The Journal of Qazvin Univ. of Med. Sc.
No. 18 , Summer 2001

مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی قزوین
شماره ۱۸ - تابستان ۱۳۸۰

نقش کپسانتین فلفل قرمز در بی‌دردی و رفتار پرشی ناشی از نالوکسان در موش‌های وابسته به مرفین

دکتر علی اکبر مقدم‌نیا* دکتر سارا ماجدی**

Role of capsanthin on analgesia and jumping induced naloxone in morphine dependent mice

A.A Moghadamnia S. Majedi

Abstract

Background : *Red pepper is frequently used as a therapeutic agent in traditional medicine.*

Objective : *To study the analgesic effect of capsanthin and its effect on morphine dependent mice.*

Methods : *Analgesia was measured by tail-flick test. The degree of depencence on morphine was determined by the number of jumpings , five minutes after the induction of naloxone.*

Findings : *Capsanthin (25 , 50 , 75 $mg/_{kg}$) with morphine (10 $mg/_{kg}$) had significant analgesic effect compared with morphine alone. Morphine dependent mice which received capsanthin differed in jumping rate compared with the control group. Jumping latency time increased significantly in capsanthin groups (particularly in 50 , 75 $mg/_{kg}$).*

Conclusion : *Capsanthin together with morphine has significant analgesia effects in comparision with morphine alone.*

Keywords : *Red Pepper , Capsanthin , Morphine , Dependence , Analgesia*

چکیده

زمینه : *فلفل قرمز از قدیم به عنوان مسکن درد مورد استفاده قرار گرفته است و کپسانتین یکی از مواد موجود در فلفل قرمز است.*

هدف : *مطالعه به منظور شناسایی اثر بی‌دردی کپسانتین و نیز نقش آن در رفتار پرشی ناشی از نالوکسان در موش‌های وابسته به مرفین انجام شد.*

مواد و روش‌ها : *برای اندازه‌گیری درد در موش‌های سوری از تست tail-flick و برای ایجاد وابستگی ، از مرفین استفاده شد. شدت وابستگی از روی شمارش تعداد پرش‌ها ۵ دقیقه پس از تزریق نالوکسان اندازه‌گیری شد.*

یافته‌ها : *مقادیر ۲۵ ، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کپسانتین به همراه ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مرفین افزایش بی‌دردی قابل مقایسه‌ای با نتایج حاصل از مرفین به تنهایی نشان داد و کپسانتین به تنهایی مؤثر نبود. تعداد پرش‌ها در موش‌های هر سه گروه کپسانتین نسبت به موش‌های گروه شاهد کاهش قابل توجهی نشان داد. موش‌های گروه کپسانتین ، زمان تأخیر بیشتری در بروز پرش نسبت به گروه شاهد نشان دادند که این تفاوت در مقادیر ۷۵ و ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم معنی‌دار بود.*

نتیجه‌گیری : *کپسانتین به همراه مرفین اثر بی‌دردی قابل توجهی دارد و در تغییر شدت وابستگی موش‌ها به مرفین نیز مؤثر است.*

کلید واژه‌ها : *فلفل قرمز - کپسانتین - مرفین - بی‌دردی*

* استادیار دانشگاه علوم پزشکی بابل
** دندانپزشک

◙ مقدمه :

قدمت استفاده از گیاهان دارویی در مصر ، هند ، چین و ایران از سایر کشورها بیشتر است و کشورهای آسیای شرقی و مناطق بین‌النهرین در درمان بیماری‌ها با گیاهان دارویی سابقهٔ غنی‌تری دارند. (۴) فلفل قرمز گیاهی است که ابن سینا در کتاب قانون خود از آن به عنوان محرک دستگاه گوارش و برطرف‌کنندهٔ سردرد یاد می‌کند. (۳) نام علمی فلفل قرمز یا فلفل احمر *Capsicum annuum* است که میوه تازهٔ آن تقریباً عاری از بو و دارای طعم تند ملایم است ، ولی اگر رسیده شود طعمی بسیار تند و غیرقابل تحمل پیدا می‌کند. (۲) طعم تند میوهٔ این گیاه مربوط به ماده‌ای به نام کپسایسین (*Capsaicin*) است. این ماده در مواردی چون دردهای ناشی از استئوآرتریت و آرتریت روماتوئید نوروپاتی دیابتیک ، سردردهای خوشه‌ای ، اختلال افزایش حساسیت مجرای تحتانی ادراری و انواع نورالژی اثر تسکینی دارد. (۷ و ۲۳ و ۲۶ و ۲۸)

