

نقش گیرنده‌های اوپیویدی بر اثرات ضددردی عصاره آبی سرشاخه‌های بادرنجبویه در موش سوری

حسین میلادی گرجی^۱ دکتر علی رشیدی پور^۲ دکتر عباسعلی وفایی^۳ دکتر عباسعلی طاهریان^۱
^۱ مربی گروه فیزیولوژی^۲ استاد گروه فیزیولوژی^۳ استادیار گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان

مجله پزشکی هرمزگان سال دهم شماره اول بهار ۸۵ صفحات ۲۸ - ۲۳

چکیده

مقدمه: بادرنجبویه (*Melissa Officinalis*) گیاهی است که در بخشهای مختلف ایران زیاد می‌روید. در مطالعات قبلی خواص آرام بخشی، ضدتشنجی، ضددردی با عصاره هیدروالکلی آنها گزارش گردید. هدف از این مطالعه تعیین اثر ضددردی عصاره آبی جوشانده سرشاخه های بادرنجبویه با دوزهای مختلف و نیز نقش گیرنده‌های اوپیویدی بر فعالیت ضددردی آن در موش سوری می‌باشد.

روش کار: در این مطالعه تجربی از ۶۳ سر موش سوری نر به وزن ۳۰-۲۵ گرم و از مدل *Tail Flick* به عنوان مدل سنجش درد حاد استفاده گردید. به گروههای آزمایش چهار دوز عصاره آبی جوشانده ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن و در گروه کنترل نرمال سالین ۱۰ ml/kg بصورت داخل صفاقی تزریق شد و نیز جهت بررسی نقش گیرنده اوپیویدی، موشها به چهار گروه ۷ تایی تقسیم شدند و با دوز ۲ میلی‌گرم نالوکسان و دوز ۵ میلی‌گرم عصاره مورد بررسی قرار گرفت. سپس ۲۵ دقیقه پس از تزریق تست ارزیابی درد انجام گرفت. سپس نتایج با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج: نتایج این مطالعه نشان داد که میانگین زمان تأخیر در کشیدن دم در گروههای چهارگانه آزمایشی نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی داری دارند ($P < 0/0001$) ولی گروههای آزمایش در دوزهای مختلف، اختلاف معنی داری با هم ندارند اما نالوکسان موجب کاهش اثر ضددردی دوز ۵ میلی‌گرم عصاره گردید ($P < 0/0001$).

نتیجه‌گیری: عصاره بادرنجبویه اثر ضددردی دارد که وابسته به دوز نمی‌باشد و نیز احتمالاً از طریق گیرنده اوپیویدی عمل می‌نماید. در مورد سایر گیرنده‌هایی که ممکن است تحت تأثیر اثر ضددردی بادرنجبویه قرار گیرند، مطالعات بیشتری باید انجام گیرد.

کلیدواژه‌ها: گیرنده‌های اوپیویدی - رتها - بی‌حس کننده‌ها - طب گیاهی

نویسنده مسئول:
حسین میلادی گرجی
گروه فیزیولوژی دانشکده
پزشکی - مرکز تحقیقات
فیزیولوژی دانشگاه علوم
پزشکی سمنان
سمنان - ایران
تلفن: +۹۸ ۳۲۱ ۳۳۲۰۸۰
پست الکترونیکی:
Miladi331@yahoo.com

دریافت مقاله: ۸۴/۳/۲۸ اصلاح نهایی: ۸۴/۷/۲۴ پذیرش مقاله: ۸۴/۱۲/۱۴

گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) از گیاهان

معطری است که مردم بعضی سرزمینها از مدت‌ها پیش خواص دارویی آن را می‌دانستند و برای درمان برخی بیماریها از آن استفاده می‌کردند. از برگها و پیکر رویشی این گیاه در فارماکوپه‌های معتبر به عنوان دارو یاد شده است (۲). اسانس این گیاه، نخستین بار در قرون وسطی به عنوان مقوی قلب، در درمان بیماریها به کار رفته است.

