

# مهاری درد التهابی ناشی از تست فرمالین بواسطه کوئرتستین: نقش مسیره‌های اوپیوئیدرژیک، نیتریک اکساید و هیستامینرژیک در موش کوچک آزمایشگاهی

شاهین حسن پور<sup>۱\*</sup>، سارا زاهدی<sup>۲</sup>، امیر حسام صرفی<sup>۲</sup>

## چکیده

مطالعه حاضر به منظور بررسی نقش مسیره‌های اوپیوئیدرژیک، نیتریک اکساید و هیستامینرژیک در مهاری درد بواسطه کوئرتستین در موش کوچک آزمایشگاهی انجام گرفت. ۸۵ سر موش کوچک آزمایشگاهی نر بطور تصادفی در ۵ مرحله آزمایشی با چهار گروه و ۵ تکرار در هر گروه مورد ارزیابی قرار گرفتند. در آزمایش ۱ بمنظور بررسی اثرات ضد دردی کوئرتستین گروه اول بعنوان کنترل، گروه دوم الی چهارم به ترتیب سطوح ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم کوئرتستین و گروه پنجم مورفین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) را دریافت کردند. پس از مشخص شدن سطح موثر کوئرتستین آزمایشات مراحل دوم الی چهارم طراحی و اجرا شد. در آزمایش دوم گروه‌های آزمایشی شامل کنترل، تزریق کوئرتستین (۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، نالوکسان (آنتاگونیست غیر انتخابی گیرنده‌های اوپیوئیدی، ۲ میلی گرم بر کیلوگرم) و تجویز توام کوئرتستین (۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) با نالوکسان (۲ میلی گرم بر کیلوگرم) در آزمایشات سوم و چهارم L-NAME (مهاریکننده سنتز نیتریک اکساید، ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و سیپروهپتادین (آنتاگونیست غیر انتخابی گیرنده های هیستامین، ۴ میلی گرم بر کیلوگرم) بجای نالوکسان استفاده شد. سپس تست فرمالین بواسطه تزریق آن به کف پای راست انجام و مدت زمان حس درد (زمان لیسیدن و گاز گرفتن پای تزریق شده) در دوره‌های زمانی ۰-۵ دقیقه (فاز اول) و ۱۵-۳۰ دقیقه (فاز دوم) اندازه‌گیری شد. باتوجه به نتایج بدست آمده، تزریق سطوح مختلف کوئرتستین بطور معنی داری موجب کاهش زمان درد شد ( $P < 0/05$ ). تزریق توام نالوکسان یا L-NAME به علاوه کوئرتستین بطور معنی داری موجب کاهش اثرات ضد دردی کوئرتستین شد ( $P < 0/05$ ). نتایج نشان دهنده این بود که کوئرتستین دارای خاصیت ضددردی است و این اثر از طریق مسیر نیتراژیک و اوپیوئیدرژیک میانجی‌گری در موش می‌شود.

واژگان کلیدی: کوئرتستین، درد التهابی، موش

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۲/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۴/۱۲

## مقدمه

از آنجا که مهاری درد و عوارض ناشی از آن بسیار حایز اهمیت است همه ساله تحقیقات متعدد و مختلفی برای یافتن راههای بهتر مقابله با درد در جهان انجام می‌شود مسیره‌هایی که در انتقال درد نقش دارند تا حدود زیادی شناخته شده‌اند و امروزه داروهای زیادی برای کنترل این مسیره‌ها در دسترس قرار دارد (۱) که از آن جمله می‌توان به داروهای ضددردی اوپیوئیدی اشاره کرد. این داروها که از دیرباز توسط بشر شناخته شده و به کار رفته است، اثرات خود را بیشتر در نخاع شوکی یا ساقه مغز بروز می‌دهند (۲). البته باید در نظر داشت که این داروها با القای تحمل و وابستگی باعث بروز اثرات ناخواسته می‌شوند بنابراین باید در مصرف آنها احتیاط نمود (۳). همچنین داروهای ضدالتهاب غیر استروئیدی اثرات خود را با مهاری مسیره‌های التهابی (مسیره‌های پروستاگلاندینی) اعمال می‌کنند. این داروها اثر خود را در مهاری، درد در قسمتهای محیطی اعمال می‌کنند. متأسفانه این قبیل داروها نیز اثرات جانبی خود را داشته و باعث بروز عوارض گوارشی مانند خونریزی دستگاه گوارش می‌شوند (۴). همین دلیل یافتن داروهای جدید برای کاهش درد که عوارض کمتری نسبت به داروهای موجود داشته باشند، از مهمترین اهداف تحقیقات در این زمینه است (۵).

