

بررسی اثرات ضدالتهابی و ضددردی عصاره هیدروالکلی دانه گیاه *Anethum graveolens* L.

علی ولدی^۱، سیما نصری^{۲*}، ناصر عباسی^۳، غلامرضا امین^۴

۱- کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام‌نور مرکز تهران، تهران

۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام‌نور تهران، تهران

۳- دانشیار، گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام

۴- استاد، گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران

*آدرس مکاتبه: تهران، خیابان استاد نجات‌الهی، خیابان فلاچپور، مجتمع علوم پایه و کشاورزی دانشگاه پیام‌نور

استان تهران، گروه زیست‌شناسی، تلفن: ۸۸۸۰۰۲۵۲ (۰۲۱)، نمابر: ۸۸۹۱۳۴۷۵ (۰۲۱)

پست الکترونیک: s_nasri2000@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۷/۸/۱۸

تاریخ تصویب: ۸۸/۷/۱۸

چکیده

مقدمه: گزارش‌های متعددی از اثرات ضدالتهابی دانه گیاه شوید^۱ در طب سنتی ایران وجود دارد. از طرفی با توجه به اقبال جهانی جهت استفاده بیشتر از مواد طبیعی در بهداشت و درمان در دهه‌های اخیر توجه زیادی به مصرف داروهای گیاهی شده است.

هدف: در این پژوهش اثر ضددردی و ضدالتهابی عصاره هیدروالکلی دانه شوید مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی: در این پژوهش از موش صحرایی نر استفاده شد که در تست التهاب به ۶ گروه تقسیم شدند: گروه شاهد، گروه دریافت‌کننده دگزامتازون با دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن حیوان به عنوان گروه کنترل مثبت، گروه‌های دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی دانه شوید (چهار زیرگروه دریافت‌کننده دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم). جهت ایجاد التهاب از گزین استفاده شد. به منظور بررسی اثر ضددردی عصاره از تست فرمالین استفاده شد. در این تست حیوانات به ۶ زیرگروه تقسیم شدند: گروه شاهد، گروه دریافت‌کننده عصاره دانه شوید (سه زیرگروه دریافت‌کننده دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم). تزریق عصاره و نرمال سالین به روش داخل صفاقی انجام گرفت.

نتایج: نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر نشان می‌دهد که عصاره هیدروالکلی دانه شوید سبب کاهش معنی‌دار التهاب و درد در هر دو فاز اول و دوم شد.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد که اثرات ضدالتهابی و ضددردی این گیاه مربوط به ترکیبات لیمونن، کارون و فلاونوئیدی باشد.

گل واژگان: دانه شوید *Anethum graveolens* L، التهاب، درد، تست گزین، تست فرمالین

¹ *Anethum graveolens* L.



مقدمه

درد معمولاً به علت تخریب و آسیب دیدن یک بافت به دلیل عوامل متعدد فیزیکی همچون حرارت، ضربه، پارگی، کشیدگی و جریان الکتریکی و عوامل شیمیایی مثل سموم، مواد سوزاننده میانجی عصبی و یا فرایندهای پاتولوژیک مانند ایسکمی، نکروز، التهاب، اسپاسم و یا اختلالات عضوی همانند نوروپاتی، شکستگی استخوان ایجاد می‌شود [۱].

شوید، از تیره چتریان^۱ است، گیاهی معطر، دارای ساقه توخالی، راست و منشعب، به ارتفاع ۱۲۰-۴۰ سانتی‌متری می‌باشد. شوید در درمان سوء هاضمه، نفخ (به ویژه در کودکان) و اسپاسم به کاررفته، اثرات مسکن، محرک ترشح شیر، مدر و کاهش چربی خون از آن گزارش شده است. تخم شوید آثار درمانی مانند ضد تشنج، ضددرد، نفخ شکم، ادرارآور و برای تقویت معده به کار می‌رود. برای کسانی که اشتهای زیادی به غذا ندارند و لاغر هستند تخم شوید بهترین دارو است زیرا اشتها را زیاد کرده و معده را تقویت می‌کند [۲].