مقدمه:
استفاده از گیاهان دارویی برای تسکین درد سابقه طولانی در طب دنیا و ایران دارد. با توجه به این که این داروها در هنگام مصرف در حد متعادل دارای عوارض خیلی کمتری نسبت به داروهای صنعتی هستند. از این رو توجه دانشمندان به استفاده دوباره از گیاهان دارویی معطوف گردیده است (۱).

روش کار:

این مطالعه از نوع بنیادی - کاربردی بوده و موشها بر اساس آزمایشات بصورت تصادفی انتخابی شدند.

۱- حیوانات: در این طرح از ۶۳ سر موش سوری نر با وزن ۲۵-۳۰ گرم استفاده شد که در قفسهای مخصوص و تحت شرایط محیطی و درجه حرارت مطلوب تقریباً ۲۲ درجه سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و در حالی که غذا و آب بطور آزادانه در اختیار داشتند، نگهداری می‌شدند.

۲- تهیه عصاره گیاهی: چون در اکثر مطالعات از عصاره‌های هیدروالکی این گیاه استفاده شد، لذا در مطالعه حاضر با توجه به مصرف سنتی آنها، عصاره جوشانده آبی آنها تهیه گردید. سرشاخه‌های بادرنجبویه از مؤسسه علمی کاربردی جهاد کشاورزی تهیه گردید. پس از آسیاب کردن آنها، به ازای هر گرم پودر ۱۰ ml سالین درون بشر ریخته شد (۵۰۰ گرم پودر مورد استفاده قرار گرفت) و به مدت ۲۰ دقیقه جوشید و پس از سرد شدن آن را از پارچه تمیزی گذرانده و توسط کاغذ صافی و قیف بوخزر صاف گردید. عصاره حاصله را مجدداً جهت تغلیظ حرارت دادیم تا عصاره‌ای با ویسکوزیته بالا مانند عسل بدست آمد. عصاره نهایی به چند پلیت منتقل شد و داخل انکوباتور با حرارت ۷۰ درجه سانتیگراد قرار دادیم تا کاملاً خشک شود (۱۱،۱۲). غلظت ماده خشک بدست آمده ۷۵ گرم در صد میلی‌لیتر بود. سپس ۵۰۰ mg ماده خشک را در ۵۰ ml سالین حل کرده که از این محلول به میزان ۱۰ ml/kg B.W به حیوان تزریق شد. برای ساخت محلولهای دیگر با دوزهای ۵، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره بادرنجبویه، رقیق‌سازی با سالین انجام گرفت.

۳- روش تزریق: در این مطالعه به منظور تعیین مدت زمان تأثیر عصاره‌ها در دوزهای مختلف از مطالعه قبلی (مؤلف) استفاده شده است که بر روی اضطراب انجام گردید (۱۳).

لازم به یادآوری است که چون در مقالات قبلی از عصاره هیدروالکی و با دوزهای بالاتر از ۵۰ میلی‌گرم

بوعلی سینا برای آن اثر تقویت نیروی حیاتی قائل بوده و چنین بیان داشته که با مصرف آن، کج خلقی و بی‌حوصلگی‌ها از بین می‌رود.

دانشمندان دیگر آن را برای رفع حالت مالیخولیایی، طپش قلب، ضعف حافظه، سردردهای با منشاء عصبی، سرگیجه و خستگی‌های روحی توصیه نموده‌اند. اسانس آن دارای خاصیت ضد تشنج و آرام‌کننده با اثر قاطع است مشروط بر آنکه به مقادیر کم و درمانی مصرف گردد (۳). تا کنون تحقیقاتی در مدل‌های حیوانی بر روی اثرات آرام‌بخشی، ضد دردی، خواب‌آوری (۴، ۱) و همین‌طور اثرات ضد هورمونی (۵)، ضد ویروسی (HIV-1) (۶)، ضد میکروبی (۷) و آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی (۵)، ضد تشنجی (۴، ۱)، ضد اضطرابی (۸)، پیشگیری از بیماری آلزایمر و نیز تقویت حافظه (۹) انجام شده است.

