

The Analgesic Effect of Topical Clove Oil Using Formalin Test in Male Mice

Daroogari SH¹, Parandin R², Yousofvand N^{3*}, Shakibaie D⁴

1. Department of Biology, Islamic Azad University, Hamedan branch, Hamedan, Iran

2. Department of Biology, Faculty of Sciences, Payame Noor University, Tehran, Iran

3. Department of Biology, Faculty of Sciences, Razi University, Kermanshah, Iran

4. Medical Biology Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

* *Corresponding author.* Tel: +988334274545, Fax: +988334274545, E-mail: yousofnam@yahoo.com

Received: Jan 30, 2017

Accepted: May 20, 2017

ABSTRACT

Background & objectives: *Syzygium aromaticum* (Clove) is a medicinal plant usually used in traditional medicine to reduce toothache. The aim of the present study was to evaluate the analgesic effect of topical Clove oil on acute and chronic pain in male mice using formalin test.

Methods: In this study, 24 mice were divided into 4 groups: control, morphine (as positive control), Clove oil, and Clove oil plus morphine groups. Before the formalin test, the animals were treated topically with clove oil for 6 hours. A single dose of morphine (10 mg/kg) was prescribed subcutaneously. Pain scores were obtained using the formalin test through an injection of 20 microliter of formalin 2.5% into the palm of the animal's right hand.

Results: Topical administration of Clove oil significantly decreased acute pain (the initial phase of the formalin test) and chronic pain (the second phase of the formalin test). Furthermore, topical Clove oil increased the analgesic effect of morphine in acute pain phase.

Conclusions: This study showed that the analgesic effect of topical Clove oil was comparable to morphine.

Keywords: Clove Oil; Analgesic Effect; Formalin Test.

بررسی اثرات ضد دردی روغن میخک بصورت موضعی با استفاده از آزمون فرمالین در موش سوری نر

شهزاد داروگری^۱، رحمت اله پرنندین^۲، نامدار یوسف وند^{۳*}، داریوش شکیبایی^۴

۱. گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد همدان، همدان، ایران ۲. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران.

ایران ۳. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران ۴. مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی

کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۸۳۳۴۲۷۴۵۴۵ فاکس: ۰۸۳۳۴۲۷۴۵۴۵ پست الکترونیک: yousofnam@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: میخک یک گیاه دارویی می باشد که معمولاً در طب سنتی برای کاهش درد دندان بکار می رود. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر ضد دردی روغن میخک موضعی در روش آزمون فرمالین در دو فاز حاد و مزمن در موش سوری نر بود.

روش کار: در این مطالعه تجربی تعداد ۲۴ سر موش کوچک آزمایشگاهی به ۴ گروه کنترل، گروه مورفین (کنترل مثبت)، گروه روغن میخک، گروه روغن میخک+مورفین تقسیم و مورد استفاده قرار گرفتند. قبل از آزمون فرمالین، حیوانات به مدت ۶ ساعت تحت تیمار با روغن میخک موضعی بصورت مالشی قرار گرفتند. مورفین (۱۰ mg/kg) بصورت تک دوز و زیرجلدی تجویز شد. نمرات درد با استفاده از آزمون فرمالین با تجویز ۲۰ میکرولیتر فرمالین ۲/۵٪ به کف دست راست حیوان بدست آمدند.

یافته ها: روغن میخک موضعی موجب کاهش درد حاد (فاز اولیه تست فرمالین) و درد مزمن (فاز ثانویه تست فرمالین) شد. از طرفی روغن میخک موضعی اثر ضد دردی مورفین را در مرحله درد حاد افزایش داد.

نتیجه گیری: این تحقیق نشان داد که روغن میخک موضعی دارای اثر ضد دردی می باشد که با اثر مورفین قابل مقایسه است.

واژه های کلیدی: روغن میخک، اثر ضد دردی، تست فرمالین

پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۳۰

دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۱۰

مقدمه

شیمیایی یا حرارتی آسیب رسان می باشد. درد حاد ناشی از فعالسازی گیرنده های درد^۲ در محل آسیب بافتی می باشد که ممکن است از چند ساعت تا چند هفته طول بکشد و سپس خودبخود بهبود می یابد. درد حاد می تواند اعصاب سمپاتیک دستگاه عصبی خودمختار را فعال کرده و منجر به افزایش فشار خون، تاکی کاردی، تورم بافتی، رنگ پریدگی چهره، گشادشدن مردمک چشم و غیره گردد. درد مزمن دردی است که سه ماه یا بیشتر طول کشیده و معمولاً به درمان نیز پاسخ مناسبی نمی دهد. درد مزمن یک مشکل بهداشتی و چالش اساسی در پزشکی می باشد

