

بررسی اثرات ضد دردی گیاه کاکوتی (*Ziziphora tenuior* L.) در موش کوچک آزمایشگاهی نر بالغ

علی قربانی رنجبری^{۱*}، محمدرضا یاریار^۱، فاطمه جویبار^۱، نازنین قربانی^۱

۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، کازرون، ایران.

یافته / دوره شانزدهم / شماره ۴ / زمستان ۹۳ / مسلسل ۶۲

چکیده

دریافت مقاله: ۹۳/۹/۱ پذیرش مقاله: ۹۳/۱۰/۱۴

*** مقدمه:** کاکوتی یکی از گیاهان دارویی سنتی است. از ترکیبات شیمیایی فعال و اصلی این گیاه ماده ای تحت عنوان *Pulegone* می باشد که اثرات ضد دردی و ضد التهابی آن به خوبی مشخص شده است. لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات ضد دردی گیاه کاکوتی (*Ziziphora tenuior* L.) بومی منطقه سیرجان (پاریز) در موش آزمایشگاهی نر بالغ است.

*** مواد و روش ها:** در این پژوهش، پس از جمع آوری برگ و سرشاخه گیاه کاکوتی از منطقه سیرجان عصاره گیری به روش خیساندن صورت پذیرفت. فعالیت ضد دردی با استفاده از تست فرمالین مورد ارزیابی قرار گرفت. از ۶ گروه موش های در نظر گرفته شده به ۳ گروه، عصاره هیدروالکلی در غلظت های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی تزریق شد. گروه کنترل بدون درمان و گروه شاهد حلال دارو یعنی سرم فیزیولوژی را به صورت داخل صفاقی دریافت نمود. گروه نیز مورفین را به میزان ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم دریافت نمود. در ادامه داده ها جمع آوری شد و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ۱۷ و آنالیز واریانس یک طرفه در سطح معنی داری $P < 0.05$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

*** یافته ها:** نتایج پژوهش حاضر نشان داد، تزریق درون صفاقی گیاه کاکوتی منطقه سیرجان (پاریز) در غلظت های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن همانند مورفین موجب کاهش فاز اولیه و ثانویه درد القا شده توسط فرمالین در موش نر بالغ می شود.

*** بحث و نتیجه گیری:** داده های تحقیق نشان داد که گیاه دارویی کاکوتی، اثرات ضد دردی بر موش های کوچک آزمایشگاهی دارد و گیاه مذکور بایستی در درمان های آینده مورد توجه قرار گیرد و جایگزین مناسبی برای داروهای شیمیایی می باشد.

*** واژه های کلیدی:** کاکوتی، درد، تست فرمالین، موش آزمایشگاهی.

*آدرس مکاتبه نویسنده مسئول: کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، دانشکده دامپزشکی، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان.

پست الکترونیک: dr_alighorbani87@yahoo.com

مقدمه

درد عمدتاً مکانیسم حفاظتی برای بدن است که به دنبال آسیب دیدن بافت ایجاد می شود و بدین ترتیب، شخص را وادار به واکنش به منظور حذف محرک درد زا می نماید. درد، یکی از علائم عمومی در پزشکی و علت اصلی مراجعه به پزشک است. اگرچه درمان نسبی درد، معمولاً آن را تسکین می دهد، ولی پس از رفع اثر دارو، علائم خود را مجدداً بروز می دهد. درد یکی از مشکلات اصلی سلامت عمومی جامعه است، هر چند که به عنوان شاخص برای شناسایی بیماری در نظر گرفته می شود (۱). با توجه به روشن شدن عوارض جانبی و آثار زیان بخش داروهای شیمیایی مسئله بازگشت به داروهای گیاهی و طبیعی در سال های اخیر بیشتر مورد توجه واقع شده و نگرش نوینی طی دهه های گذشته مبنی بر مطالعه گیاهان دارویی و بررسی اثرات فیزیولوژیک و فارماکولوژیک آنها آغاز شده است. همچنین گیاهان دارویی یک منبع مهم از مواد شیمیایی جدید با اثرات درمانی قوی می باشند. در این رابطه می توان از گیاه دارویی کاکوتی نام برد که متعلق به خانواده نعنایان (Lamiaceae) است. این گیاه دارای بوته های پرپشت و ارتفاع آن بین ۲۰ تا ۵۰ سانتی متر است که برگهای آن کوچک، متقابل، کم و بیش نیزه ای شکل و بدون دم برگ هستند. همچنین دارای گلهای کوچک، کامل و به رنگهای سفید، صورتی و ارغوانی می باشد. از خواص دارویی آن می توان به درمان اختلالات گوارشی نظیر اسهال و دل پیچه اشاره کرد (۲). علاوه بر اینها گیاه کاکوتی دارای اثرات ضد باکتری (۳-۵)، آنتی اکسیدانتی (۶)، ضد عفونی کنندگی روده (۷، ۴، ۲)، خلط آور و ضد سرماخوردگی (۶) می باشد. ضمناً از ترکیبات شیمیایی فعال و اصلی این گیاه ماده ای تحت عنوان Pulegone می باشد که اثرات ضد دردی و ضد التهابی آن به خوبی مشخص شده است (۸، ۹). به طوری که می توان از آن

