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

علی قربانی رنجبری*[1]، محمدرضا یاریار[1]، فاطمه جویبار[1]، نازنین قربانی[1]

۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحدکازرون، 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** می‌باشد 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 روش‌ها:** 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 برکیلوگرم دریافت نمود. در ادامه داده ها جمع آوری شد و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS۱۷ و آنالیز واریانس یک طرفه در سطح معنی داری $P<0/05$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

* **یافته‌ها:** 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 نتیجه‌گیری:** 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.

* **واژه‌های 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 نعناعیان (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 دمبرگ هستند. همچنین دارای گلهای کوچک، کامل و به رنگهای سفید، صورتی و ارغوانی می باشد. از خواص دارویی آن می‌توان به درمان اختلالات گوارشی نظیر اسهال و دل پیچه اشاره کرد (۲). علاوه بر اینها گیاه کاکوتی دارای اثرات ضد باکتری(۵-۳)، آنتی اکسیدانتی (۶)، ضدعفونی 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 نعناعیان 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 ضددردی 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 روش‌ها

جمع آوری و شناسایی گیاه

برگ و سرشاخه گیاه کاکوتی در مرداد ماه سال ۱۳۹۱ از منطقه سیرجان (پاریز) جمع آوری گردید و در حرارت۲۵ 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 کـه حـدود ۵۸/۶ درصد مایع غلیظ عصاره را تشکیل می داد جمع آوری گردید و از پودر حاصل برای تهیه دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلـی گـرم بر کیلوگرم استفاده شد. ضمناً بـرای تهیـه محلـول‌هـا از سـرم فیزیولوژی استفاده شد.

تعیین سمیت حاد (LD50) عصاره آبـی- الکلـی: پـس از تزریق داخل صفاقی عصاره به گروههای مختلف، حیوانات را ۴۸ ساعت تحت نظارت قرار داده و نتیجه مـرگ و میـر ۴۸ سـاعته مشخص و مورد بررسی قرار گرفت. ضمناً در این قـسمت بـرای بررسی سمیت حاد عـصاره از دوزهـای بـالا (۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) نیز استفاده گردید.

تست فرمالین

فرمـالین بـه حجـم ۵۰ میکرولیتـر و غلظـت ۲/۵ درصـد استفاده گردید. تزریـق فرمـالین در سـطح پـشتی پـای راسـت حیوان به صورت زیر جلدی انجام شد از آنجـایی کـه لیـسیدن پای عقبی بـه نـدرت در رفتـار طبیعـی حیـوان رخ مـی دهـد، پاسخی که در صورت استفاده از پای عقبی ایجاد مـی شـود، در مقایسه با پای جلویی، بیشتر به درد اختـصاص دارد. مهمتـرین ویژگی تست فرمالین این است که جوندگان، دو پاسـخ بـه درد نشان می دهنـد کـه ظـاهراً دو میکانیـسم مختلـف نیـز دارنـد. مرحله اول، بلافاصله بعد از تزریق فرمالین ظاهر می شود که به مدت ۵-۳ دقیقه طول می کشد. بعد از ۵ دقیقه اول، در فاصـله ۱۵ دقیقه بعد از تزریق فرمالین، حیوان رفتـار خاصـی از خـود نشان نمی دهد و بعد از ۱۵ دقیقه، فاز دوم درد شروع می شـود و حیوان دوباره به لیسیدن کف پای عقبی می پردازد که حـدود ۶۰ دقیقه طول می کشد (۱۲).

