

TINJAUAN PUSTAKA

CAPSAICIN LOADED NANOLIPOSOME AGONIS TRPV1 : POTENSI TERAPI DALAM PENATALAKSANAAN ATEROSKLEROSIS

I Gede Gita Sastrawan¹

¹Program Studi Sarjana Kedokteran dan Profesi Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, Denpasar

ABSTRAK

Pendahuluan: Aterosklerosis diketahui sebagai penyebab utama penyakit kardiovaskular. Aterosklerosis merupakan proses patologis kompleks yang terjadi di pembuluh darah. Penyakit ini dapat dipicu oleh retensi, oksidasi, dan modifikasi lipid, yang memicu peradangan kronis, yang akhirnya menyebabkan trombosis atau stenosis.

Hasil dan Pembahasan: Kontruksi *capsaicin loaded nanoliposome* dilakukan dengan ekstraksi capsaicin dari cabai (*Capsicum frutescens L.*) menggunakan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE). Kemudian hasil ekstraksi tersebut dikonstruksikan dengan *nanoliposome* menggunakan metode *thin film hydration*. Capsaicin memiliki LD₅₀ pada *male Swiss albino mice* sebesar 190 mg/KgBB per oral. Capsaicin yang bersifat *hydrophobic* akan melewati membran plasma sel endotel dan menuju sisi *intracellular vanilloid-binding site* reseptor TRPV1 (*Transient Receptor Potential Vanilloid 1*). Aktivasi TRPV1 dapat meningkatkan influks kalsium yang berdampak pada peningkatan ekspresi *ATP-binding cassette transporter A1* (ABCA1) dan penurunan LRP1 (*low-density lipoprotein protective protein 1*). Peningkatan influks Ca²⁺ dan aktivasi TRPV1 endotel juga meningkatkan fosforilasi PKA (protein kinase A) yang berimplikasi pada peningkatan ekspresi UCP2 yang menurunkan pembentukan ROS dan *foam cell* pada aterosklerosis.

Kesimpulan: *Capsaicin loaded nanoliposome* memiliki potensi dalam penatalaksanaan aterosklerosis.

Kata kunci : Aterosklerosis, Capsaicin, Nanoliposome, TRPV1

ABSTRACT

Introduction: Atherosclerosis known as the cause most of cardiovascular disease. Atherosclerosis is a complex pathological process that occurs in the blood vessel. This disease can be triggered by lipid modification, which cause chronic inflammation, eventually lead to thrombosis or stenosis.

Result and Discussion: Capsaicin loaded nanoliposome was constructed by extracting capsaicin from chili (*Capsicum frutescens L.*) using *Microwave Assisted Extraction* (MAE) method. Then the capsaicin extraction results were constructed with nanoliposome using a thin film hydration method. Capsaicin has LD₅₀ in male Swiss albino mice at 190 mg/kg per oral. Once administered orally, hydrophobic capsaicin will pass through the plasma membrane of endothelial cells and lead to the receptor side of the intracellular vanilloid-binding site reseptor TRPV1 (*Transient Receptor Potential Vanilloid 1*). The activated TRPV1 is capable of increasing the calcium ion influx which affect the increased expression of *ATP-binding cassette transporter A1* (ABCA1) and the decreased expression of LRP1 (*low-density lipoprotein protective protein 1*). Due to increased Ca²⁺ influx, endothelial TRPV1 activation also increases PKA phosporilation (protein kinase A) which implies increased UCP2 expression resulting in decreased ROS formation and foam cell formation in atherosclerosis.

Conclusion: Capsaicin loaded nanoliposome has potential in the management of atherosclerosis.

Keywords: Atherosclerosis, Capsaicin, Nanoliposome, TRPV1

PENDAHULUAN

Penyakit kardiovaskular merupakan masalah kesehatan terbesar di dunia. Diperkirakan 17,3 juta orang meninggal dunia per tahun karena penyakit kardiovaskular, yang mewakili 31% dari semua kematian secara global. Penyakit kardiovaskular juga menjadi penyebab kematian utama di Indonesia. Pada tahun 2013, prevalensi penyakit gagal jantung di Indonesia sebesar 0,3%, prevalensi jantung koroner sebesar 1,5%, dan prevalensi stroke sebesar 12,1%. Penyakit kardiovaskular merupakan kelompok gangguan yang meliputi penyakit jantung, penyakit pembuluh darah, dan penyakit pembuluh darah otak. *World Health Organization* (WHO) membedakan penyakit ini menjadi dua jenis, yaitu penyakit kardiovaskular yang disebabkan oleh aterosklerosis dan penyakit kardiovaskular lainnya. Penyakit kardiovaskular yang disebabkan oleh aterosklerosis meliputi penyakit jantung iskemik atau penyakit arteri

koroner, penyakit serebrovaskular, serta penyakit aorta dan arteri. Sedangkan penyakit jantung lainnya meliputi penyakit jantung bawaan, penyakit jantung rematik, kardiomiopati, dan aritmia jantung.^[1-3]