در درمان تب، دردهای قاعدگی و تونوس معده استفاده کرد (۱۰). برخی گزارش ها نیز حاکی از اثرات ضد دردی گیاهان خانواده نعنایان به دلیل وجود ترکیباتی نظیر کارواکرول، فلاونوئید و استروئید می باشند (۱۱). لذا با توجه به اثرات درمانی این گیاه در درمان تب، دردهای قاعدگی و تونوس معده و استفاده از آن در طب سنتی و همچنین عدم وجود گزارشی مبنی بر اثرات ضد دردی گیاه کاکوتی بومی منطقه سیرجان، مطالعه حاضر جهت بررسی اثرات ضد دردی گیاه کاکوتی (*Ziziphora tenuior* L.) بومی منطقه سیرجان (پاریز) در موش سوری نر بالغ با استفاده از تست فرمالین صورت پذیرفت و با داروی ضد درد رایج مرفین، مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش ها

جمع آوری و شناسایی گیاه

برگ و سرشاخه گیاه کاکوتی در مرداد ماه سال ۱۳۹۱ از منطقه سیرجان (پاریز) جمع آوری گردید و در حرارت ۲۵ درجه سانتی گراد در سایه خشک و در ادامه توسط آسیاب میکانیکی به صورت پودر درآمد. پودر خشک، در کیسه های نایلونی تا زمان آزمایش در فریزر نگهداری گردید.

روش عصاره گیری

۲۰ گرم از پودر برگ و سرشاخه گیاه کاکوتی را درون ارلن درب دار ریخته و ۲۰۰ میلی لیتر الکل اتیلیک ۷۰ درجه به آن اضافه گردید. سپس درب ارلن را گذاشته و محلول ۴۸ ساعت نگهداری شد. ضمن اینکه هر ۱۲ ساعت یک بار محتویات داخل ارلن تکان داده شد. بعد از ۴۸ ساعت محتویات داخل ظرف به وسیله کاغذ صافی و قیف شیشه ای داخل بشر صاف گردید سپس محلول صاف شده را درون بالن ریخته و در دستگاه روتاری در دمای ۷۵ درجه با دور متوسط قرار داده و بعد از خروج حلال مایع غلیظ روی شیشه ای پهن گردید تا

خشک شود. پس از خشک شدن پودر حاصله که حدود ۵۸/۶ درصد مایع غلیظ عصاره را تشکیل می داد جمع آوری گردید و از پودر حاصل برای تهیه دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم استفاده شد. ضمناً برای تهیه محلول‌ها از سرم فیزیولوژی استفاده شد.

تعیین سمیت حاد (LD50) عصاره آبی- الکلی: پس از تزریق داخل صفاقی عصاره به گروههای مختلف، حیوانات را ۴۸ ساعت تحت نظارت قرار داده و نتیجه مرگ و میر ۴۸ ساعته مشخص و مورد بررسی قرار گرفت. ضمناً در این قسمت برای بررسی سمیت حاد عصاره از دوزهای بالا (۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) نیز استفاده گردید.

تست فرمالین

فرمالین به حجم ۵۰ میکرولیتر و غلظت ۲/۵ درصد استفاده گردید. تزریق فرمالین در سطح پشتی پای راست حیوان به صورت زیر جلدی انجام شد از آنجایی که لیسیدن پای عقبی به ندرت در رفتار طبیعی حیوان رخ می دهد، پاسخی که در صورت استفاده از پای عقبی ایجاد می شود، در مقایسه با پای جلویی، بیشتر به درد اختصاص دارد. مهمترین ویژگی تست فرمالین این است که جوندگان، دو پاسخ به درد نشان می دهند که ظاهراً دو میکانیسم مختلف نیز دارند. مرحله اول، بلافاصله بعد از تزریق فرمالین ظاهر می شود که به مدت ۳-۵ دقیقه طول می کشد. بعد از ۵ دقیقه اول، در فاصله ۱۵ دقیقه بعد از تزریق فرمالین، حیوان رفتار خاصی از خود نشان نمی دهد و بعد از ۱۵ دقیقه، فاز دوم درد شروع می شود و حیوان دوباره به لیسیدن کف پای عقبی می پردازد که حدود ۶۰ دقیقه طول می کشد (۱۲).

