

ผลของ CU 763-14-07 และ CU 763-14-10
ต่อพฤติกรรมสิ้นหวังและการเคลื่อนไหวในแบบจำลองสัตว์ และต่อระดับสารสื่อประสาทโมโนเอมีนในสมอง

นางสาว พันธุ์ทิพย์ วัชรสินธุ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเภสัชวิทยา ภาควิชาเภสัชวิทยา

คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2543

ISBN 974-346-343-7

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECTS OF CU-763-14-07 AND CU-763-14-10
ON BEHAVIOURAL DESPAIR AND MOTOR ACTIVITY IN ANIMAL MODELS
AND ON BRAIN MONOAMINE NEUROTRANSMITTER LEVELS

Miss Phantip Watcharasinthu

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

Department of Pharmacology
Faculty of Pharmaceutical Sciences

Chulalongkorn University

Academic Year 2000

ISBN 974-346-343-7

พันธทิพย์ วัชรสินธุ : ผลของ ซียู 763-14-07 และ ซียู 763-14-10 ต่อพฤติกรรมล้นหวัง และการเคลื่อนที่ในแบบจำลองสัตว์ และต่อระดับสารสื่อประสาทโมโนเอมีนในสมอง (Effects of CU-763-14- 07 and CU-763-14-10 on Behavioural Despair and Motor Activity in Animal Models and on Brain Monoamine Neurotransmitter Levels).

อ. ที่ปรึกษา : ผศ. ดร. สุรัชย์ อัญเชิญ, อ. ที่ปรึกษาร่วม : ผศ. ดร. ชำนาญ ภัทรพานิช, 84 หน้า. ISBN 974-346-343-7.

การวิจัยนี้ เป็นการศึกษาฤทธิ์ด้านซึมเศร้าของสารสังเคราะห์ ซียู 763-14-07 และซียู 763-14-10 ซึ่งทำในหนูถีบจักรโดยอาศัยแบบจำลองสัตว์ทดลองร่วมกันดังนี้ 1.พฤติกรรมบังคับว่ายน้ำ หรือ พฤติกรรมล้นหวัง (forced swimming test หรือ behavioural despair test) 2. พฤติกรรมเคลื่อนที่ (locomotor activity) 3. การทำงานประสานกันของกล้ามเนื้อ (Rotarod test) นอกจากนี้ยังทำการวัดระดับ สารสื่อประสาทโมโนเอมีนในสมอง คือ นอร์อะดรีนาลีน โดปามีน และ ซีโรโทนิน ในหนูแรท โดยใช้สมองหนูทุกส่วน

ผลจากการทดลองพบว่า ซียู 763-14-07 (10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และซียู 763-14-10 (20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) มีผลทำให้ ระยะเวลาลอยตัวอยู่นิ่ง (Immobility time) ในแบบจำลองภาวะซึมเศร้าของพฤติกรรมล้นหวัง ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่การทดสอบโดยใช้ พฤติกรรมเคลื่อนที่ พบว่าในขนาดของสารที่ทำให้ระยะลอยตัวอยู่นิ่งลดลง ไม่มีผลทำให้การเคลื่อนที่ของสัตว์เพิ่มขึ้น ซึ่งผลเหล่านี้ชี้ว่า การมีฤทธิ์ด้านซึมเศร้าของสารดังกล่าว ไม่ได้เกิดเนื่องจากการเพิ่มการเคลื่อนที่ของสัตว์ทดลอง และในการทดสอบฤทธิ์ที่เกี่ยวกับความบกพร่องของการทำงานประสานกันของกล้ามเนื้อลาย (Rotarod test) ปรากฏว่าทั้ง ซียู 763-14-07 และ ซียู 763-14-10 ไม่มีผลทำให้กล้ามเนื้ออ่อนแรงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ในการศึกษา ระดับของสารสื่อประสาทในสมองประเภทโมโนเอมีน พบว่า ซียู 763-14-07 มีผลเฉพาะเจาะจงในการเพิ่มระดับของ นอร์อะดรีนาลีน ในขณะที่ ซียู 763-14-10 ทำให้ระดับของ นอร์อะดรีนาลีน โดปามีน และ ซีโรโทนิน (5-ไฮดร็อกซีทริพตามีน) เพิ่มขึ้น ซึ่งการเพิ่มระดับของสารสื่อประสาทโมโนเอมีนในสมอง จะช่วยเสริมการทำนายฤทธิ์ด้านซึมเศร้าของสารสังเคราะห์ดังกล่าว จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า ซียู 763-14-07 และ ซียู 763-14-10 มีฤทธิ์ด้านซึมเศร้าในแบบจำลองสัตว์ทดลอง โดยมีผลทำให้สารสื่อประสาทในสมองชนิดเอมีนเพิ่มขึ้น ดังนั้นน่าจะมีการศึกษาต่อไปถึงกลไกการออกฤทธิ์ที่ชัดเจน ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอื่น ตลอดจนประสิทธิภาพและความปลอดภัยของสาร