درد^۱ از کلمه لاتین Poena که به معنی مجازات می باشد مشتق شده است. درد یک احساس ناخوشایند و یک تجربه ادراکی است که به دنبال یک آسیب بالقوه و واقعی در یکی از بافت های بدن بوجود می آید. همینطور درد می تواند نشانه ای از وجود یک بیماری در بدن فرد باشد [۱]. درد غالباً به صورت درد فیزیولوژیک یا حاد و درد پاتولوژیک یا مزمن است که درد مزمن خود شامل درد التهابی و درد نوروپاتیک می باشد. درد حاد یک پاسخ فیزیولوژیک پیش بینی شده طبیعی به محرک های مکانیکی،

² Nociceptors

¹ Pain

بهداشتی استفاده می‌شود [۱۱،۱۰]. روغن گل میخک برای درمان زخم و آسیب، آثار گزیدگی یا نیش حشرات بویژه در پوست‌های حساس، مفید شناخته شده است. از این روغن در ساخت ترکیبات ضد جوش استفاده می‌شود و در درمان جوش‌های چرکی کارآمد است [۱۲].

میخک به عنوان یک داروی آرام کننده و بیهوشی در ماهیان در سطح گسترده استفاده می‌گردد [۱۳]. همینطور عصاره میخک به طور سنتی بعنوان ضد درد در دندانپزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۴،۱۵]. لذا با توجه به این که تاکنون تحقیقات خاصی در مورد اثرات ضد دردی روغن میخک موضعی بصورت مالشی انجام نشده است، بنابراین این تحقیق به منظور ارزیابی اثرات ضد دردی روغن میخک بصورت موضعی بر روی موش‌های کوچک آزمایشگاهی بود.

روش کار

در این مطالعه تجربی از موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر از نژاد NMRI با محدوده وزن ۳۰-۲۵ گرم که از انستیتو پاستور ایران تهیه شده بودند، استفاده گردید. حیوانات در مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی گروه زیست‌شناسی دانشگاه رازی تا رسیدن به شرایط با ثبات و تطابق با محیط، به مدت دو هفته نگهداری شدند. دمای اتاق نگهداری حیوانات در حدود 22 ± 1 درجه سانتی‌گراد بوده و موشها در دوره‌های روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند و به آب و غذای کافی با شرایط یکسان دسترسی داشتند. ۲۴ حیوان به صورت تصادفی به ۴ گروه کنترل (بدون تیمار)، مورفین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن)، روغن میخک و روغن میخک+مورفین گروه بندی شدند. دوز مورفین و فرمالین نیز بر اساس تحقیق قبلی انتخاب گردید [۱۶].

که می‌تواند تحت اثر عوامل فیزیکی، محیطی و روانی قرار گیرد و معمولاً خودبخود بهبود پیدا نکرده و اغلب نیازمند مراقبت و تحمل هزینه‌های درمانی بالایی می‌باشد [۲]. در سراسر جهان تعداد زیادی از مردم از انواع درد رنج می‌برند و در آرزوی یافتن دارویی با اثرات بیشتر و عوارض کمتر هستند [۳]. عموماً جهت کنترل درد از داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی^۱ (NSAIDs) یا داروهای مخدر (اپیوئیدها)^۲ استفاده می‌شود که عوارض جانبی زیادی دارند. برای مثال NSAIDs باعث اختلالات دستگاه گوارش؛ آسیب‌های کلیوی و... می‌شوند. مصرف اپیوئیدها نیز منجر به تهوع، ضعف تنفسی، یبوست و در صورت مصرف طولانی مدت باعث وابستگی شدید شده و اعتیاد آور هستند [۴،۵]. در نتیجه محققان به دنبال یافتن داروهای می‌باشند که ضمن نداشتن این عوارض، ارزان بوده و در دسترس همگان باشد. بنابراین به علت سهولت در دسترسی به گیاهان دارویی و با توجه به عوارض کم و ارزان بودن داروهای گیاهی، تحقیقات مختلفی در مورد اثرات ضد دردی گیاهان دارویی انجام شده است [۶،۷].

