



Research Article

Nanoemulsion Containing Essential Oils of Rosemary and Peppermint Reduces Neuropathic Pain in Rats with Chronic Constriction Injury of the Sciatic Nerve

Mojgan Mohammadifar¹, Fereshteh Bahmani², Alireza Abed¹, Gholamali Hamidi¹,
Mohammad Hossein Aarabi³, Sayyed Alireza Talaei^{*}

¹ Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

² Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

³ Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Pharmacy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

* **Corresponding author:** Sayyed Alireza Talaei, Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran. Email: talaei@kaums.ac.ir

DOI: [10.61882/jams.28.4.275](https://doi.org/10.61882/jams.28.4.275)

How to Cite this Article:

Mohammadifar M, Bahmani F, Abed A, Hamidi Gh, Aarabi MH, Talaei SA. Nanoemulsion Containing Essential Oils of Rosemary and Peppermint Reduces Neuropathic Pain in Rats with Chronic Constriction Injury of the Sciatic Nerve. *J Arak Uni Med Sci*. 2025;28(4): 275-83. DOI: [10.61882/jams.28.4.275](https://doi.org/10.61882/jams.28.4.275)

Received: 11.07.2025

Accepted: 01.09.2025

Keywords:

Neuropathic pain;
Nanoemulsion;
Essential oil;
Rosmarinus officinalis L.;
Mentha piperita;
Rats

© 2024 Arak University of Medical Sciences

Abstract

Introduction: The analgesic effects of rosemary and peppermint essential oils have been shown in many studies. Low solubility of essential oils in water and low bioavailability limit their consumption, and nanoparticles can help solve these limitations. This study aimed to investigate the analgesic effect of a nanoemulsion containing rosemary and peppermint essential oils in a rat model of neuropathic pain.

Methods: Forty male rats were assigned to four groups: control (CON), neuropathic pain received normal saline (NPS), nanoemulsion (NPN), or gabapentin (NPG). Neuropathic pain was induced using the CCI model. Animals received a nanoemulsion containing 10% rosemary extract and peppermint essential oil via gavage for 21 days. Behavioral tests (Thermal Hyperalgesia, Thermal Allodynia, and Mechanical Allodynia) were done on days 1, 4, 7, 14, and 21 of the study. Biochemical tests were also done on the sciatic nerve of animals at the end of the study.

Results: The NPS rats had a significantly increased pain threshold compared to the control group ($P < 0.001$). Furthermore, the analgesic potential of nanoemulsion containing rosemary and peppermint essential oils was seen in allodynia and hyperalgesia tests. Biochemical analyses showed that CCI reduced total antioxidant capacity, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase activity, and also increased MDA levels in the rats' sciatic nerve ($P < 0.001$ for all comparisons). Administering nanoemulsion containing rosemary and peppermint essential oils reversed all the above-mentioned changes in the biochemical parameters ($P < 0.001$).

Conclusions: Our findings revealed that treating rats with a nanoemulsion containing rosemary and peppermint essential oils can reduce neuropathic pain symptoms by balancing their sciatic nerve's oxidant and antioxidant systems.

نانوامولسیون حاوی اسانس گیاهان رزماری و نعنای فلفلی در کاهش درد نوروپاتیک در موش‌های صحرای مدل آسیب فشاری مزمن عصب سیاتیک

مژگان محمدی^۱ ID، فرشته بهمنی^۲ ID، علیرضا عابد^۱ ID، غلامعلی حمیدی^۱ ID، محمدحسین اعرابی^۳ ID، سید علیرضا طلایی^۱ ID*

^۱ مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

^۲ مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

^۳ گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

* نویسنده مسئول: سید علیرضا طلایی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران. ایمیل: talaei@kaums.ac.ir

DOI: 10.61882/jams.28.4.275

چکیده	تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۱۰
مقدمه: اثرات ضددردی اسانس رزماری و نعنای فلفلی در مطالعات زیادی نشان داده شده است. حلالیت پایین اسانس‌ها در آب و فراهمی‌زیستی پایین مصرف آنها را محدود کرده و نانوذرات می‌توانند در رفع این محدودیت‌ها کمک کنند. این مطالعه با هدف بررسی اثر ضددردی نانوامولسیون حاوی اسانس رزماری و نعنای فلفلی در موش‌های صحرایی مبتلا به درد نوروپاتیک انجام شد.	واژگان کلیدی: درد نوروپاتیک؛ نانوامولسیون؛ اسانس؛ رزماری؛ نعنای فلفلی؛ موش صحرایی
روش کار: ۴۰ سر موش صحرایی نر به چهار گروه زیر اختصاص داده شدند: کنترل (CON)، درد نوروپاتیک دریافت‌کننده نرمال‌سالین (NPS)، نانوامولسیون (NPN) یا گایاپنتین (NPG). درد نوروپاتیک با استفاده از مدل CCI ایجاد شد. حیوانات، نانوامولسیون حاوی ۱۰ درصد عصاره رزماری و اسانس نعنای فلفلی را از طریق گاوژ دریافت کردند. آزمایشات رفتاری (هایپرآلژی حرارتی، آلودینیای حرارتی و آلودینیای مکانیکی) در روزهای ۱، ۴، ۷، ۱۴ و ۲۱ مطالعه انجام شد. در پایان، آزمایشات بیوشیمیایی روی بافت عصب سیاتیک انجام شد.	تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی اراک محفوظ است.
یافته‌ها: موش‌های NPS افزایش قابل توجهی در آستانه درد در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند ($P < 0/001$). به علاوه، پتانسیل ضددرد نانوامولسیون حاوی اسانس رزماری و نعنای فلفلی در آزمایش‌های آلودینیای و هایپرآلژی دیده شد. بررسی‌های بیوشیمیایی نشان داد که CCI ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل، و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز و گلوکاتیون پراکسیداز را کاهش داده و سطح MDA را در عصب سیاتیک موش‌ها افزایش می‌دهد ($P < 0/001$ برای همه مقایسه‌ها). تجویز نانوامولسیون تمام تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی را معکوس کرد ($P < 0/001$).	
نتیجه‌گیری: تجویز نانوامولسیون حاوی اسانس رزماری و نعنای فلفلی برای موش‌های صحرایی، می‌تواند علائم درد نوروپاتیک را از طریق ایجاد تعادل در سیستم‌های اکسیدانی و آنتی‌اکسیدانی عصب سیاتیک آنها کاهش دهد.	

ارجاع: محمدی‌فر مژگان، بهمنی فرشته، عابد علیرضا، حمیدی غلامعلی، اعرابی محمدحسین، طلایی سید علیرضا. نانوامولسیون حاوی اسانس گیاهان رزماری و نعنای فلفلی در کاهش درد نوروپاتیک در موش‌های صحرایی مدل آسیب فشاری مزمن عصب سیاتیک. *مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک* ۲۸ (۴): ۲۷۵-۲۸۳.