آماده سازی حیوانات و نحوه ایجاد درد

در روز آزمایش، برای عادت کردن به محیط، هر حیوان ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش در جعبه استاندارد شیشه ای

قرار داده شد. این جعبه به ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ سانتی متر به گونه‌ای ساخته شده که در فاصله ای از جعبه و سطح افق، آینه‌ای با زاویه ۴۵ درجه قرار گرفته است تا مشاهدات را آسان تر نماید. پیش از انجام آزمایش به مقدار ۰/۲ میلی لیتر ماده مورد نظر بسته به گروه آزمایش(عصاره هیدروالکلی کاکوتی یا سرم فیزیولوژی یا مورفین) به صورت داخل صفاقی به حیوان تزریق شد و پس از ۱۵ دقیقه، به مقدار ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۲/۵ درصد به صورت زیر جلدی به سطح پشتی پای راست حیوان تزریق شد. مدت زمانی که بر حسب ثانیه صرف لیسیدن و گاز گرفتن پای تزریقی می شد در دوره‌های زمانی ۵-۰ دقیقه (فاز اولیه) و سپس ۴۵-۱۵ دقیقه (فاز ثانویه) به عنوان شاخص درد اندازه گیری گردید (۱۴، ۱۳).

نحوه نمره گذاری

اساس نمره گذاری به شرح زیر است:

امتیاز صفر: هردو پنجه، روی کف جایگاه قرار گرفته اند و وزن حیوان به طور مساوی روی آن ها قرار دارد. حین حرکت نیز ترجیح اختیاری جهت استفاده از پنجه مقابل وجود ندارد. امتیاز یک: پای تزریق شده به آرامی روی کف یا بخشی از بدن حیوان قرار گرفته و فشار کمی روی آن اعمال می شود. حین حرکت، لنگش واضحی دیده می شود. امتیاز دو: پای تزریق شده کاملاً از کف جعبه برداشته شده و هیچ تماسی با سطح ندارد. پای مقابل، محکم روی سطح قرار گرفته است. امتیاز سه: پای تزریق شده را می لیسند، گاز می گیرند یا به شدت می لرزند. این حرکت به طور مشخصی با حرکات حیوان جهت تمیز کردن خودش متفاوت است، گرچه تبدیل شدن به دیگری، ممکن است دیده شود (۱۴).

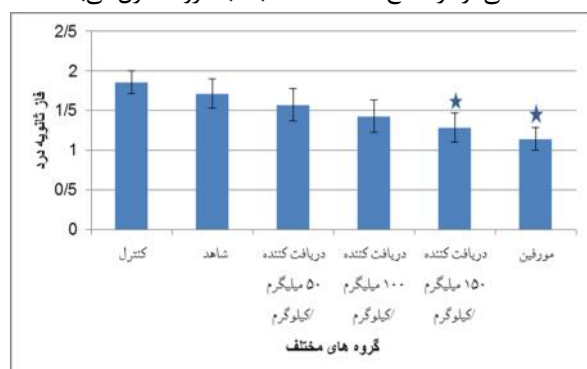
گروه های تجربی

موش های کوچک آزمایشگاهی نر بالغ (نژاد NMRI) با محدوده وزنی ۲۵ الی ۳۰ گرم، از انستیتو پاستور ایران خریداری و در شرایط آزمایشگاهی، با درجه حرارت 22 ± 2 درجه سانتی

مورد آزمایش، گروه دریافت کننده ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدرو الکلی کاکوتی بیشترین اثر ضد دردی را نشان دادند ($P < 0.05$).