به نظر می‌رسد استفاده از آن در بعضی از بیماری‌ها مثل آسم ، بی‌اختیاری ادراری ، بیماری‌های عفونی ، روده‌ای ، آرتریت و پسوریازیس نیز مفید باشد. (۱۹) همچنین از این ماده در درمان دردهای نوروپاتیک ناشی از سرطان نیز استفاده شده است. (۱۲) در این مطالعات کپسانتین به صورت سیستمیک و موضعی مورد استفاده قرار گرفته که معمول‌ترین روش مصرف به صورت موضعی ، استفاده سطحی آن بر روی پوست است. استعمال خارجی آن در محل درد ناشی از رماتیسم ، نقرس ، دردهای عصبی ، کمردرد و فلج‌های موضعی اثر دارد. از میوهٔ گیاه جهت تهیهٔ محلول‌هایی برای غرغره و شستشوی دهان استفاده شده است. (۲) رنگ قرمز میوه مربوط به ماده‌ای به نام کپسانتین (*Capsanthin*) و دیگر پیگمان‌های رنگی است.

با توجه به شباهت فراوان کپسانتین با مادهٔ معروف فلفل قرمز یعنی کپسایسین (۲۷) ، این مطالعه به منظور شناسایی اثر بی‌دردی کپسانتین و نقش آن در رفتار پرشی ناشی از نالوکسان در موش‌های وابسته به مرفین انجام شد.

◙ مواد و روش‌ها :

در این مطالعهٔ تجربی از نوع کارآزمایی تصادفی کنترل شده ، موش‌های نر سوری سفید (*albino*) به وزن تقریبی ۲۵ تا ۳۰گرم مورد آزمایش قرار گرفتند. موش‌ها از انستیتو پاستور ایران تهیه و قبل از انجام آزمایش در محیطی آرام و دور از استرس ، در قفس‌های جداگانه نگه‌داری شدند. دمای آزمایشگاه در طول آزمایش‌ها ۲ ± ۲۳ درجه سانتی‌گراد بود.

در این مطالعه دو سری آزمایش صورت گرفت. سری اول آزمایش‌ها مربوط به اثر بی‌دردی کپسانتین بود که موش‌ها به ۶گروه شش‌تایی تقسیم شدند. به گروه‌های اول ، دوم و سوم به ترتیب ۲۵ ، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کپسانتین تزریق شد. به گروه چهارم که به عنوان شاهد انتخاب شده بود ، ۱۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم نرمال سالین تزریق شد که به منظور حذف اثر تزریق اولیه در گروه‌های دیگر بود. به گروه پنجم فقط ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مرفین و به گروه ششم فقط ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کپسانتین تزریق شد.

تزریق دوم شامل ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مرفین بود که در تمام گروه‌ها ۱۵ دقیقه قبل از اندازه‌گیری *tail-flick* صورت گرفت. در فواصل ۱۵ ،

۳۰، ۴۵، ۶۰، ۷۵، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق اولیه میزان پاسخ به محرک سنجیده شد.