مقدمه

درد نوروپاتیک (Neuropathic pain)، یکی از دردهای مزمن است که در اثر آسیب سلول‌های عصبی و اختلال در عملکرد سیستم عصبی مرکزی، محیطی یا اتونوم ایجاد می‌شود. از نشانه‌های این نوع درد می‌توان به احساس ناخوشایند سوزش و گزگز (Dysesthesia)، افزایش حساسیت به محرک‌های دردناک (Hyperalgesia) و احساس درد در مواجهه با محرک‌های غیر دردناک (Allodynia) اشاره نمود. از مهم‌ترین علل ایجاد این نوع درد می‌توان به وارد شدن آسیب به سیستم اعصاب مرکزی و یا محیطی به‌ویژه آسیب‌های نخاعی، عفونت‌ها و التهابات عصبی، اختلالات متابولیکی مثل نوروپاتی دیابتی یا اورمی و ایسکمی اشاره کرد (۱).

یکی از پرکاربردترین مدل‌های حیوانی ایجاد درد نوروپاتی، مدل آسیب فشاری مزمن عصب سیاتیک (CCI (Chronic constriction injury) می‌باشد که توسط Bennett و Xie معرفی شده است (۲). مکانیسم‌های متعددی برای ایجاد دردهای نوروپاتیک مطرح شده‌اند که از بین آنها می‌توان به افزایش فاکتورهای التهابی و رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) اشاره کرد (۳). ایجاد فشار مزمن روی سیاتیک می‌تواند منجر به افزایش آپوپتوز، افزایش میزان فاکتورهای التهابی از جمله $TNF-\alpha$ و استرس اکسیداتیو در سطح عصب، نخاع و فرانشاعی گردد (۴). با وجود پیشرفت‌های روزافزون در علم پزشکی، روش‌های درمانی رایج برای درد نوروپاتیک هنوز نسبی و محدود کننده است و بیماران با مشکلات

اسانس‌ها را تقویت کند. لذا هدف از مطالعه حاضر، بررسی تأثیر نانوامولسیون حاوی عصاره رزماری و اسانس نعناع فلفلی بر آسیب ناشی از فشار مزمن عصب سیاتیک (CCI) در موش‌های صحرایی نر می‌باشد.

روش کار

حیوانات

پژوهش تجربی حاضر روی ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۲۰ تا ۲۵۰ گرم انجام شد. حیوانات از مرکز پرورش حیوانات دانشگاه علوم پزشکی کاشان تهیه شده و در حیوان‌خانه با دمای $22 \pm 2^\circ \text{C}$ و رطوبت 55 ± 5 درصد و سیکل روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. موش‌ها در طول مطالعه از نظر دسترسی به آب و غذا محدودیتی نداشتند. اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مطابق با دستورات کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کاشان رعایت گردید (IR.KAUMS.MEDNT.REC.1398.034). حیوانات به‌صورت تصادفی به گروه‌های ۱۰ تایی زیر تقسیم شدند: ۱- گروه کنترل (CON): شامل حیواناتی که جراحی شده بودند، ولی عصب سیاتیک آنها گره زده نشده بود؛ ۲- گروه درد نوروپاتیک (NPS): شامل حیواناتی که جراحی شده بودند و به‌واسطه زدن چند گره شل روی عصب سیاتیک، درد نوروپاتیک در آنها ایجاد شده بود. به‌علاوه این حیوانات روزانه ۱ میلی‌لیتر نرمال سالین به‌صورت گاوژ دریافت می‌کردند؛ ۳- گروه درمان با نانوامولسیون (NPN): شامل حیواناتی که درد نوروپاتیک در آنها ایجاد شده و پس از آن ۱ میلی‌لیتر نانوامولسیون حاوی ۱۰ درصد عصاره رزماری و اسانس نعناع فلفلی را به‌مدت ۲۱ روز از طریق گاوژ دریافت کرده بودند؛ و ۴- گروه درمان با گاباپنتین (NPG): شامل حیواناتی که درد نوروپاتیک در آنها ایجاد شده و پس از آن به مدت ۲۱ روز داروی گاباپنتین با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (حل شده در ۱ میلی‌لیتر نرمال سالین) وزن بدن را از طریق گاوژ دریافت کرده بودند.

ساخت نانوامولسیون حاوی گیاهان رزماری و نعناع فلفلی

اسانس‌های گیاهان رزماری و نعناع فلفلی از شرکت داروسازی باریج اسانس کاشان تهیه شد. برای ساخت نانوامولسیون، از روش امولسیون‌سازی خودبه‌خودی (Spontaneous emulsification) استفاده گردید. ابتدا برای رسیدن به فرمولاسیون بهینه جهت تشکیل نانوامولسیون پایدار، نسبت‌های مختلفی از امولسیفایرها با اسانس‌ها ترکیب شدند. نتایج نشان داد که نسبت بهینه امولسیفایرها ۱:۱:۳ است، که به ترتیب برای کرودرت، توئین ۲۰ و توئین ۸۰ اعمال شد. همچنین، از کمک‌حلال‌های پروپیلن گلیکول و پلی‌اتیلن گلیکول به نسبت ۱ به ۲ استفاده شد. در مرحله بعد، فاز آبی شامل کمک‌حلال‌ها و آب، و فاز روغنی شامل امولسیفایرها و اسانس‌های رزماری و نعناع فلفلی به صورت جداگانه تهیه شدند. سپس، فاز آبی به آرامی به فاز روغنی که در حال همگن‌سازی بود، افزوده شد. فرایند همگن‌سازی به مدت ۲۰ دقیقه و با سرعت بالا ادامه یافت تا نانوامولسیون تک‌فاز و شفاف حاصل گردد (۱۴).

آزمون‌های رفتاری

این آزمون‌ها در همه گروه‌ها در روزهای ۱، ۴، ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از جراحی انجام شد.

قابل توجهی روبرو هستند. داروهای متعددی از جمله مخدرها، ضد افسردگی‌های سه حلقه‌ای و داروهای ضد تشنج مانند گاباپنتین برای کاهش درد نوروپاتیک پیشنهاد شده‌اند. اما باید توجه داشت که هریک از این داروها ممکن است عوارض جانبی قابل توجهی داشته باشند، که نیازمند بررسی و مدیریت دقیق است.

امروزه گیاهان دارویی به‌دلیل کم‌عارضه بودن، تنوع در مواد مؤثره، برخورداری از اثرات قوی آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی، و قابلیت پیشگیری از رشد تومورها، مورد توجه ویژه بسیاری از محققین حوزه سلامت قرار گرفته‌اند. یکی از اشکال پرکاربرد گیاهان، اسانس‌ها می‌باشند که پتانسیل قابل توجهی برای حفظ و ارتقای سلامت، پیشگیری و درمان برخی از بیماری‌ها را دارا می‌باشند (۵). وزن مولکولی بالا و حساس بودن به نور و اکسیژن، منجر به کاهش فراهمی زیستی (Bioavailability) و افزایش کلیرانس اسانس‌ها در بدن می‌گردد که لازمه آن افزایش دوز مصرفی و تجویز مکرر دارو می‌باشد. این امر استفاده از اسانس‌ها را در صنایع دارویی محدود ساخته است (۶).