نمودار ۱. اثر درون صفاقی مورفین در دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن و عصاره الکلی کاکوتی منطقه سیرجان در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم وزن بدن در فاز اولیه درد القا شده توسط تست فرمالین. گروه کنترل (بدون درمان) و شاهد (سرم فیزیولوژی) دریافت نمودند. ★ نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $P \leq 0.05$ نسبت به گروه کنترل می باشد



نمودار ۲. اثر درون صفاقی مورفین در دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن و عصاره هیدرو الکلی کاکوتی منطقه سیرجان در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم وزن بدن بر فاز ثانویه درد القا شده توسط تست فرمالین. گروه کنترل (بدون درمان) و شاهد (سرم فیزیولوژی) دریافت نمودند. ★ نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $P \leq 0.05$ نسبت به گروه کنترل می باشد

بحث و نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر در خصوص اثرات ضد دردی عصاره هیدرو الکلی کاکوتی حاکی از آن است که عصاره الکلی در غلظت های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن

گرا و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و نیز رطوبت نسبی ۴۰ تا ۶۰ درصد قرار گرفتند. سپس به ۶ گروه ۷ تایی به شرح زیر تقسیم شدند:

گروه ۱ (کنترل): که هیچ دارویی دریافت نکردند. گروه ۲ (شاهد): که سرم فیزیولوژی را به عنوان حلال عصاره دریافت نمودند. گروه های ۳، ۴ و ۵ که عصاره هیدرو الکلی کاکوتی را به مقادیر دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند. گروه ۶ که مورفین را با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن دریافت نمودند. تمامی مواد به صورت داخل صفاقی به میزان ۰/۲ میلی لیتر تزریق گردید. پس از گذشت ۱۵ دقیقه، تست فرمالین انجام و رفتار حیوان نمره گذاری شد.

آنالیز آماری داده ها

داده های جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و برای بررسی تفاوت بین گروه ها از آزمون Tukey در سطح معنی داری $P < 0.05$ استفاده شد. همه نتایج به صورت میانگین انحراف معیار ارائه شد.

یافته ها

الف: در این آزمون در حیواناتی که عصاره آبی- الکلی گیاه کاکوتی را بصورت داخل صفاقی دریافت کرده بودند هیچگونه مرگ و میری بعد از ۴۸ ساعت اتفاق نیفتاد.

ب: اثرات ضد دردی عصاره

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تزریق درون صفاقی گیاه کاکوتی منطقه سیرجان (پاریز) در غلظت های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن همانند مورفین موجب کاهش فاز اولیه و ثانویه درد القا شده توسط فرمالین در موش نر بالغ می شود (نمودارهای ۱ و ۲). همچنین در گروه های

بصورت وابسته به دوز، فاز اولیه و ثانویه درد القا شده توسط تست فرمالین را به صورت معنی داری کاهش می دهد. با توجه به نتایج پژوهش حاضر و از آنجایی که عصاره گیاه بر فاز اولیه و ثانویه درد القا شده تأثیر معنی داری دارد، گیاه دارای اثرات ضد دردی مرکزی و محیطی است. با توجه به نتایج، عصاره هیدروالکلی کاکوتی به صورت معنی داری همانند مورفین اثرات ضد دردی نشان می دهد. تنوع شرایط جغرافیایی در ایران موجب شده که یک منبع غنی از تنوع گونه ای گیاهی وجود داشته باشد. یکی از این گیاهان کاکوتی می باشد که متعلق به خانواده نعنائیان است. کاکوتی در مناطق مختلف ایران خصوصاً در نواحی شمال، شمال غرب، شرق و جنوب شرقی وجود دارد که دارای خواص درمانی متعددی است. از جمله ترکیبات طبیعی موجود در گیاهان خانواده نعنائیان لیمون، کارواکرول، گاما ترپینن، سینئول، بتاکاروتن، نیاسین و تیمول می باشد (۷-۳). در مطالعه ای که توسط گلشنی و همکاران در سال ۲۰۰۴ بر روی گیاهی از خانواده نعنائیان (*Dracocephalum kotschy*) صورت گرفت مشخص شد که این گیاه به دلیل وجود ترکیباتی نظیر لیمون و آلفا ترپینئول دارای خاصیت ضد دردی می باشد (۱۵). همچنین بر اساس مطالعات موریرا و همکاران در سال ۲۰۰۱ ترپینئول باعث مهار پتانسیل عمل در عصب سیاتیک می گردد (۱۶). در بررسی دیگری که توسط امان لو و همکاران در سال ۲۰۰۵ بر روی گیاهی از خانواده نعنائیان به نام *Satureja khuzistani* انجام شد مشخص گردید که وجود ترکیباتی نظیر کارواکرول، فلاونوئید و استروئید در این گیاه می تواند باعث کاهش درد شود (۱۱). در پژوهش های دیگری که توسط سایر محققین صورت گرفته، مشخص شده که وجود ترکیباتی نظیر تیمول، کارواکرول، فلاونوئید، پلی فنول، لیمون و آلفا ترپینئول در خانواده نعنائیان احتمالاً با اثر بر روی سیستم اپیوئیدی موجب