آماده سازی حیوانات و نحوه ایجاد درد

در روز آزمایش، برای عادت کردن به محـیط، هـر حیـوان ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش در جعبه اسـتاندارد شیـشه ای قرار داده شد. این جعبـه بـه ابعـاد۳۰×۳۰×۳۰ سـانتی متـر بـه گونه‌ای ساخته شده کـه در فاصـله ای از جعبـه و سـطح افـق، آینه‌ای با زاویـه ۴۵ درجـه قـرار گرفتـه اسـت تـا مـشاهدات را آسان‌تر نماید. پیش از انجام آزمایش به مقـدار ۰/۲ میلـی لیتـر ماده مورد نظـر بـسته بـه گـروه آزمـایش(عـصاره هیـدروالکلی کاکوتی یا سرم فیزیولوژی یا مورفین) به صورت داخـل صـفاقی بـه حیـوان تزریـق شـد و پـس از ۱۵ دقیقـه، بـه مقـدار ۵۰ میکرولیتر فرمالین ۲/۵ درصد به صورت زیر جلـدی بـه سـطح پشتی پای راست حیوان تزریق شد. مدت زمانی که بـر حـسب ثانیه صرف لیـسیدن و گـاز گـرفتن پـای تزریقـی مـی شـد در دوره‌های زمانی ۵-۰ دقیقه (فاز اولیه) و سـپس ۴۵-۱۵ دقیقـه (فاز ثانویه) به عنوان شاخص درد اندازه گیری گردید (۱۳،۱۴).

نحوه نمره گذاری

اساس نمره گذاری به شرح زیر است:

امتیاز صفر: هردو پنجه، روی کف جایگـاه قـرار گرفتـه انـد و وزن حیوان به طور مساوی روی آن ها قرار دارد. حین حرکـت نیـز ترجیح اختیاری جهت استفاده از پنجه مقابل وجـود نـدارد. امتیـاز یک: پای تزریق شده به آرامی روی کف یا بخـشی از بـدن حیـوان قرار گرفته و فشار کمی روی آن اعمـال مـی شـود. حـین حرکـت، لنگش واضحی دیده می شود. امتیاز دو: پای تزریـق شـده کـاملاً از کف جعبه برداشته شده و هیچ تماسی با سطح نـدارد. پـای مقابـل، محکم روی سطح قرار گرفته است. امتیاز سه: پـای تزریـق شـده را می لیسد، گاز می گیرد یا به شدت می‌لرزند. این حرکـت بـه طـور مشخصی با حرکات حیوان جهـت تمیـز کـردن خـودش متفـاوت است، گرچه تبدیل شدن به دیگری، ممکن است دیده شود (۱۴).

گروه های تجربی

موش های کوچک آزمایشگاهی نر بالغ (نـژادNMRI) بـا محدوده وزنی ۲۵ الی ۳۰ گرم، از انسیتو پاستور ایران خریداری و در شرایط آزمایشگاهی، بادرجه حرارت ۲±۲۲ درجـه سـانتی

گراد 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. گروه‌های ۳، ۴و ۵ که عصاره هیدروالکلی 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 نمره‌گذاری شد.

آنالیز آماری داده ها

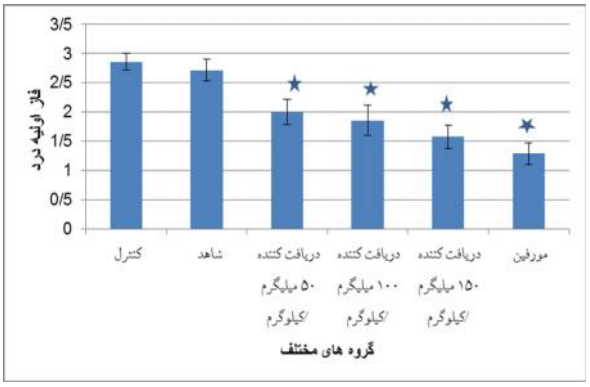
داده های جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و برای بررسی تفاوت بین گروه ها از آزمون Tukey در سطح معنی داری $P<۰/۰۵$ استفاده شد. همه نتایج به صورت میانگین انحراف معیار ارائه شد.

یافته‌ها

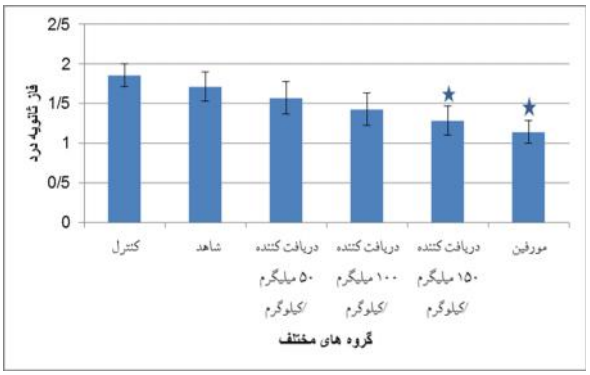
الف: در این آزمون در حیواناتی که عصاره آبی- الکلی گیاه کاکوتی را بصورت داخل صفاقی دریافت کرده بودند هیچگونه مرگ و میری بعد از ۴۸ ساعت اتفاق نیفتاد.