سری دوم آزمایش‌ها مربوط به اثر کپسانتین در رفتار پرشی موش‌های وابسته به مرفین و نیز زمان تأخیر اثر فوق بود. ابتدا موش‌ها با روش مارشال [۲۱] طی چهار روز به مرفین وابسته شدند. به این ترتیب که مرفین سولفات به صورت زیرجلدی سه بار در روز ساعت‌های ۸، ۱۲ و ۱۶ تزریق شد. مقادیر روز اول به ترتیب ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. مقدار بالاتر در سومین تزریق برای به حداقل رساندن هرگونه سندرم محرومیت در طی شب در نظر گرفته شد. سپس به هریک از این مقادیر روزانه ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم اضافه شد. تزریق مرفین به هریک از گروه‌ها حداکثر به مدت ۳ روز بود و در روز چهارم ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مرفین سولفات در ساعت ۸ صبح (زمان اولین تزریق روزانه) تزریق شد. ۲ ساعت بعد از این تزریق، ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نالوکسان به صورت داخلی صفاقی تزریق شد. البته نیم ساعت قبل از تزریق نالوکسان، کپسانتین به صورت داخل صفاقی تزریق شد که مقدار آن در گروه‌های اول، دوم و سوم به ترتیب ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. در گروه چهارم (شاهد) ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آب مقطر و گلیسیرین برای از بین بردن اثر تزریق در گروه‌های دیگر استفاده شد. بلافاصله پس از تزریق نالوکسان، موش‌ها درون استوانه‌های شفاف (قطر ۲۵ و ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر) قرار داده شدند و پرش آنها طی ۳۰ دقیقه ثبت گردید. عامل دیگری که در این آزمایش اندازه‌گیری شد زمان تأخیر موش‌ها در پرش (Latency) بود که منظور مدت زمانی است که بعد از تزریق نالوکسان موش اولین پرش خود را انجام می‌دهد. این کار در هر چهار گروه سری دوم آزمایش‌ها انجام شد.

طرز تهیه کپسانتین به این صورت بود که میوه‌های رسیده و خشک شدهٔ فلفل قرمز (بازار داخلی، رضائیان، تهران) را در هاون کوبیده و مقدار ۱۰۰ گرم از آن به مدت ۴ ساعت با ۲۰۰ میلی‌لیتر اتر دو پترول استخراج شد. پس از صاف کردن حاصل استخراج را با ۶۰۰ میلی‌لیتر اتر و ۱۰۰ میلی‌لیتر پتاس متانولی ۳۰ درصد رقیق کرده و مخلوط به مدت ۸ ساعت هم زده شد. لایهٔ اتری جمع‌آوری، پس از شستشو خشک و تا حد ۲۰ میلی‌لیتر تغلیظ شد. سپس با ۶۰ میلی‌لیتر اتر دو پترول رقیق و ۲۴ ساعت در یخچال نگه‌داری شد تا کریستال‌های کپسانتین خالص تشکیل شود. برای تأیید این کریستال‌ها از تست کلروفرم استفاده شد که محلول کلروفرمی کپسانتین با اسید سولفوریک غلیظ یا کلرور آنتی موان تولید رنگ آبی شدید نمود. [۵] برای ساخت محلول تزریقی، ۵۰ میلی‌گرم از عصارهٔ خشک در یک قطره گلیسیرین حل و ۵ سی‌سی آب مقطر به آن اضافه شد. در نهایت یک محلول یکنواخت قرمز رنگ از کپسانتین با غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد.

برای انجام آزمون tail-flick از دستگاه Analgesiameter ساخت شرکت پویای ارمغان (مشهد) استفاده شد. برای بیان نتایج اثر بی‌دردی داروها از یک پارامتر کمی به نام شاخص بی‌دردی یا Analgesia Index استفاده شد. [۲۳]

$$\text{Analgesia Index} = \frac{\text{Drug latency} - \text{Control latency}}{\text{Cut off time} - \text{Control latency}} \times 100$$

پس از انجام آزمایش‌ها و جمع‌آوری داده‌ها با استفاده از برنامهٔ آماری PCS (Pharmacological Calculation System) و

آزمون‌های t و Newman-Keulls و آنالیز واریانس داده‌های مربوطه با هم مقایسه شدند و اختلاف در هر نقطه با $P<0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