کاهش درد می شوند (۱۹-۱۷). همچنین یکی از ترکیبات عمده و اصلی گیاه کاکوتی ماده ای به نام *Pulegone* می باشد که اثرات ضد دردی و ضد التهابی آن به خوبی مشخص شده است (۸،۹). به طوری که بر اساس مطالعه دسوسا و همکاران در سال ۲۰۰۷، اثرات ضد دردی ناشی از *Pulegone* و لیمون موجود در عصاره گیاه *Mentha villosa* (از خانواده نعنائیان) بسیار بیشتر از اثرات مونوترپن های موجود در آن، در تست رایتینگ است (۸). علاوه بر این یائو و چو نشان دادند که التهاب ناشی از پروتئین لنز در چشم به طور معنی داری به وسیله تجویز موضعی و تدریجی *Pulegone* (به عنوان یک ترکیب گیاهی) کاهش می یابد (۹). در این پژوهش با استفاده از تست فرمالین مشخص شد که کاکوتی موجب کاهش درد می شود و احتمالاً این اثر را از طریق ترکیبات موجود در آن اعمال می کند. اغلب آزمایش هایی که برای ارزیابی درد مورد استفاده قرار می گیرد (از قبیل آزمایش های *hot-plate* و *tail-flick*) دارای محرک حاد و شدت زیاد هستند. در این حالت، تجربه درد، کوتاه مدت است و بنابراین، امکان ارزیابی مکانیسم های مختلف وجود ندارد. آزمون فرمالین از این جهت با اغلب مدل های درد متفاوت است که بر اثر آسیب بافتی، یک درد متوسط و مداوم به وجود می آید و چون آسیب بافتی ایجاد می کند، به دردهای بالینی نزدیک تر است و بنابراین بر سایر روش های درد زایی برتری دارد. این آزمون، بر مبنای اندازه گیری درد جلدی ناشی از یک ترکیب شیمیایی طراحی شده است. مطالعات اخیر نشان داده است که از میان گروهی از عوامل محرک تولید کننده درد، نظیر اسید استیک، سروتونین، فاکتور فعال کننده پلاکتی، فرمالین و غیره. به نظر می رسد فرمالین از نظر شدت درد ایجاد شده و طول مدت پاسخ درد، از همه مناسب تر باشد (۲۰). مهمترین ویژگی آزمون فرمالین این است که جوندگان دو نوع پاسخ به درد نشان می دهند که

ظاهراً از طریق دو مکانیسم مختلف عمل می کنند. مرحله اول، بلافاصله بعد از تزریق فرمالین ظاهر می شود که به مدت ۵-۳ دقیقه طول می کشد. ظاهراً این درد به علت تحریک شیمیایی گیرنده های درد است. شواهد نشان می دهد که فرمالین به خصوص فعالیت رشته های C را زیاد می کند و عمل آن از طریق فیبرهای A- δ صورت نمی گیرد. در فاصله ۱۵ دقیقه بعد از تزریق فرمالین حیوان رفتار خاصی از خود نشان نمی دهد. بعد از ۲۰-۱۵ دقیقه، فاز دوم درد شروع می شود و حیوان دو باره شروع به لیسیدن پای مربوطه می کند که این عمل تقریباً ۴۰ دقیقه طول می کشد (۲۱،۲۲).

نتیجه کلی آنکه در این پژوهش مشخص گردید عصاره هیدروالکلی کاکوتی دارای اثرات ضد دردی به صورت وابسته به

دوز در مدل درد القا شده توسط فرمالین است. در خاتمه شاید بتوان این چنین عنوان کرد که ترکیبات موجود در گیاه کاکوتی ممکن است از یک طرف با مهار آزادسازی اسیدآراشیدونیک و در نتیجه جلوگیری از سنتز پروستاگلاندین ها و از طرف دیگر با فعال نمودن سیستم اپیوئیدی موجب کاهش درد شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از جناب آقای دکتر محمد حسین مرحمتی زاده ریاست دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون جهت همکاری در این پژوهش تشکر و قدردانی می گردد.