\* ۱- بخش فیزیولوژی، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران s.hassanpour@srbiau.ac.ir

۲- دانشجوی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

## مواد و روش کار

### حیوانات و گروه‌های مورد مطالعه

در این مطالعه تجربی از ۸۵ موش کوچک آزمایشگاهی نژاد N-MRI با میانگین وزنی ۲۰ الی ۲۵ گرم استفاده شد. حیوانات در قفس‌های ۵ تایی با دوره شبانه روزی طبیعی و در دمای ۲۲-۲۴ درجه سانتی گراد با آب و غذای کافی نگهداری می‌شدند. در آزمایش ۱ اثرات ضد دردی کوئرستین مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت. در این مرحله گروه اول بعنوان کنترل (سالین)، گروه دوم الی چهارم به ترتیب سطوح ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم کوئرستین و گروه پنجم مورفین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) را دریافت کردند (نمودار اول). پس از مشخص شدن سطح موثر کوئرستین آزمایشات مراحل دوم الی چهارم طراحی و اجرا شد. در آزمایش دوم حیوانات طبق گروه‌های آزمایشی تزریق دارویی را دریافت کردند: شامل کنترل، کوئرستین (۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، نالوکسان (آنتاگونیست غیر انتخابی گیرنده‌های اوبیوئیدی، ۲ میلی گرم بر کیلوگرم) و تجویز توام کوئرستین (۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) با نالوکسان (۲ میلی گرم بر کیلوگرم) (نمودار دوم). در آزمایش سوم گروه‌های آزمایشی شامل کنترل، کوئرستین (۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، L-NAME (مهارکننده سنتز نیتریک اکساید، ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و تجویز توام کوئرستین (۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) با L-NAME (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بود (نمودار سوم). در آزمایش چهارم موش‌ها تجویز سالین (کنترل)، کوئرستین (۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، سیپروهپتادین (آنتاگونیست غیر انتخابی گیرنده های هیستامین، ۴ میلی گرم بر کیلوگرم) و تجویز توام کوئرستین (۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) با سیپروهپتادین (۴ میلی گرم بر کیلوگرم) را دریافت کردند. سطوح دارویی مورد استفاده از تحقیقات پایه و مطالعات قبلی استنباط شد (۹، ۱۰).

