

## بررسی اثر نوسکاپین بر التهاب حاصل از برادی کینین و هیستامین در کف پای موش صحرایی

نسرین شیری<sup>۱</sup>، معصومه شفیعی<sup>۲</sup>، شاهرخ پاشایی راد<sup>۳</sup>، مسعود محمودیان<sup>۴\*</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، فیزیولوژی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

۲- دانشیار، گروه فارماکولوژی، موسسه تحقیقات علوم دارویی رازی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید بهشتی

۴- استاد، گروه فارماکولوژی، موسسه تحقیقات علوم دارویی رازی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

\* آدرس مکاتبه: تهران، مرکز تحقیقات علوم دارویی رازی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، صندوق پستی: ۱۴۱۵۵ - ۶۱۸۳

تلفن: ۸۸۰۵۸۶۹۶ (۰۲۱)، نمابر: ۸۸۰۵۸۷۱۹ (۰۲۱)

پست الکترونیک: [masmah99@iums.ac.ir](mailto:masmah99@iums.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۸۳/۴/۲۶

تاریخ تصویب: ۸۴/۷/۲۴

### چکیده

مقدمه: نوسکاپین یک آلکالوئید ایزوکینولینی است که از گیاه خشخاش به دست می‌آید. خاصیت ضدسرفه این دارو به خوبی شناخته شده است. مطالعات قبلی نشان داده است که نوسکاپین یک مهارکننده غیررقابتی برادی کینین می‌باشد.

هدف: با توجه به این که برادی کینین و هیستامین از مهم‌ترین واسطه‌های التهابی می‌باشند، اثرات نوسکاپین بر التهاب حاصل از برادی کینین و هیستامین در کف پای موش سفید صحرایی نر سالم مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: التهاب حاد کف پا توسط تزریق زیر جلدی ۰/۱ میلی‌لیتر محلول برادی کینین (۳ nmol) یا محلول هیستامین ۱ درصد ایجاد شد. نوسکاپین در دوزهای (۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و ایندومتاسین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به عنوان استاندارد یک ساعت قبل از تزریق برادی کینین یا هیستامین به صورت داخل صفاقی تزریق شدند. ضخامت کف پای موش‌های صحرایی قبل از تزریق برادی کینین و بعد از ۱۵، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه و در مورد هیستامین قبل از تزریق و ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه بعد از آن به کمک کولیس اندازه‌گیری و با گروه کنترل مقایسه گردید.

یافته‌ها: تجویز نوسکاپین به طور معنی‌داری باعث کاهش التهاب حاصل از برادی کینین گردید. بیشترین اثر ضدالتهابی در دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به دست آمد که مشابه اثر ضدالتهابی ایندومتاسین بود. نوسکاپین بر التهاب ناشی از هیستامین اثر مهارکننده دارد و ماکزیمم این اثر در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده گردید که با اثر ایندومتاسین قابل مقایسه بود.

نتیجه‌گیری: نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که نوسکاپین همانند داروی ضدالتهاب می‌تواند پاسخ التهابی ناشی از برادی کینین و هیستامین را در کف پای موش صحرایی مهار کند.

کل واژگان: نوسکاپین، التهاب، برادی کینین، هیستامین، موش سفید صحرایی



## مقدمه

سیستم کینین یکی از سیستم‌های پروتئینی پلازما است که در ایجاد واکنش‌های التهابی نقش دارد. برادی‌کینین به عنوان مهم‌ترین محصول این سیستم باعث شروع واکنش‌های التهابی، فعالیت نورن‌های مسیر عصبی درد و شروع ادم در بخش آسیب‌دیده می‌شود [۱،۲]. البته برادی‌کینین مسؤول تمام فازهای التهاب نیست، در واقع برادی‌کینین از سایر واسطه‌های التهابی که شامل ایکوزانوییدها، هیستامین، رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ماده p می‌باشند، محرک قوی‌تری محسوب می‌شود [۳]. برادی‌کینین یکی از مهم‌ترین میانجی‌های اندوزن دخیل در التهاب و ترشح پلازما می‌باشد، بنابراین قطعاً نقش موثری در بیماری‌های التهابی دارد [۴،۵،۶].