مشخص شده است که گیاه شوید می‌تواند باعث منظم شدن چرخه قاعدگی در موش‌ها شود [۳]. همچنین، عصاره این گیاه در درمان زخم‌های معده مؤثر بوده، ترشحات معده را مهار کرده و ایجاد زخم معده را در موش مهار می‌کند که به نظر می‌رسد به دلیل وجود ترپن‌ها و فلاونوئیدهای موجود در عصاره باشد [۴]. عصاره شوید دارای خواص پایین‌آورنده چربی [۵] و کلسترول [۶] خون است. همچنین عصاره گیاه شوید دارای خواص ضد میکروبی است [۷]. عصاره برگ شوید سبب بهبود دیابت نوع ۲ القا شده توسط دگزامتازون در موش‌های صحرایی ماده می‌شود. در واقع این گیاه سبب تنظیم انسولین، گلوکز سرم و پراکسیداسیون لیپیدها در این جانوران شده و کاهش القا شده در هورمون‌های تیروئیدی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت سرم این حیوانات را معکوس می‌کند [۸].

میوه شوید دارای ۴ - ۲/۵ درصد اسانس می‌باشد که مقدار آن بر اساس منطقه جغرافیایی و فصل تغییر کرده، تا ۷/۷ درصد هم می‌رسد. قسمت اعظم اسانس میوه شوید، د-کارون^۲

د- لیمونن^۱، و آلفا فلاندرین^۲ است که هر سه حدود ۹۰ درصد اسانس را شامل می‌شوند. ترکیبات دیگر میوه شوید عبارتند از: دیلانوزید^۳ (یک گزانتون گلی کوزید)، کومارین‌ها، کامپرویل و ترکیب ۳- گلوکوکورونید آن، وی‌سنین^۴، میریسیستین^۵ و سایر فلاونوئیدها، اسیدهای فنلی، پروتئین (حدود ۱۶ درصد)، چربی (حدود ۱۵ - ۱۰ درصد) [۲،۹].

از عصاره این گیاه در طب سنتی و محلی به عنوان دارویی برای رفع درد شکم و ورم معده، مفاصل و کمر استفاده می‌شود [۲]. به همین دلیل در این پژوهش ما قصد داریم که اثرات ضدالتهابی و ضددردی عصاره دانه گیاه شوید را که تاکنون پژوهشی بر آن انجام نشده است، مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

حیوانات: حیوانات مورد استفاده در این پژوهش موش‌های صحرایی نر از نژاد ویستار^۶ (تهیه شده از انیستیتو پاستور ایران) با وزن تقریبی 20 ± 150 گرم بود. موش‌ها در اتاق حیوانات و تحت شرایط کنترل شده از نظر نور، دما و رطوبت نگهداری شدند. حیوانات به چند گروه زیر تقسیم شدند (هر گروه شامل ۶ موش بود) گروه شاهد: که حلال یعنی نرمال سالین (شرکت توحید) را دریافت کردند. گروه‌های تجربی مربوط به التهاب که هر کدام یکی از دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن حیوان به صورت تک دوز دریافت کرده و سپس تست التهاب از آنها به عمل آمد و گروه کنترل مثبت مربوط به التهاب که دگزامتازون (شرکت پاک دارو) با دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن حیوان دریافت کردند [۷]. گروه‌های تجربی مربوط به درد که به سه زیر گروه تقسیم و هر کدام یکی از دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن حیوان به صورت تک دوز

¹ D-limonene

³ Dillnoside

⁵ Myristicin

⁶ Wistar

² α -phellandrene

⁴ vicenin

¹ Apiaceae

² D-carvon



دریافت و سپس تست درد از طریق تست فرمالین از آنها به عمل می‌آمد. به گروه کنترل مثبت ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مورفین (شرکت جابر ابن حیان) تزریق شد. همه تزریقات به صورت داخل صفاقی صورت گرفت [۱۰].