Aterosklerosis diketahui sebagai penyebab utama penyakit kardiovaskular. Aterosklerosis merupakan proses patologis kompleks yang terjadi di pembuluh darah. Penyakit ini dapat dipicu oleh retensi, oksidasi, dan modifikasi lipid, yang memicu peradangan kronis, yang akhirnya menyebabkan trombosis atau stenosis.^[4] Aterosklerosis ditandai dengan adanya perubahan dinding arteri yang disebabkan oleh adanya akumulasi lipid ekstra sel, rekrutmen dan migrasi monosit, pembentukan sel busa, serta deposit matriks ekstraseluler.^[5] Terjadinya akumulasi lipid (plak) di dalam lumen arteri menyebabkan pembuluh darah tidak lentur, permukaan dalam pembuluh darah menjadi tidak beraturan dan lumen menjadi sempit. Terjadinya ruptur pada plak yang tertimbun dapat memicu berbagai manifestasi klinis yang mematikan. Komplikasi klinis

yang dapat disebabkan oleh penyakit ini adalah penyakit jantung koroner (penyakit arteri koroner dan penyakit pembuluh darah koroner), penyakit serebrovaskular (stroke) dan penyakit vaskular perifer.^[3]

Dewasa ini, penelitian mengarah pada zat aktif capsaisinoid yang digunakan sebagai anti aterosklerosis. *Capsaicin* diketahui dapat berfungsi sebagai anti-aterosklerosis. Zat ini tidak hanya berperan untuk menurunkan kadar kolesterol darah, tetapi juga dapat menjaga fungsi endotel pembuluh darah dari kerusakan oksidatif.^[6] Bioavailabilitas *capsaicin* yang diadministrasikan per oral tergolong rendah sehingga diperlukannya suatu enkapsulasi. Enkapsulasi dengan nanoliposome menjadi agen terapi menjanjikan karena mampu meningkatkan absorpsi dan bioavailabilitas dari *capsaicin* yang diadministrasikan per oral.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Mekanisme Kontruksi dan Farmakokinetik *Capsaicin Loaded Nanoliposome*

Mekanisme Kontruksi

Ekstraksi *capsaicin* dari cabai (*Capsicum frutescens L.*) menggunakan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE). Sampel simplisia kering cabai (*Capsicum frutescens L.*) sebanyak 0.5 gram diletakkan pada bejana ekstraksi yang kemudian dicampur dengan aseton sebanyak 15 mL sebagai pelarut ekstraksi. Hasil optimum ekstraksi *capsaicin* menggunakan teknik MAE berlangsung pada suhu 120°C dengan menggunakan daya 150 W dan dilakukan selama 15 menit. Setelah didinginkan, sebanyak 10 mL supernatan diuapkan menggunakan *dry nitrogen*. Ekstraksi *capsaicin* menggunakan pelarut aseton menghasilkan rentangan kandungan *capsaicin* sebanyak 9.73-12.14 mg/g simplisia kering.^[7,8]

Kontruksi *nanoliposome* dengan *capsaicin* dilakukan dengan metode *thin film hydration*. *Capsaicin* dan lipid dimasukkan ke dalam wadah dan digunakan kloroform untuk melarutkan lipid dengan *capsaicin*. *Thin lipid film* disiapkan dengan menguapkan kloroform menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Kemudian, campuran tersebut didiamkan semalam pada mesin pengering untuk meningkatkan terjadinya eliminasi pada larutan. Kemudian ditambahkan *phosphate buffer* (pH 7.4) sebanyak 20 ml dan dispersi *Thin lipid film* akan selesai terbentuk selama 4 jam dalam suhu 55-60°C menggunakan *rotary evaporator*. Dispersi tersebut kemudian ditempatkan pada sonikator selama 30 menit dengan suhu 55-60°C, lalu suspensi disimpan dalam

ruangan dengan temperatur yang sama selama 1 jam untuk membentuk *vesicle*. Suspensi liposom disentrifugasi pada suhu 4°C dengan kecepatan 15000 rpm menggunakan *cooling centrifuge* selama 15 menit untuk memisahkan sedimen *capsaicin* dan *liposomal vesicle*. Kemudian supernatan dipisahkan dan disuspensi kembali dengan *phosphate buffer* pH 7.4 dan disentrifugasi kembali pada kondisi yang sama. Proses tersebut diulang sebanyak 3 kali untuk pemisahan sedimen secara total. Kemudian suspensi akhir tersebut dilarutkan pada *phosphate buffer* pH 7.4 sebanyak 20 ml kemudian disimpan dalam mesin pendingin 4°C untuk mendapatkan *capsaicin loaded nanoliposome*.^[9,10] Ukuran *capsaicin loaded nanoliposome* sebesar 52.2 ± 1.3 nm dengan rentangan 50-60 nm.^[11]