نوسکاپین یک آلکالوئید ایزوکینولینی مشتق از اپیوم است که اثر ضدسرفه آن به خوبی شناخته شده است [۷،۸]. این ترکیب فاقد خاصیت‌های تضعیف تنفسی، ضد درد و اعتیادآوری است که از طریق اثر برگیرنده‌های اپیوئیدی ایجاد می‌شود [۹]. تحقیقات نشان داده است که انقباضات حاصل از برادی‌کینین در ایلئوم کوچک هندی توسط نوسکاپین به صورت وابسته به دوز کاهش می‌یابد [۱۰]. در مطالعات اخیر نوسکاپین در موارد متعددی پاسخ‌های ناشی از برادی‌کینین را آنتاگونیست نموده است [۱۱،۱۲،۱۳]. با توجه به موارد فوق بر آن شدیم که با ایجاد یک مدل التهابی اثر نوسکاپین را به طور مستقیم بر التهاب حاصل از برادی‌کینین بررسی نماییم. جهت بررسی بهتر اثرات ضدالتهابی نوسکاپین اثر آن بر یکی از میانجی‌های مهم التهابی دیگر یعنی هیستامین نیز مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

### حیوانات

موش‌های سفید آزمایشگاهی نر از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰ - ۲۰۰ گرم از انستیتو پاستور تهران تهیه شده بودند و در گروه‌های شش تایی در قفس در شرایط دوره نوری کنترل شده و دمای ۲۲ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند و به آب و غذای مخصوص دسترسی داشتند.

## داروها

در این پژوهش از نوسکاپین (هدیه از شرکت تمار) ایندومتاسین، برادی‌کینین و هیستامین (تهیه شده از شرکت سیگما) استفاده گردید. حلال نوسکاپین اسید استیک خالص به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر برای ۱۰ - ۵ میلی‌گرم نوسکاپین می‌باشد. پس از حل شدن نوسکاپین از سالیان برای تهیه دوزهای مورد نظر استفاده گردید. برای تهیه ایندومتاسین، بعد از توزین، پودر خشک در محلول ۰/۱ میلی‌مولار کربنات سدیم به صورت سوسپانسیون درآمد و یک قطره توین ۸۰ به آن اضافه شد تا رسوب نکند. به منظور تهیه محلول برادی‌کینین و هیستامین نیز از سالیان استفاده شد. هنگام اندازه‌گیری ضخامت کف پا حیوانات با اتر بی‌هوش می‌شدند.

## مراحل آزمایش

### ۱) ایجاد التهاب توسط برادی‌کینین

برای این مرحله آزمون، موش‌های صحرائی نر به شش گروه تقسیم شدند که شامل یک گروه کنترل و یک گروه حامل (Vehicle) و چهار گروه آزمون بودند. در هر گروه هشت سر حیوان مورد استفاده قرار گرفت. در گروه‌های آزمون ابتدا نوسکاپین با دوزهای (۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) یا ایندومتاسین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت درون صفاقی تزریق گردید. در همه گروه‌ها التهاب حاد کف پا به وسیله تزریق زیر جلدی ۰/۱ میلی‌لیتر محلول برادی‌کینین (۳ nmol) به کف پای چپ حیوان ایجاد می‌شد. تمامی تزریق‌های درون صفاقی یک ساعت قبل از ایجاد التهاب در کف پای حیوانات انجام شده و ضخامت کف پای حیوانات قبل از تزریق برادی‌کینین و در زمان‌های ۱۵، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق برادی‌کینین اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری ضخامت پا از کولیس استفاده گردید [۱۴]. در گروه حامل، سالیان به صورت درون صفاقی تزریق شد. گروه کنترل هیچ‌گونه تزریق درون صفاقی نداشت.

### ۲) ایجاد التهاب توسط هیستامین

در این مرحله نیز حیوانات در شش گروه مورد آزمایش قرار گرفتند. التهاب حاد کف پا با تزریق زیر جلدی ۰/۱



نوسکاپین بر کاهش التهاب کف پا در این مدل حیوانی مشاهده گردید که در تمام زمان‌های اندازه‌گیری (۱۵، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه) همه دوزهای نوسکاپین باعث کاهش معنی‌دار ضخامت کف پا نسبت به گروه کنترل می‌گردد. بیشترین کاهش التهاب مربوط به دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که مشابه اثر ایندومتاسین (ضدالتهاب استاندارد) می‌باشد. افزایش دوز نوسکاپین به ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش التهاب کمتری نسبت به دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم گردید (نمودار شماره ۱). گروه حامل که به جای نوسکاپین، سالین دریافت کرد، اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل نداشت (نمودار شماره ۱).