References

1. Almedal RN, Navvarro DS, Barbosa-Filho JM. Plants with central analgesic activity. *Phytomedicine*. 2001; 8: 310-322.
2. Naghibi F, Mosaddegh M, Mohammadi Motamed S, Ghorbani A. Labiatae family in folk medicine in Iran from ethnobotany to phamacology. *Iran Jour of Pharm Re*. 2005; 2; 63-79.
3. Sonboli A, Mujalili MH, Hadian J, Nejad Ebrahimi S, Yousefaade M. Antibacterial activity and composition of the essential oil of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *Bungeana* (Juz) Rech ffrom Iran. *Z Nature Forsch*. 2006; 61: 677-680.
4. Economou KD, Oreopoulou V, Thomopoulos CD. Antioxidant activity of some plant extracts of the family labiatae. *J Am Chem Soc*. 1991; 68: 109-113.
5. Salehi P, Sonboli A, Eftekhari F, Nejad Ebrahimi S, Yousefzadi M. Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *rigida* (Boiss.) Reech ffrom Iran. *Biol Pharm Bull*. 2005; 28: 1892-1896.
6. Konyalioglu S, Qzturk B, Elgin MG. Comparison of chemical compositions and antioxidant activities of the essential oils of two *Ziziphora* taxa from Anatolia. *Phann Biol*. 2006; 44: 121-126.
7. Ozturk S, Ercisli S. Antibacterial activity and chemical constitutions of *Ziziphora clinopodioides*. *Food Control*. 2007; 18: 535-540.
8. De Sousa DP, Junior EV, Oliveira FS, De Almeida RN, Nunes XP, Barbosa-Filho JM. Antinociceptive activity of structural analogues of rotundifolone: structure-activity relationship. *Z Nature Forsch* 2007; 62(1-2): 39-42.
9. Yao QS, Chiou GC. Inhibition of crystallins-induced inflammation in rabbit eyes with five phytochemical compounds. *Zhongguo Yao Xue Bao*. 1993; 34(1): 13-17.
10. Naghibi F, Mosaddegh M, Mohammadi Motamed S, Ghorbani A. Labiatae family in folk medicine in Iran from ethnobotany to pharmacology. *Iran Jour of Pharm Re*. 2005; 2: 63-79.
11. Amanlou M, Dadkhah F, Salehnia A, Farsam H. An anti-inflammatory and antinociceptive effects of hydroalcoholic extract of *Saturejakhuzistanica* Jamzad extract. *J Pharma Pharmaceut Sci*. 2005; 8:102-106.
12. Amabeoku GJ, Eagles P, Scott G, Mayeng I, Springfield E. Analgesic and antipyretic effects of *Dodonaea angustifolia* and *salvia Africana lutea*. *J Ethnopharmacology*. 2001; 75: 117-124.
13. Rang HP, Bevan S, Dray A. Chemical activation of nociceptive peripheral neurons. *Br Med Bull*. 1991; 47: 534-548.
14. Ramezani M, Nasri S, Yasa N. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of isolated fractions from *Apium graveolens* seeds in mice. *Pharm Biol*. 2009; 47(8): 740-743.
15. Golshani S, Karamkhani F, Monsef Esfehiani HR, Abdollahi M. Antinociceptive effects of the essential oil of *Dracocephalum kotschyi* in the mouse writhing test. *J Pharma Pharmaceut Sci*. 2004; 7:69-76.

16. Moreira MR, Cruz GM, Lopes MS, Albuquerque AA, Leal-Cardoso JH. Effects of terpineol on the compound action potential of the rat sciatic nerve. *Braz J Med Biol Res.* 2001; 34:1337-1340.
17. Sezik E, Tumen G, Baser KH. *Ziziphora tenuior* L. A new source of polyphenols. *Fl and Fr J.* 1991; 6 (1): 101-104.
18. Ghafari H, Yasa N, Mohammadirad A, Dehghani G, Zamani MJ, Nikfar S, Khorasani R, Minaie B, Abdollahi M. Protection by *Ziziphora clinopoides* of acetic acid-induced toxic bowel inflammation through reduction of cellular lipid peroxidation and myeloperoxidase activity. *Hum Exp Toxicol.* 2006; 25: 312-325.
19. Hejazian SH. Analgesic effect of essential oil from *Carum copticum* in mice. *W J of Medical Sciences.* 2006; 1: 95-99.
20. Hunskaar S, Fasmer OB, Hole K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. *J Neurosci Methods.* 1985; 14: 69-70.
21. Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H, Inoki R. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. *Pain.* 1989; 38: 342-347.
22. Tjølsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JG, Hole K. The formalin test: an evaluation of the formalin test: an evaluation of the method. *Pain.* 1992; 51: 5-17.