

วัตถุประสงค์ของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ เพื่อประเมินฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบของน้ำมันไพลและน้ำมันไพลในรูปแบบของนีโอโซมในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลอง

วิธีการศึกษา ทำการศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันไพลโดยวิธี ABTS cation radical decolorization และ DPPH โดยเปรียบเทียบกับน้ำมันจากใบยูคาลิปตัสและเปลือกมะนาวในหลอดทดลอง และทำการฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลชนิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในเซลล์โมโนไซต์โดยใช้สารเรืองแสง DCFH สำหรับฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ ได้ทำการศึกษาในเซลล์เลี้ยงแมคโคฟาจัน (J774) ที่กระตุ้นด้วยสาร Lipopolysaccharide (LPS) โดยทำการตรวจวัดปริมาณของไนตริกออกไซด์และปริมาณของเอนไซม์ COX II ด้วยวิธี Griess reagent และชุดตรวจวัด COX II ELISA kit. นอกจากนี้ทำการตรวจวัดสารสำคัญในน้ำมันไพลด้วย GC-MS. สำหรับการตรวจวัดฤทธิ์ต้านการอักเสบในหนูทดลอง โดยนำน้ำมันไพลไปเก็บกับในนีโอโซม แล้วนำมาผสมในเจล สำหรับการรักษาด้วยเครื่อง Ultrasound หรือ Iontophoresis โดยกระตุ้นการอักเสบที่ผิวหนังด้วยสาร Lipopolysaccharide ทำการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิผิวและอัตราการไหลของเลือดที่ผิวหนัง

ผลการศึกษาพบว่า น้ำมันไพลมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่สูงที่สุด (11.46 ± 0.72 mmol Trolox/ml) ตามด้วยน้ำมันจากใบยูคาลิปตัส (9.30 ± 2.20 mmol Trolox/ml) และน้ำมันจากเปลือกผิวมะนาว (0.00 ± 0.58 mmol Trolox/ml) น้ำมันไพลยังสามารถทำลายอนุมูลชนิด H_2O_2 ที่เกิดจากการใช้ Ultrasound (3.0 W/cm^2 , continuous mode, 20 min) โดยพบว่าน้ำมันไพลที่ความเข้มข้นที่ 1:2,000 และ 1:1,000 โดยปริมาตรต่อปริมาตร สามารถลดการเรืองแสงของ DCFH ภายในเซลล์ได้ดีกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ควบคุม น้ำมันไพลยังสามารถยับยั้งการหลั่งสารไนตริกออกไซด์จากเซลล์แมคโคฟาจันตามความเข้มข้นที่ 1:100 (24.20 ± 1.42 $\mu\text{mol/l}$) และ 1:1,000 (28.56 ± 3.8 $\mu\text{mol/l}$) เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ควบคุม (35 ± 5.2 $\mu\text{mol/l}$). นอกจากนี้แล้วยังพบว่าน้ำมันยังสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ COX II ได้ตามความเข้มข้นของน้ำมันไพลที่ 1:1,000 และ 1:2,000 อย่างมีสำคัญ สำหรับสารออกฤทธิ์ในน้ำมันไพลจากการวิเคราะห์ด้วย GC-MS พบว่ามีสารสำคัญ 3 ชนิดคือ Sabinene (18.79%), Terpinen-4-ol (48.17%) และ (E)-1-(3,4-dimethoxyphenyl) butadiene (15.09%) หลังจากได้พัฒนาน้ำมันไพลในรูปแบบของนีโอโซมที่ความเข้มข้น 0.1% แล้วนำมารักษาด้วยเครื่องอัลตราซาวด์ (Ultrasound) ที่ความเข้ม 0.2 w/cm^2 ในรูปแบบ 20% นาน 3 นาที ในหนูที่กระตุ้นการอักเสบเฉพาะที่ผิวหนังด้วย LPS (100 ไมโครกรัมต่อ 100 ไมโครลิตรต่อจุด) พบว่า สามารถช่วยทำให้อุณหภูมิและอัตราการไหลเวียนของเลือดที่อักเสบมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับหนูควบคุมหรือหนูที่รักษาด้วยนีโอโซมควบคุม แต่การรักษาด้วยการผลึกสาร (Iontophoresis) โดยใช้เนโอโซม พบว่าประสิทธิผลในการช่วยลดอุณหภูมิหรืออัตราการไหลของเลือดไม่แตกต่างไปจากกลุ่มควบคุมแต่อย่างไรทางสถิติ

The aims of this study were to evaluate the in vitro antioxidant and anti-inflammatory actions of essential oils from plai (*Zingiber cassumunar* Roxb.), anti-inflammatory activity of Plai oil encapsulated in niosome (NeoPlai) were evaluate in vivo.

Methods: The antioxidant activities of essential oils were determined through an ABTS cation radical decolorization and DPPH assays by compared to eucalyptus (*Eucalyptus globulus* Labill.) and lime (*Citrus auratifolia* Swing.) oils. Measuring scavenging H_2O_2 of Plai oil in a monocyte cell line (U937) with DCFH-acetate was performed. The anti-inflammatory activity was assayed in a lipopolysaccharide-activated macrophage cell line (J744), in which nitric oxide and COX II levels were determined by Griess reagent and an ELISA kit. Active compound of Plai oil was analyzed with GC-MS. Anti-inflammatory action of Plai oil-encapsulated in neosome at 0.1% with either ultrasound or iontophoresis were studied in LPS-activated rats and blood flow and skin temperature local inflamed subcutaneous were detected.

Results: Plai essential oil had the highest antioxidant activity (11.46 ± 0.72 mmol Trolox/ml oil) on scavenging the ABTS cation radical, followed by eucalyptus (9.30 ± 2.20 mmol Trolox/ml oil) and lime (0.00 ± 0.58 mmol Trolox/ml oil) oils. Plai essential oil also displayed activity on scavenging H_2O_2 generated by ultrasound exposure (3.0 W/cm^2 , continuous mode, 20 min). Dilutions of 1:2,000 and 1:1,000 (v:v) of plai oil demonstrated H_2O_2 scavenging activity by reducing emissions of DCFH-fluorescence within U937 cells, compared with the cell control. Plai essential oil inhibited nitric oxide (NO) production at 1:100 (v:v) ($24.20 \pm 1.42 \mu\text{mol/l}$) and 1:1,000 (v:v) ($28.56 \pm 3.8 \mu\text{mol/l}$) in the macrophage cell line (J774), compared with untreated cells ($35 \pm 5.2 \mu\text{mol/l}$). However, high concentrations of plai oil (1:1 and 1:10), were toxic to U937 and J744 cell lines. Additionally, plai oil at dilutions of 1:1,000 and 1:2,000, significantly inhibited COX II activity in treated cells ($42 \pm 0.2\%$ inhibition) compared to the untreated cells ($22 \pm 0.3\%$ inhibition). Three major compounds of plai essential oil, namely sabinene (18.79%), terpinen-4-ol (48.17%) and (E)-1-(3,4-dimethoxyphenyl) butadiene (15.09%), were determined by GC/MS analysis. NeoPlai at 0.1% applied with ultragel and ultrasound (0.2 w/cm^2 , 20%, 3 min) showed the anti-inflammatory action by decrease the skin blood flow and skin temperature quickly than the neosome control and untreated rat. Whereas the inotophoresis application with NeoPlai wasn't effects on inflammatory lesion.