گیاهان دارویی و داروهای مشتق از آنها از مهمترین منابع مورد تحقیق در خصوص درمان یا تسکین درد هستند که از قدیم الایام به عنوان منابع مهم درمانی توسط بشر شناخته شده اند. امروزه نیز با توجه به سهولت دسترسی به این داروها تمرکز زیادی برای استفاده از آنها و تحقیق در مورد خواص آنها وجود دارد (۶). کوئرستین (Quercetin) فلاونولی است که در بیشتر سبزیجات و میوه‌های خوراکی، به ویژه در سیب، آجیل، گیاهان، پیاز و شراب گیلانی افت می‌شود و دارای فعالیت‌های بیولوژیکی مربوط به توانایی آن در مهار آنزیم‌ها و اثرات آن بر پاسخ‌های ایمنی است (۷). اثرات دارویی کوئرستین، مانند فعالیت‌های آنتیاکسیدانی، ضدالتهابی، ضدآلرژی، ضدپیری و ضدسرطان، همچنین اثر تنظیم کننده آن بر اینترلوکین ۳، ۶، ۹ و فاکتور نکروز توموری آلفا کاملاً تأیید شده است. تحقیقات مهم و قابل اعتماد دیگری نشان دهنده خواص مفید دیگری از جمله خاصیت ضدآسمی، ضد پرفشاری خون، ضد دیابت، ضد نقرس و کاهش دهنده خطر ابتلا به بیماریهای قلبی و عروقی در افراد مصرف کننده کوئرستین است (۸). تحقیقات نشان دهنده اثرات ضد دردی کوئرستین است بطوری که سطوح ۱۰ الی ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم آن موجب مهار درد التهابی ناشی از فرمالین و اسید استیک می‌شود (۹). هرچند مطالعاتی در این خصوص صورت گرفته است اما مکانیسم اثرات ضددردی آن بخوبی مشخص نشده است. از آنجایی که شناسایی مسیرهای عصبی دخیل می‌تواند روشن کننده مکانیسم اثرات گیاهان با خاصیت درمانی باشد، مطالعه حاضر به منظور بررسی نقش مسیرهای اوبیوئیدریک، نیتریک اکساید و هیستامینریک در مهار درد بواسطه کوئرستین در موش کوچک آزمایشگاهی انجام گرفت.

## تست فرمالین

در حیوانات برای بررسی درد در حیوانات از روش آزمون فرمالین استفاده شد. در این روش، حیوانات یک ساعت قبل از شروع تحقیق به محیط آزمایشگاه منتقل می‌شدند و پس از عادت کردن به محیط ۲ میکرولیتر محلول فرمالین ۲ به کف پنجه موش تزریق می‌شد. حیوانات بلافاصله پس از تزریق فرمالین در داخل محفظه‌ای از جنس پلاستیکی گلاس به ابعاد ۳۰×۳۰×۳۰ سانتی متر قرار می‌گرفتند و هر ۵ دقیقه یکبار به مدت ۶۰ دقیقه از نظر میزان بی‌دردی بررسی می‌شدند (۱۱). آینه‌ای با زاویه ۴۵ درجه در زیر این محفظه تعبیه شده بود تا پنجه پای حیوان به راحتی دیده شود. مهم‌ترین ویژگی آزمون فرمالین این است که چونندگان دو پاسخ به درد را نشان می‌دهند که ظاهراً دو مکانیسم مختلف دارد. مرحله اول بلافاصله بعد از تزریق فرمالین ظاهر می‌شود که به مدت ۵ دقیقه طول می‌کشد (۰-۵ دقیقه) و به عنوان فاز حاد در نظر گرفته می‌شود. بعد از ۵ دقیقه اول، به مدت ۱۰ دقیقه حیوان رفتار خاصی نشان نمی‌دهد. پس از ۱۵ دقیقه فاز دوم درد شروع شده و تا دقیقه ۶۰ طول می‌کشد و به عنوان فاز مزمن در نظر گرفته می‌شود. مدت زمانی (بر حسب ثانیه) که صرف لیسیدن، جویدن و گاز گرفتن پای تزریقی می‌شود (Licking Time)، در دوره‌های زمانی ۰-۵ دقیقه و سپس ۱۵-۳۰ دقیقه به عنوان شاخص درد اندازه‌گیری می‌شود. داروهای مورد استفاده ۳۰ دقیقه قبل از تزریق فرمالین به صورت زیر جلدی یا داخل صفاقی به حیوانات تزریق می‌شد. در مواردی که بیش از یک دارو مورد استفاده قرار می‌گرفت (آزمایشات ۲ الی ۴)، فاصله زمانی ۳۰ دقیقه بین تزریقها رعایت می‌شد. در آزمایشاتی که در آنها تقابل عمل مسیره‌های ضد دردی بررسی خواهد شد، تزریق آنتاگونیست ۱۵ دقیقه قبل از تزریق دوز موثر کوئرستین انجام خواهد شد و ۱۵ دقیقه بعد تزریق