ภาควิชา เภสัชวิทยา
สาขาวิชา -
ปีการศึกษา 2543

ลายมือชื่อนิสิต
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

C4076518533 : MAJOR PHARMACOLOGY

KEY WORD: CU763-14-07 / CU763-14-10 / NEUROTRANSMITTERS / ANTIDEPRESSANT ACTIVITY / ANIMAL MODELS

PHANTIP WATCHARASINTHU : THESIS TITLE (EFFECTS OF CU 763-14-07 AND CU 763-14-10 ON BEHAVIOURAL DESPAIR AND MOTOR ACTIVITY IN ANIMAL MODELS AND ON BRAIN MONOAMINE NEUROTRANSMITTER LEVELS) THESIS ADVISOR : ASSIST. PROF. SURACHAI UNCHERN, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR : ASSIST. PROF. CHAMNAN PATARAPANICH, Ph.D. 84 pp. ISBN 974-346-343-7.

The investigation was to study antidepressant activity of synthesized chemicals, CU 763-14-07 and CU 763-14-10 which were performed in Swiss Albino mice by using animal models as the following 1. Behavioural despaired test (Forced swimming test) 2. Activity test and 3. Rotarod test. In addition, the measurement of the levels of central monoamine neurotransmitters : Noradrenaline (NE), Dopamine (DA), and Serotonin (5-HT) was performed in the whole rat brain.

The results revealed that CU 763-14-07 (10 mg/kg and 20 mg/kg i.p.) and CU 763-14-10 (20 mg/kg i.p.) significantly decreased the immobility time on behavioural despaired test. In locomotor activity test, neither CU 763-14-07 nor CU 763-14-10 with the dose that decrease immobility time caused alteration in motor activity. These results suggest that the antidepressant-like effect of those agents are not due to increase in locomotor activity. For rotarod test, none of those agents affected motor deliberation. In determination of level of neurotransmitters show that CU 763-14-07 significantly and selectively increased NE while CU 763-14-10 significantly increase the amounts of NE, DA, and 5-HT. These may potentiate in prediction the antidepressant activity of the above agents. The results from this studies demonstrated that both of them have antidepressant activity, thus further studies will be required to verify the mechanism of action, the pharmacological profile, efficacy, and safety of compounds.

Department Pharmacology

Field of study -

Academic year 2000

Student's signature

Advisor's signature

Co-advisor's signature

Phantip Watcharasinthu

Surachai Unchern

Chamnan Patrapanich



ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my deepest gratitude to Assist. Prof. Dr. Surachai Unchern for his advice, guidance and kindly helps in very many things throughout the course of my graduate study.

I am sincerely grateful to my thesis co-advisor, Assist. Prof. Dr. Chamnan Patarapanich for his valuable help and support of test substances, CU 763-14-07 and CU 763-14-10.

I would like to express my thankfulness to Assoc. Prof. Dr. Boonyong Tantisira, Head of the Department of Physiology, and Assoc. Prof. Siriporn Foongwithaya, Head of the Department of Pharmacology, for their hospitality and provision of facilities.

I would like, as well, to express my appreciation to Dr. Sathaporn Leelanantakit and all staffs of the herb research center of the National Cancer Institute, for their valuable helps.

Special thanks are given to Instructor Cheng Paochit, Department of Economics, Dhurakijpundit University, for his kind assistance in statistical analysis.

My appreciation is extended to my friends and staffs of the Department of Pharmacology and the Department of Physiology for continuous encouragement and helps.

Finally I would like to thank my parents, for support, patience and encouragement which make everything possible.