کشور ما از نظر وجود گیاهان دارویی بسیار غنی است. از جمله این گیاهان می‌توان به رزماری و نعناع فلفلی اشاره نمود. رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) گیاهی معطر و چندساله از خانواده نعنائیان (Lamiaceae) است که دارای برگ‌های سوزنی و گل‌هایی به رنگ صورتی تا بنفش می‌باشد. در میان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، رزماری به‌عنوان یکی از چاشنی‌های با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا به‌طور گسترده مورد پذیرش قرار گرفته است (۷). رزمارینیک اسید، کارنوزیک اسید و کارنوزول از جمله مواد مؤثره این گیاه می‌باشند که اثرات ضد درد، ضد التهاب و آنتی‌اکسیدانی آنها اثبات شده است (۸، ۹).

در مطالعه‌ای نشان داده شد که رزماری می‌تواند درد ناشی هاپیر آلژزی حرارتی را در موش کاهش دهد (۱۰). در پژوهشی دیگر نشان داده شد که رزماری آلودینیایی حرارتی و مکانیکی را در مدل آسیب فشاری عصب سیاتیک بهبود می‌بخشد (۹). نعناع فلفلی (*Mentha piperita*) هیپریدی از نعناع و سوسن عنبر می‌باشد. این گیاه حدود ۱/۵-۱/۲ درصد اسانس دارد و اسانس آن حاوی ۳۰-۴۰ درصد منتول، ۲۰-۳۰ درصد منتون، ۱۲ درصد فلاونوئید، ۱۹ درصد پلی‌فنول و مقادیری از کاروتن، بتائین، توکوفرول و کولین می‌باشد. اثرات بی‌حسی و ضد درد اسانس نعناع فلفلی به اثبات رسیده است و داروهای حاوی این اسانس در بازارهای جهانی به‌منظور تسکین درد در دسترس می‌باشند (۱۱).

یکی از راه‌های کاهش محدودیت‌های مربوط به استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی، ساخت نانوذرات، از جمله نانوذرات لیپیدی و نانوامولسیون‌ها، می‌باشد. در این بین نانوامولسیون‌ها به‌دلیل پایداری بالاتر از سایر نانوذرات لیپیدی بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند. انکپسولاسیون اسانس‌ها در نانوامولسیون، حفاظت از اسانس و رهاسازی کنترل شده آن را نیز تضمین می‌کند (۱۲). افزایش فراهمی زیستی دارو، بهبود پایداری فیزیکی، ارتقای شرایط جذب، قابلیت قرارگیری در فرمولاسیون‌هایی مانند کرم و اسپری، کمک به حل‌الیت داروی چربی‌دوست، کاهش عوارض جانبی، افزایش کارایی، پایدار بودن در برابر ته‌نشینی و تهیه آسان از جمله ویژگی‌های مهم نانوامولسیون‌ها محسوب می‌شوند (۱۳). بنابراین، به نظر می‌رسد که تولید نانوامولسیون حاوی اسانس‌ها، بتواند اثر ضد دردی این

هایپرآلژزیای حرارتی

در این آزمایش با استفاده از دستگاه Ugo Bassil, Plantar test (Italy) با تاباندن اشعه مادون قرمز به کف پای سالم و آسیب دیده حیوان میزان تحمل حیوان به محرک آسیب رسان حرارتی مورد ارزیابی قرار می‌گرفت. حیوانات درون محفظه‌های پلکسی گلاس قرار داده شده و اشعه مادون قرمز از میان سطح پلکسی گلاس به بخش میانی کف پای حیوان تابانده می‌شد. معیار تحمل محرک حرارتی مدت زمان تاخیر در عقب کشیدن پا بود. این آزمون برای هر حیوان سه مرتبه و هر بار به فاصله پنج تا ده دقیقه تکرار می‌شد و نقطه برش آزمایش ۲۲ ثانیه بود (۱۵).

آلودینیای حرارتی

برای تعیین حساسیت حیوان به محرک حرارتی غیردرناک، از این تست استفاده شد. در این روش، یک قطره استون بر روی کف پای حیوان اسپری گردید. در صورتی که حیوان پس از اسپری کردن استون پای خود را بلند می‌کرد، به عنوان پاسخ مثبت تلقی می‌گردید و در غیر این صورت، پاسخ منفی در نظر گرفته می‌شد. آزمون در پنج نوبت و با فواصل سه دقیقه‌ای انجام شد. درصد پاسخ‌های مثبت بر اساس نسبت تعداد پاسخ‌های مثبت به کل تعداد تحریکات محاسبه شد (۱۵).

آلودینیای مکانیکی

برای انجام این آزمون، حیوانات ۲۰ دقیقه قبل از ثبت نتایج در داخل یک محفظه پلاکسی گلاس روی شبکه سیمی قرار گرفتند. برای سنجش آلودینیای مکانیکی، از تارهای von-Frey با وزن‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۵، ۲۶ و ۶۰ گرم استفاده شد. در هر آزمایش، ابتدا از تار با کم‌وزن‌ترین مقاومت شروع شد و در صورت عدم پاسخ حیوان، به ترتیب تار با وزن بالاتر انتخاب می‌گردید. هر تار سه بار متوالی و با فواصل ۵ ثانیه، به مدت ۱ ثانیه به کف پای چپ حیوان فشار داده می‌شد. اگر حیوان در دو بار متوالی، به‌وسیله بلند کردن پا پاسخ می‌داد، آستانه پاسخ ثبت شده و آزمایش متوقف می‌گشت. در صورت عدم پاسخ حیوان حتی به تار شماره ۶۰، مقدار ۶۰ به عنوان آستانه پاسخ در نظر گرفته می‌شد (۱۵).

بررسی فاکتورهای شیمیایی

به منظور ارزیابی فاکتورهای استرس اکسیداتیو، در پایان مطالعه حیوانات با استفاده از اتانک دی‌اکسید کربن اتانازی شده و بافت عصب سیاتیک آسیب دیده آنها جداسازی شد. بافت بلافاصله در نیتروژن مایع فریز شده و برای انجام مطالعات بعدی در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای تعیین سطح مالون دی‌آلدهید (MDA)، مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از بافت عصب سیاتیک با ۰/۵ میلی‌لیتر محلول تریکلرواستیک اسید (۲۰ درصد) مخلوط شد و سپس با سرعت ۲۵۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس، ۰/۵ میلی‌لیتر محلول شامل ۶۷ درصد تیوباربیتوریک اسید (TBA) با ۰/۲۵ میلی‌لیتر محلول روئی سانتریفیوژ شده، در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه شد و پس از خنک‌سازی، میزان جذب کمپلکس TBA-MDA در طول موج ۵۳۲ نانومتر با اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری گردید. فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC) (ZX-44108) و (ZX-Nagpix-96) (GPx) (ZellBio, 44109, آلمان) و گلوکاتین پراکسیداز (GPx) (Nagpix-96, نوند سلامت، ایران) با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی استاندارد تجاری ELISA اندازه‌گیری شد (۱۵).

