

**DETERMINATION OF BARAKOL AND ANTHRAQUINONE
CONTENTS AND HEPATOTOXICITY EVALUATION OF
SENNA SIAMEA EXTRACTS**

TANIT PADUMANONDA

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
(PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND PHYTOCHEMISTRY)
FACULTY OF GRADUATE STUDY
MAHIDOL UNIVERSITY
2006**

**ISBN 974-04-6824-1
COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

การหาปริมาณบาราคอลและแอนทราควิโนนและการประเมินความเป็นพิษต่อตับจากสารสกัด
ขี้เหล็ก (DETERMINATION OF BARAKOL AND ANTHRAQUINONE CONTENTS AND
HEPATOTOXICITY EVALUATION OF *SENNA SIAMEA* EXTRACTS)

ธนีสร์ ปทุมานนท์ 4436508 PYPP/D

ปร.ค.(เภสัชเคมีและพฤกษเคมี)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: วันดี กฤษณพันธ์, Ph.D.; ครุณี บุรีภักดี ลอว์สัน, Ph.D.;

วันทนี รัตนศักดิ์, D.V.M., MS.; ลีนา สุนทรสุข, Ph.D.

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เป็นการประเมิน เปรียบเทียบปริมาณและศึกษาทางด้านพิษวิทยาของสารบาราคอลซึ่งสกัดจากใบอ่อนขี้เหล็กในรูปแบบต่างๆที่เลียนแบบขั้นตอนที่เตรียมแก๊งขี้เหล็กเพื่อใช้เป็นอาหาร และสารบาราคอลที่แยกได้จากใบขี้เหล็ก รวมทั้งยังได้ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณบาราคอลและแอนทราควิโนนใน ใบอ่อน, ใบแก่ และดอกอ่อนขี้เหล็กอีกด้วย การศึกษาครั้งนี้ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณบาราคอลในสารสกัดขี้เหล็กโดยวิธี TLC-densitometric method และพบว่า ethanol ที่มีความเข้มข้น 15% สามารถใช้สกัดบาราคอลให้ปริมาณสูงสุด โดยปริมาณของบาราคอลในใบอ่อน ใบแก่ และดอกอ่อน มีร้อยละ 1.67, 0.78, และ 1.44 ต่อน้ำหนักแห้งตามลำดับ จากการศึกษปริมาณบาราคอลในสารสกัดที่เลียนแบบกระบวนการแก๊งโดยการต้มขี้เหล็กสองครั้ง พบว่าการต้มครั้งแรกทำให้สูญเสียปริมาณบาราคอลไปประมาณ 50 % กากที่เหลือจากการต้มครั้งที่สองซึ่งเป็นส่วนจริงที่ใช้รับประทานมีบาราคอล ประมาณ 10 % ของบาราคอลที่มีอยู่ทั้งหมดในใบสด ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณแอนทราควิโนนในรูปแบบของ เรอิน (rhein) ในใบอ่อน ใบแก่ และดอกอ่อน พบว่ามีปริมาณ 1.31, 2.14, และ 2.48 mg % ของน้ำหนักแห้งตามลำดับ

การศึกษาพิษของของขี้เหล็กทำโดยทดสอบบาราคอลและสารสกัดจากขี้เหล็กที่มีบาราคอลอยู่ในหนูทดลอง 2 ประเภท คือหนู Sprague Dawley ปกติ (SD rats) และหนู Sprague Dawley ที่ผ่านการปลูกถ่ายเซลล์มะเร็งตับ (A-S-30D hepatoma cell transplanted rats, A-S-30D rats) จากผลการวิเคราะห์ค่าคลินิเคมิของเลือด ระดับของ total bilirubin ของ SD rats ที่ได้รับบาราคอล 81.66-83.33 มก./กก./วัน มีค่า total bilirubin ต่างจากหนูกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ขณะที่ A-S-30D rats ที่ได้รับบาราคอลในช่วง 24.81-83.33 มก./กก./วัน ให้ผลแบบเดียวกัน สารสกัดที่ได้จากกากใบและผงใบอ่อนขี้เหล็กที่ผ่านการต้ม 2 ครั้ง เมื่อนำมาป้อนหนูทดลอง พบว่าไม่มีความแตกต่างของค่า total bilirubin ขณะที่บาราคอลในรูปแบบสารบริสุทธิ์ทำให้ total bilirubin เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน ถึง 6 เท่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

DETERMINATION OF BARAKOL AND ANTHRAQUINONE CONTENTS AND HEPATOTOXICITY EVALUATION OF *SENNA SIAMEA* EXTRACTS

TANIT PADUMANONDA 4436508 PYPP/D
Ph.D. (PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND PHYTOCHEMISTRY)

THESIS ADVISORS: WANDEE GRITSANAPAN, Ph.D.; DURUNEE BURIPAKDEE LAWSON, Ph.D.; WANTANEE RATANASAK, D.V.M., M.S.; LEENA SUNTORNSUK, Ph.D.

ABSTRACT

This study is to compare and evaluate barakol content and the toxicity in *S. siamea* leaf extracts (by closely copying the cooking process of Khi-lek curry) and purified barakol. The study also analyzed and compared barakol and anthraquinone contents in different parts of the plant (young leaves, mature leaves and young flowers). The TLC-densitometric method was developed and validated for the analysis of barakol in *S. siamea* extracts. The results indicated that 15 % ethanol was the optimum concentration to extract barakol from *S. siamea* and the barakol contents in young leaves, mature leaves and young flowers were 1.67, 0.78 and 1.44 % w/w of the dried sample, respectively. During the cooking process by boiling with water, barakol content was lost on the first boiling about 50 % w/w of total barakol content in fresh leaves. Marcs (boiled leaves) from the second boiling which is the actual part consumed as a Khi-lek curry, contained barakol content about 10 % w/w of total barakol. Determinations of total anthraquinones in terms of rhein in dried powder young leaves, mature leaves and young flowers were 1.31, 2.14, and 2.48 mg % fresh weight, respectively.

The toxicity study was performed by treating barakol and various extracts containing barakol (filtrates and marcs) of *S. siamea* in two rat models (normal Sprague Dawley rats and SD rat with A-S-30D hepatomea cell transplantation [A-S-30D rats]). Doses of barakol were assigned based on content of barakol in each extract of *S. siamea* young leaves which ranged from 5.54 mg/kg/day to 83.33mg/kg/day.

According to the results of the clinical blood analysis, normal SD rats treated with barakol ranging from 81.66 to 83.33 mg/kg/day were significantly different in total bilirubin level from the controls ($p < 0.01$) whereas A-S-30D rats treated with barakol ranging from 24.81 to 83.33 mg/kg/day showed the same results. The level of total bilirubin in rats treated with the extracts from *S. siamea* leaves/powder (boiled two times with water) was not different from the control group in both rat models ($p > 0.01$). The increment in the total bilirubin level in serum was also in a dose-dependent manner with barakol content in the extracts. Barakol as a single compound showed an obvious result on the increment of total bilirubin level about 6 times compared to the controls.

KEY WORDS: BARAKOL/ ANTHRAQUINONE/ *Senna Siamea*/ TOXICITY

131 p. ISBN 974-04-6824-1