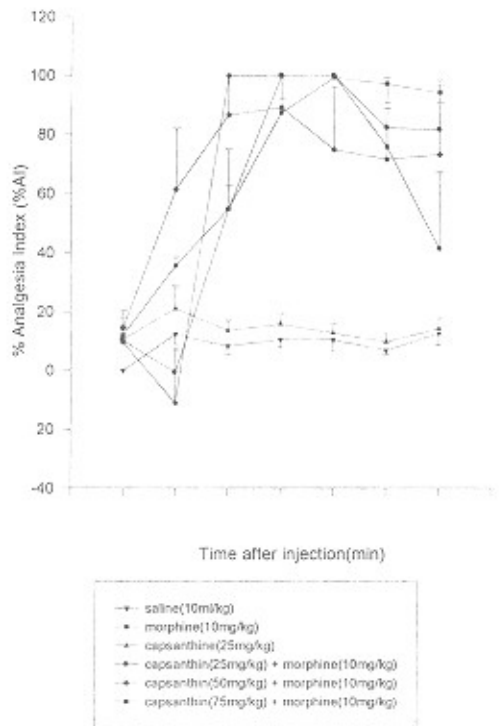
▣ یافته‌ها :

درصد شاخص بی دردی در مورد مقادیر مختلف کپسانتین و اثر تداخلی آن با ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مرفین و مقایسهٔ آن با گروه دریافت‌کنندهٔ سالین نشان داد که اختلاف بین اثر تمام مقادیر کپسانتین به همراه مرفین با اثر کپسانتین به تنهایی معنی‌دار است ($P<0/001$) (نمودار شماره ۱).

نمودار ۱ :

درصد شاخص بی‌دردی برای مقادیر مختلف کپسانتین در حضور و غیاب مرفین

(هر نقطه میانگین مربوط به ۶ موش‌است)

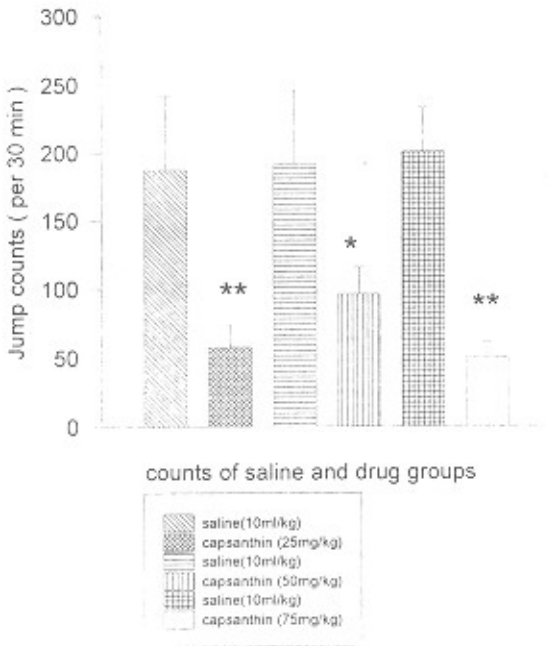


کپسانتین در مقادیر مختلف توانست تعداد پرش در موش‌های وابسته به مرفین که به وسیلهٔ نالوکسان تحریک شدند را نسبت به گروه شاهد ، به میزان قابل ملاحظه‌ای کاهش دهد. البته این کاهش در گروهی که ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کپسانتین دریافت کرده بودند، کمتر بود (نمودار شماره ۲).

نمودار ۲ :

تعداد پرش‌ها در موش‌های وابسته به مرفین

(هر نقطه میانگین مربوط به ۶ موش‌است)

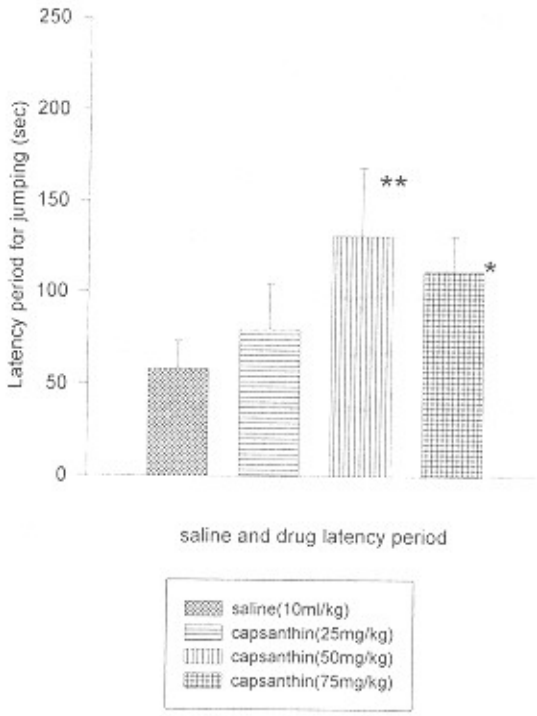


($**P<0/0001$ و $*P<0/001$)