آنالیز آماری داده‌ها

داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد میانگین نمایش داده شدند. به‌منظور آنالیز داده‌های حاصل از آزمون‌های رفتاری درد از آزمون آماری two-way repeated measures ANOVA استفاده گردید. همچنین، برای مقایسه دویه‌دوی گروه‌ها از پس‌آزمون Tukey استفاده شد. داده‌های مربوط به تست‌های شیمیایی با استفاده از آزمون ANOVA آنالیز شدند. تمام آنالیزها با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism ویرایش 9.2 انجام شد و مقادیر خطای آلفای کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی اثر ضد دردی نانومولسیون حاوی اسانس رزماری و نعناع فلفلی در مدل درد نوروپاتیک القاء شده به روش CCI در موش صحرایی و مقایسه آن با اثر ضددردی گاباپنتین به عنوان یک داروی استاندارد در درمان درد نوروپاتیک بود.

آزمون‌های رفتاری

هایپرآلژزیای حرارتی (تست پلانتار)

نتایج آزمون آماری two-way repeated measures ANOVA نشان داد، اثر متقابل زمان $\times$ گروه معنی‌دار بوده ($P < ۰/۰۰۱$)، $F(۱۲, ۱۴۴) = ۲۰/۱۹$ و به عبارت دیگر، مداخلات انجام شده در طی زمان اثرات خود را نشان داده‌اند. همان‌طور که در نمودار ۱ (A) نشان داده شده است، از روز چهارم پس از جراحی، در مقایسه با گروه کنترل، زمان پس کشیدن پا در حیوانات گروه NPS به‌طور معنی‌داری کاهش یافته و تا روز ۲۱ این روند کاهشی بوده است ($P < ۰/۰۰۱$). دریافت نانومولسیون و گاباپنتین باعث شد از روز هفتم مطالعه اختلاف بین گروه NPS و دو گروه مذکور معنی‌دار شود و به عبارت دیگر روند کاهشی زمان پس کشیدن پا در حیوانات متوقف شود ($P < ۰/۰۰۱$). به علاوه، اختلاف بین گروه‌های دریافت کننده نانومولسیون و گاباپنتین و گروه کنترل در تمام روزهای مطالعه معنی‌دار نبود.

آلودینیای حرارتی (تست استون)

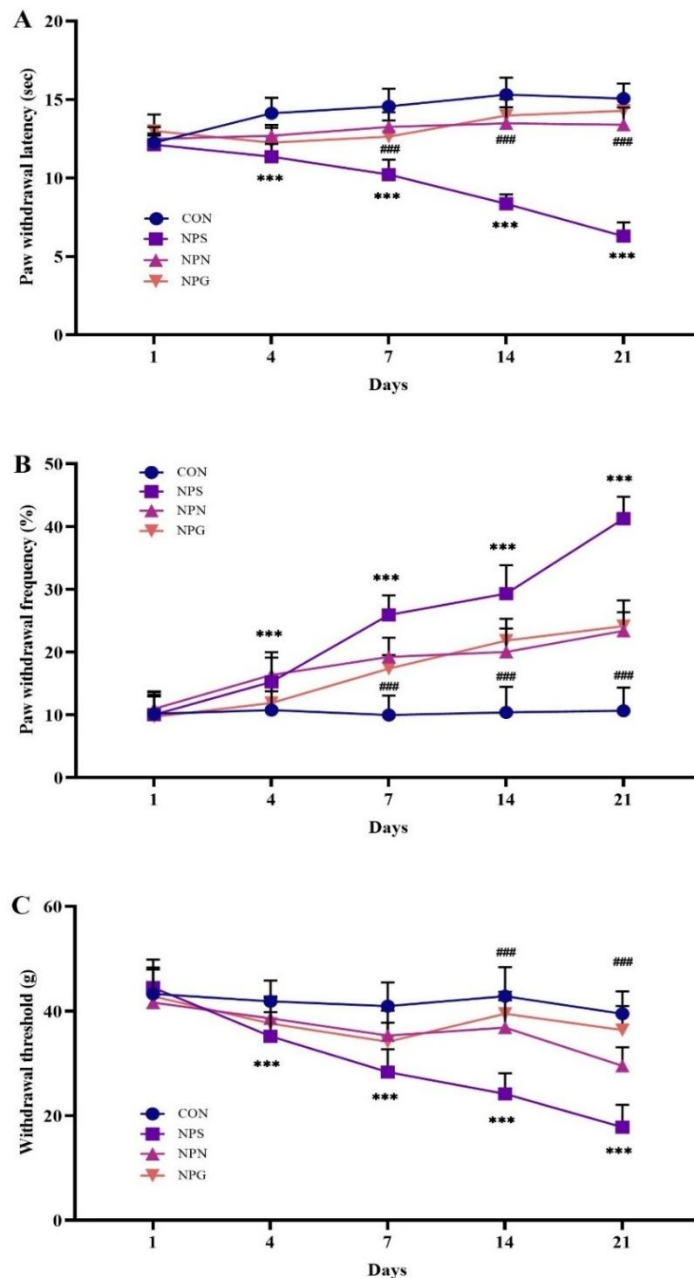
با بررسی داده‌های مربوط به فرکانس پس کشیدن پا در تست استون توسط آزمون آماری two-way repeated measures ANOVA مشخص گردید که اثر متقابل زمان $\times$ گروه معنی‌دار بوده ($P < ۰/۰۰۱$)، $F(۱۲, ۱۴۴) = ۱۲/۲۷$ و به عبارت دیگر، مداخلات انجام شده در طی زمان اثرات خود را نشان داده‌لند. نتایج نشان دادند که از روز چهارم پس از جراحی روند صعودی آن در حیوانات گروه NPS شروع شده و تا آخر مطالعه ادامه دارد. نتایج پس‌آزمون نیز نشان داد که اختلاف بین گروه CON و گروه NPS در تمامی روزهای مذکور معنی‌دار است ($P < ۰/۰۰۱$)؛ به عبارت دیگر، همزمان با پیشرفت زمانی مطالعه، در حیوانات مبتلا به درد نوروپاتیک فرکانس پس کشیدن پا افزایش یافت. همانند تست قبلی، از روز هفتم مطالعه، دریافت نانومولسیون و گاباپنتین باعث شد فرکانس پس کشیدن پا در حیوانات دیگر افزایش نیابد و اختلاف بین گروه‌های NPN و NPG با گروه NPS معنی‌دار شد ($P < ۰/۰۰۱$). به‌علاوه از روز هفتم به بعد اختلاف گروه‌های NPN و NPG با گروه CON هم معنی‌دار

ANOVA two-way repeated measures نشان داد اثر متقابل زمان×گروه معنی‌دار بوده ($P < 0.0001$, $F_{12, 144} = 11.45$) و به عبارت دیگر، مداخلات انجام شده در طی زمان اثرات خود را نشان داده‌اند. با توجه به نمودار ۱ (C) می‌توان مشاهده کرد که از روز چهارم پس از جراحی آستانه پاسخ به فیلامان‌های von-Frey در حیوانات مبتلا به درد نورپاتییک کاهش یافته و اختلاف بین گروه CON و NPS در تمامی روزهای مذکور معنی‌دار است ($P < 0.0001$)؛ همچنین، از روز چهاردهم

بود ($P < 0.0001$)؛ یعنی اگرچه دریافت نانومولسیون و گاباپنتین توانسته بود روند افزایشی فرکانس پس کشیدن پا را متوقف کند، اما هنوز درصد پس کشیدن پا پس از پاشیدن استون به کف پای حیوانات مبتلا به درد نورپاتی همانند گروه کنترل نشده بود. در تمامی روزهای مطالعه اختلاف بین گروه‌های NPN و NPG معنی‌دار نبود.

