

Project Code : TRG 5780029
Project Title : Development of microemulsion-based gel from oil extracts of Plai (*Zingiber cassumunar* Roxb.) for anti-inflammatory activity
Investigator : Wantida Chaiyana, Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University
E-mail Address : wantida.chaiyana@gmail.com
Project Period : 2 years

Abstract

Zingiber cassumunar Roxb. (Plai) is an aromatic plant which is widely distributed in various parts of Thailand which has been used in folklore remedies for the treatment of many conditions especially rheumatism and muscular pain. The present study focused on the chemical constituents and anti-inflammatory effects of EO and HO. Moreover, microemulsions and microemulsion-based gel from EO and HO were developed to increase the stability of the oils and facilitate user's compliance in transdermal route of application.

EO was obtained by hydrodistillation. The major constituents determined by GC-MS were terpinen-4-ol ($40.5 \pm 6.6\%$) and sabinene ($17.4 \pm 1.4\%$). HO was obtained by hot infusion in coconut oil and the major constituent after TLC and HPLC analysis was curcumin. EO and HO were considered safe as they did not affect normal cell survival in human peripheral blood mononuclear cells, as determined by MTT assay. The native oils and major constituents were investigated for anti-inflammatory activities by albumin denaturation assay. Nuclear factor-kappa B expression in human leukemic monocyte lymphoma cell line (U937) and inhibition of interleukin-6 secretion in mouse monocyte macrophage cell line (RAW 264.7) was investigated using Western blotting and enzyme-linked immunosorbent assay, respectively. Both oils possessed anti-inflammatory effect. Terpinen-4-ol and sabinene were shown to be responsible for the anti-inflammatory effect of EO.

HLB values of HO and EO determined by external appearance inspection, droplet size analysis, and turbidimetric method were 6 and 10, respectively. Various factors affecting microemulsion region in the pseudoternary phase diagrams was investigated and the results indicated that surfactant type, co-surfactant type, and surfactant to co-surfactant ratio showed distinct effects on the microemulsion formation,

whereas, ionic strength and pH had no effect. Microemulsions from the system of “EO/Tween 20/propylene glycol/water” and “HO and oleic acid (1:1)/Triton X-114/propan-2-ol/water” were developed and characterized. The internal droplet size of EO microemulsion were in the range of 211.5 to 366.7 nm with medium polydispersity index (less than 0.38), whereas, the internal droplet size of HO microemulsion were in the range of 26.7 to 31.6 nm with small polydispersity index (less than 0.25). All formulation were transparent and showed Newtonian’s flow behavior with low viscosity which were the characteristics of microemulsion. All microemulsion showed a good stability after the heating-cooling stability test and tended to protect EO from the evaporation, as well as, protect HO from the oxidation and reduce the occurrence of rancidity. Microemulsion of EO and HO were considered safe as the cell viabilities of human PBMCs after treatments were around 80%. The microemulsions of both EO and HO showed remarkable effect on NF- κ B suppression.

Microemulsion-based gels, developed using carbopol 940 and sodium carboxymethylcellulose, had more aesthetic appearance than gels containing the native oils. The microemulsion-based gels containing EO showed the best characteristics with 2.5%w/w carbopol 940 and 2.5%w/w SCMC, whereas, those of HO showed the best characteristics with 1%w/w carbopol 940 and 2%w/w SCMC. However, there were significantly decrease in viscosity in the system of 2.5%w/w SCMC of microemulsion-based gel of EO. Moreover, the instability was observed in the formulations contained higher amount of carbopol 940 accompanied with higher content of water in the microemulsions. In conclusions, 2.5%w/w carbopol 940 is the best choice for microemulsion-based gel development of EO and 2%w/w SCMC is the best choice for microemulsion-based gel development of HO. The microemulsion-based gels would be the aesthetic formulation for the topical treatment of various inflammatory conditions, such as muscle pains, sprains, strains, arthritis, etc. It might be used for drug delivery system for topical application.