در مرحله دوم آزمایش در ساعت اول پس از تزریق هیستامین تنها در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش التهاب معنی‌دار مشاهده شد که قابل مقایسه با اثر ایندومتاسین در این ساعت است. ولی در ساعت دوم و سوم در تمامی گروه‌های آزمون کاهش التهاب معنی‌دار مشاهده شد. بیشترین کاهش التهاب در ساعت دوم و سوم، مربوط به دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که مشابه اثر ضدالتهابی ایندومتاسین در این ساعت‌ها می‌باشد (نمودار شماره ۲).

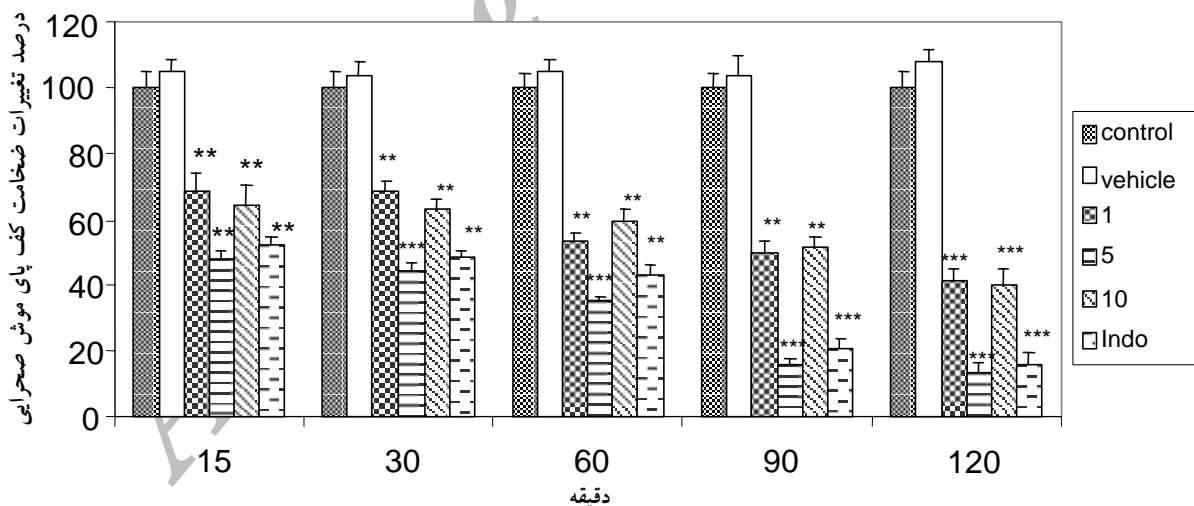
میلی‌لیتر محلول هیستامین ۱ ایجاد شد. نوسکاپین با دوزهای (۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و یا ایندومتاسین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) مانند مرحله اول یک ساعت قبل از القای التهاب به صورت درون صفاقی تزریق شد. ضخامت کف پای حیوانات قبل از تزریق هیستامین و ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه بعد از آن با کولیس اندازه‌گیری گردید. گروه‌های کنترل و حامل مثل مرحله اول تیمار شدند. در هر گروه ۱۰ سر حیوان مورد استفاده قرار گرفت.

## تجزیه و تحلیل آماری

نرم‌افزارهای استفاده شده برای تجزیه و تحلیل آماری و رسم نمودارها SPSS و Excel و آزمون به کار رفته student's t-test بوده است. تفاوت بین میانگین‌ها در سطح  $p < 0.05$  از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار گزارش شده است.