عصاره‌گیری از گیاه: دانه گیاه شوید در تیر ماه از حاشیه شهر ایلام جمع‌آوری شد و توسط هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران شناسایی شد. برای عصاره‌گیری از روش استخراج مداوم گرم و دستگاه سوکسله استفاده شد. در این روش پس از تهیه دانه گیاه آنها را در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد خشک کرده، بعد از خشک کردن به وسیله آسیاب پودر کردیم. در ادامه ۵۰ گرم پودر دانه گیاه شوید را داخل کیسه پارچه‌ای مخصوص مخزن دستگاه که سوراخ‌های بسیار ریز دارد، قرار داده و سپس حلال (آب و اتانول ۷۰ درجه) موردنظر را در فلاسک ریخته و درجه حرارت مطابق نقطه جوش حلال تنظیم شد. حلال بخار شده در طول لوله رابط دستگاه بالا رفته و توسط آب سرد خنک شده، مایع می‌شود و به صورت قطراتی وارد پودر خام می‌شود. استخراج عصاره توسط حلال انجام می‌شود و وقتی سطح عصاره استخراج شده به سطح سیفون دستگاه رسید، عصاره به طور اتوماتیک تخلیه می‌شود و وارد فلاسک جمع‌آوری می‌شود. این جریان به طور مرتب تا ۴ ساعت انجام شده تا عمل استخراج کامل شود. عصاره پس از تغلیظ بایستی در آون خشک شود. عصاره با استفاده از دستگاه تقطیر در خلأ تغلیظ شده و در داخل آون با حرارت ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گیرد تا کاملاً خشک شود. در ادامه مقداری از آن را وزن و در حجمی معین از نرمال سالین حل کرده تا غلظت‌های موردنظر برای تزریق به حیوانات حاصل شود. سپس محلول با دوزهای مختلف به صورت داخل صفاقی به موش‌ها تزریق شد. در این پژوهش عصاره گیاه با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم به موش‌ها تزریق شد. برای تعیین این دوزها ابتدا دوز موثر عصاره تعیین شد. دوز موثر (ED 50%) تقریباً نزدیک به ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به دست آمد.

اسانس‌گیری از عصاره و آنالیز آن: برای تجزیه اجزای اسانس عصاره، ابتدا با استفاده از دستگاه تقطیر با بخار آب، اسانس عصاره استحصال شد و سپس با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی آنالیز اسانس انجام شد [۱۱].

روش تست التهاب: این تست از طریق ایجاد التهاب توسط گزین (شرکت قطران شیمی) در گوش موش صورت گرفت. جهت انجام آن ۱۵ دقیقه بعد از تزریق عصاره ۰/۳ میلی‌لیتر از گزین در سطح قدامی و پشتی لاله گوش راست حیوان تزریق و دو ساعت بعد حیوان کشته شده، سپس هر دو گوش حیوان را جدا کرده و با استفاده از چوب پنبه سوراخ‌کن برش‌های ۷ میلی‌متری از دو گوش چپ و راست گرفته شده، وزن می‌شود و اختلاف وزن برش‌های دو گوش چپ و راست مشخص می‌شود [۱۲].

روش تست فرمالین: ۱۵ دقیقه قبل از شروع آزمایش در هر گروه دوز خاصی از عصاره به صورت داخل صفاقی تزریق شد (در گروه شاهد نرمال سالین تزریق می‌شد) و بلافاصله حیوان برای انطباق با محیط در جعبه شفاف مخصوص تست فرمالین قرار گرفت (حیوانات از یک ربع قبل از تزریق در زیر قیف قرار می‌گرفتند). پس از این زمان ۰/۲ میلی‌لیتر فرمالین (شرکت قطران شیمی) ۲/۵ درصد به زیر پوست کف پای راست حیوان به صورت زیر جلدی تزریق شد. حیوان مجدداً به داخل جعبه مخصوص تست برگردانده شده و هنگامی که حیوان پا را لیسیده، جویده و یا به شدت تکان دهد به عنوان زمان لیسیدن در نظر گرفته شد. فاصله زمانی بین ۵ - ۰ را به عنوان فاز اول درد [۱۳] و میانگین دقایق ۳۰ - ۱۵ به عنوان فاز دوم یا محیطی تست فرمالین در نظر گرفته شد [۱۴].

روش آنالیز آماری: در هر گروه از آزمایش‌ها، اثر دوزهای مختلف به صورت میانگین و انحراف معیار ثبت شد. جهت تعیین وجود اختلاف معنی‌دار میان گروه‌هایی که غلظت‌های متفاوت عصاره را دریافت کرده بودند با گروه‌های کنترل مثبت و گروه شاهد از آنالیز واریانس یک طرفه و به دنبال آن تست توکی استفاده شد و اختلاف با $p < 0.01$ به عنوان مرز استنتاج آماری در نظر گرفته شد.