Keywords: *Zingiber cassumunar*, Anti-inflammation, Microemulsion, Microemulsion-based gel, Essential oil, Hot infused oil

รหัสโครงการ : TRG 5780029
หัวข้อ : การพัฒนาตำรับไมโครอิมัลชันเจลจากสารสกัดโพลที่มีฤทธิ์ต้าน
การอักเสบ
หัวหน้าโครงการ : ดร.วรรณิดา ชัยญาณะ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
อีเมลล์ : wantida.chaiyana@gmail.com
ระยะเวลา : 2 ปี

บทคัดย่อ

โพล (*Zingiber cassumunar* Roxb.) เป็นพืชที่มีการปลูกทั่วไปในประเทศไทย ซึ่งมีการใช้ในการรักษาอาการต่างๆ เช่น ปวดข้อ ปวดกล้ามเนื้อ มาตั้งแต่สมัยโบราณ การศึกษานี้มุ่งเน้นไปที่การศึกษาองค์ประกอบและฤทธิ์ต้านการอักเสบของน้ำมันหอมระเหย (EO) และน้ำมันโพลสกัดร้อน (HO) นอกจากนี้ยังได้ทำการพัฒนาตำรับไมโครอิมัลชันและไมโครอิมัลชันเจลที่มีองค์ประกอบของ EO และ HO เพื่อเพิ่มความคงตัวของน้ำมันและช่วยให้มีความสะดวกในการใช้ทาภายนอกมากยิ่งขึ้น

EO ได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำ โดยองค์ประกอบหลักที่วิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโตกราฟี ได้แก่ terpinen-4-ol ปริมาณร้อยละ 40.5 ± 6.6 และ sabinene ปริมาณร้อยละ 17.4 ± 1.4 ส่วน HO ได้จากการแช่โพลสดในน้ำมันมะพร้าวที่ร้อน ซึ่งองค์ประกอบหลักที่วิเคราะห์ด้วยโครมาโตกราฟีแผ่นบางและโครมาโตกราฟีสมรรถนะสูง คือ curcumin โดยทั้ง EO และ HO ที่ได้มีความปลอดภัยสูง เนื่องจากไม่มีผลต่อความอยู่รอดของเซลล์เม็ดเลือดขาวมนุษย์ ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี MTT ในการศึกษานี้ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบของทั้งน้ำมันจากโพลและองค์ประกอบหลักข้างต้น โดยการศึกษาการยับยั้งการสลายตัวของอัลบูมิน ศึกษาการยับยั้งการแสดงออกของ NF- κ B ด้วยวิธีเวสเทิร์นบลอตในเซลล์มะเร็งต่อมน้ำเหลืองมนุษย์ (U937) ศึกษาการยับยั้งการหลั่งอินเตอร์ลิวคิน-6 (IL-6) ด้วยเทคนิคเอนไซม์-ลิงค์ อิมมูโนซอร์เบนท์ แอสเซย์ ในเซลล์เม็ดเลือดขาวหนู (RAW 264.7) ซึ่งจากการศึกษาพบว่าน้ำมันทั้งสองชนิดมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ โดย terpinen-4-ol และ sabinene เป็นสารสำคัญที่มีผลต่อฤทธิ์ต้านการอักเสบของ EO

จากการศึกษาค่า HLB ของ EO และ HO ด้วยวิธีการสังเกตลักษณะภายนอก การวัดขนาดอนุภาคภายใน และการวัดความขุ่น พบว่า EO มีค่า HLB เท่ากับ 10 และ HO มีค่า HLB เท่ากับ 6 จากการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่ผลต่อการไมโครอิมัลชันในแผนผังวัฏภาคสามเหลี่ยมแบบเทียม พบว่าชนิดของสารลดแรงตึงผิว ชนิดของสารช่วยสารลดแรงตึงผิว และสัดส่วนของสารลดแรงตึงผิวต่อสารช่วยสารลดแรงตึงผิว มีผลต่อการเกิดไมโครอิมัลชัน ในขณะที่ความเข้มข้นของประจุและค่าความเป็นกรด-ด่างไม่มีผล ในการศึกษาได้พัฒนาและศึกษาคุณลักษณะของไมโครอิมัลชันในแผนผังวัฏภาคสามเหลี่ยมแบบเทียมของ “EO / Tween 20 / propylene glycol / water” และ “HO and oleic acid (1:1) / Triton X-114 / propan-2-ol / water” ซึ่งพบว่าไมโคร