گیاه میخک (Clove) جزء گیاهان دارویی می‌باشد که در طب سنتی مورد توجه زیادی قرار گرفته است. میخک متعلق به خانواده *myrtaceae* و با نام علمی *Syzygium aromaticum* می‌باشد [۸]. این گیاه از لحاظ شیمیایی حاوی میزان قابل توجهی از اسانس روغنی فرار، تانن، ماده کاربوفیلین، و مقادیری تری‌ترین و استر می‌باشد. همینطور گلیکوزیدهای میخک شامل الکل‌های آلیفاتیک، مونوترپنوئیدها، اوژینول، ایزواوژینول، فARNZOL، سیتوسترول، نرولیدول و کمپسترول است [۹]. روغن گل میخک که از گلبرگ‌های آن به دست می‌آید، کاربردهای پزشکی فراوانی دارد و در ساخت داروها و مواد آرایشی

¹ Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIs)

² Opioids

مجموعه ای از رفتارهای القا شده با فرمالین را نشان خواهد داد که به آنها بر اساس روش‌های دوبویسون-دنیس^۱ و هانسکار-هول^۲ نمره ۳-۰ داده می‌شود. در نهایت نمره درد به صورت ۱۲ بلوک ۵ دقیقه ای محاسبه خواهد شد و میانگین نمره درد در هر بلوک ۵ دقیقه ای طبق فرمول زیر محاسبه می‌شود.

$$\text{نمره درد} = \frac{0T_0 + 1T_1 + 2T_2 + 3T_3}{20}$$

در این فرمول T_0, T_1, T_2, T_3 تعداد ۱۵ ثانیه‌هایی است که حیوان در دوره ۵ دقیقه ای به ترتیب رفتارهای صفر، ۱، ۲، ۳ را نشان می‌دهد. دقایق ۵-۰ و ۶۰-۱۶ به ترتیب به عنوان مراحل فاز حاد، درد مزمن در نظر گرفته می‌شوند. زمان ۱۰ تا ۳۰ دقیقه هم به عنوان تغییر فاز درد در نظر گرفته می‌شود.

نمره صفر = دست حیوان بطور طبیعی بر زمین است.

نمره ۱ = دست حیوان مختصری بر زمین است.

نمره ۲ = دست حیوان بر زمین نیست و از آن جدا است.

نمره ۳ = حیوان دستش را گاز میگیرد یا می‌لیسد.

هنگامی که حیوان دست را لیسیده، جویده و یا به شدت تکان می‌دهد به عنوان Licking Time در نظر گرفته می‌شود که در مرحله اول (۰ تا ۵ دقیقه) به عنوان فاز حاد و مرحله دوم (۲۰ تا ۳۰ دقیقه) به عنوان فاز مزمن بر حسب ثانیه اندازه گیری می‌شود، یا در فواصل زمانی ۵ دقیقه اول برای درد حاد و ۱۵ تا ۶۰ دقیقه بعد به عنوان شاخص درد مزمن اندازه گیری می‌شود. بعد از ۱۵ تا ۲۰ دقیقه فاز دوم درد شروع می‌شود و حیوان دوباره به لیسیدن کف دست مربوطه می‌پردازد که حدود ۴۰ دقیقه طول می‌کشد [۱۹-۱۶].

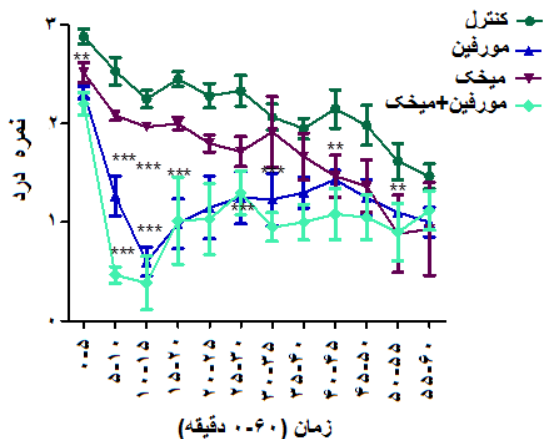
در این پژوهش روغن میخک از شرکت شفای کردستان تهیه گردید. حیوانات در گروه تیمار با روغن میخک به مدت ۶ ساعت قبل از انجام آزمون فرمالین، بصورت آزادانه در معرض روغن که در کف ظرف فایبرگلاس کاملاً تمیز به ابعاد 17×24 cm ریخته و آغشته می‌شد، قرار می‌گرفتند. همینطور مورفین نیز به صورت زیر جلدی نیم ساعت قبل از انجام آزمون فرمالین به موش‌ها تزریق گردید.