نتایج

میانگین زمان لیسیدن برای گروه کنترل مثبت (مورفین) کمترین مقدار و برای گروه کنترل منفی (سالین) بیشترین مقدار است. عصاره گیاه در دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم سبب کاهش معنی داری بردرد حاد شد که دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بیشترین اثر را داشته است. بین گروه کنترل مثبت و گروه دریافت کننده دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی داری وجود ندارد (نمودار شماره ۲). هر سه دوز گیاه دارای اثرات ضددردی در فاز مزمن بوده که نتایج آزمون توکی نشان می دهد دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بیشترین اثر مهاری در فاز مزمن را دارد ($p < 0.0001$). بین گروه کنترل مثبت و گروه دریافت کننده دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی داری وجود ندارد (نمودار شماره ۳).

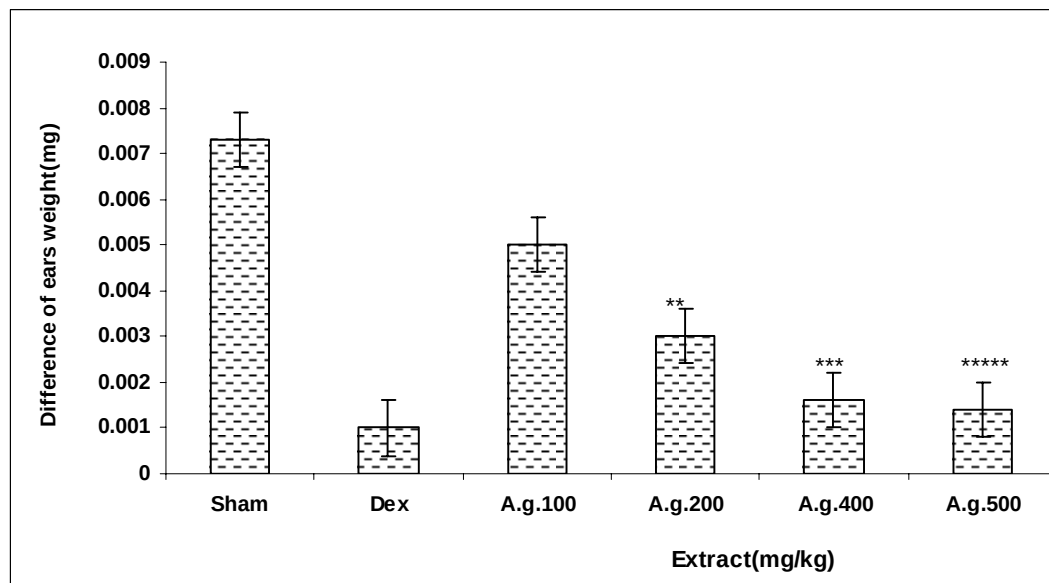
آنالیز اسانس عصاره گیاه با روش کرماتوگرافی گازی نشان داده است که ترکیبات آن شامل: آلفا فلاندرن^۱ ۳۲ درصد، لیمونن^۲ ۲۸ درصد و کارون^۳ ۲۸ درصد است.

نمودار شماره ۱ مقایسه میانگین اختلاف وزن موش ها را در تست گزین نشان می دهد، همان طور که در نمودار مشاهده می شود. در گروه های آزمایش که عصاره گیاه شویید را دریافت کردند کمترین اختلاف وزن مربوط به دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ($p < 0.0001$) است و نشان دهنده این موضوع می باشد که این دوز بیشترین اثر ضدالتهابی را دارد. گروه دریافت کننده دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم با گروه کنترل مثبت (دگزامتازون) تفاوت معنی دار نشان نمی دهند.