زمان تأخیر بروز پرش‌ها پس از تزریق نالوکسان در موش‌هایی که فقط مرفین دریافت کرده بودند با موش‌هایی که هم کپسانتین و هم مرفین دریافت کرده بودند ، تفاوت محسوسی نشان داد. این تفاوت به خصوص در مقدار ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کپسانتین بسیار محسوس بود (نمودار شماره ۳).

نمودار ۳ :

زمان تأخیر پرش در موش‌های وابسته به مرفین



($P<0/01$** و $P<0/001$***)

و نتیجه‌گیری :

مطالعه نشان داد که مادهٔ کاروتنوئید کپسانتین
هت‌های فراوانی با کپسایسین دارد در مقادیر
ستفاده قادر نیست زمان مخفی آزمون *tail-flick*
ور قابل توجهی افزایش دهد. البته در صورت
مرفین پیش از مقادیر مختلف کپسانتین اثرات
ی مرفین در مقایسه با مرفین تنها افزایش قابل
می‌یابد. (۶ و ۸)

یاری از مطالعات نشان داده‌اند که کپسایسین اثر
ـته‌ای بر روی بی‌دردی ندارد ، اما تزریق
های کپسایسین در غلظت‌های برابر ۱ میلی‌مول

یا بیشتر سبب کاهش سرعت پتانسیل عمل دراعصاب حسی گیرنده‌های حس درد می‌شود که این مسأله مربوط به توانایی نسبی کپسایسین در غیر حساس کردن رشته‌های حسی C است. (۶ و ۱۷ و ۱۸ و ۲۸)

بنابر این به نظر می‌رسد اثر افزایشی کپسایسین در بی‌دردی حاصل از مرفین ناشی از همین فعالیت باشد. (۶) آنالوگ‌های کپسایسین مثل *Olvanil* و نیز ترکیباتی مثل پی‌پرین (مشتق از فلفل سیاه) نیز خواص مشابه دارند. (۱۱ و ۱۷) مصرف سیستمیک کپسایسین با فعال کردن گیرنده‌های کپسایسین روی ترمینال اعصاب آوران در نخاع شوکی سبب ایجاد بی‌دردی می‌شود. نوروترانسمیشن نخاعی متعاقباً از طریق غیرفعال سازی طولانی آزاد شدن نوروترانسمیترهای حسی ، مسدود می‌شود. کاربرد موضعی یا سطحی کپسایسین هدایت رشته‌های C و آزادسازی نوروپپتید غیرفعال را از انتهای اعصاب محیطی مهار می‌کند. این مکانیسم دلیل اثر بی‌دردی موضعی و کاهش التهاب نوروژنیک ناشی از کپسایسین است. بنابراین (۹ و ۱۱)

به نظر می‌رسد که اثرات دردناک اولیه پس از مصرف کپسایسین ناشی از آزادی مادهٔ P باشد که پس از مدتی سبب غیرحساس شدن رشته‌های حسی می‌شود و از این طریق به اثرات بی‌دردی مرفین کمک می‌کند. البته ممکن است این اثر غیرحساس‌سازی کپسایسین ناشی از تخریب پایانه‌های حسی آوران رشتهٔ C باشد. (۲۵) اثرات تسکینی کپسایسین به صورت موضعی ممکن است ناشی از اثر تحریک متقابل موضعی (*Counterirritation*) باشد که به وسیلهٔ بسیاری از مواد مسکن از جمله ال- منتول ، متیل سالیسیلات ، *Camphor* ، *Thymol* و خود