لوسیون حاصل از دم کرده آن، اگر بر روی زخمها و جراحات قرار داده شود، درد را تسکین می‌دهد و التیام و بهبود آن را باعث می‌گردد. مالش دادن جوشانده آن موجب از بین رفتن دردهای صورت می‌شود. مالش عصاره الکی آن نیز دردهای روماتیسمی و ضرب‌خوردگی‌ها را تسکین می‌دهد. در استعمال خارجی، له شده آن بر روی محل دردناک و گزیدگی زنبور معمولی و زنبور عسل، جهت رفع درد و ناراحتی به کار رفته است (۳). بنابراین با توجه به مطالب فوق مشخص می‌شود که این گیاه دارای اثرات ضددردی و ضدالتهابی می‌باشد.

در مطالعه‌ای بر روی مدل‌های حیوانی عصاره هیدروالکی آن در مقادیر بالاتر از ۵۰ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم اثرات ضددردی حاد و مزمن با استفاده از Tail Flick و نیز فرمالین آزمایش شده است (۱۰، ۱).

با توجه به اینکه در مطالعات سنتی از روش جوشانده آبی آن استفاده می‌شد، لذا در این مطالعه اثر ضددردی عصاره آبی جوشانده در دوزهای پایین‌تر از ۵۰ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم با استفاده از مدل درد حاد Tail Flick استفاده گردید و نیز نقش گیرنده‌های اوپیویدی بر خواص ضد دردی آن مورد بررسی قرار گرفته است.

آزمایش ۲: نقش گیرنده‌های اوپیویدی بر اثرات ضددردی عصاره آبی بادرنجبویه: در این مرحله ۲۸ سر موش به ۴ گروه ۷ تایی تقسیم شده و به صورت زیر تحت بررسی قرار گرفتند و ۲۵ دقیقه بعد از آخرین تزریق تست ارزیابی درد انجام شد.

الف) سالیین (هم حجم نالوکسان) + بلافاصله سالیین (هم حجم عصاره).

ب) نالوکسان (2 mg/kg) + بلافاصله سالیین (هم حجم عصاره).

ج) سالیین (هم حجم نالوکسان) + بلافاصله عصاره بادرنجبویه (۵ ml/kg).

د) نالوکسان + بلافاصله عصاره بادرنجبویه

۶- روش تجزیه و تحلیل داده‌ها: اطلاعات ثبت شده از طریق تست آماری آنالیز واریانس یک طرفه و متعاقب آن برای مقایسه دو به دو گروهها از آزمون توکی استفاده گردید. اختلاف $P < 0.05$ بین گروههای مورد آزمایش از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

۷- ملاحظات اخلاقی: سعی گردید از آسیب و اذیت و آزار بی‌مورد حیوان خودداری گردد.

نتایج:

در نمودار شماره ۱ مشاهده می‌شود که چهار گروه آزمایش با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری با هم دارند ($P < 0.0001$) و هر چهار دوز عصاره موجب افزایش معنی‌دار زمان تأخیر در کشیدن دم (افزایش آستانه درد) در موشها گردید، ولی تفاوت معنی‌داری در بین چهار گروه آزمایش وجود نداشت.

استفاده گردید، لذا در این مطالعه به منظور بررسی اثر ضددردی و نقش گیرنده اوپیویدی از عصاره جوشانده گیاه و با دوزهای پایین‌تر از ۵۰ میلی‌گرم استفاده شد. عصاره‌های دارویی در تمام گروهها با حجم‌های مساوی بصورت داخل صفتی تزریق شد و در گروه شاهد نیز سالیین با حجم مساوی (۱۰ ml/kg) استفاده گردید. نالوکسان نیز به صورت زیرجلدی تزریق شد.

۴- روش انجام آزمون ضددردی: به منظور ارزیابی اثر ضددردی عصاره‌ها، بر اساس مدل ارائه شده توسط Smith and D- amour از دستگاه Tail flick (ساخت شرکت پویای ارمغان مشهد) مورد استفاده قرار گرفت. شدت نور مورد استفاده برابر ۵ لاند بود و از زمان ۱۳ ثانیه به عنوان زمان قطع نوردهی (cut off time) به منظور ممانعت از آسیب بافتی استفاده شد. ابتدا موش در داخل محفظه مخصوص نگهداری حیوان به صورت افقی قرار گرفت به طوری که دم موش آزادانه قادر به حرکت بود و سپس با تثبیت کردن دم در جایگاه مخصوص و ۲ دقیقه عادت، به وسیله تاباندن اشعه بر روی سطح شکمی یک سوم انتهایی دم، مدت زمان تأخیر در کشیدن دم سه مرتبه و با فواصل ۲ دقیقه، پس از تزریق انجام شد و میانگین آن به عنوان زمان تأخیر (Latency) پس از دارو ثبت گردید (۱۵، ۱۴).