¹ Alpha-phellandrene

² Limonene

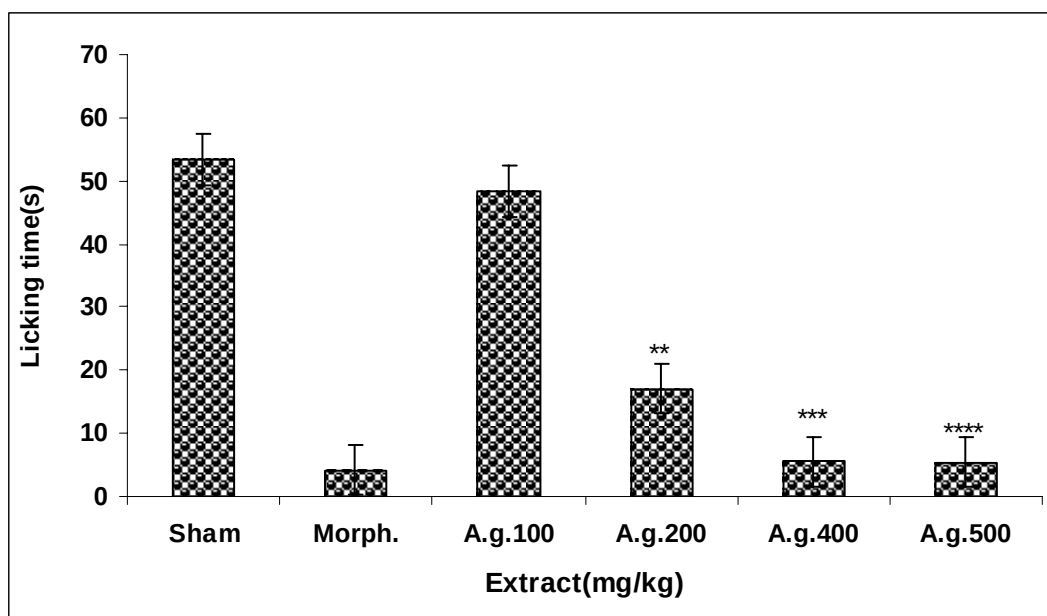
³ Carvone



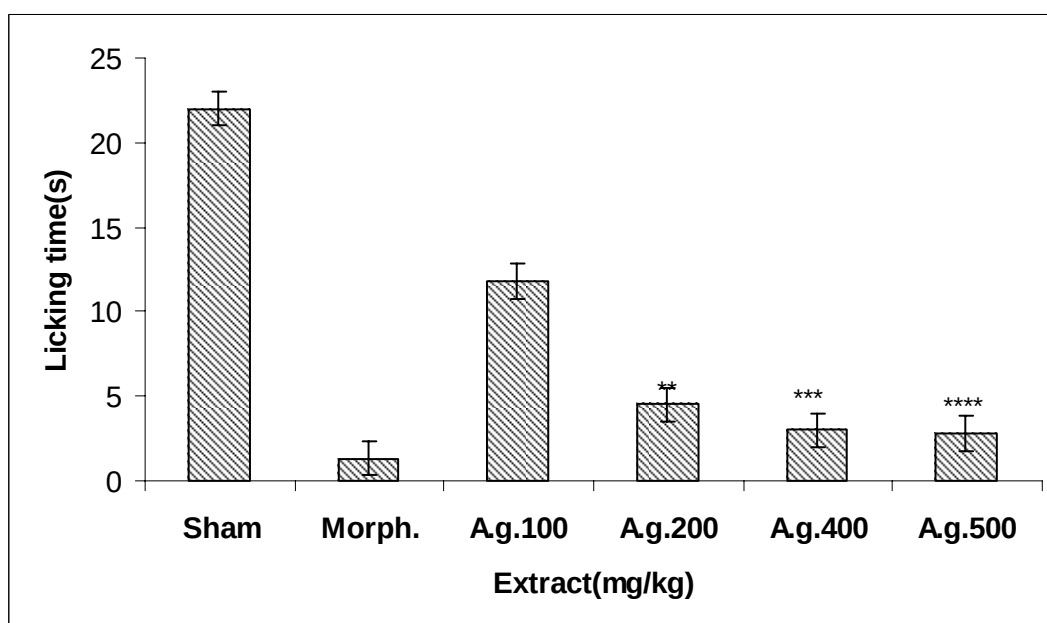
نمودار شماره ۱- نتایج حاصل از تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی دانه گیاه شویید بر التهاب با استفاده از تست گزین در مقایسه با گروه شاهد و گروه کنترل مثبت (دگزامتازون). نمودار براساس میانگین و انحراف معیار رسم شده است.

($p < 0.01$) **, ($p < 0.001$) *** و ($p < 0.0001$) ****.





نمودار شماره ۲- نتایج حاصل از تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی دانه گیاه شوید بر درد حاد (۵ - ۰ دقیقه) در تست فرمالین. مقایسه بین گروه‌های دریافت‌کننده عصاره (A.g.) با گروه شاهد و گروه کنترل مثبت (دریافت‌کننده مورفین). نمودار براساس میانگین و انحراف معیار رسم شده است. $p < 0.01$ (**), $p < 0.001$ (***), و $p < 0.0001$ (****).