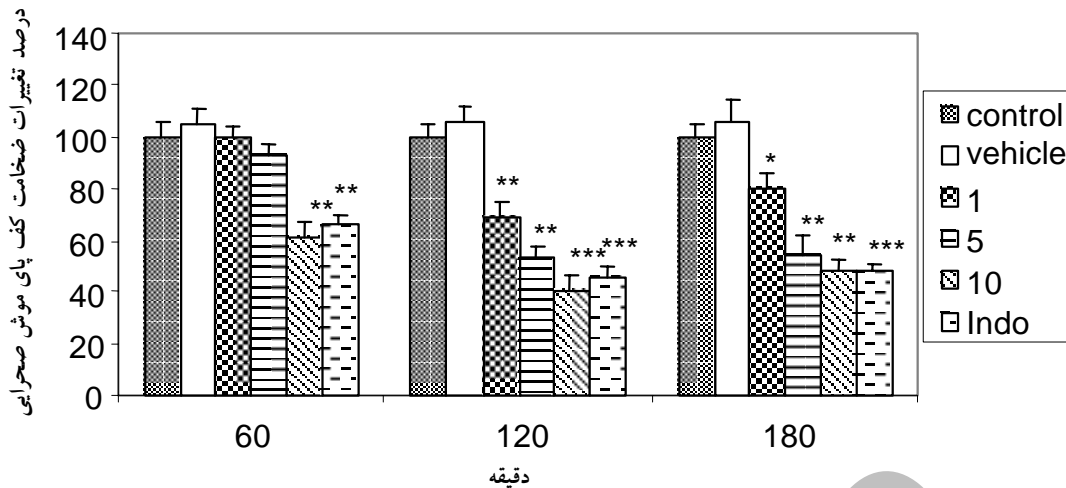
## نتایج

در مرحله اول آزمایش تزریق برادی‌کینین موجب القای التهاب حاد در کف پای موش صحرایی گردید. با بررسی اثر



نمودار شماره ۱- اثر نوسکاپین بر التهاب حاصل از برادی‌کینین و مقایسه آن با ایندومتاسین. اثر تزریق درون صفاقی مقادیر مختلف نوسکاپین (۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با اندازه‌گیری ضخامت کف پای موش‌های صحرایی در زمان‌های ۱۵، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه بعد از تزریق زیر جلدی برادی‌کینین بررسی شد و با داروی ضد التهاب استاندارد ایندومتاسین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) مقایسه گردید. نتایج = میانگین  $\pm$  خطای معیار،  $n = 8$ .  $p < 0.001$  \*\*\*،  $p < 0.01$  \*\*,  $p < 0.05$  \*  
Indo = ایندومتاسین





نمودار شماره ۲- اثر نوسکاپین بر التهاب حاصل از هیستامین و مقایسه آن با ایندومتاسین. اثر تزریق درون صفاقی مقادیر مختلف نوسکاپین (۰.۱ و ۰.۵ میلی گرم بر کیلوگرم) با اندازه گیری ضخامت کف پای موش های صحرایی در زمان های ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه بعد از تزریق زیر جلدی هیستامین بررسی شد و با داروی ضد التهاب استاندارد ایندومتاسین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) مقایسه گردید. نتایج = میانگین  $\pm$  خطای معیار، (n = ۱۰)،  $p < 0.05$ ،  $p < 0.01$ ،  $p < 0.001$ ،  $p < 0.0001$  ایندومتاسین = Indo

## بحث

برادی کینین به صورت مستقیم و غیرمستقیم سایر مدیاتورهای

التهابی که نیمه عمر طولانی تری دارند را فعال می کند [۱۷]. از طرفی مطالعات اخیر روی نوزاد موش های صحرایی نشان داده است که نوسکاپین با مهار پاسخ های ناشی از برادی کینین آسیب مغزی متعاقب ایسکمی را کاهش داده است [۱۳]. از آنجایی که برادی کینین در ادم مغزی نقش اساسی دارد مطالعات بالینی روی بیمارانی که دچار سکته مغزی بودند نشان دهنده کاهش مرگ و میر در اثر مصرف نوسکاپین بود [۱۲]. بر اساس همین یافته ها در این کار تحقیقی از مدل ایجاد التهاب به وسیله برادی کینین استفاده شد که نتایج به دست آمده تایید کننده اثر ضد التهابی نوسکاپین، ناشی از تداخل عمل آن با برادی کینین می باشد.

