

ผลของ ไป เปริน ต่อสมรรถนะของ เอ็นซีซีโม โน เอ็มเอนอกทีเคส ใน คับ และ สมอง หนูขาว



นางสาว ชุติ ตรียเจริญ

ศูนย์วิทยทรัพยากร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา เกษศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชา เกษษวิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2531

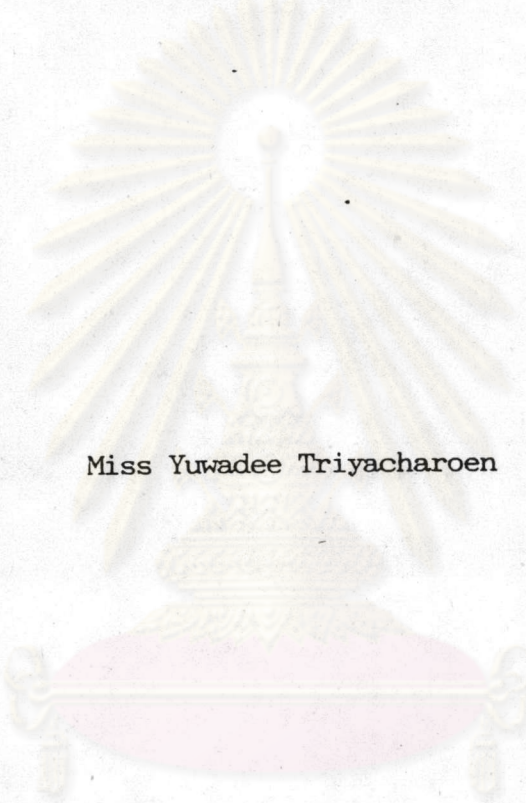
ISBN 974-569-644-7

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

015931

T17510521

EFFECTS OF PIPERINE ON THE ACTIVITY OF MONOAMINE OXIDASES  
IN THE RAT'S LIVER AND BRAIN



Miss Yuwadee Triyacharoen

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science in Pharmacy

Department of Pharmacology

Graduate School

Chulalongkorn University

1988

ISBN 974 - 569 - 644 - 7



Thesis Title      Effects of Piperine on the Activity of Monoamine  
                         Oxidases in the Rat's Liver and Brain

By                      Miss Yuwadee Triyacharoen

Department        Pharmacology

Thesis Advisor    Associate Professor Prasan Dhumma-Upakorn, Ph.D.

Thesis Coadvisor Assistant Professor Surachai Unchern, M.Sc.

---

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

*Thavorn Vajrabhaya* ..... Dean of the Graduate School  
(Professor Thavorn Vajrabhaya, Ph.D.)

Thesis Committee

*Prasan Dhummaupakorn* ..... Chairman  
(Associate Professor Prasan Dhumma-Upakorn, Ph.D.)

*Prakorn Chudapongse* ..... Member  
(Associate Professor Prakorn Chudapongse, Ph.D.)

*Withaya Janthasoot* ..... Member  
(Assistant Professor Withaya Janthasoot, M.Sc.)

*Surachai Unchern* ..... Member  
(Assistant Professor Surachai Unchern, M.Sc.)

พิมพ์ต้นฉบับบทความวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

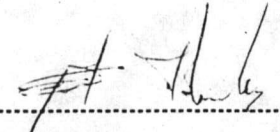


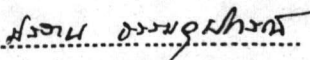
ยาดี ตรียเจริญ : ผลของไป เปอรินต่อสมรรถนะของเอ็นไซม์โมโน เอมีนออกซิเดสในตับ และสมองหนูขาว (EFFECTS OF PIPERINE ON THE ACTIVITY OF MONOAMINE OXIDASES IN THE RAT'S LIVER AND BRAIN) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร. ประสาน ธรรมอุปกรณ, 89 หน้า.

ไป เปอรินเป็นสารสำคัญที่ได้จากเม็ดพริกไทยดำและพริกไทยขาว และมีรายงานอ้างว่ามีผล กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง ดังนั้นจึงเป็นเรื่องน่าสนใจที่จะค้นคว้าเกี่ยวกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาซึ่งอาจ เกี่ยวข้องกับผลดังกล่าว ในอีกด้านหนึ่ง โมโน เอมีนออกซิเดสซึ่งเป็นระบบเอ็นไซม์อยู่ที่เยื่อหุ้มด้านนอก ไมโทคอนเดรียของเซลล์ต่างๆ หลายประเภท จะมีบทบาทสำคัญในการทำลายสารโมโนเอมีน และควบคุม ระดับสารเอมีนชีวภาพในร่างกาย เพราะฉะนั้น การศึกษาผลของไป เปอรินต่อสมรรถนะของเอ็นไซม์ โมโน เอมีนออกซิเดสในสัตว์ทดลอง จึงเป็นหนทางที่น่าจะทำให้คำอธิบายเกี่ยวกับผลกระตุ้นระบบประสาท ส่วนกลางของมันได้