تست فرمالین جهت آزمون درد: آزمون فرمالین دارای دو مرحله ی مشخص درد است که مرحله اول آن پس از تزریق زیر جلدی فرمالین به انگشت وسط دست راست حیوان شروع شده و به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه ادامه داشته و سپس فروکش می‌کند. در مرحله دوم درد، بعد از فروکش نسبی، درد شدیدتری تقریباً ۱۵ دقیقه پس از تزریق، بروز و تا حدود یک ساعت ادامه می‌یابد. در مرحله دوم درد، برای انجام تست درد ابتدا حیوان برای انطباق با شرایط محیط به مدت ۱۵ دقیقه در داخل اتاقک شیشه ای قرار می‌گیرد سپس بر اساس اینکه متعلق به کدام گروه باشد در معرض روغن میخک موضعی بصورت مالشی یا مورفین قرار می‌گیرد. بعد از مواجهه دارویی و اطمینان از اثر دارو در بدن جهت اعمال اثر انطباق حیوان به مدت ۱۵ دقیقه در داخل اتاقک شیشه ای قرار داده می‌شود. دستگاه تست درد یک اتاقک شیشه‌ای به ابعاد $30 \times 30 \times 30$ است. اتاقک(جعبه) شیشه ای روی سطح فوقانی جعبه دیگری حاوی آینه با زاویه قرارگیری ۴۵ درجه جاسازی می‌شود برای مشاهده ی بهتر حرکات حیوان یک آینه با زاویه ۴۵ درجه، داخل جعبه زیرین و در زیر اتاقک شیشه ای و روبروی مشاهده کننده قرار می‌گیرد. پس از گذشت مدت زمان مورد نظر، با استفاده از سرنگ انسولین، ۲۰ میکرولیتر فرمالین ۲/۵٪ به کف دست راست حیوان به صورت زیر جلدی تزریق می‌شود. پس از آن نیز حیوان به دستگاه تست درد بازگردانده می‌شود تا رفتارهای حیوان مورد بررسی قرار گیرد. حیوان

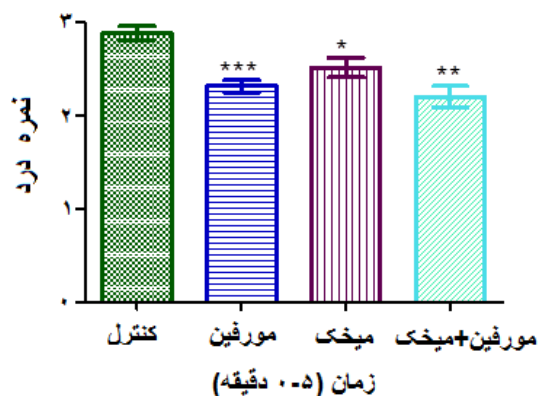
¹ Dobuissou-Dennis

² Hunskaar-Hol

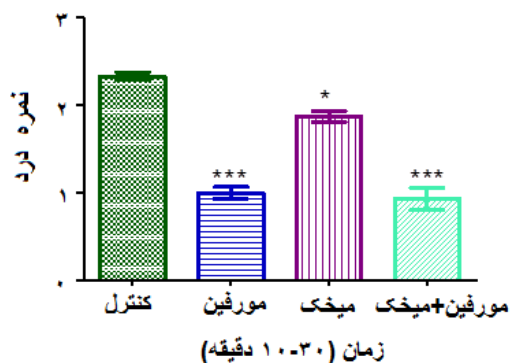
آنالیز آماری



نمودار ۱. مقایسه میزان نمره درد در طول زمان ۶۰ دقیقه ای آزمون فرمالین در گروه‌های مختلف. اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل. (***) $p < 0.001$ و (**) $p < 0.01$ ، (* $p < 0.05$)



نمودار ۲. مقایسه میزان نمره درد (حاد) در طول زمان ۵-۱۰ دقیقه ای آزمون فرمالین در گروه‌های مختلف. اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل. (***) $p < 0.001$ و (**) $p < 0.01$ ، (* $p < 0.05$)



نمودار ۳. مقایسه میزان نمره درد (مرحله محیطی شدن درد) در طول زمان ۳۰-۱۰۰ دقیقه ای آزمون فرمالین در گروه‌های مختلف. اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل (* $p < 0.05$ و (***) $p < 0.001$)

داده‌ها بصورت میانگین \pm انحراف معیار^۱ (SEM) آورده شده‌اند. نرمال بودن توزیع داده‌ها توسط آزمون کولموگروف-اسمیرنوف^۲ تایید شد، سپس جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه^۳ و جهت مقایسه میانگین گروه‌های آزمایشی از آزمون تعقیبی توکی^۴ استفاده شد. از نظر آماری مقادیر $p < 0.05$ بعنوان حداقل سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

داده‌های حاصل از نمودار ۱ نشان داد که روغن میخک تاثیر معنی‌داری در کاهش نمرات درد گروه‌های مورفین و روغن میخک+مورفین در زمان‌های مختلف در مقایسه با گروه کنترل داشته است. در مورد گروه روغن میخک نیز کاهش در نمرات درد در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد که این کاهش در زمان‌های ۴۵ تا ۵۰ و ۵۵ تا ۶۰ دقیقه معنی‌دار بود ($p < 0.01$).