آلودینیای مکانیکی (تست ون فری)

آنالیز داده‌های مربوط به آلودینیای مکانیکی توسط آزمون آماری



نمودار ۱. زمان تأخیر در عقب کشیدن پا در تست پلانتار (A)، درصد پاسخ به استون در آزمون آلودینیای حرارتی (B) و آستانه پاسخ به تارهای von Frey در آزمون آلودینیای مکانیکی (C) در روزهای و گروه‌های مختلف مطالعه. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد میانگین نمایش داده شده و با آزمون two-way repeated measures ANOVA آنالیز شده‌اند.

***: اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های CON و NPS ($P < 0.0001$)

####: اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های NPN و NPG با گروه NPS ($P < 0.0001$)

گاباپنتین نیز باعث شد میزان MDA در بافت عصب سیاتیک موش‌های صحرایی به‌طور معنی‌داری کاهش یابد ($P < 0.0001$).

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

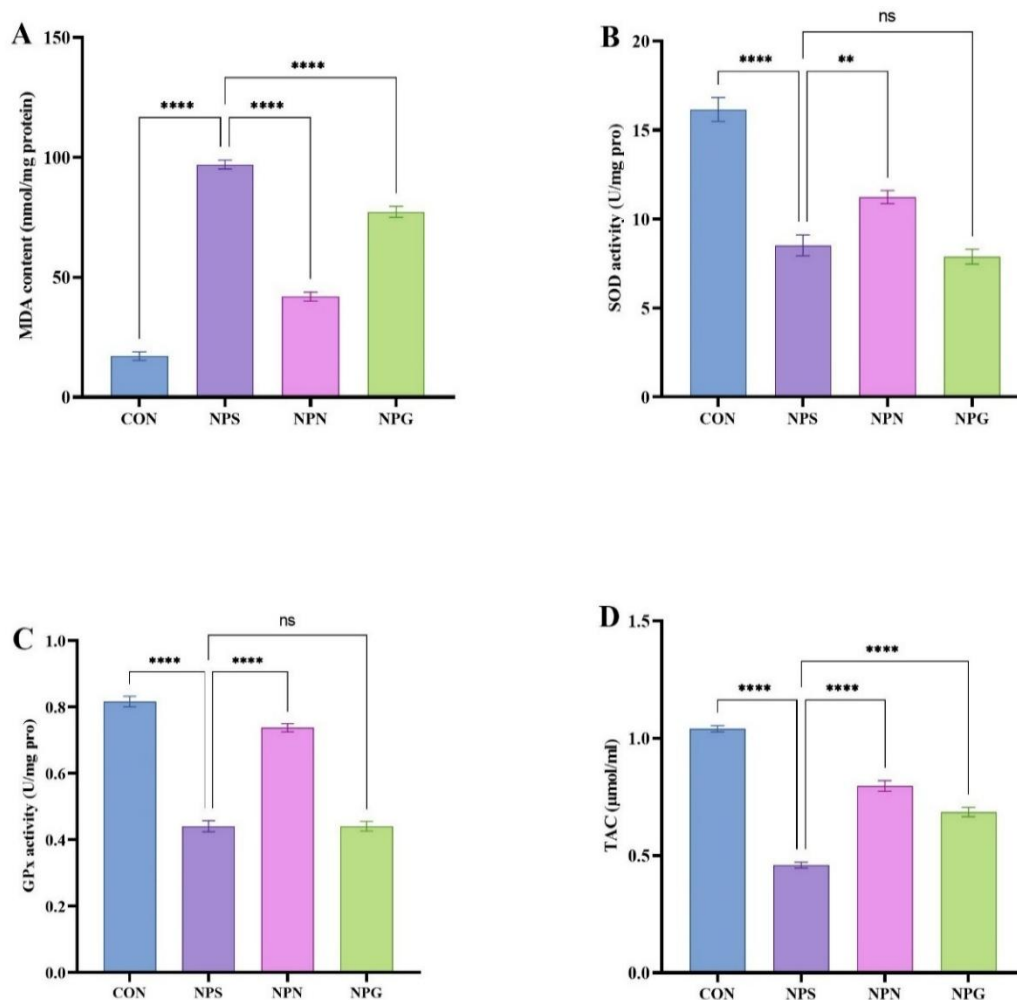
نتایج آزمون آماری نشان داد که اختلاف بین میزان فعالیت SOD در گروه‌های مختلف مطالعه معنی‌دار است ($P < 0.0001$)، 51.28 ± 3.36 (F). القاء درد نوروپاتیک باعث شد که میزان SOD در بافت عصب سیاتیک موش‌های این گروه در مقایسه با گروه CON کاهش معنی‌داری داشته باشد ($P < 0.0001$) و از 16.1 ± 0.65 به 8.52 ± 0.93 واحد در میلی گرم پروتئین برسد. آنالیز داده‌ها حاکی از آن است که میزان فعالیت SOD در بافت عصب سیاتیک موش‌های دریافت‌کننده نانوامولسیون افزایش معنی‌داری یافت و به 11.23 ± 0.93 واحد در میلی گرم پروتئین رسید ($P < 0.0001$). همان‌طور که در نمودار ۲ نشان داده شده است، دریافت گاباپنتین تأثیر بر میزان فعالیت این آنزیم نداشت.

مطالعه، دریافت نانوامولسیون و گاباپنتین باعث شد آستانه پاسخ در حیوانات دیگر کاهش نیابد و اختلاف بین گروه‌های NPN و NPG با گروه NPS معنی‌دار نشد ($P < 0.0001$). به علاوه، اختلاف بین گروه‌های دریافت‌کننده نانوامولسیون و گاباپنتین و گروه کنترل در تمام روزهای مطالعه معنی‌دار نبود.