Farmakokinetik

Jalur oral menjadi pilihan yang menjanjikan dalam administrasi *capsaicin loaded nanoliposome* karena sifatnya yang non-invasif dan tidak mengganggu kenyamanan pasien jika dibandingkan dengan pemberian obat dengan cara lainnya.^[12]

Pada penelitian terhadap *healthy volunteer*, setelah diadministrasikan per oral, *capsaicin* murni sebanyak akan diabsorpsi secara cepat 50% pada lambung, 80% pada jejunum dan 70% pada ileum. *Capsaicin* murni dideteksi pertama kali di plasma pada waktu 10 menit. AUC_{0-t} sebesar 103.6 ± 11.3 ng.min./ml. Konsentrasi plasma (C_{max}) mencapai 2.47 ± 0.13 ng/ml dengan T_{max} 47.08 ± 1.99 menit. Setelah diadministrasikan per oral *capsaicin* murni sebanyak 0.4 mg/KgBB menunjukkan konsentrasi di plasma sebesar 2.47 ng/ml atau setara dengan 8.1 nM. Waktu paruh *capsaicin* adalah 24.87 ± 4.97 menit dan mampu dipertahankan selama 90 menit. Penelitian yang dilakukan pada *white guinea pigs*, menunjukkan bahwa *capsaicin* dimetabolisme oleh CYP2E1 menjadi N-(4,5-dihydroxyl-3-methoxybenzyl) acylamide.^[13] Uraian farmakokinetik diatas menunjukkan mekanisme metabolisme yang cepat setelah diadministrasikannya *capsaicin* per oral. Studi *in vivo* pada tikus menunjukkan bahwa dengan enkapsulasi nanoliposome, terjadi perubahan farmakokinetik pada *capsaicin* (**Tabel 1**). Enkapsulasi dengan nanoliposome tersebut menjadi agen terapi menjanjikan karena mampu meningkatkan absorpsi dan bioavailabilitas dari *capsaicin* yang diadministrasikan per oral.^[14] *Capsaicin* memiliki LD₅₀ pada *male Swiss albino mice* sebesar 190 mg/KgBB per oral dengan memberikan efek toksik berupa *respiratory paralysis*, erosi pada mukosa lambung, *hepatic necrosis* dan *hyperemia*.^[15]

Tabel 1. Farmakokinetik *Capsaicin Loaded Liposome*^[14]

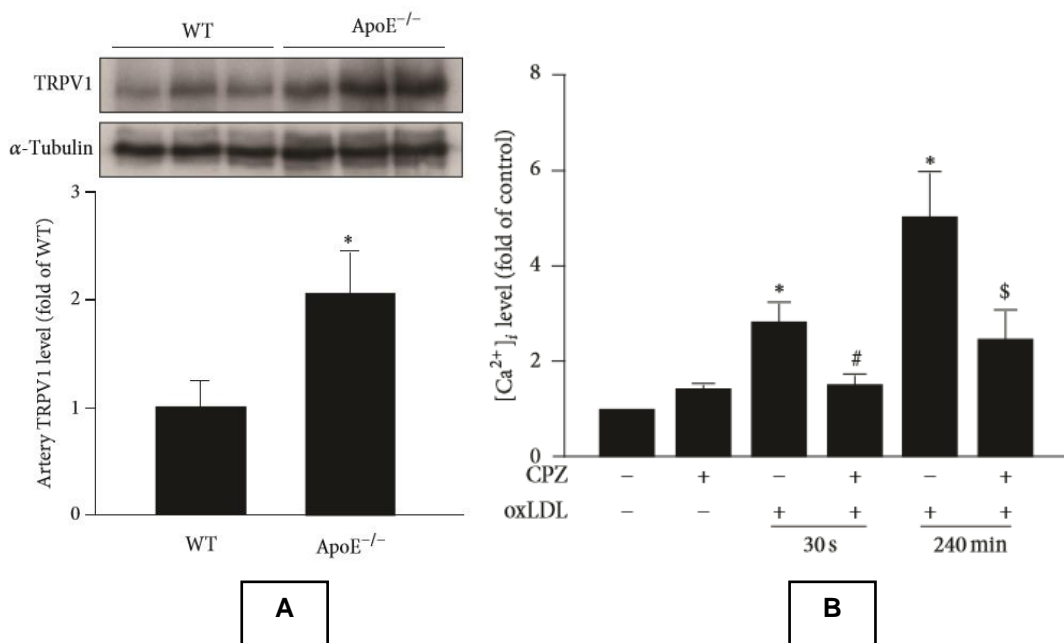
Parameter	Free capsaicin	Capsaicin-loaded liposomes
C _{max} (ng mL ⁻¹)	808.2 ± 23.0	864.9 ± 9.77*
T _{max} (h)	0.75 ± 0.35	4 ± 0**
t _{1/2} (h)	4.61 ± 0.44	29.1 ± 1.30**
MRT	7.12 ± 0.29	42.2 ± 1.39**
AUC _{0-24 h} (h ng mL ⁻¹)	3,786.4 ± 324.4	12,682.1 ± 1,195.6**