در مرحله دوم تحقیق به منظور بررسی اثر نوسکاپین بر سایر واسطه های التهابی اثر این دارو بر التهاب حاصل از هیستامین در کف پای موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. هیستامین در تنظیم پاسخ های مختلف التهابی و ایمنی نقش دارد، همچنین بعد از تخریب بافتی، هیستامین آزاد شده موجب اتساع عروق خونی و نشت پلاسما ی حاوی واسطه های آماس حاد، پادتن ها و سلول های آماسی می شود [۱۸]. نوسکاپین بر التهاب حاصل از هیستامین نیز اثر مهارکنندگی

در مطالعه حاضر اثر ضد التهابی نوسکاپین بر التهاب حاصل از برادی کینین و هیستامین در دو مرحله جداگانه مورد بررسی قرار گرفته و با اثر ضد التهابی ایندومتاسین که یک داروی ضد التهاب استاندارد می باشد مقایسه شد.

تزریق زیر جلدی برادی کینین یک تورم وابسته به دوز در کف پای موش ایجاد می کند [۱۵]. نتایج حاصل از آزمایش های ما حاکی از آن است که نوسکاپین می تواند مانع از پیشرفت التهاب حاصل از برادی کینین در کف پای موش صحرایی شود، به نحوی که افزایش دوز نوسکاپین تا ۵ میلی گرم بر کیلوگرم باعث افزایش اثر ضد التهابی آن گردید. اما دوز بالاتر یعنی ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم اثر ضد التهابی کمتری نسبت به دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم نشان داد. شاید بتوان این گونه اظهار نظر کرد که این کاهش اثر ضد التهابی در دوز بالاتر به دلیل تغییر در آزاد سازی میانجی های التهابی مختلف و یا تمایل متفاوت نوسکاپین در اتصال به گیرنده ها در دوز بالاتر می باشد.

برادی کینین نیمه عمر بسیار کوتاهی داشته و به سرعت به پپتیدهای غیرفعال تجزیه می شود [۱۶]. با وجود این به علت توانایی سیستم کینین بر القای تولید برادی کینین این ماده قوی ترین عامل در شروع التهاب شناخته شده است. همچنین



پروستاگلاندین) می‌باشد برابری می‌کرد. در مطالعات قبلی نیز ایندومتاسین در کاهش التهاب ناشی از آگونیست گیرنده B2 برادی‌کینین موثر بوده است [۱۵]. بنابراین بر اساس نتایج مطالعه حاضر احتمالاً نوسکاپین با آنتاگونیزه کردن پاسخ ناشی از برادی‌کینین می‌تواند مانع پیشرفت التهاب حاصل از برادی‌کینین در کف پای موش صحرایی شود. در مطالعات قبلی نوسکاپین به عنوان آنتاگونیست غیر رقابتی برادی‌کینین شناخته شده است [۱۰]، ولی از آنجایی که نوسکاپین به طور معنی‌داری باعث کاهش التهاب ناشی از هیستامین نیز گردید بنابراین ممکن است اثر نوسکاپین بر روی برادی‌کینین اختصاصی نباشد. شناخت مکانیسم دقیق اثر این دارو احتیاج به تحقیقات بیشتر و مخصوصاً مطالعات بایندینگ روی گیرنده‌های برادی‌کینین و هیستامین دارد.

وابسته به دوز داشت که ماکزیمم اثر در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده شد. هیستامین در سلول‌های مختلف باعث آزاد شدن اسید آراشیدونیک می‌شود و به این ترتیب هیستامین آزاد شده در حوزه التهاب می‌تواند از طریق تولید پروستاگلاندین‌ها یا لوکوترین‌ها بر واکنش موضعی اثر بگذارد. برادی‌کینین نیز یک محرک قوی در تولید ایکوزانوییدها بوده و سیستم کینین از عمده‌ترین سیستم‌هایی است که در فعال‌سازی آبشار اسید آراشیدونیک دخالت دارد [۱۹،۲۰]. بنابراین احتمالاً نوسکاپین اثرات ضد التهابی خود را در مهار مسیر فعال شدن آبشار اسید آراشیدونیک اعمال می‌دارد.