۵- طراحی تحقیق:

آزمایش ۱: نقش عصاره آبی سر شاخه‌های بادرنجبویه بر فعالیت ضد دردی: در این گروه از ۳۵ سر موش سوری نر استفاده شد. گروه آزمایش به ۴ گروه ۷ تایی تقسیم شد.

الف): به گروه آزمایش دوزهای ۵، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن حیوان عصاره آبی جوشانده بادرنجبویه بصورت داخل صفتی تزریق شد و ۲۵ دقیقه بعد تست ارزیابی درد انجام شد.

ب): به یک گروه ۷ تایی از موشها هم حجم دوز عصاره، سالیین بصورت داخل صفتی تزریق شد و ۲۵ دقیقه بعد تست ارزیابی درد انجام شد.

نتایج به صورت میانگین \pm میانگین خطای معیار بیان شده است. نالوکسان موجب کاهش معنی‌داری در زمان تأخیر بر داشتن دم هر دو گروه آزمایش و کنترل گردید.

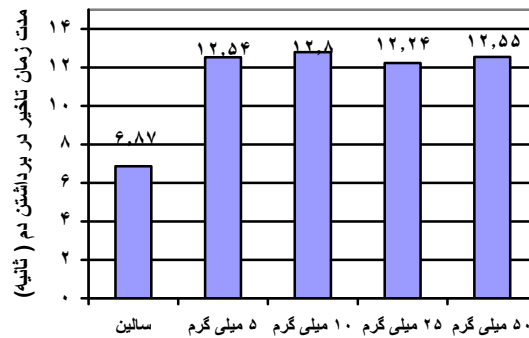
بحث و نتیجه‌گیری:

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره آبی جوشانده گیاه بادرنجبویه در هر چهار دوز اثر ضددردی در مقایسه با گروه کنترل دارد. در بررسی‌های به عمل آمده گزارشی در مورد فعالیت ضددردی عصاره آبی جوشانده آن مشاهده نشده است هر چند مطالعات معدودی با عصاره هیدروالکلی آن انجام گردیده است.

در مطالعه‌ای با عصاره هیدروالکلی آن بر روی موشهای سوری خواص آرام‌بخشی آن در دوزهای پایین ثابت شده است و با دوزهای بالا موجب فعالیت ضددردی محیطی در تست پیچش شکمی (writhing) به دنبال اسیداستیک و همچنین تقویت خواب در دوزهای پایین فنوباریتال گردیده است (۱۶).

در مطالعه‌ای دیگر نشان داده شده است که عصاره هیدروالکلی آن (با دو روش پرکوله و سوکسله) با دوزهای ۳۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در دقایق ۱۵ و ۳۰ اثر ضددردی داشته که به تدریج با افزایش زمان فعالیت ضددردی آن کاهش یافته است و حداکثر پاسخ ضددردی در دقیقه ۱۵ پس از تزریق ایجاد گردید و مؤثرترین دوز آن ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بوده است. همچنین پاسخ ضددردی عصاره پرکوله نسبت به سوکسله بیشتر می‌باشد و اشاره گردیده است که شاید ترکیبات حساس به حرارت در گیاه بادرنجبویه که مسئول اثر ضددردی هستند در اثر حرارتی که در عصاره‌گیری به روش سوکسله استفاده می‌شود تا حدی تجزیه و تخریب گردیده و میزان بخش مؤثر در گیاه کم می‌شود (۱).