อีมีลชันของ EO มีขนาดอนุภาคภายในอยู่ในช่วง 211.5 ถึง 366.7 นาโนเมตร และมีการกระจายขนาดอนุภาคปานกลาง (น้อยกว่า 0.38) ในขณะที่ไมโครอีมีลชันของ HO มีขนาดอนุภาคภายในเล็กกว่าอยู่ในช่วง 26.7 ถึง 31.6 นาโนเมตร และมีการกระจายขนาดอนุภาคปานน้อย (น้อยกว่า 0.25) ไมโครอีมีลชันทุกตัวที่ได้อีมีลชันใส มีการไหลแบบนิวโทเนียน และมีความหนืดต่ำ ซึ่งเป็นคุณลักษณะของไมโครอีมีลชัน นอกจากนี้ยังมีความคงตัวทางกายภาพดี และสามารถป้องกันการระเหยของสารองค์ประกอบหลักของ EO ทั้งยังช่วยลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ HO ได้อีกด้วย ซึ่งจะช่วยลดปัญหาการเหม็นหืนของตัวรับได้ ทั้งไมโครอีมีลชันของ EO และ HO มีความปลอดภัยสูง เนื่องจากเซลล์เม็ดเลือดขาวของมนุษย์มีความอยู่รอดสูงถึงร้อยละ 80 นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านการอักเสบที่ดี โดยสามารถลดการแสดงออกของ NF- κ B อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ในการพัฒนาไมโครอีมีลชันเจล ได้ใช้สารก่อเจลสองชนิด คือ คาร์โบพอล 940 และ โซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส ซึ่งพบว่าไมโครอีมีลชันเจลมีลักษณะทางกายภาพที่สวยงาม น่าใช้มากกว่าตัวรับเจลที่ผสมน้ำมันโดยตรง ไมโครอีมีลชันเจลของ EO มีคุณลักษณะดีที่สุดเมื่อใช้ คาร์โบพอล 940 ร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนัก และโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนักเป็นสารก่อเจล ในขณะที่ไมโครอีมีลชันเจลของ HO มีคุณลักษณะดีที่สุดเมื่อใช้ คาร์โบพอล 940 ร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก และโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสร้อยละ 2 โดยน้ำหนักเป็นสารก่อเจล แต่อย่างไรก็ตามตัวรับไมโครอีมีลชันเจลของ EO ที่ใช้โซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนักเป็นสารก่อเจลมีความหนืดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติภายหลังจากการศึกษาความคงสภาพ และคาร์โบพอล 940 ในความเข้มข้นสูงมักเกิดความไม่เข้ากันกับตัวรับไมโครอีมีลชันเจลของ HO ที่มีปริมาณน้ำในตัวรับสูง ดังนั้นโดยสรุปแล้ว คาร์โบพอล 940 ร้อยละ 2.5 โดยน้ำหนักมีความเหมาะสมที่สุดในการพัฒนาไมโครอีมีลชันเจลของ EO และโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสร้อยละ 2 มีความเหมาะสมที่สุดในการพัฒนาไมโครอีมีลชันเจลของ HO และไมโครอีมีลชันเจลจากน้ำมันไพลเป็นตัวรับที่มีความสวยงามน่าใช้สำหรับการรักษาภาวะการอักเสบต่างๆ เช่น อาการปวดกล้ามเนื้อ เกร็ง เคล็ดขัดยอก หรือโรคไขข้อ เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถนำมาใช้เป็นระบบสำหรับนำส่งยาเพื่อการรักษาภายนอกได้อีกด้วย

คำสำคัญ : ไพล, ต้านการอักเสบ, ไมโครอีมีลชัน, ไมโครอีมีลชันเจล, น้ำมันหอมระเหย, น้ำมันสกัดร้อน