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 مرفین 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 مورد آزمایش، گروه دریافت کننده ۱۵۰ میلی گرم برکیلوگرم وزن بدن عصاره هیدرو الکلی کاکوتی بیشترین اثر ضد دردی را نشان دادند ($P<۰/۰۵$).



نمودار۱. اثر درون صفاقی مورفین در دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن و عصاره الکلی کاکوتی منطقه سیرجان در دوز های ۵۰، ۱۰۰ و۱۵۰ 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 معنی‌دار در سطح $P\leq۰/۰۵$ نسبت به گروه کنترل می‌باشد



نمودار۲. اثر درون صفاقی مورفین در دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن و عصاره هیدروالکلی کاکوتی منطقه سیرجان در دوز های ۵۰، ۱۰۰ و۱۵۰ 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 $P\leq۰/۰۵$ نسبت به گروه کنترل می‌باشد

بحث و نتیجه گیری

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

بصورت وابسته به دوز، فاز اولیه و ثانویه درد القا شده توسط تست فرمالین را به بصورت 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 نعناعیان است. کاکوتی در مناطق مختلف ایران خصوصا در نواحی شمال، شمال غرب، شرق وجنوب شرقی وجود دارد که دارای خواص درمانی متعددی است. از جمله ترکیبات طبیعی موجود در گیاهان خانواده نعناعیان لیمونن، 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 نعناعیان (Dracocephalum kotschyi) صورت گرفت مشخص شد که این گیاه به دلیل وجود ترکیباتی نظیر لیمونن 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 نعناعیان به نامSatureja khuzistani انجام شد مشخص گردید که وجود ترکیباتی نظیر کارواکرول، فلاونوئید و استروئید در این گیاه می تواند باعث کاهش درد شود (۱۱). در پژوهش‌های دیگری که توسط سایر محققین صورت گرفته، مشخص شده که وجود ترکیباتی نظیر تیمول، کارواکرول، فلاونوئید، پلی فنول، لیمونن و آلفا ترپینئول در خانواده نعناعیان 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 می‌باشد 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 لیمونن موجود در عصاره گیاه Mentha villosa (از خانواده نعناعیان) بسیار بیشتر از اثرات مونوترپن های موجود در آن، در تست رایتینگ است (۸). علاوه بر این یائو و چیو 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 آزمایش‌هایی که برای ارزیابی درد مورد استفاده قرار می گیرد (از قبیل آزمایش‌های hot-plate و tail-flick) داری 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 بافت، یک درد متوسط و مداوم به وجود می آید و چون آسیب بافتی ایجاد می‌کند، به دردهای بالینی نزدیک تر است و بنابراین بر سایر روش‌های 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 وقدردانی

بدین وسیله از جناب آقای دکتر محمد حسین مرحمتی‌زاده ریاست دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون جهت همکاری دراین پژوهش تشکر و قدردانی می‌گردد.

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, Eftekhar 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 crystall ins-induced inflammation in rabbit eyes with five phytogenic 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 anti-nociceptive 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 Esfehani HR, Abdollahi M. Antinociceptive effects of the essential oil ofDracocephalum 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 ofterpineol on the compound action potential of the rat sciatic nerve. Braz J MedBiol Res. 2001; 34:1337-1340.
17. Sezik E, Tumen G, Baser KH. Ziziphora tenuior L. A new source of polygon. Fl and Fr J. 1991; 6 (1): 101-104.
18. Ghafari H, Yasa N, Mohammadirad A, Dehglian 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 Toxico. 2006; 25: 312-325.
19. Hejazian SH. Analgestic effect of essential oil from Carum copticum in mice. W J of Medical Sciences. 2006; 1: 95-99.
20. Hunskkar S, Fasmer OB, Hole K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. J Nerosci 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. Tjolsen A, Berge OG, Humskaar S, Rosland JG, Hole K. The formalin test: an evaluation of the formalin test: an evaluation of the method. Pain. 1992; 51: 5-17.