Farmakodinamik dan Efek Klinis *Capsaicin Loaded Nanoliposome*

Aktivasi TRPV1 oleh *Capsaicin*

Setelah *capsaicin loaded nanoliposome* terdisintegrasikan di usus halus, senyawa *capsaicin* akan dilepaskan dan diserap oleh usus halus, kemudian diteruskan ke liver melalui vena porta dan mengalami eliminasi pre sistemik (*first pass metabolism*). *Capsaicin* dan metabolitnya kemudian dihantarkan ke berbagai jaringan di tubuh. *Capsaicin* yang bersifat *hydrophobic* akan melewati membran plasma sel endotel dan menuju sisi *intracellular vanilloid-binding site* reseptor TRPV1 (*Transient Receptor Potential Vanilloid 1*). Pada sistem kardiovaskuler, kanal TRPV1 diekspresikan pada ventrikel jantung, permukaan epikardial, trombosit, *myocardium*, sel endotel dan sel otot polos.

TRPV1 memodulasi terjadinya aterosklerosis, *congestive heart failure*, dan hipertensi sistemik.^[16-18] *Capsaicin* yang bersifat agonis terhadap TRPV1 akan menyebabkan aktivasi kanal ion dan perembesan kation. Aktivasi TRPV1 akan secara cepat menyebabkan terjadinya *influx* ion kalsium (Ca^{2+}) ke dalam sel dan menginisiasi *signaling* seperti pelepasan *neuropeptide* untuk mengaktifkan *second messenger*. Selain hal tersebut, aktivasi TRPV1 juga menimbulkan transpor kation organik seperti *tetraethylammonium* (TEA), *N-methylglucamine* (NMG) dan YO-PRO-1.^[19] Pada lesi aterosklerosis yang ditandai dengan tingginya ApoE mampu meningkatkan ekspresi TRPV1 dibandingkan *Wild Type* (WT) pada aorta tikus. Pemberian oxLDL yang merupakan agen inisiasi dari aterosklerosis secara signifikan mampu meningkatkan aktivasi TRPV1 melalui kalsium assay (**Gambar 1**).^[20]

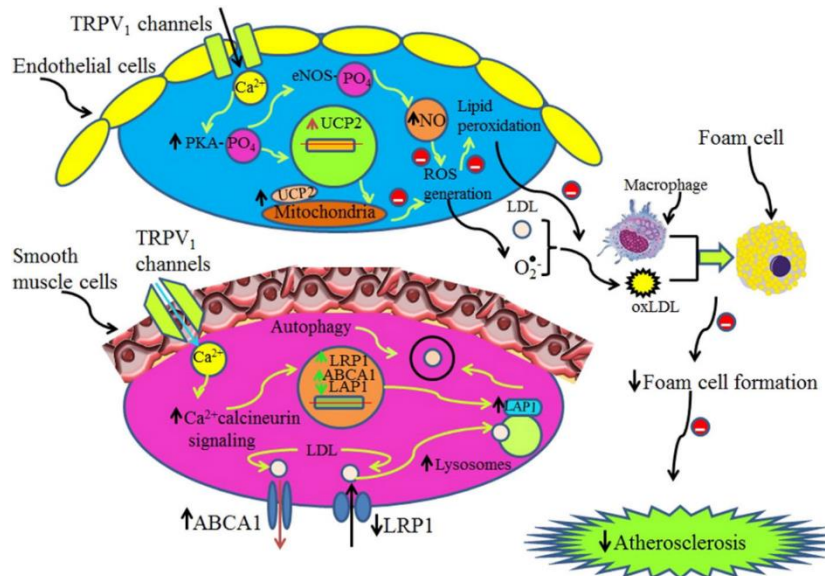


Gambar 1. Ekspresi TRPV1. (A) TRPV1 Meningkat pada Lesi Aterosklerosis ApoE. (B) Peningkatan Kalsium Assay pada Pemberian oxLDL (CPZ: Capsazepine, Antagonis TRPV1).^[20]

Menginduksi ABCA1

TRPV1 yang teraktivasi pada sel otot polos mampu meningkatkan *influx* ion kalsium. *Influx* kalsium berpengaruh terhadap peningkatan Ca^{2+} -calcineurin dan PKA *signaling*. Akibatnya adalah terjadinya peningkatan ekspresi *ATP-binding cassette transporter A1* (ABCA1) dan penurunan ekspresi LRP1 (*low density lipoprotein-related protein 1*). ABCA1 merupakan protein pengatur *cholesterol efflux* dari makrofag menuju ke serum sedangkan LRP1 merupakan protein