داده‌های حاصل از نمودار ۲ نشان دهنده کاهش معنی‌داری در نمرات درد گروه‌های مورفین ($p < 0.001$)، روغن میخک ($p < 0.05$) و روغن میخک+مورفین ($p < 0.01$) در طول زمان ۵-۱۰ دقیقه ای در مقایسه با گروه بود.

همانطور که در نمودار ۳ ملاحظه می‌شود کاهش معنی‌داری در نمرات درد گروه‌های مورفین ($p < 0.001$)، روغن میخک ($p < 0.05$) و روغن میخک+مورفین ($p < 0.01$) در طول زمان ۳۰-۱۰۰ دقیقه (مرحله محیطی شدن درد) با گروه کنترل مشاهده گردید.

¹ Standard Error of Mean (SEM)

² Kolmogorov- Smirnov Test

³ One-Way ANOVA

⁴ Post Hoc Tukey test

بحث

در این تحقیق جهت القای درد از مدل فرمالین استفاده شد که یک مدل مناسب برای سنجش و ارزیابی درد مداوم و پایدار ناشی از یک محرک شیمیایی می‌باشد و از سوی دیگر می‌توان اثرات درد حاد را نیز در طی فاز اول این تست بررسی کرد. در آزمون فرمالین، فاز اول درد ۵ دقیقه طول می‌کشد و پس از آن حیوان به مدت ۱۰ دقیقه آرام گرفته و رفتار خاصی نشان نمی‌دهد. پس از ۱۵ دقیقه فاز دوم شروع شده و تا ۶۰ دقیقه و بیشتر طول می‌کشد [۱۸،۱۷]. در مدل حیوانی مربوط به تحقیق حاضر نیز این اثرها مشاهده شد و یافته مطالعه حاضر یافته‌های قبلی را تأیید کرد. ۵ دقیقه اول آزمون یا فاز حاد درد بیشتر مربوط به تحریک مستقیم گیرنده‌های حس درد در محل تزریق و به دنبال آن فعال شدن فیبرهای نوع C می‌باشد، در صورتی که مرحله دوم ۲۰ تا ۶۰ دقیقه پس از تزریق فرمالین مشاهده می‌گردد و مربوط به واکنش‌های التهابی در بافت محیطی و به دنبال آن تغییرات عملکرد نورون‌های مسیر انتقال درد در شاخ خلفی نخاع و حساس شدن این نورون‌ها می‌باشد [۲۱،۲۰]. گزارش‌های متعددی دال بر دخالت سیستم‌های نوروترانسمیتر نظیر ماده P^۱، گلوتامات، سروتونین، و هیستامین در پاسخ فرمالینی ارائه شده است [۲۲]. در این پژوهش مجموع اثرات روغن میخک موضعی و مورفین از اثر درمانی مورفین به تنهایی کمتر بود که ممکن است بدلیل تداخلات دارویی باشد.

پژوهش حاضر نشان داد که روغن میخک موضعی دارای اثر ضد دردی می‌باشد. مطالعات فیتوشیمیایی نشان داده اند که یک ماده فلاونوئیدی بنام اوژنول^۲ در میخک وجود دارد که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی می‌باشد و این ماده ممکن است در اثرات ضد دردی روغن میخک نقش داشته باشد. روغن

میخک دارای ۷۰ تا ۹۷ درصد اسانس فراری مانند اوژنول است. اسانس آن از جوانه‌های گل، برگ و ساقه درخت تهیه می‌شود [۲۳-۲۵]. نشان داده شده اوژنول که ماده مؤثر میخک است خواص ضد دردی مناسبی دارد که در دندانپزشکی از آن به عنوان آرام‌کننده درد دندان استفاده می‌شود [۲۵،۲۴]. آزمایشات مطالعه حاضر نیز صحت این گزارش را تایید می‌کند. فلاونوئیدها دارای خاصیت ضد دردی و التهابی طبیعی بوده و بعنوان مهارکننده آنزیم سنتز نیتریک اکسید عمل می‌کنند که یک میانجی اصلی در نورون‌های مرتبط با درد می‌باشد [۲۶].