آزمون‌های بیوشیمیایی

سنجش مالون دی‌آلدهید

جهت بررسی میزان مالون دی‌آلدهید از روش رنگ‌سنجی با استفاده از تیوباربیتوریک اسید استفاده شد. نتایج حاصل از آزمون آماری ANOVA نشان داد که اختلاف بین غلظت بافتی MDA در گروه‌های مختلف مطالعه معنی‌دار بوده است ($P < 0.0001$)، $33.09 = 3.36$ (F). میزان MDA در موش‌های گروه NPS تقریباً ۵ برابری گروه CON بود ($P < 0.0001$). دریافت نانوامولسیون باعث شد میزان MDA در مقایسه با گروه NPS کمتر از نصف شود ($P < 0.0001$). در همین حال، دریافت



نمودار ۲. تغییرات غلظت مالون دی‌آلدهید (A)، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (B) و گلوکاتایون پراکسیداز (C)، و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (D) در بافت عصب سیاتیک موش‌های صحرایی گروه‌های مختلف مطالعه. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد میانگین نمایش داده شده و با آزمون ANOVA آنالیز شده‌اند.

****: اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های CON و NPS ($P < 0.0001$)

####: اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های NPN و NPS ($P < 0.0001$)

^^^: اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های NPG و NPS ($P < 0.0001$)

سنجش فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز

بررسی داده‌های حاصل از سنجش فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز در بافت عصب سیاتیک موش‌های صحرایی گروه‌های مختلف مطالعه با آزمون آماری ANOVA نشان داد که اختلاف بین گروه‌ها معنی‌دار بوده است ($P < 0/0001$, $F_{3, 36} = 173/3$). با مراجعه به نمودار ۲ مشخص می‌شود که فعالیت این آنزیم در بافت عصب سیاتیک موش‌های گروه NPS در حدود نصف گروه CON است و این اختلاف معنی‌دار است ($P < 0/0001$). دریافت نانومولسیون باعث شده است فعالیت GPx در عصب سیاتیک موش‌ها به طور معنی‌داری بالا رفته ($P < 0/0001$) و در عین حال، دریافت گاباپنتین تأثیری بر فعالیت آنزیم مذکور نداشته است.

سنجش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام

نتایج آزمون آنالیز واریانس نشان داد که اختلاف بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در عصب سیاتیک موش‌های گروه‌های مختلف مطالعه معنی‌دار است ($P < 0/0001$, $F_{3, 36} = 188/6$). القاء درد نوروپاتیک باعث شد که میزان TAC در بافت عصب سیاتیک موش‌های این گروه در مقایسه با گروه CON کاهش معنی‌داری داشته باشد ($P < 0/0001$) و از $0/1 \pm 11/04$ به $0/1 \pm 0/46$ میکرومول برسد. همچنین آنالیز داده‌ها بیان داشت که میزان TAC در موش‌های دریافت کننده نانومولسیون افزایش معنی‌داری یافته و به $0/2 \pm 0/80$ میکرومول رسید ($P < 0/0001$). همانطور که در نمودار ۲ نشان داده شده است، دریافت گاباپنتین نیز باعث شد ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام در بافت عصب سیاتیک موش‌های صحرایی به‌طور معنی‌داری افزایش یابد ($P < 0/0001$).

بحث

هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی تأثیر دریافت خوراکی نانومولسیون حاوی عصاره رزماری و اسانس نعنای فلفلی بر آسیب ناشی از فشار مزمن عصب سیاتیک (CCI) در موش‌های صحرایی نر بود. نتایج مطالعه حاکی از آن بود که دریافت روزانه نانومولسیون حاوی عصاره رزماری و اسانس نعنای فلفلی باعث موش‌های صحرایی در آزمون‌های رفتاری درد اثرات ضد دردی قابل توجهی داشته است؛ به طوری که این اثرات با اثرات ناشی از دریافت داروی گاباپنتین به عنوان یک داروی گلد استاندارد درد نوروپاتیک برابر بوده است. مطالعات بیوشیمیایی انجام شده روی بافت عصب سیاتیک موش‌های صحرایی نیز حاکی از تأثیر به‌سزای دریافت نانومولسیون بود؛ بدین ترتیب که مقدار MDA افزایش یافته در بافت عصب سیاتیک را تا حدود نصف کاهش داد، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوکوتاتیون پراکسیداز که در بافت عصب سیاتیک آسیب دیده کاهش یافته بود را به شکل معنی‌داری افزایش داد، و نیز ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام کاهش یافته در عصب آسیب دیده را تا حدود دو برابر افزایش داد.

عوامل مختلفی مانند عفونت‌ها، آسیب‌های نخاعی، التهاب عصبی و اختلالات متابولیک، به‌عنوان عوامل ایجادکننده درد نوروپاتیک پیشنهاد شده‌اند (۱۶). همچنین، بیان شده است که افزایش سیتوکین‌های پیش‌التهابی و تجمع استرس اکسیداتیو منجر به درد نوروپاتیک می‌شود. مطالعات متعددی سطوح بالای گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) را در نخاع مدل‌های حیوانی درد نوروپاتیک نشان داده‌اند (۱۷). مطالعات قبلی نشان

داده‌اند که ROS هم درد نوروپاتیک و هم اثر ضد درد آنتی‌اکسیدان‌ها را در مدل‌های حیوانی واسطه‌گری می‌کند (۱۸). علاوه بر این، نتایج مطالعات نشان داده است که سطح بالای ROS در نخاع مدل‌های حیوانی درد نوروپاتیک می‌تواند بر انتقال درد تأثیر بگذارد (۱۹)؛ بنابراین ROS می‌تواند یک عامل کلیدی در پاتوژنز درد نوروپاتیک باشد.

اثرات محافظت نوروئی و به‌خصوص ضد دردی عصاره رزماری از طریق تغییر در سیستم اکسیدان/آنتی‌اکسیدان بدن در مطالعات مختلف نشان داده شده است (۲۰). ما در یک مطالعه نشان دادیم که مصرف موضعی نانومولسیون حاوی عصاره رزماری و اسانس نعنای فلفلی به‌وضوح باعث کاهش آلودینیا و هایپرآلژیا ناشی از القای استئوآرتریت در مفصل زانوی موش صحرایی شده و این تأثیرات ناشی از افزایش فعالیت GPx و SOD و نیز کاهش میزان MDA در مفصل زانو بود (۱۴).

در مطالعه Abdelhalim و همکاران نشان داده شد که عصاره گیاه رزماری سبب کاهش درد ناشی از هایپرآلژزی حرارتی در موش‌های صحرایی می‌گردد (۱۰). در یک مطالعه دیگر بیان شده است که رزمارینیک اسید می‌تواند ادم و التهاب ناشی از کاراگینان را در موش‌های آزمایشگاهی بهبود بخشد (۸). به علاوه، Mannelli و همکاران بیان کرده‌اند که ترپنوفیدهای موجود در رزماری می‌توانند آلودینیا مکانیکی و حرارتی ایجاد شده در مدل آسیب فشاری مزمن عصب سیاتیک را بهبود بخشند (۲۱).