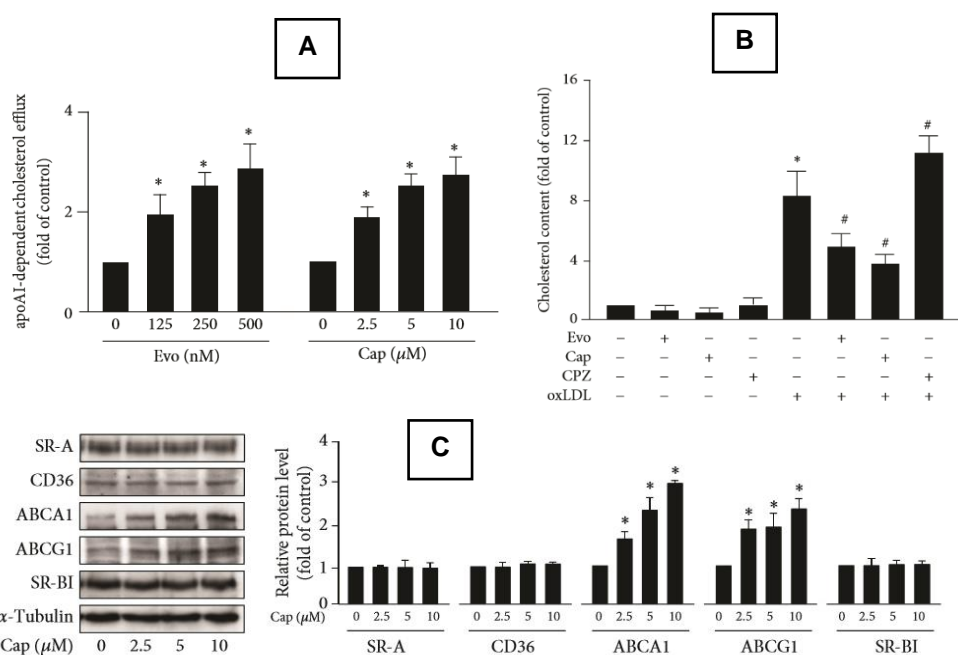
pengatur *cholesterol influx* (**Gambar 2**).^[21] Mekanisme *efflux* kolesterol yang dimediasi oleh ABCA1 dapat dijelaskan melalui transfer pada apoA-I. Kolesterol yang dikeluarkan dari makrofag akan menuju ke apoA-I yang mana akan membentuk kompleks dengan *phospholipid* dan kolesterol pada permukaan sel dan dapat terjadi pada membran plasma. Kompleks ABCA1–apoA-I kemudian diinternalisasi pada *late endosomes* lalu disekresi kembali oleh sel melalui eksositosis.^[22]



Gambar 2. Aktivasi TRPV1 terhadap ABCA1 dan UCP2.^[21]

Pemberian agonis TRPV1 (*Capsaicin* dan *evodiamine*) memberikan efek peningkatan ekspresi apoA1. Diadministrasikan *evodiamine* (125, 250, 500, 500nM) dan *capsaicin* (2.5, 5, 10 μ M) lalu diinkubasi selama 12 jam yang diikuti NBD-cholesterol (1 μ g/mL) 6 jam berikutnya mampu menghasilkan ekspresi apoA1 (10 μ g/mL). Aktivasi TRPV1 oleh agonisnya menimbulkan efek supresi pada akumulasi lipid makrofag akibat oxLDL. Efek pemberian *evodiamine* (0.5 μ M), *capsaicin* (10 μ M), *capsazepine* (10 μ M) dan oxLDL(50 μ g/mL) menunjukkan kondisi peningkatan atau penurunan akumulasi kolesterol intra seluler dari

aktivitas agonis dan antagonis TRPV1. Ekspresi SR-A, CD36, SR-B1, ABCA1 dan ABCG1 yang memiliki peran penting dalam menjaga *homeostasis* kolesterol pada makrofag kemudian dievaluasi akibat teraktivasi TRPV1. Pemberian agonis TRPV1 *evodiamine* (125,250,500nM) dan *capsaicin* (2.5,5,10 μ M) selama 24 jam memiliki efek yang ditunjukkan pada **Gambar 3**. Peningkatan konsentrasi *capsaicin* mampu secara signifikan meningkatkan apoA-I yang menandakan peningkatan *efflux* kolesterol oleh ABCA1, serta terjadinya penurunan jumlah kolesterol intraseluler.^[20]