در مطالعه حاضر نشان داده شد که در گروه دریافت‌کننده روغن میخک درد کاهش داشته است و این کاهش درد تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل دارد. در گروه دریافت‌کننده روغن میخک + مورفین، درد بشدت کاهش پیدا کرده است و با گروه کنترل تفاوت معنی‌دار ایجاد کرده است. همچنین نشان داده است که در مرحله درد حاد اختلاف معنی‌داری در کاهش درد در گروه دریافت‌کننده روغن میخک همراه مورفین با گروه کنترل ایجاد شده است و روغن میخک اثر ضد دردی مورفین را افزایش داده است. می‌توان نتیجه گرفت که در مرحله درد حاد ممکن است روغن میخک به طور مرکزی بر روی سیستم اویپوئیدی به صورت تقویت اثر اویپوئیدها ظاهر شده باشد و با مهار التهاب و تأثیر بر مسیر درد به طور مرکزی موجب تسکین درد شده است. در یک بررسی مشخص گردید که اسانس میخک احتمالاً با تأثیر بر گیرنده‌های آدرنرژیک اثر ضد درد خود را اعمال می‌کند [۲۷]. در تحقیقات دیگر نشان داده شده که اسانس روغنی، عصاره اتانولی و آبی میخک دارای اثر ضد درد و مسکن در موش می‌باشد [۲۹،۲۸]. این تحقیقات تأیید کننده یافته‌های مطالعه حاضر می‌باشد و در مدل حیوانی مربوط به این تحقیق نیز این اثرات مشاهده شده است.

¹ Substance P² Eugenol

که بتا- کاربوفیلین از راه تحریک و فعال‌سازی گیرنده کانابینوئیدی CB2 منجر به تحریک آزادسازی اپیوئید بتاندورفین درونزاد از کراتینوسیت‌های پوست شده و اثرات ضد دردی خود را اعمال می‌کند. با توجه به موضعی بودن روغن میخک بر روی سطح بدن موش‌ها در این تحقیق ممکن است از این راه نیز اثرات ضد دردی خود را نشان دهد که نیاز به تحقیقات بعدی دارد [۳۸]. اخیراً گیرنده‌های کانابینوئیدی CB2 و آگونیست‌های انتخابی آن بعنوان یک هدف درمانی جدید در درمان درد مطرح شده‌اند [۳۹].

نتیجه گیری

در مجموع نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که استفاده از روغن میخک بصورت موضعی مالشی دارای خواص ضد دردی است که بخشی از این اثرات با مورفین قابل مقایسه می‌باشد. لذا این روغن می‌تواند بعنوان جایگزینی برای داروهای شیمیایی مطرح باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه دوره کارشناسی ارشد خانم شهزاد داروگری به شماره ۱۷۱۳۰۵۱۹۹۰۱۰۰۷ می‌باشد. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از همکاری حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان تقدیر و تشکر به عمل آورند.

همینطور برخی مطالعات نشان داده اند که اوژنول دارای ساختار شیمیایی مشابه با کاپسایسین^۱ می‌باشد که در تعدیل درد نقش دارد [۳۱،۳۰]. بنابراین اوژنول ممکن است بخشی از اثرات ضد دردی خود را با تاثیر بر گیرنده‌های کاپسایسین که بر روی انتهای فیبرهای آوران اولیه که در شاخ خلفی نخاع قرار دارند اعمال کند. برخی مطالعات دیگر نشان داده اند که اوژنول دارای آثار مشابه با گابا (نوروترانسmitter مهارکننده درد) و آثار متضاد با گلوتامات (نوروترانسmitter تحریکی درد) می‌باشد [۳۳،۳۲]. در بررسی‌ها مشاهده شد که اوژنول باعث مهار آنزیم سیکلو اکسیژناز می‌گردد. این آنزیم در تولید پروستاگلاندین در محل‌های آسیب دیده نقش دارد و پروستاگلاندین نیز باعث افزایش حساسیت نورون‌های درد می‌شود [۳۵،۳۴]. یک تحقیق دیگر نشان داده است که اوژنول جریان یون سدیم در نورون‌های گانگلیون ریشه پشتی رت را مهار می‌کند [۳۶]. بنابراین ممکن است روغن میخک بصورت موضعی توسط مکانیسم‌های مشابهی در کاهش درد نقش خود را ایفا کند.