اثر ضدالتهابی نوسکاپین در برابر هیستامین و برادی‌کینین با اثر ایندومتاسین که یکی از قوی‌ترین داروهای ضد التهاب غیراستروئیدی و مهارکننده سیکلواکسیژناز (مولد

## منابع

1. Aksoy MO, Harakal C, Smith JB, Stewart GJ and Zerweck CP. Mediation of bradykinin-induced contraction in canine veins via thromboxane /prostaglandin endoperoxide receptor activation. *Br. J. Pharmacol.* 1990; 99: 461- 466.
2. Northover AM. Modification by some antagonists of the shape changes of venous endothelial cells in response to inflammatory agent *in vitro*. *Agents Action.* 1990; 29: 184 - 188.
3. Ishizaka T, Iwata M and Ishizaka K. Release of histamine and archidonate from mouse mast cells induced by glycosylation enhancing factor and bradykinin. *J. Immunol.* 1985; 134: 1880-1887.
4. Colman RW and Wong PY. Kallikerin-kinin system in pathologic conditions: In Handbook of Experimental Pharmacology Vol 25, Supple Bradykinin Kalidin and Kallikerin. Edited by Erdos EG. Springer. Berlin 1979; pp: 569 - 607.
5. Regoli D, Barabe J. Pharmacology of bradykinin and related kinins. *Pharmacol. Rev.* 1980; 32: 1-46.
6. Proud D and Kaplan AP. Kinin formation mechanisms and role in inflammatory disorders. *Annu. Rev. Immunol.* 1988; 6: 49 - 83.
7. Karlsson MO, Dahlstorn B, Eckerans SA, Johanson M, Alm AT. Pharmacokinetics of oral noscapine. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 1990; 39: 275 - 279.
8. Ke Y, Ye K, Grossniklaus HE, Archer DR, Joshi HC and Kappa JA. Noscapine inhibits tumor growth with little toxicity to normal tissues or inhibition of immune responses. *Cancer immunol Immunother.* 2000; 49: 217 - 225.
9. Idanpaan- Heikkila JE, Jalonen K and Vartianinen Am. Evaluation of the antitussive effect of noscapine and codeine on citric acid-induced cough in guinea pigs. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 1976; 25: 333-338.
10. Mahmoudian M and Mojaverian N. Effect of noscapine the antitussive opioid alkaloid on bradykinin- induced smooth muscle contraction in the isolated ileum of the guinea- pig. *Acta Physiol. Hung.* 2001; 88: 231-237.



11. Ebrahimi SA, Zareie MR, Rostami P and Mahmoudian M. Interaction of nospapine with bradykinin mediation of cough response. *Acta Physiol. Hung.* 2003; 90: 147 - 155.
12. Mahmoudian M, Mehrpour M, Benissa F and Siadatpour Z. A preliminary report on the application of nospapine in the treatment of stroke. *Eur. J. Clin. pharmacol.* 2003; 59: 579-581.
13. Mahmoudian M, Siadatpour Z, Ziai SA, Mehrpour M, Benissa F and Nobakht M. Reduction of the prenatal hypoxic-ischemic brain edema with nospapine. *Acta Physiol Hung.* 2003; 90: 313-318.
14. Wei F, Zous S, Young A, Dubner R and Ren K. Effect of four herbal extracts on adjuvant-induced inflammation and hyperalgesia in rats. *J. Altern complemented.* 1999; 5: 429-436.
15. Ueno A, Naraba H, Kojima F, Morita E and Oh-ishi S. FR190997, a novel bradykinin B2 agonist expresses longer action than bradykinin in paw edema formation and hypotensive response. *Immunopharmacology.* 1999; 45: 89-93.
16. Vane GR. The release and fate of vaso-active hormones in the circulation. *Br. J. Pharmacol.* 1969; 35: 209 - 242.
17. Oneill LA and Lewis GP. Interleukin-1 potentiates bradykinin – and TNF alfa-induced PGE2 release. *Eur. J. Pharmacol.* 1989; 166: 131-137.
18. Katzung BG. Histamine, serotonin & the Ergot Alkaloid In: Basic and clinical pharmacology. 9 th ed, prentice Hall International Inc. Landon. 2004; pp: 259-280.
19. Adam A and Damas J. The kallikerin-kininogen- kinin system: Current concepts and perspectives. *Ann. Biol. Clin.* 1987; 45: 289 - 395.
20. Kontos HA, Wel EP, Kukreia RC, Ellis EF, Hess ML. Differences in endothelium-dependent cerebral dilation by bradykinin and acetylcholine. *Am. J. Physiol.* 1990; 258: 1261 - 1266.

Archive of SID