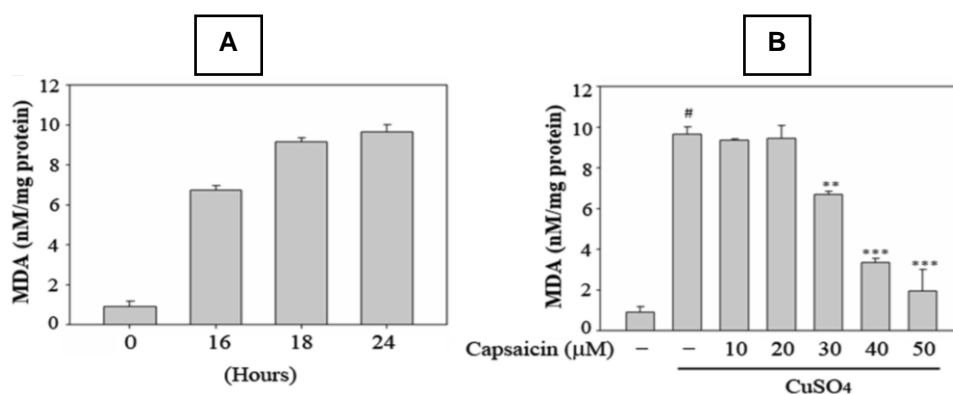
Gambar 3. Efek Aktivasi TRPV1. (A) Peningkatan Ekspresi apoA1 dengan Adanya Agonis TRPV1. (B) Supresi Kolesterol Intraseluler. (C) Ekspresi SR-A, CD36, ABCA1, ABCG1 dan SR-B1.^[20]

Mereduksi Lipid Peroksidasi dan *Foam cell*

Akibat peningkatan *influx* Ca^{2+} , aktivasi TRPV1 endotel juga meningkatkan fosforilasi PKA (*protein kinase A*) yang berimplikasi pada peningkatan ekspresi UCP2. UCP2 merupakan agen anti-oksidatif yang dapat mengurangi kerusakan jaringan akibat efek radikal bebas. Augmentasi dari fosforilasi PKA dapat berimplikasi pada peningkatan fosforilasi eNOS yang meningkatkan produksi NO. Peningkatan produksi NO dan UCP2 mampu berpengaruh pada penurunan pembentukan ROS yang berpengaruh terhadap penurunan pembentukan *foam cell* pada aterosklerosis. Administrasi *capsaicin* dapat menginduksi terjadinya sinyal proses *autophagy-lysosome*. Aktivasi TRPV1 menyebabkan peningkatan kadar enzim lisosomal dan rasio Atg7 dan LC3-II/LC3-I yang merupakan indeks *macroautophagy*. TRPV1 mengaktifkan fosforilasi AMP *protein kinase* pada sel otot polos vaskuler.

Dengan adanya *influx* kalsium oleh mampu menginduksi LAP1 (*lysosomal-associated membrane protein 1*) yang menginisiasi terjadinya *autophagy*. Terjadinya proses *autophagy-lysosome* berfungsi dalam mengurangi pembentukan *foam cell* melalui *engulfment* oleh makrofag (**Gambar 4**).^[18,23]

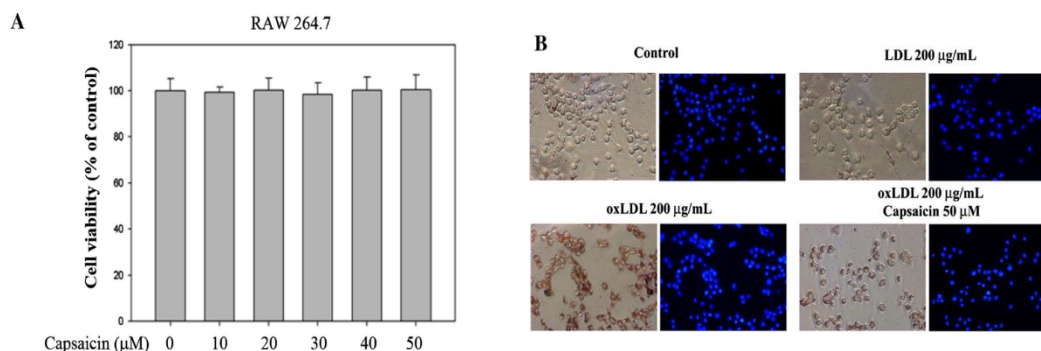
Efek *capsaicin* dievaluasi terhadap lipid peroksidasi. Pada penentuan lipid peroksidasi, digunakan jumlah produksi *malondialdehyde* (MDA) sebagai indikator terjadinya lipid peroksidasi. Pemberian inkubasi $CuSO_4$ $10\mu M$ selama 16, 18, dan 24 jam secara signifikan mampu meningkatkan ekspresi MDA yang mengindikasikan terjadinya peningkatan lipid peroksidasi dengan adanya ion Cu^{2+} dari $CuSO_4$. Selanjutnya pemberian *capsaicin* secara signifikan mampu mengurangi Cu^{2+} -induced pembentukan MDA selama 24 jam.^[24,25]