در کنار اوژنول، یکی دیگر از ترکیبات مهم موجود در روغن میخک، یک سزکویی ترین دو حلقه ای بنام بتا- کاربوفیلین^۲ می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند که این ماده در چند مدل حیوانی دارای اثرات ضد دردی و ضد التهابی می‌باشد [۳۷]. اخیراً نشان داده شده است

¹ Capsaicin

² Beta-caryophyllene

References

- 1-Okafor ROS, Remi-Adewunmi BD, Fadason ST, Ayo JO, Muhammed SM. Pathophysiologic mechanisms of pain in animals – A review. J Vet Med Anim Health. 2014 may; 6(5): 123-30.
- 2-Khalida Anwar MD. Pathophysiology of pain. Dis Mon. 2016 Sep; 62(9):324-9.
- 3-Beaulieu P, Lussier D, Porreca F, Dickenson A. Pharmacology of Pain, 1st ed. Seattle: IASP Press, 2010: 213-34.
- 4-Carter GT, Duong V, Ho S, Ngo KC, Greer CL, Weeks DL. Side effects of commonly prescribed analgesic medications. Phys Med Rehabil Clin N Am. 2014 May; 25(2): 457-70.
- 5-Baldini A, Von Korff M, Lin EH. A Review of Potential Adverse Effects of Long-Term Opioid Therapy: A Practitioner's Guide. Prim Care Companion CNS Disord. 2012 Jun; 14(3): Published online.

- 6-Chakraborty GS, Singh V, Kumar L, Bhadgajar R. Antiinflammatory and antinociceptive activity of hydroalcoholic extract of *Mirabilis jalapa* and *Mirabilis japonica*. *Orient Pharm Exp Med*. 2012 Sep; 12(3): 177–80.
- 7-Riedel R, Marrassini C, Anesini C, Gorzalczany S. Anti-Inflammatory and Antinociceptive Activity of *Urera aurantiaca*. *Phytother Res*. 2015 Jan; 29(1): 59-66.
- 8-Cortes-Rojas DF, de Souza CRF, Oliveira WP. Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. *Asian Pac J Trop Biomed* 2014; 4(2): 90-96.
- 9-Karimi I, Dabili A. Study of the effect of compound *Syzygium aromaticum* and *Rheum officinale* extract on skin wound healing in rat. *Iranian J Vet Clin Sci*. 2015; 9 (2): 49-56.
- 10-Mishra RK, Singh SK. Safety assessment of *Syzygium Aromaticum* flower bud (clove) extract with respect to testicular function in mice. *Food Chem Toxicol*. 2008 Oct; 46(10): 3333–38.
- 11-Slavenova D, Horvathova L, Wsolova L. Investigation of anti-oxidative, cytotoxic, DNA-damaging and DNAprotective effects of plant volatiles eugenol and borneol in human-derived HepG2, Caco-2 and VH10 cell lines. *Mutat Res*. 2009 Jun-Jul; 677(1-2): 46-52.
- 12-Kaur G, Athar M, Alam MS. Eugenol precludes cutaneous chemical carcinogenesis in mouse by prevention oxidative stress and inflammation. *Mol Carcinogen*. 2010 Mar; 49(3): 290-301.
- 13-Rastiannasab A, Hosseini SA, Sharif Rohani M, Gandomkar H, Nekoyiefard A, Gorjipour E. The control of recovery process with clove tree (*Eugenia caryophyllata*) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *ISFJ*. 2014; 23(1): 117-123. [Full text in Persian]
- 14-Ohkubo T, Shibata M. The selective capsaicin antagonist capsazepine abolishes the antinociceptive action of eugenol and guaiacol. *J Dent Res*. 1997 Apr; 76(4): 848-51.
- 15-Park CK, Kim K, Jung SJ, Kim MJ, Ahn DK, Hong SD, et al. Molecular mechanism for local anesthetic action of eugenol in the rat trigeminal system. *Pain*. 2009 Jul; 144(1-2): 84-94.
- 16-Nasri S, Ramezani M, Yassa N. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of hydroalcoholic extract of *Apium graveolens* seeds in mice. *J Shahrekord Univ Med Sci*. 2008; 4(10): 25-31. [Full text in Persian]
- 17-Dubuisson D, Dennis SF. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain*. 1997 Dec; 4(2): 161-74.
- 18-Rosland JH, Tjolsen A, Maehle B, Hole K. The formalin test in mice: effect of formalin concentration. *Pain*. 1990 Aug; 42(2): 235-42.
- 19-Hunnskaar S, Hol K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain*. 1987 Jul; 30(1): 103-114.
- 20-Capone F, Aloisi AM. Refinement of pain evaluation techniques. The formaline test. *Ann Ist Super Sanita*. 2004 Jan; 40(2): 223-29.
- 21-Biglarnia M, Khodabakhshi Hafshejani Z, Karami M. Differences in morphine-induced antinociception in male and female offspring born of morphine exposed mothers. *Indian Journal of Pharmacology*. 2013 May-June; 45(3): 227-31.
- 22-Jesse CR, Savegnago L, Nogueira CW. Mechanisms involved in the antinociceptive and anti-inflammatory effects of bis selenide in mice. *J Pharm Pharmacol*. 2009 May; 61(5): 623-30.
- 23-Daniel AN, Sartoretto SM, Schmidt G, Caparroz- Assef SM, Bersani-Amado CA, Cuman PKN. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of eugenol essential oil in experimental animal models. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2009 Mar; 19(1): 212-217.
- 24-Park CK, Kim K, Jung SJ, Kim MJ, Ahn DK, Hong SD, et al. Molecular mechanism for local anesthetic action of eugenol in the rat trigeminal system. *Pain*. 2009 Jul; 144(1-2): 84-94.
- 25-Abedi HA, Fathi-Moghaddam H, Mohammadian M, Shahrani M. Evaluation of analgesic effects of intrathecal eugenol in male rats. *J Shahrekord Univ Med Sci*. 2012 May-Jun; 14(2): 23-30. [Full text in Persian]
- 26-Hoodgar F, Nasri S, Amin GH. Investigation of antinociceptive and anti-inflammatory effects of hydro-alcoholic extract of *Securigera securidaca* L. *Ofoh-e-Danesh: J Gonabad Univ Med Sci Heal Ser*. 2011 spring; 17(2): 12-19. [Full text in Persian]
- 27-Huang YC, Wu BN, Lin YT, Chen SJ, Chiu CC, Cheng CJ, et al. Eugenodilol: a third generation beta-adrenoceptor blocker, derived from eugenol, with alpha-adrenoceptor blocking and beta2-