نمودار شماره ۳- نتایج حاصل از تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی دانه گیاه شوید بر درد مزمن (۳۰ - ۱۵ دقیقه) در تست فرمالین. مقایسه بین گروه‌های دریافت‌کننده عصاره (A.g.) با گروه شاهد و گروه کنترل مثبت (دریافت‌کننده مورفین). نمودار براساس میانگین و انحراف معیار رسم شده است. $p < 0.01$ (**), $p < 0.001$ (***), و $p < 0.0001$ (****).



بحث

در پژوهش انجام شده توانایی عصاره دانه گیاه شوید در مهار درد و التهاب مورد بررسی قرار گرفت. در زمینه مهار درد و التهاب تاکنون پژوهشی درباره این گیاه صورت نگرفته است و پایه اطلاعات ما برای بررسی اثر ضددردی، استفاده از این گیاه در طب سنتی ایران بود.

در تست گزینش مشاهده شد که سه دوز ۲۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم ذکر شده عصاره هیدروالکلی گیاه دارای اثرات ضدالتهابی می باشد که در این میان دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بیشترین اثر ضدالتهابی را در مقایسه با دگزامتازون نشان داد. در تست فرمالین عصاره هیدروالکلی گیاه دارای اثر ضددردی در هر دو فاز حاد و مزمن بوده است که بیشترین اثر ضددردی در هر دو فاز مربوط به دوز ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم می باشد.

نتایج حاصل از تجزیه اسانس عصاره هیدروالکلی میوه گیاه توسط کروماتوگرافی گازی در این پژوهش نشان می دهد که ترکیبات اصلی تشکیل دهنده عبارتند از: د-کارون، د-لیمون و آلفا فلاندرین. در پژوهش های دیگری خواص ضددردی و ضدالتهابی کارون و لیمون به شرح زیر به اثبات رسیده است.

عصاره هیدروالکلی میوه کرفس *Apium graveolens* اثرات ضددردی و ضدالتهابی دارد [۱۰]. اسانس کرفس حاوی لیمون و سلنین می باشد [۱۵]. ترکیب لیمون دارای خواص ضددردی و ضدالتهابی می باشد [۱۶]. لیمون زمان لیسیدن را در فاز دوم تست فرمالین کاهش می دهد اما بر فاز اول درد

تأثیر ندارد. ترکیب لیمون با مهار آنزیم های سیکلواکسیژناز ۱ و ۲ التهاب را مهار می کنند. لیمون احتمالاً با مهار سنتز یا کاهش آزادسازی میانجی های التهابی سبب کاهش درد در پایانه های عصبی می شود [۱۷].

کارون یک مونوترپن بوده که مشتقات آن نظیر epoxy-carvone, hydroxydihydrocarvone, rotundifolone پاسخ های درد حاصل از استیک اسید را در موش کاهش می دهند [۱۸]. به نظر می رسد کارون می تواند اثرات ضددردی را از طریق هر دو مکانیزم مرکزی و محیطی اعمال کند. اما نالوکسان، آنتاگونیست اپیوئیدی بر عمل ضددردی کارون در تست القا درد توسط استیک اسید اثر ندارد. ظاهراً، اثر ضددردی کارون از طریق گیرنده های گلوتاماتی است. این احتمال وجود دارد که اثر ضددردی کارون توسط مکانیزم مرکزی غیراپیوئیدی باشد. همچنین با توجه به تأثیر ضددردی کارون بر هر دو فاز تست فرمالین ممکن است این ترکیب به وسیله مهار کانال های سدیمی وابسته به ولتاژ عمل کند. به علاوه، فعالیت ضددردی آن ممکن است با کاهش تحریک پذیری اعصاب محیطی باشد [۱۹].

بخش های هوایی گیاه *Rosmarinus officinalis* L. دارای خواص ضددردی است. آنالیز GC/MS نشان می دهد که فلاندرین یکی از اجزا عصاره مزبور است [۲۰]. به نظر می رسد که اثر ضددردی و ضدالتهابی عصاره دانه شوید احتمالاً مربوط به وجود کارون و لیمون باشد که نیاز به پژوهش های بیشتر دارد.

