in human plasma developed in this study was suitable and useful for pharmacokinetic study. Pharmacokinetics of barakol was shown to follow a one-compartment model. Peak plasma concentration of 4.19 ± 0.21 ng/ml was reached at 3.22 ± 0.57 hrs. Absorption and elimination rate constants are 1.1 ± 0.24 and 0.18 ± 0.02 hr⁻¹ with absorption and elimination half lives of 0.66 ± 0.15 and 3.89 ± 0.50 hrs, respectively.

In conclusion, low dose (2-5 mg/kg) of barakol can probably be used as an antidepressive agent for a long period without serious toxicity. It may be useful for the treatment of chronic methamphetamine withdrawal symptoms. However, in repeated administration, serum bilirubin should be monitored and the use of barakol in hepatic impairment patients should be avoided.