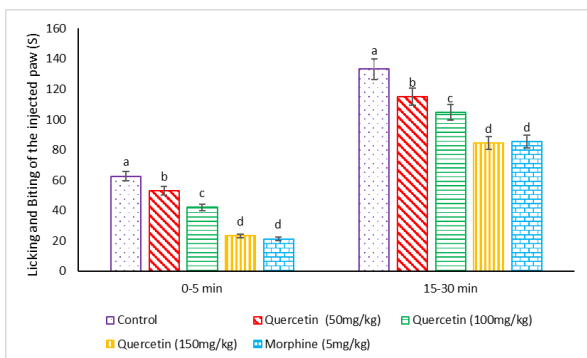
آنتاگونیست انجام و میزان درد مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۱).

## روش تجزیه تحلیل آماری

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها، نتایج حاصل توسط آنالیز واریانس یک طرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و برای بررسی مقایسات میانگین بین گروه‌ها در سطح معنی‌داری (P≤0.05) از تست چند دامنه‌ای توکی استفاده گردید.

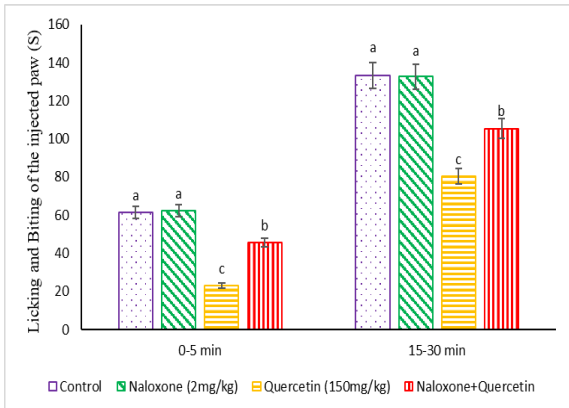
## نتایج

همانطور که در نمودار ۱ دیده می‌شود، تزریق مورفین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) بطور معنی‌داری موجب کاهش زمان درد ناشی از تست فرمالین نسبت به گروه کنترل شد (P<۰/۰۵). تزریق سطوح مختلف کوئرستین بطور معنی‌داری موجب کاهش زمان درد ناشی از تست فرمالین نسبت به گروه کنترل شد (P<۰/۰۵) اما تفاوت معنی‌داری بین سطوح ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم دیده نشد (P>۰/۰۵).

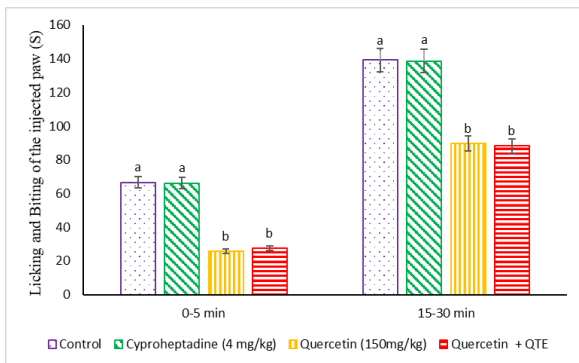


نمودار ۱- بررسی اثرات سطوح مختلف کوئرستین و مورفین بر مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پای تزریق شده بواسطه فرمالین. علامت‌های نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مختلف (P<۰/۰۵) (۵ سر موش در هر گروه).

باتوجه به نمودار ۲ تزریق نالوکسان (۲ میلی گرم بر کیلوگرم) اثری بر زمان درد ناشی از تست فرمالین نسبت به گروه کنترل نداشت (P>۰/۰۵). کوئرستین (۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بطور معنی‌داری موجب کاهش زمان درد



نمودار ۳- بررسی اثرات کوئرستین، L-NAME (مهارکننده سنتز نیتریک اکساید) و تزریق همزمان آنها بر مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پای تزریق شده بواسطه فرمالین. علامت های نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه های مختلف ( $P < 0.05$ ) (۵ سر موش در هر گروه).