9. Craft RM , Porreca F. Treatment parameters of desensitization to capsaicin. Life Sci 1992 ; 51 (23) : 1767-75

10. Davis A , Perkins MN. The effect of capsaicin and conventional analgesics in two models of monoarthritis in the rat. Agents Actions 1993 ; 38 : 10-12

11. Dray A. Mechanism of actions of capsaicin-like molecules on sensory neurons. Life Sci 1992 ; 51 (23) : 1759-65

12. Gracely RH. Studies of pain in normal man. In : Wall PD , Melzack R , eds. Textbook of pain. 3rd ed , London , Curchill Livingstone , 1994 , 315-36

13. Green BG , Shaffer GS. The sensory response to capsaicin during repeated topical exposure : differential effects on sensations of itching and pungency. Pain 1993 ; 53 (3): 323-34

14. Griesbacher T. Blood pressure reflexes following activations of capsaicin-sensitive afferent neurons in the biliopancreatic duct of rats. Br J Pharmacol 1994 ; 111 (2) : 547-54

15. Hersh EV , Pertes RA. Topical capsaicin pharmacology and potential role in the treatment of temporomandibular pain. J Clin Dent 1994 ; 5 (2) : 54-9

16. Hutchings HA , Eccles R. The opioid agonist codeine and antagonist naltrexone do not affect voluntary suppression of capsaicin induced cough in healty subjects. Eur Respir J 1994 ; 7 (4) : 715-9

17. Liu L , Simon A. Similarities and differences in the currents activated by capsaicin , piperine and zingerone in rat trigeminal ganglion cells. J Neurophysiol 1996 ; 76 (3) : 1858-69

18. Lynn B , Ye W , Cotsell B. The actions of capsaicin applied topically to the skin of the rat on c-fibre afferents , antidromic vasodilatation and substance P levels. Br J Pharmacol 1992 ; 107 (2) : 400-6

19. Maggi CA. Therapeutic potential of capsaicin like molecules : studies in animals and humans. Life Sci 1992 ; 51 (23) : 1777-81

20. Marks DR , Rapoport A , Padla D , Weeks R , Rosum R , Sheftell F , Arrowsmith F. A double-blind placebo-controlled trial of intranasal capsaicin for cluster headache. Cephalalgia 1993 ; 13 (2): 114-6

21. Marshall L , Grahame-Smith DG. Evidence against a role of brain 5-HT in the development of physical dependence upon morphine in mice. J Pharmacol Exp Ther 1971 ; 197 : 634-9

22. Peikert A , Hentrich M , Ochs G. Topical 0.025% capsaicin in chronic post-herpetic neuralgia : efficacy , predictors of response and long term course. J Neurol 1991 ; 238 (8) : 432-6

23. Schnitzer TJ. Osteoarthritis treatment update minimizing pain while limiting patient risk. Postgrad Med 1993 ; 93 (1) : 89-95

24. Taniguchi Y , Deguohi Y , Saita M , Noda K. Antinociceptive effects of counterirritants. Nippon Yakurigaku Zasshi 1994 ; 104 (6) : 433-46

25. Thomas DA , Dubner R , Ruda MA. Neonatal capsaicin treatment in rats results in scrotching behaviour with skin damage potential model of non-painful dysthesia. Neurosci Lett 1994 ; 171 (1-2) : 101-4

26. Watson CP , Tyler KL , Bickers DR , Millikan LE , Smith S , Coleman E. A randomized vehicle controlled trial of topical capsaicin in the treatment of postherpetic neuralgia. Clin Ther 1993 ; 15 (3) : 510-26

27. Jhamandas K , Yaksh TL , Harty G , Szolcsanyi J , Go VL. Action of intrathecal capsaicin and its structural analogues on the content analgesia. Brain Res 1984 ; 306 (1-2) : 215-25

28. Pfeizer MA , Ross DR , Schrage JP , et al. Highly successful and novel model for treatment of chronic painful diabetic peripheral neuropathy. Diabetes Care 1993 ; 16 (8) : 1103-15