Ghasemzadeh و همکاران نشان دادند که عصاره الکلی رزماری می‌تواند با کاهش آپوپتوز، کاهش استرس اکسیداتیو و کاهش فاکتورهای التهاب منجر به بهبود نوروپاتی ناشی از فشار مزمن عصب سیاتیک شود (۹). اسانس نعنای از زمان‌های دور به‌عنوان یک داروی ضداسپاسم به‌کار می‌رفته است. به‌علاوه، در چنین مطالعه انسانی و حیوانی نشان داده شده است که مصرف موضعی منتول باعث کاهش آلودینیا و هایپرآلژیا، دو علامت اصلی درد نوروپاتیک، می‌شود (۲۲). Sousa و همکاران نشان داده‌اند که اسانس نعنای درد ناشی از تزریق فرمالین و استیک اسید را در موش‌های صحرایی کاهش می‌دهد (۲۳). همچنین در مطالعه دیگری بیان شده است که اسانس نعنای می‌تواند پردردی ناشی از حرارت را در تست پلانتر کاهش دهد (۲۴).

اگرچه مطالعات مختلف نشان داده‌اند که اسانس‌های رزماری و نعنای فلفلی سبب کاهش انواع درد می‌شوند، اما به دلیل جذب پایین و روغنی بودن اسانس‌ها، استفاده از آنها در فرمولاسیون‌های دارویی مشکل می‌باشد. ناپایداری و حلالیت پایین اسانس‌ها نیز محدودیت استفاده از آنها را در چندان می‌کند (۲۵). اسانس‌ها در صنایع دارویی، غذایی، کشاورزی، آرایشی و بهداشتی اهمیت تجاری دارند. با این حال، اسانس‌ها ترکیبات ناپایدار، فرار و دارای ماهیت هیدروفوبی‌اند. وزن مولکولی بالا و حساس بودن به نور و اکسیژن، منجر به کاهش فراهمی زیستی و افزایش کلیرانس آنها در بدن می‌گردد که سبب نیاز به افزایش دوز مصرفی و تجویز مکرر دارو می‌گردد (۶). استفاده از نانومولسیون‌ها برای فرموله کردن اسانس‌ها می‌تواند راهکار مناسبی برای حل این مشکلات باشد. اندازه کوچک قطرات آنها، ظرفیت حل‌شوندگی داروهای کم‌محلول مثل اسانس‌ها را افزایش می‌دهد و به طور قابل توجهی فراهمی زیستی و اثربخشی درمانی آن‌ها را بهبود می‌بخشد. این امر به ویژه برای داروهای آب‌گریز که تحویل مؤثر آن‌ها از طریق روش‌های

نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان گفت دریافت نانوامولسیون حاوی اسانس گیاهان رزماری و نعنای فلفلی، علائم رفتاری درد نوروپاتیک در موش صحرانی را به طور مؤثری کاهش داده و این اثر از طریق ایجاد تعادل در سیستم اکسیدان/آنتی‌اکسیدان عصب سیاتیک اعمال می‌شود. با بررسی بیشتر مکانیسم‌های احتمالی تأثیر این نانوامولسیون بر درد نوروپاتیک و سایر انواع دردها، می‌توان در آینده از پتانسیل درمانی آن در انسان استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل از طرح تحقیقاتی شماره ۹۸۰۳۶ مصوب معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کاشان است. بدین‌وسیله، نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از همکاری و راهنمایی‌های ارزنده آقای دکتر محمدرضا معمارزاده، شرکت داروسازی بارچ اسانس، برای تهیه نانوامولسیون سپاسگزاری نمایند.

سهم نویسندگان

تمامی نویسندگان در تمامی قسمت‌های مقاله نقش داشتند.

تضاد منافع

نویسندگان تصدیق می‌کنند که هیچ تضاد منافی وجود ندارد.

مرسوم چالش‌برانگیز است، بسیار مهم است (۱۲).

به علاوه، ذرات نانو تولنایی عبور راحت‌تر از سد‌های بیولوژیکی مانند غشاهای سلولی و عروق خونی را دارند، که این امر سبب افزایش توزیع یکنواخت و مؤثر اسانس در سراسر بدن می‌شود (۲۷). طراحی نانوامولسیون‌ها به گونه‌ای است که اسانس به طور پیوسته و کنترل‌شده در طول زمان آزاد شود. همچنین، نانوامولسیون‌ها می‌توانند با افزودن لیگندهای خاص، در هدف‌گیری مستقیم به بافت‌های مورد نظر (مثلاً بافت‌های سرطانی یا التهابی) مؤثر باشند، که باعث تمرکز زیادتر دارو و کاهش اثرات جانبی می‌شود. با افزایش پایداری اسانس، کارایی و هدف‌گیری، نیاز به دوز کمتر است، که در کاهش عوارض جانبی و بهبود ایمنی درمانی مؤثر است (۱۲). در مطالعات مختلف نشان داده شده است که روغن‌ها و اسانس‌های گیاهی می‌توانند بدن ایجاد سمیت نمایند (۲۸)، با عنایت به اینکه فرآیند نانوامولسیون سازی دوز مصرفی این فرآورده‌ها را تا حد بسیار زیادی کاهش می‌دهد، می‌توان از بروز این عارضه نیز جلوگیری کرد. با این‌همه، مطالعه حاضر دارای محدودیت‌هایی نیز بود. برای مثال، بررسی تغییر فعالیت فاکتورهای التهابی مثل اینترلوکین‌ها یا فاکتور نکروز دهنده تومور در عصب سیاتیک متعاقب مصرف نانوامولسیون می‌توانست مهر تأیید دیگری بر عملکرد آن باشد. به‌علاوه، مقایسه عملکرد نانوامولسیون حاوی اسانس رزماری و نانوامولسیون حاوی اسانس نعنای فلفلی با نانوامولسیون حاوی ترکیب هر دو فرآورده نیز می‌توانست نشان دهد آیا اثر سینرژیستی داشته‌اند یا خیر.