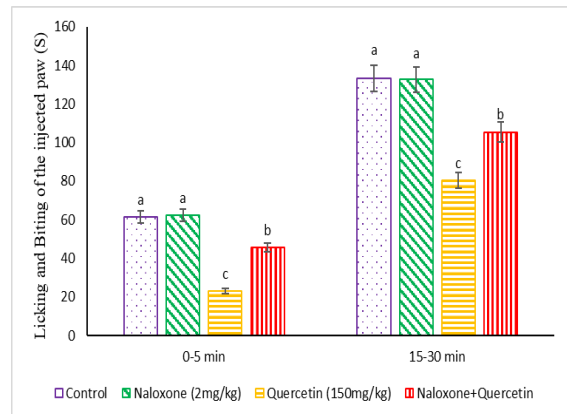


نمودار ۴- بررسی اثرات کوئرستین، سیپروهپتادین (آنتاگونیست غیر انتخابی گیرنده های هیستامین) و تزریق همزمان آنها بر مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پای تزریق شده بواسطه فرمالین. علامت های نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه های مختلف ( $P < 0.05$ ) (۵ سر موش در هر گروه).

### بحث

درد از جمله تجاربی است که جانداران با آن مواجه می-شوند. از یک طرف برای آگاهی از آسیب بافتی و از طرف دیگر احساس ناخوشایندی است که همواره روح و جسم جاندار را مورد هدف قرار می دهد. به علت پیچیدگی و تظاهرات چندگانه درد، درمان حاد و مزمن موضوع بسیاری

ناشی از تست فرمالین نسبت به گروه کنترل شد ( $P < 0.05$ ). تزریق توام نالوکسان به علاوه کوئرستین بطور معنی داری موجب کاهش اثرات ضد دردی کوئرستین شد ( $P < 0.05$ ).



نمودار ۲- بررسی اثرات کوئرستین، نالوکسان و تزریق همزمان آنها بر مدت زمان لیسیدن و گاز گرفتن پای تزریق شده بواسطه فرمالین. علامت های نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه های مختلف ( $P < 0.05$ ) (۵ سر موش در هر گروه).

همانطور که دیده می شود تزریق L-NAME (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) اثری بر زمان درد ناشی از تست فرمالین نسبت به گروه کنترل نداشت ( $P > 0.05$ ). کوئرستین (۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بطور معنی داری موجب کاهش زمان درد ناشی از تست فرمالین نسبت به گروه کنترل شد ( $P < 0.05$ ). تزریق توام L-NAME به علاوه کوئرستین بطور معنی داری موجب کاهش اثرات ضد دردی کوئرستین شد ( $P < 0.05$ ).

با توجه به نتایج مرحله چهارم تزریق سیپروهپتادین (۴ میلی گرم بر کیلوگرم) اثری بر زمان درد ناشی از تست فرمالین نسبت به گروه کنترل نداشت ( $P > 0.05$ ). کوئرستین (۱۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بطور معنی داری موجب کاهش زمان درد ناشی از تست فرمالین نسبت به گروه کنترل شد ( $P < 0.05$ ). تزریق توام سیپروهپتادین و کوئرستین اثر معنی داری بر ضد دردی کوئرستین نداشت ( $P > 0.05$ ).