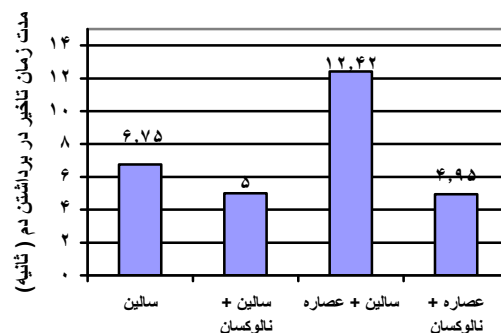
در همین مطالعه اشاره گردید که اثر ضد دردی عصاره در مقایسه با دوز ۳۰۰ میلی‌گرم استیل سالیسیلیک اسید و با دوز ۲/۵ میلی‌گرم مورفین تفاوت معنی‌داری ندارد (۱). در مطالعه دیگر تمامی دوزهای عصاره (۳۰۰-۵۰ میلی‌گرم) با روش پرکوله با استفاده از تست فرمالین در موش سوری اثر ضد دردی داشته است



نمودار شماره ۱- مقایسه اثر ضددردی دوزهای مختلف عصاره جوشانده بادرنجبویه در مدل درد حاد در موش سوری

نتایج به صورت میانگین \pm میانگین خطای معیار بیان شده است. هر چهار دوز عصاره نسبت به گروه کنترل از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با هم دارند ($P < 0.0001$) ولی در بین چهار دوز تفاوت معنی‌داری وجود ندارد.

در نمودار شماره ۲ مشاهده می‌گردد که نالوکسان از نظر آماری موجب کاهش معنی‌داری در زمان تأخیر بر داشتن دم در موشها گردید ($P = 0.022$)، یعنی آستانه درد را کاهش داد ولی عصاره گیاه با دوز ۵ میلی‌گرم در هر کیلوگرم موجب افزایش معنی‌دار زمان تأخیر بر داشتن دم نسبت به گروه کنترل در موشها گردید ($P < 0.0001$) همچنین نالوکسان موجب کاهش معنی‌دار در آستانه درد موشهایی که عصاره دریافت نمودند داشته است ($P < 0.0001$).



نمودار شماره ۲- ارزیابی نقش نالوکسان در ضددردی دوز ۵ میلی‌گرم عصاره جوشانده بادرنجبویه در موش سوری

برای حصول حداکثر پاسخ است که با نتایج مطالعات فوق مغایرت دارد و هر چهار دوز عصاره دارای خواص ضددردی بوده که تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. بنابراین خواص ضددردی عصاره در این مطالعه وابسته به دوز نیست. در مطالعه حاضر همچنین نشان داده شد ماده مؤثره احتمالی که موجب فعالیت ضد دردی می‌شود در اثر جوشاندن از بین نمی‌رود.

لازم به ذکر است در رابطه با حساسیت ماده مؤثره به حرارت مستلزم جداسازی مواد موجود در عصاره گیاه می‌باشد که در مطالعه بعدی این مرکز انجام می‌گیرد.

همچنین در مطالعه حاضر مشاهده شد که نالوکسان موجب کاهش اثر ضد دردی دوز ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره فوق گردید.

در مطالعه‌ای که با مدل درد نوروپاتیک دیابتیک انجام شد، نشان داد Quercetin (که یک نوع فلاونوئید می‌باشد) موجب افزایش آستانه درد گردید ولی نالوکسان با دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم فعالیت ضددردی آن را کاهش داد. بنابراین فعالیت ضد دردی فلاونوئید از طریق تعدیل مکانیسم‌های اوبیویدریک می‌باشد (۱۸). بنابراین عصاره این گیاه احتمالاً از طریق گیرنده اوبیویدی عمل نموده و نیز با توجه به اینکه در مطالعات قبلی فعالیت ضددردی حاد و مزمن داشته، با تأثیر بر سیستم اعصاب مرکزی و محیطی می‌تواند اثر ضددردی خود را اعمال نماید. لازم به یاد آوری است که در بررسی‌های به عمل آمده در رابطه با نقش گیرنده اوبیویدی بر اثرات ضددردی بادرنجبویه گزارشی مشاهده نشد که با مطالعه حاضر مقایسه شود. در این زمینه نیاز به مطالعه بیشتر و نیز استخراج و شناسایی ساختمان شیمیایی مواد مؤثره گیاه می‌باشد.