Gambar 4. Efek *Capsaicin* terhadap Produksi MDA. (A) Cu^{2+} -induce Lipid Peroksidasi pada LDL selama 0,16,18, dan 24 jam. (B) $CuSO_4$ yang diberikan *capsaicin* selama 24 jam.^[24]

Pembentukan *foam cell* merupakan salah satu tahapan inisiasi terjadinya aterosklerosis. Makrofag mengambil oxLDL melalui *scavenger receptors*. Lipid tersebut kemudian terakumulasi pada celah intraseluler dan membentuk *foam cell*. Akumulasi *foam cell* tersebut menjadi proses inisiasi dalam aterosklerosis.^[17,18] *Capsaicin* memiliki kemampuan menghambat pembentukan *foam cell* pada sel makrofag RAW 264.7. Berdasarkan analisis MTT, setelah diberikan *capsaicin*

$50\mu M$ dalam waktu 24 jam, tidak terjadi perubahan yang signifikan terhadap *cell viability* pada makrofag RAW 264.7 yang menandakan tidak adanya aktivitas sitotoksitas yang signifikan terhadap makrofag RAW 264.7. Ketika diberikan *capsaicin* pada oxLDL $200\mu g/mL$ dan dilakukan analisis *oil red O staining*, menunjukkan terjadinya pengurangan terbentuknya *foam cell* pada makrofag RAW 264.7.^[24]



Gambar 5. (A) *Cell viability* dengan Analisis MTT pada RAW dengan Konsentrasi *Capsaicin* yang Berbeda. (B) Sel Makrofag RAW 264.7 yang diberikan $200\mu g/mL$ oxLDL dan LDL serta Diberikan Intervensi *Capsaicin* $50\mu M$.^[24]

SIMPULAN

Capsaicin loaded nanoliposome dikonstruksi dari bahan herbal *capsaicin* yang diekstraksi dari cabai (*Capsicum frutescens L.*) dan ditemukan banyak tumbuh di Indonesia. Administrasi *capsaicin loaded nanoliposome* memiliki efek terhadap aktivasi TRPV1 yang menimbulkan *influx* ion kalsium. *Influx* tersebut berperan dalam mengaktifasi beberapa ion lainnya dalam intraseluler. Aktivasi TRPV1 tersebut dapat memicu terjadinya induksi ABCA1, reduksi terhadap lipid peroksidasi dan pembentukan *foam cell* pada aterosklerosis. Hal tersebut menunjukkan bahwa *Capsaicin Loaded Nanoliposome* ini berpotensi dalam penatalaksanaan terhadap aterosklerosis.