References

- Forstenpointner J, Sendel M, Baron R. Central and Peripheral Mechanisms of Neuropathic Pain. *Neurol Clin*. 2025;43(3):467-84. [pmid: 40675660](#) [doi: 10.1016/j.ncl.2025.04.002](#)
- Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain*. 1988;33(1):87-107. [pmid: 2837713](#) [doi: 10.1016/0304-3959\(88\)90209-6](#)
- Shahrezaei A, Sohani M, Nasirinezhad F. Mesenchymal stem cells as a therapeutic strategy to combat oxidative stress-mediated neuropathic pain. *BioImpacts*. 2025;15:30648. [pmid: 40256229](#) [doi: 10.34172/bi.30648](#)
- Sharma KK, Fatima N, Ali Z, Moshin M, Chandra P, Verma A, et al. Neuropathy, its Profile and Experimental Nerve Injury Neuropathic Pain Models: A Review. *Curr Pharm Des*. 2023;29(42):3343-56. [pmid: 38058089](#) [doi: 10.2174/0113816128274200231128065425](#)
- Liu C, Pang L, Wang L, Zhang L, Ma D, Chen J, et al. A Pharmacotherapeutic Approaches for Managing Labour Pain Using Synthetic Drugs and Natural Therapies. *Comb Chem High Throughput Screen*. 2024;27(9):1276-85. [pmid: 37464818](#) [doi: 10.2174/1386207326666230718144457](#)
- Raut JS, Karuppaiyl SM. A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*. 2014;62:250-64. [doi:10.1016/j.indcrop.2014.05.055](#)
- Hraš AR, Hadolin M, Knez Z, Bauman D. Comparison of antioxidative and synergistic effects of rosemary extract with α -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil. *Food Chemistry*. 2000;71(2):229-33. [doi: 10.1016/S0308-8146\(00\)00161-8](#)
- Boonyarikpunchai W, Sukrong S, Towiwat P. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of rosmarinic acid isolated from *Thunbergia laurifolia* Lindl. *Pharmacol Biochem Behav*. 2014;124:67-73. [pmid: 24836183](#) [doi: 10.1016/j.pbb.2014.05.004](#)
- Ghasemzadeh MR, Amin B, Mehri S, Mirnajafi-Zadeh SJ, Hosseinzadeh H. Effect of alcoholic extract of aerial parts of *Rosmarinus officinalis* L. on pain, inflammation and apoptosis induced by chronic constriction injury (CCI) model of neuropathic pain in rats. *J Ethnopharmacol*. 2016;194:117-30. [pmid: 27566199](#) [doi: 10.1016/j.jep.2016.08.043](#)
- Abdelhalim A, Karim N, Chebib M, Aburjai T, Khan I, Johnston GA, et al. Antidepressant, anxiolytic and antinociceptive activities of constituents from *Rosmarinus officinalis*. *J Pharm Pharm Sci*. 2015;18(4):448-59. [PMID: 26626245](#) [doi: 10.18433/j3pw38](#)
- Guimaraes AG, Quintans JS, Quintans Junior LJ. Monoterpenes with analgesic activity—a systematic review. *Phytother Res*. 2013;27(1):1-15. [pmid: 23296806](#) [doi: 10.1002/ptr.4686](#)
- Kelidari M, Abdi-Moghadam Z, Sabzevar TE, Khajenouri M, Shakeri A. Preparation and therapeutic implications of essential oil-based nanoemulsions: A review. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2025;255:114939. [pmid: 40639015](#) [doi: 10.1016/j.colsurfb.2025.114939](#)
- Okonogi S, Chaiyana W. Enhancement of anti-cholinesterase activity of Zingiber cassumunar essential oil using a microemulsion technique. *Drug Discov Ther*. 2012;6(5):249-55. [pmid: 23229145](#)
- Mohammadifar M, Aarabi MH, Aghighi F, Kazemi M, Vakili Z, Memarzadeh MR, et al. Anti-osteoarthritis potential of peppermint and rosemary essential oils in a nanoemulsion form: behavioral, biochemical, and histopathological evidence. *BMC Complement Med Ther*. 2021;21(1):57. [pmid: 33563269](#) [doi: 10.1186/s12906-021-03236-y](#)
- Haghighat Lari MM, Bakhoda MR, Shabani M, Taghizadeh M, Bahmani F, Hamidi G, et al. Artichoke leaf hydroethanolic extract reduces neuropathic pain in a rat model of chronic

- constriction injury via attenuating the sciatic nerve oxidative stress. *Arch Physiol Biochem.* 2025;131(2):227-33. PMID: 39320929 doi: 10.1080/13813455.2024.2406898
16. Bielewicz J, Kamieniak M, Szymoniuk M, Litak J, Czyżewski W, Kamieniak P. Diagnosis and Management of Neuropathic Pain in Spine Diseases. *J Clin Med.* 2023;12(4):1380. PMID: 36835916 doi: 10.3390/jcm12041380
 17. Xu Z, Li Z, Dong Y, Chen Y, Li M, Song B, et al. The role of antioxidant therapy in modulating neuropathic pain: A systematic review of mechanistic insights and research trends (2003-2024). *Brain Circ.* 2025;11(2):113-26. PMID: 40520069 doi: 10.4103/bc.bc_72_24
 18. Yowtak J, Lee KY, Kim HY, Wang J, Kim HK, Chung K, et al. Reactive oxygen species contribute to neuropathic pain by reducing spinal GABA release. *Pain.* 2011;152(4):844-52. PMID: 21296500 doi: 10.1016/j.pain.2010.12.034
 19. Bittar A, Jun J, La JH, Wang J, Leem JW, Chung JM. Reactive oxygen species affect spinal cell type-specific synaptic plasticity in a model of neuropathic pain. *Pain.* 2017;158(11):2137-46. PMID: 28708760 doi: 10.1097/j.pain.0000000000001014
 20. Oresanya IO, Orhan IE. Deciphering Neuroprotective Effect of *Rosmarinus officinalis* L. (syn. *Salvia rosmarinus* Spenn.) through Preclinical and Clinical Studies. *Curr Drug Targets.* 2024;25(5):330-52. PMID: 38258779 doi: 10.2174/0113894501255093240117092328
 21. Di Cesare Mannelli L, Micheli L, Maresca M, Cravotto G, Bellumori M, Innocenti M, et al. Anti-neuropathic effects of *Rosmarinus officinalis* L. terpenoid fraction: relevance of nicotinic receptors. *Sci Rep.* 2016;6:34832. PMID: 27713514 doi: 10.1038/srep34832
 22. Andersen HH, Olsen RV, Møller HG, Eskelund PW, Gazerani P, Arendt-Nielsen L. A review of topical high-concentration L-menthol as a translational model of cold allodynia and hyperalgesia. *Eur J Pain.* 2014;18(3):315-25. PMID: 23963768 doi: 10.1002/j.1532-2149.2013.00380.x
 23. Sousa PJ, Linard CF, Azevedo-Batista D, Oliveira AC, Coelho-de-Souza AN, Leal-Cardoso JH. Antinociceptive effects of the essential oil of *Mentha x villosa* leaf and its major constituent piperitenone oxide in mice. *Braz J Med Biol Res.* 2009;42(7):655-9. PMID: 19578645 doi: 10.1590/s0100-879x2009000700010
 24. Atta AH, Alkofahi A. Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of some Jordanian medicinal plant extracts. *J Ethnopharmacol.* 1998;60(2):117-24. PMID: 9582001 doi: 10.1016/s0378-8741(97)00137-2
 25. Edris AE. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytother Res.* 2007;21(4):308-23. PMID: 17199238 doi: 10.1002/ptr.2072
 26. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oil- a review. *Food Chem Toxicol.* 2008;46(2):446-75. PMID: 17996351 doi: 10.1016/j.fct.2007.09.106
 27. Monith Raj DW, Jenitha V, Kokelavani N B, Srividhya M, Nandana Vijay, Berlin Grace V M. Different in vivo administration routes of essential oil for various therapies: A review. *Fitoterapia.* 2025;184:106577. PMID: 40311706 doi: 10.1016/j.fitote.2025.106577
 28. Bairagee D, Patel PS, Pradhan J, Panchawat S. Cytotoxic effects of herbal medicine: An overview of mechanistic pathways and clinical relevance. *Pharmacological Research - Natural Products.* 2025;7:100259. doi: 10.1016/j.prenap.2025.100259