مسیره‌های انتقال درد در تست‌های مختلف یکسان نمی‌باشند و گاه‌ا اثرات ضد دردی ترکیبات یکسان در تست‌های مختلف با مسیره‌های گوناگونی میانجی‌گری می‌شود. همانطور که مطالعه حاضر دیده شد اثرات ضد دردی کوئرستین در تست فرمالین بواسطه نالوکسان مهار شد که همسو با تحقیق Anjaneyulu و همکاران (۱۳) بود درحالی که بیان شده است اثرات ضد دردی کوئرستین در تست صفحه داغ بواسطه نالوکسان مهار نمی‌شود (۹). تزریق داخل پلانتار فرمالین در جوندگان موجب افزایش قابل ملاحظه‌ای در سطوح پروستاگلندین و کینین‌ها و نیتریک اکساید می‌شود بطوری‌که

تجویز آنتاگونیست‌های گیرنده تاکی کینین، مهارکننده‌های سنتز نیتریک اکساید، گیرنده‌های NMDA و آلفا-۲-آدرنرژیک همگی می‌توانند با فرمالین مخالفت کنند (۹).

کوئرستین با تداخل با فعالیت القایی نیتریک اکسید سنتاز منجر به کاهش آسیب ایسکمی-پرفیوژن مجدد می‌شود. غلظت بالاتر نیتریک اکسید تولید شده توسط نیتریک اکسید سنتاز القایی در ماکروفاژها می‌تواند منجر به آسیب اکسیداتیو شود. در این شرایط ماکروفاژهای فعال شده تولید همزمان اکسید نیتریک و آنیون‌های سوپراکسید خود را به شدت افزایش می‌دهند. اکسید نیتریک به طور جالبی می‌تواند به عنوان خود رادیکال در نظر گرفته شود و مستقیماً توسط فلاونوئیدها حذف شود (۱۴). مطالعات قبلی نشان داده است که سیستم نیتراژیک طی التهاب فعال و با گشادشدگی و نفوذ پذیری عروق شده باعث آزاد شدن میانجی‌های درد می‌شود (۱۵). از نتایج چنین استنباط می‌شود که کوئرستین دارای خاصیت ضددردی است و این اثر از طریق مسیر نیتراژیک و اوپیوئیدرژیک میانجی‌گری در موش می‌شود.

از تحقیقات بالینی و آزمایشگاهی است. شواهد زیادی مبنی بر دخالت سیستم‌های شیمیایی مانند سیستم اوپیوئیدی در کنترل درد است اما داروهای اوپیوئیدی باعث تحمل و وابستگی و بسیاری از عوارض جانبی دیگر می‌شوند. یکی از راه کارهای ممکن جهت دستیابی به داروهای ضد درد جدید با کاربری بالا و آثار محدود کننده کمتر توجه به گیاهان دارویی و مواد طبیعی است که یک استراتژی تحقیقاتی پر ثمر در راه تهیه داروهای ضد درد جدید است (۱۲). از این رو مطالعه حاضر بمنظور بررسی و شناسایی مسیره‌های ضددردی کوئرستین انجام شد. با توجه به مهمترین یافته‌های تحقیق حاضر، تزریق سطوح مختلف کوئرستین موجب کاهش زمان درد شد. تزریق توام نالوکسان یا L-NAME به علاوه کوئرستین موجب کاهش اثرات ضد دردی کوئرستین شد. نتایج نشان دهنده این بود که کوئرستین دارای خاصیت ضددردی است و این اثر از طریق مسیر نیتراژیک و اوپیوئیدرژیک میانجی‌گری در موش می‌شود.

آزمون فرمالین دارای دو مرحله درد حاد و مزمن دارد که مرحله حاد با تحریک مستقیم گیرنده‌های درد و فعالیت فیبرهای عصبی نوع C است درحالی که مرحله مزمن درد، مجموعه‌ای از واکنش‌های التهابی در بافت آسیب دیده و تغییرات عملکردی در شاخ خلفی نخاع است که درد را ایجاد می‌کند. این تغییرات عملکردی از تحریکات فیبرهای عصبی C در مرحله اول ناشی می‌شوند و به نظر می‌رسد موادی از قبیل ماده P، برادی کینین، هیستامین و پروستاگلندین‌ها در این تحریک نقش داشته باشند (۱۲). اثر ضد درد کورستین برای اولین بار توسط Rylski و همکاران (۱۹۷۹) نشان داده شد و مطالعات بعدی نشان دادند که گیرنده‌های نوع دوم دوپامینرژیک و آلفا-۲-آدرنرژیک، HT<sub>3</sub>-5 سروتونینی در اثرات ضد دردی کورستین دخیل هستند (۹). براساس مطالعات پیشین