- adrenoceptor agonist-associated vasorelaxant activities. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1999 Jul; 34(1): 10-20.
- 28-Kamkar Asl M, Nazariborun A, Hosseini M. Analgesic effect of the aqueous and ethanolic extracts of clove. *Avicenna J Phytomed*. 2013 spring; 3(2): 186-92.
- 29-Hosseini M, Kamkar Asl M, Rakhshandeh H. Analgesic effect of clove essential oil in mice. *Avicenna J Phytomed*. 2011 summer; 1(1): 1-6.
- 30-Ohkubo T, Shibata M. The selective capsaicin antagonist capsazepine abolishes the antinociceptive action of eugenol and guaiacol. *J Dent Res*. 1997 Apr; 76(4): 848-51.
- 31-Patacchini R, Maggi CA, Meli A. Capsaicin-like activity of some natural pungent substances on peripheral endings of visceral primary afferents. *Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol*. 1990 Jul; 342(1): 72-7.
- 32-Yang BH, Piao ZG, Kim YB, Lee CH, Lee JK, Park K, et al. Activation of vanilloid receptor 1 (VR1) by eugenol. *J Dent Res*. 2003 Oct; 82(10): 781-5.
- 33-Yano S, Suzuki Y, Yuzurihara M, Kase Y, Takeda S, Watanabe S, et al. Antinociceptive effect of methyleugenol on formalin-induced hyperalgesia in mice. *Eur J Pharmacol*. 2006 Dec; 553(1-3): 99-103.
- 34-Li W, Tsubouchi R, Qiao S, Haneda M, Murakami K, Yoshino M. Inhibitory action of eugenol compounds on the production of nitric oxide in RAW264.7 macrophages. *Biomed Res*. 2006 Apr; 27(2): 69-74.
- 35-Ito S, Okuda-Ashitaka E, Minami T. Central and peripheral roles of prostaglandins in pain and their interactions with novel neuropeptides nociceptin and nocistatin. *Neurosci Res*. 2001 Dec; 41(4): 299-332.
- 36-Cho JS, Kim TH, Lim JM, Song JH. Effects of eugenol on Na⁺ currents in rat dorsal root ganglion neurons. *Brain Res*. 2008 Dec; 1243: 53-62.
- 37-Ghelardini C, Galeotti N, Di Cesare Mannelli L, Mazzanti G, Bartolini A. Local anaesthetic activity of [beta]-caryophyllene. *Farmacol*. 2001 May-Jul; 56(5-7): 387-9.
- 38-Katsuyama S, Mizoguchi H, Kuwahata H, Komatsu T, Nagaoka K, Nakamura H, et al. Involvement of peripheral cannabinoid and opioid receptors in β -caryophyllene-induced antinociception. *Eur J Pain*. 2013 May; 17(5): 664-75.
- 39-Anand P, Whiteside G, Fowler CJ, Hohmann AG. Targeting CB2 receptors and the endocannabinoid system for the treatment of pain. *Brain Res Rev*. 2009 Apr; 60(1): 255-66.