DAFTAR PUSTAKA

1. WHO. Cardiovascular diseases (CVDs). [Online]. 2017. Diakses 20 September 2017. Tersedia pada :<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>
2. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. Situasi Kesehatan Jantung.[Online].2014. Diakses 20 September 2017. Tersedia pada : <http://www.depkes.go.id/download.php?file=download/pusdatin/infodatin/infodatin-jantung.pdf>
3. World Health Organization. Global Atlas on Cardiovascular disease prevention and control.[Online]. 2011. Diakses 20 September 2017. Tersedia pada : http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44701/1/9789241564373_eng.pdf?ua=1
4. Insull W. The Pathology of Atherosclerosis: Plaque Development and Plaque Responses to Medical Treatment. *The American Journal of Medicine*. 2009;122(1):S3-S14. DOI:10.1016/j.amjmed.2008.10.013.
5. Sakakura K, Nakano M, Otsuka F, Ladich E, Kolodgie FD, Virmani R. Pathophysiology of atherosclerosis plaque progression. *Heart Lung Circ*. 2013;22(6):399-411. DOI : 10.1016/j.hlc.2013.03.001
6. Ramdhian MR, Rahmatia N. Potensi Cabai sebagai Anti-Aterosklerosis. *Majority*. 2017;6:56-60.
7. Sharma R, Chinn M, Boyette M. Solvent Extraction and Composition Analysis of Capsaicin from Different Parts of Habanero Peppers (Capsicum Chinese) For Application in Food Processing. Diakses pada : 29 Agustus 2017. Tersedia pada :https://newcropsorganics.ces.ncsu.edu/specialty-crops/specialty-crops-research/ratnasharms_capsaicin/
8. Nazari F, Ebrahimi SN, Talebi M, Rassouli A, Bijanadeh HR. Multivariate Optimisation of Microwave-assisted Extraction of Capsaicin from *Capsicum frutescens L.* and Quantitative Analysis by ¹H-NMR. *Phytochem. Anal*. 2007;18:333–340. DOI: 10.1002/pca.987 (10)
9. B. Mukherjee, B. Patra, B. Layek, A. Mukherjee, Sustained release of acyclovir from nanoliposomes and nanoniosomes: an in vitro study, *Int. J. Nanomed*. 2007;2:213-225.
10. Giri TK, Bhowmick S, Maity S. Entrapment of capsaicin loaded nanoliposome in pH responsive hydrogel beads for colonic delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2017;39:417-422. DOI: 10.1016/j.jddst.2017.05.002
11. Zhu Y, Wang M, Zhang J, Peng W, Firempong CK, Deng W, Wang Q et al. Improved oral bioavailability of capsaicin via liposomal nanoformulation: preparation, in vitro drug release and pharmacokinetics in rats.*Arch. Pharm. Res*. 2014. DOI : 10.1007/s12272-014-0481-7
12. Dhirendra., S. Enhancement of oral bioavailability and solid dispersion. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2009;01(07):13-27.
13. Chaiyasit K, Khovidhunkit W, Wittayalertpanya S. Pharmacokinetic and The Effect of Capsaicin in *Capsicum frutescens* on Decreasing Plasma Glucose Level. *J Med Assoc Thai*. 2009;92:108-113.
14. Zhu Y, Wang M, Zhang J, Peng W, Firempong CK, Deng W, Wang Q et al. Improved oral bioavailability of capsaicin via liposomal nanoformulation: preparation, in vitro drug release and pharmacokinetics in rats.*Arch. Pharm. Res*. 2014. DOI : 10.1007/s12272-014-0481-7.
15. Surh YJ, Lee SS. Capsaicin, A Double-Edged Sword: Toxicity, Metabolism, And Chemopreventive Potential. *Life Sciences*. 1995;56:1845-1855.
16. Li H, Wang S, Chuang AY, Cohen BE, Chuang H. Activity-dependent targeting of TRPV1 with a pore-permeating capsaicin analog.*PNAS*. 2011;108:8497–8502. DOI : 10.1073/pnas.1018550108.
17. X. Hao, J. Chen, Z. Luo, H. He, H. Yu, L. Ma, S. Ma, T. Zhu, D. Liu, Z. Zhu, TRPV1 activation prevents high-salt diet-induced nocturnal hypertension in mice. *Pflugers Arch*. 2011;461:345–353.
18. L. Li, F. Wang, X. Wei, Y. Liang, Y. Cui, F. Gao, J. Zhong, Y. Pu, Y. Zhao, Z. Yan, W.J. Arendshorst, B. Nilius, J. Chen, D. Liu, Z. Zhu, Transient receptor potential vanilloid 1 activation by dietary capsaicin promotes urinary sodium excretion by inhibiting epithelial sodium channel α subunit-mediated sodium reabsorption. *Hypertension*. 2014;64:397–404.
19. Chung MK, Güler AD, Caterina MJ. TRPV1 shows dynamic ionic selectivity during agonist stimulation. *Nat Neurosci*. 2008;11:555–564.
20. Zhao JF, Ching LC, Kou YR, Lin SJ, Wei J, Shyue SK, Lee TS. Activation of TRPV1 Prevents OxLDL-Induced Lipid Accumulation and TNF- α -Induced Inflammation in Macrophages: Role of Liver X Receptor α . *Mediators of Inflammation*. 2013:1-14. DOI : 10.1155/2013/925171.
21. Randhawa PK, Jaggi AS. TRPV1 channels in cardiovascular system: A double edged sword?. *International Journal of Cardiology*. 2017; 228:103–113. DOI : 10.1016/j.ijcard.2016.11.205.
22. Charvet YL, Wang N, Tall AR. Role of HDL, ABCA1, and ABCG1 Transporters in Cholesterol Efflux and Immune Responses. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009:1-5. DOI: 10.1161/ATVBAHA.108.179283.
23. S. Xiong, P. Wang, L. Ma, P. Gao, L. Gong, L. Li, Q. Li, F. Sun, X. Zhou, H. He, J. Chen, Z. Yan, D. Liu, Z. Zhu, Ameliorating endothelial mitochondrial dysfunction restores coronary function via transient receptor potential vanilloid 1-mediated

- protein kinase α /uncoupling protein 2 pathway. Hypertension. 2016; 67:451–460.
24. Chen KS, Chen PN, Hsieh YS, Lin CY, Lee YH, Chu SC. Capsaicin protects endothelial cells and macrophage against oxidized low-density lipoprotein-induced injury by direct antioxidant action. Chemico-Biological Interactions. 2015;228:35–45.
25. K.H. Lu, P.N. Chen, K.H. Lue, M.T. Lai, M.S. Lin, Y.S. Hsieh, S.C. Chu, 20 - Hydroxyflavanone induces apoptosis of human osteosarcoma 143 B cells by activating the extrinsic TRAIL- and intrinsic mitochondria-mediated pathways, Nutr. Cancer 66 (2014) 625–635.