การศึกษานี้ เริ่มต้นด้วยการพัฒนาวิธีวัดสมรรถนะเอ็นไซม์โมโน เอมีนออกซิเดส โดยยึดอัตรา การนำออกซิเจนของเอ็นไซม์เป็นตัวบ่งชี้ และได้ใช้วิธีวัดดังกล่าวศึกษาผลของไป เปอรินต่อสมรรถนะ เอ็นไซม์โมโน เอมีนออกซิเดส ในการทำลายสารประกอบโมโนเอมีนต่างๆ ซึ่งจากผลการศึกษาชี้แนะให้เห็นว่าไป เปอรินมีฤทธิ์ยับยั้งสมรรถนะของเอ็นไซม์โมโน เอมีนออกซิเดสที่ได้จากไมโทคอนเดรียตับหนู การยับยั้งนี้มีลักษณะไม่เหมือนการยับยั้งเชิงแข่งขันและมีได้แสดงว่ามีผลโดย เฉพาะกับโมโน เอมีนออกซิเดสชนิดใดเป็นพิเศษ เนื่องจากผลการทดลองเบื้องต้น ที่ได้จากการศึกษากับไมโทคอนเดรียจากสมองหนู นั้นไม่ค่อยแน่นอน ทำให้ไม่สามารถจะสรุปผลได้อย่างชัดเจน ใดๆก็ได้ ผลการทดลองทั้งหมดชี้แนะให้เห็นถึงความสัมพันธ์สอดคล้องที่เป็นไปได้ ระหว่างการยับยั้งสมรรถนะเอ็นไซม์โมโน เอมีนออกซิเดสกับผล กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลางของไป เปอริน

ภาควิชา ..... เภสัชวิทยา  
สาขาวิชา ..... เภสัชวิทยา  
ปีการศึกษา ..... 2531

ลายมือชื่อนิสิต 

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา 

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว



YUWADEE TRIYACHAROEN : EFFECTS OF PIPERINE ON THE ACTIVITY OF MONOAMINE OXIDASES IN THE RAT'S LIVER AND BRAIN. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. PRASAN DHUMMA-UPAKORN, Ed.D. 89 PP.

Piperine is an important compound from black and white pepper which had been reported to have stimulating effect to the central nervous system (CNS). It is very interesting to investigate the possible pharmacological actions of piperine which may be related to this effect. Monoamine oxidases (MAO) are the enzyme system located in the mitochondrial outer membrane of many cell types with an important role in destroying monoamine compounds and controlling the body levels of biogenic amines. Therefore, the study of effects of piperine on MAO activity in experimental animals may provide possible explanation to its reported CNS stimulating effects.

In this study, the assay of MAO activity was developed by measuring oxygen consumption rate as the indicator of enzymatic activity. This assay method was used to investigate the effect of piperine on enzymatic activity of MAO toward various monoamine substrates and the results obtained suggest that piperine possesses remarked inhibitory action to rat liver mitochondrial MAO activity. The inhibition was, presumably, not competitive in nature and the inhibitory profile did not show preferential effect on specific type of MAO. The preliminary result from the study on rat brain mitochondrial preparations was not consistent and conclusive interpretation based solely on such data cannot be made. Overall, the experimental results suggest the possible relationship between MAO inhibition and CNS stimulatory effect of piperine.

ภาควิชา .....  
สาขาวิชา .....  
ปีการศึกษา .....

ลายมือชื่อนิสิต .....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....



## ACKNOWLEDGEMENT

I would like to express my sincere gratitude to my nice advisor, Associate Professor Dr. Prasan Dhumma-Upakorn, and coadvisor, Assistant Professor Surachai Unchern, for their supervision throughout the study. Their initiative advice and criticism always motivated me during this thesis work.

As well, I am indebted to Associate Professor Dr. Prakorn Chudapongse, Assistant Professor Withaya Janthasoot, and other staffs for their generous contributions. I also extend my thanks to all friends in the Department for their coordination and cheerful support.