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره آبی جوشانده سرشاخه‌های بادرنجبویه اثر ضد دردی داشته که این اثر وابسته به دوز نیست و احتمالاً اثر ضددردی این گیاه بخاطر مواد مؤثره موجود در آن و با تأثیر بر سیستم اعصاب مرکزی و محیطی و نیز با تأثیر بر گیرنده‌های اوبیویدی می‌تواند باشد. شاید گیرنده‌ها و میانجی‌های عصبی دیگری نیز داشته باشند که نیاز به تحقیق بیشتری دارد.

که اثر ضددردی عصاره در تمامی دوزها از مورفین کمتر بوده است ولی در مقایسه با آسپیرین اثر ضددردی بیشتری در دقایق ۱۰-۵ و ۱۰-۱۰ داشت. هرچند در سایر زمانها اثر ضددردی کمتر از آسپیرین داشته است (۱۰). بنابراین مشخص می‌گردد که فعالیت ضددردی حاد (Tail Flick) عصاره الکی گیاه تفاوت چندانی با مورفین و آسپیرین ندارد ولی خواص ضددردی مزمن آن با استفاده از فرمالین کمتر از مورفین و آسپیرین می‌باشد، در نتیجه عملکرد ضددردی محیطی برای این عصاره کمتر مطرح می‌باشد و با توجه به اینکه در تست Tail Flick اثر ضددردی خوبی در هر دو نوع عصاره پرکوله و جوشانده آبی (در مطالعه حاضر) داشته است. مکانیسم ضددردی مرکزی برای عصاره این گیاه بیشتر مطرح می‌گردد.

ترکیبات شیمیایی آن شامل؛ سیترال، سیترونل لال، ژرانیول، لینالول، اسیدکافنیک، آنتول، ۴- ترپینول، ۴- کاراکرول، پیریتون، اوژنول، استات اوگنول، اسید رزماری، اسید فنولیک یک کربنه و فلاونوئید می‌باشد (۱،۲،۳،۱۶،۱۷). لازم به یادآوری است که فعالیت ضددردی و ضدالتهابی عصاره گیاه را در رت به اسید رزمارینیک و نیز به اوژنول (احتمالاً) نسبت داده‌اند (۱۰،۹). این گیاه دارای فلاونوئیدها و ترپنوئیدها نیز است که در مطالعه‌ای برای فلاونوئیدها و ترپنوئیدها آثار ضدالتهابی و ضد درد گزارش شده است و از طرف دیگر بر هم کنش مستقیم فلاونوئیدها و سنتز پروستاگلاندینها بر هم به طور قطعی مشخص شده است (۱۴). بنابراین از میان کاندیداهای مختلف احتمالاً فلاونوئیدها می‌توانند در این عصاره بر فرآیند درد مؤثر باشند.

در مطالعه‌ای دیگر نتایج حاصله نشان‌دهنده تأثیر عصاره پرکوله این گیاه به صورت پیش درمانی در تعدیل علایم تشنج ناشی از تزریق پنتیلن تترازول در موش صحرایی است. اثرات ضد تشنجی آن را به وجود اسید کافنیک نسبت داده‌اند (۴).

در مطالعه حاضر نشان داده شد که عصاره آبی جوشانده گیاه در دوزهای پایین‌تر نیز دارای اثر ضددردی است. یعنی این دوزها قادر به ایجاد غلظت کافی