CONTENTS

	Page
Abstract (Thai).....	iv
Abstract (English)	v
Acknowledgements	vi
Contents.....	vii
List of Tables	viii
List of Figures	ix
List of Abbreviations	xi
Chapter	
I Introduction	1
II Background	3
III Material and Methods	41
IV Results and Discussion.....	50
V Conclusion	75
References	77
Curriculum Vitae	84

LIST OF TABLES

Table	Page
1. DSM-IV Diagnostic Criteria for a major depression.....	4
2. Mechanism of action of some biogenic amine neurotransmitters.....	14
3. Summary of clinical indications for agents acting on serotonin system	20
4. Some second generation antidepressants.....	24
5. Effects of CU 763-14-07, CU 763-14-10 and some antidepressant drugs.....	53
in the forced swimming test.	
6. Effects of CU 763-14-07 and CU 763-14-10on total counts of locomotor	57
activity in mice	
7. Effects of CU 763-14-07, CU 763-14-10 on Rota-Rod test in mice.....	61
8. Concentrations of norepinephrine (NE),dopamine (DA), and	68
5-hydroxytryptamine (5-HT) in whole rat brains treated with various agents.	
9. Percent of control of norepinephrine (NE), dopamine (DA) and	69
5 -hydroxytryptamine (5-HT) levels in whole rat brains treated with various agents.	

LIST OF FIGURES

Figure	Page
1. General model of ion-coupled NE and 5-HT uptake.....	8
2. Schematic representation of a synapse showing vesicular release of biogenic.... amines and transmitter reuptake by presynaptic transporters.	9
3. Proposed transmembrane topology and structural features of SERT and NET subunits.	10
4. Diagrams of a norepinephrine-containing neuron showing synthesis, storage.... release, and in activation of the synaptic transmitter	12
5. Schematic illustrating some of the major collection of noradrenergic neuron and. their projection areas	13
6. Illustrating the dopaminergic and serotonergic cell boies and projection areas...	16
7. Biochemical events at serotonergic synapses.....	18
8. A diagram showing the growing family of serotonin (5-HT) receptors	20
9. Structural formulae of CU 763-14-07 and CU 763-14-10	40
10. Immobility posture of mice in the behavioral despair test (forced swimming test)	43
11. The activity cage	44
12. The Rota Rod Apparatus	47
13. The effects of various agents on the total duration of immobility time in the forced swimming test in mice.	54
14. Effects of CU 763-14-10 on immobility time in the forced swimming test in mice..	55
15. Effects of CU 763-14-07 on locomotor activity in mice	58
16. Effects of CU 763-14-10 on locomotor activity in mice	59
17. Percent of mice remaining on the rod on rotarod test	62
18. Standard calibration curve for some of monoamine	64
19. HPLC chromatograms of monoamines from the whole rat brains which were ... treated with control	65
20. HPLC chromatograms of monoamines from the whole rat brains which were treated with CU 763-14-07	66

21. HPLC chromatogram of monoamines from the whole rat brains which were 67
treated with CU 763-14-10
22. Effects of intraperitoneal administration of various agents on rat norepinephrine.. 70
levels in the whole rat brain
23. Effects of intraperitoneal administration of various agents on rat dopamine levels. 71
in the whole rat brain
24. Effects of intraperitoneal administration of various agents on rat serotonin..... 72
levels in the whole rat brain
25. Effects of CU 763-14-07 on some neurotransmitter levels in whole rat brain 73
26. Effects of CU 763-14-10 on some neurotransmitter levels in whole rat brain 74

LIST OF ABBREVIATIONS

α	alpha
α_1	alpha adrenoceptor subtype 1
α_2	alpha adrenoceptor subtype 2
a.m.	ante meridiem
ANOVA	Analysis of Variance
β	beta
β_1	beta adrenoceptor subtype 1
β_2	beta adrenoceptor subtype 2
β_3	beta adrenoceptor subtype 3
μg	microgram
μl	microlitre
BW	body weight
$^{\circ}\text{C}$	degree Celsius
cm	centimeter
CNS	central nervous system
DA	dopamine
D_1	dopamine receptor subtype 1
D_2	dopamine receptor subtype 2
D_3	dopamine receptor subtype 3
D_4	dopamine receptor subtype 4
D_5	dopamine receptor subtype 5
DATs	dopamine transporters
DMS	Diagnostic and Statistical Manual of the American Psychiatric Association
e.g.	exempli gratia (for example)
et al.	Et alli (coworker)
FST	Forced swimming test
g	gram
HPLC	high performance liquid chromatography

hr	hour
5-HT	5-hydroxytryptamine (5-HT), serotonin
5-HT _{1A}	serotonin receptor subtype 1A
5-HT ₂	serotonin receptor subtype 2
i.p.	intraperitoneal
kg	kilogram
mg	milligram
min	minute
ml	milliliter
M	molar
MAO	monoamine oxides
NA, NE	noradrenaline (Norepinephrine)
NATs	noradrenaline transporters
PLC	phospholipase C
p.m.	post meridian
sec	second
S.E.M.	standard error of mean
SERTs	serotonin transporters
SSRIs	selective serotonin reuptake inhibitors
TCA	tricyclic antidepressants