منابع

1. Goldman L, Bennett JC. Cecil textbook of medicine., 21 th edit. ,Vol 1, WB SaundersCo. 2000, pp: 103 - 4.
2. Zargari- A, medicine plants, sixth edition, vol2, Tehran University, 1375, pp: 528 - 31.
3. Monsefi M, Ghasemi M, Bahaoddini A. The effects of *Anethum graveolens* L. on female reproductive system, *Phytother Res.*, 2006 Oct; 20 (10): 865 – 8.
4. Hosseinzadeh H, Karimi GR, Ameri M. Effects of *Anethum graveolens* L. seed extracts on experimental gastric irritation models in mice., *BMC Pharmacol.* 2002 Dec; 19: 2, 21.
5. Hajhashemi V, Abbasi N. Hypolipidemic



activity of *Anethum graveolens* in rats, *Phytother Res*, 2008 Mar; 22 (3): 372 - 5.

6. Yazdanparast-R, Alavi-M, Antihyperlipidaemic and antihypercholesterolaemic effects of *Anethum graveolens* leaves after the removal of furocoumarins, *Cytobios* 2001; 105: 185 - 91.

7. Delaquis-PJ, Stanich-K, Girard-B, Mazza-G, Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils, *Int J Food Microb*, 2002, 74: 101 - 9.

8. Panda-S, The effect of *Anethum graveolens* L. (dill) on corticosteroid induced diabetes mellitus: involvement of thyroid hormones, *Phytother Res*. 2008 Dec; 22 (12): 1695 - 7.

9. Ishikawa-T, Kudo-M, Kitajima-J, Water-soluble constituents of dill, *Chem Pharm Bull*. 2002 Apr; 50 (4): 501 - 7.

10. Nasri-S, Ramezani-M, Yasa-N, evaluation of antinociceptive and anti-inflammatory effect of *Apium graveolens* seed hydroalcoholic extract, *J. of Shahrekord Univ. of Medical Sci*. Winter 2009; 10 (4); 25 - 32.

11. Ghanadi-A, Sajjadi- E, Ahmad Mohammad Almoslemi, Evaluation of phytochemistry of flavonoids and volatile oil of Iranian *Rosmarinus officinalis*, *J. of Ahvaz University of Medical Sci*. 2002; 34: 33 - 40.

12. Hosseinzadeh H, Ramezani M, Salmani G. Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Zataria multiflora* Boiss extracts in mice and rats, *J. Ethnopharmacol*. 2000; 73 (3): 379 - 85.

13. Lin LW, Chen HY, Wu CR, Liao PM, Lin YT, Hsieh MT, Ching H. Comparison with various parts of *Broussonetia papyrifera* as to the antinociceptive and anti-inflammatory activities in

rodents, *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 2008 Sep; 72 (9): 2377 - 84.

14. Zakaria ZA, Sulaiman MR, Gopalan HK, Abdul Ghani ZD, Raden Mohd Nor RN and et al. Antinociceptive and Antiinflammatory properties of *Corchorus capsularis* leaves chloroform extract in experimental animal models, *Yakugaku Zasshi* 2007 Feb; 127 (2): 359 - 65.

15. Newall CA, Anderson LA, Phillipson JD. Herbal Medicines, The Pharmaceutical press, London, 1996, pp: 149 - 50.

16. Golshani S, Karamkhani E, Monsef-Esfehani HR. Antinociceptive effects of essential oil of *dracocephalum kotschy* in the mouse writhing test, *J. Pharm. Sci*. 2004 Apr 20; 7 (1): 76 - 9.

17. Do Amaral JF, Silva MI, Neto Mr, Moura BA, De Melo CT, De Araujo FL, De Sousa DP and et al. Antinociceptive effect of the monoterpene R-(+)-limonene in mice, *Biol Pharm Bull* 2007 Jul; 30 (7): 1217 - 20.

18. De Sousa DP, De Farias Nobrega FF, De Almeida RN. Influence of the chirality of (R)-(-)- and (S)-(+)-carvone in the central nervous system: a comparative study, *Chirality* 2007 May; 19 (4): 264 - 8.

19. Goncalves JC, Oliveira Fde, Benedito RB, De Sousa DP and et al. Antinociceptive activity of (-)-carvone: evidence of association with decreased peripheral nerve excitability, *Biol. Pharm. Bull* 2008 May; 31 (5): 1017 - 20.

20. Martinez AL, Gonzalez-Trujano ME, Pellicer F, Lopez-Munoz FJ, Narrete A. Antinociceptive effect and GC/MS analysis of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil from its aerial parts, *Planta Med*. 2009 Apr; 75 (5): 508 - 11.