References

منابع

۱. حیدری، محمودرضا. دربان، مریم. ارزیابی اثر ضددردی عصاره متانولی گیاه بادرنجبویه با آزمایش Tail-Flick در موش سوری. مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی. ۱۳۷۷. شماره ۱. ص ۸۷-۸۱.
۲. امیدبگی، رضا. تولید و فراوری گیاهان دارویی. جلد سوم. چاپ دوم. مشهد: انتشارات آستان قدس رضوی. سال ۱۳۷۹. ص ۸۱-۷۸.
۳. زرگری، علی. گیاهان دارویی. جلد چهارم. چاپ ششم. انتشارات دانشگاه تهران. سال ۱۳۷۶. ص ۸۱-۷۷.
۴. محمودی، مجید. حیدری، محمودرضا. ظهور، علیرضا. بررسی اثر عصاره گیاه بادرنجبویه بر تشنجات صرعی ناشی از تزریق پنتیلن ترازول در موش صحرایی. مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان. ۱۳۸۰. شماره ۲. ص ۹۴-۸۸.
5. Peake PW, Pussell BA, Martyn P, Timmermans V, Charlesworth JA. The inhibitory effect of Rosmarinic acid on complement involves the C5 convertase. *J Immunopharmacol*. 1991;13(7):853-885.
6. Yamasaki K, Nakano M, Kawahata T, Mori H, Otake T, Ueba N, et al. Anti-HIV-1 activity of herbs in Labiatae. *Biol Pharm Bull*. 1998;21(8):829-833.
7. Larrondo JV, Agut M, Calvo-Torras MA. Antimicrobial activity of essences from Labiatae. *Microbios*. 1995;82(332):171-172.
8. Coleta M, Campos MG, Cotrim MD, Proenca da Cunha A. Comparative evaluation of *Melissa officinalis* L, *Tilia europaea* L, *Passiflora edulis* Sims and *Hypericum perforatum* L, in the elevated plus maze anxiety test. *Pharmacopsychiatry*. 2001;34(1):S20-21.
9. Kennedy DO, Scholey AB, Tildesley NT, Perry EK, Wesnes KA. Modulation of mood and cognitive performance following acute administration of *Melissa officianlis* (lemon balm). *Pharmacol Biochem Behav*. 2002;72(4):953-964.
۱۰. حیدری، محمودرضا. زاهدی، محمدجواد، عسکری، عباس. مقایسه اثر ضددردی عصاره متانولی گیاه بادرنجبویه با مرفین و استیل سالیسیلیک اسید با استفاده از تست فرمالین در موش سفید کوچک. مجله علمی پزشکی اهواز. ۱۳۷۹. شماره ۲۹. ص ۳۶-۳۵.
۱۱. خاکساری، محمد. رضوانی، محمدابراهیم. سجادی، سیدمحمدعلی. سلیمانی، عباس. بررسی اثر مصرف موضعی عصاره آبی *Rhazya stricta* بر ترمیم زخم پوستی موش سفید بزرگ آزمایشگاهی. مجله علمی پزشکی سمنان. ۱۳۷۹. شماره ۳. ص ۱۰-۱.
۱۲. صمصام شریعت، هادی. معطر، فریبرز. عصاره‌گیری و استخراج مواد موثره گیاهان دارویی و روش شناسایی و ارزشیابی آن. چاپ اول. اصفهان: انتشارات مانی. ص ۲۰-۱۰.
۱۳. میلادی گرجی، حسین. وفایی، عباسعلی. رشیدی پور، علی. طاهریان، عباسعلی. جراحی، مرتضی. امامی ابرقویی، میترا و همکاران. تعیین اثر ضداضطرابی عصاره آبی سرشاخه های بادرنجبویه و نقش گیرنده‌ای اوبیویدی بر آن در موش سوری. مجله دانشگاه علوم پزشکی ایران. ۱۳۸۴. شماره ۴۷. ص ۱۵۳-۱۴۵.
۱۴. احمدیانی، ابوالحسن. سمنانیان، سعید. حسینی، جلیل. بررسی اثرات ضددردی عصاره میوه گیاه سنجد در دو نوع درد حاد و مزمن. مجله پزشکی کوثر. ۱۳۷۷. شماره ۳(۱). ص ۲۶-۲۵.
15. Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev*. 2001;53(4):597-652.
16. Soulimani R, Fleurentin J, Mortier F, Misslin R, Derriue G, Pelt JM. Neurotropic action of the hydroalcoholic extract of *Melissa officinalis* in the mouse. *Planta Med*. 1991;57(2):105-109.
17. Buchner KH, Hellings H, Huber M, Peukert E, Spath L, Deininger R. Double blind study as evidence of the therapeutic effect of *Melissengeist* on Psycho-vegetive syndrome. *Med Klin*. 1974;69(23):1032-1036.
18. Anjaneyulu M, Chopra K. Quercetin, a bioflavonoid, attenuates thermal hyperalgesia in a mouse model of diabetic neuropathic pain. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2003;27(6):1001-1005.