## فهرست منابع

1. Scuteri D, Berliocchi L, Rombolà L, Morrone LA, Tonin P, Bagetta G, et al. Effects of aging on formalin-induced pain behavior and analgesic activity of gabapentin in C57BL/6 mice. *Frontiers in pharmacology*. 2020;11:663.
2. Hong J-S, Feng J-H, Park J-S, Lee H-J, Lee J-Y, Lim S-S, et al. Antinociceptive effect of chrysin in diabetic neuropathy and formalin-induced pain models. *Animal Cells and Systems*. 2020;24(3):143-50.
3. Ghofran O, Safari T, Shahraki MR. Effects of eugenol on pain response to the formalin test and plasma antioxidant activity in high fructose drinking water in male rats. *International journal of preventive medicine*. 2019;10.
4. Meymandi MS, Sepehri G, Izadi G, Zamiri Z. Evidence for antinociceptive effects of combined administration of vitamin E and celecoxib in tail-flick and formalin test in male rats. *Pharmacological Reports*. 2019;71(3):457-64.
5. Vivanco-Estela AN, dos-Santos-Pereira M, Guimaraes FS, Del-Bel E, do Nascimento GC. Cannabidiol has therapeutic potential for myofascial pain in female and male parkinsonian rats. *Neuropharmacology*. 2021;196:108700.
6. Kiratipai boon C, Wasana PWD, Sukrong S, Ruangrungsri N, Towiwat P. Herbal root extracts in Ben-Cha-Moon-Yai remedy attenuated pain-like behaviors and inflammation through the opioid and prostaglandin systems. *Journal of Ethnopharmacology*. 2022;290:115088.
7. Tang Y, Li J, Gao C, Xu Y, Li Y, Yu X, et al. Hepatoprotective effect of quercetin on endoplasmic reticulum stress and inflammation after intense exercise in mice through phosphoinositide 3-kinase and nuclear factor-kappa B. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2016;2016.
8. Patrizio F, Ditroilo M, Felici F, Duranti G, De Vito G, Sabatini S, et al. The acute effect of Quercetin on muscle performance following a single resistance training session. *European Journal of Applied Physiology*. 2018;118:1021-31.
9. Filho AW, Filho VC, Olinger L, de Souza MM. Quercetin: further investigation of its antinociceptive properties and mechanisms of action. *Archives of pharmacal research*. 2008;31:713-21.
10. Hassanpour S, Rezaei H, Razavi SM. Antinociceptive and antioxidant activity of betaine on formalin-and writhing tests induced pain in mice. *Behavioural brain research*. 2020;390:112699.
11. Sayeli V, Nadipelly J, Kadhivelu P, Cherian BV, Shanmugasundaram J, Subramanian V. Antinociceptive effect of flavonol and a few structurally related dimethoxy flavonols in mice. *Inflammopharmacology*. 2019:1-13.
12. Talebi N, Hassanpour-Ezatti M, Farhang D. Comparison of the Effects of Aerobic and Resistance Training on Changes in Inflammatory Pain Threshold in Male Rats. *Feyz*. 2021: 25-30.
13. Anjaneyulu M, Chopra K. Quercetin attenuates thermal hyperalgesia and cold allodynia in STZ-induced diabetic rats. 2004.
14. Baghel SS, Shrivastava N, Baghel RS, Agrawal P, Rajput S. A review of quercetin: antioxidant and anticancer properties. *World J Pharm Pharmaceutical Sci*. 2012;1(1):146-60.
15. Anbar M, Gratt BM. Role of nitric oxide in the pathophysiology of pain. *Journal of pain and symptom management*. 1997;14(4):225-54.