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## TABLE OF CONTENTS

	<i>Page</i>
THAI ABSTRACT .....	1
ENGLISH ABSTRACT .....	2
ACKNOWLEDGEMENT .....	4
TABLE OF CONTENTS .....	5
ABBREVIATIONS .....	7
LIST OF TABLES .....	9
LIST OF FIGURES .....	10
CHAPTERS	
I. GENERAL REVIEW OF THE LITERATURE	
Introduction .....	12
Pharmacology of Piperine .....	14
Toxicology of Piperine .....	16
Monoamine Oxidases .....	17
II. MATERIALS AND METHODS	
Experimental Animals .....	29
Drugs and Chemicals .....	29
Preparation of Rat Liver Mitochondria .....	29
Preparation of Rat Brain Mitochondria .....	31
Determination of Mitochondrial Protein .....	32
III. RESULTS	
Liver MAO Activity toward Monoamines .....	33
Liver MAO Inhibition by Piperine .....	34
Kinetics of Liver MAO Inhibition .....	35
Effect of Piperine on Brain MAO .....	36
IV. DISCUSSION .....	67

V. CONCLUSION .....	71
REFERENCES .....	72
Appendix .....	87
VITA .....	89



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## ABBREVIATIONS

ADP	Adenosine diphosphate
APO	Apoenzyme
ATP	Adenosine triphosphate
B2	Vitamin B2
BZA	Benzylamine
DA	Dopamine
EDTA	Ethylenediamine tetraacetic acid
EGTA	Ethyleneglycol tetraacetic acid
FAD	Flavin adenine dinucleotide
FMN	Flavin mononucleotide
HEPES	N-2-Hydroxyethylpiperazine-N-2-ethanesulfonic acid
K <sub>m</sub>	Michaelis-Menten constant
KOH	Potassium hydroxide
M	Molar
MAO	Monoamine oxidase
mg	milligram(s)
mg Pr.	milligram(s) of protein
min	minute(s)
ml	milliliter(s)
mM	millimolar
mcM	micromolar
mu	millimicron(s)
NE	Norepinephrine
PEA	B-Phenylethylamine
TRP	Tryptamine

Spec.	Specific
v/v	Volume by volume
x g	Gravitational force
° C	Degree(s) Celcius



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## LIST OF TABLES

<i>Figure</i>		<i>Page</i>
1	Inhibition of MAO activities by piperine .....	38
2	Specific activity of MAO toward NE .....	41
3	Specific activity of MAO toward BZA .....	46
4	Specific activity of MAO toward PEA .....	51
5	Specific activity of MAO toward TRP .....	56
6	Specific activity of MAO toward DA .....	61
7	Kinetics of MAO inhibition by piperine .....	64
8	Rat brain mitochondrial MAO activity .....	66
9	Selectivity of MAO for some common substrates in rat liver or brain mitochondria .....	72
10	Some selective inhibitors of mitochondrial MAO-A and MAO-B .....	73



## LIST OF FIGURES

<i>Figure</i>		<i>Page</i>
1	Chemical structure of piperine .....	13
2	Tracings from the measurement of MAO activity .....	37
3	Substrate-activity relationship of MAO to NE .....	39
4	Concentration-response relationship of MAO inhibition by piperine (NE as substrate) .....	40
5	Substrate-activity relationship of MAO to NE in the presence of piperine .....	42
6	Kinetic behaviour of MAO inhibition by piperine (NE as substrate) .....	43
7	Substrate-activity relationship of MAO to BZA .....	44
8	Concentration-response relationship of MAO inhibition by piperine (BZA as substrate) .....	45
9	Substrate-activity relationship of MAO to BZA in the presence of piperine .....	47
10	Kinetic behaviour of MAO inhibition by piperine (BZA as substrate) .....	48
11	Substrate-activity relationship of MAO to PEA .....	49
12	Concentration-response relationship of MAO inhibition by piperine (PEA as substrate) .....	50
13	Substrate-activity relationship of MAO to PEA in the presence of piperine .....	52

14	Kinetic behaviour of MAO inhibition by piperine (PEA as substrate) .....	53
15	Substrate-activity relationship of MAO to TRP .....	54
16	Concentration-response relationship of MAO inhibition by piperine (TRP as substrate) .....	55
17	Substrate-activity relationship of MAO to TRP in the presence of piperine .....	57
18	Kinetic behaviour of MAO inhibition by piperine (TRP as substrate) .....	58
19	Substrate-activity relationship of MAO to DA .....	59
20	Concentration-response relationship of MAO inhibition by piperine (DA as substrate) .....	60
21	Substrate-activity relationship of MAO to DA in the presence of piperine .....	62
22	Kinetic behaviour of MAO inhibition by piperine (DA as substrate) .....	63
23	Comparison of the inhibitory effects of piperine to rat liver mitochondrial MAO activities toward various substrates .....	65

ศูนย์วิทยุทางการแพทย์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย