

การทดสอบสารพฤกษเคมี และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของกัญชา

Phytochemical screening and antioxidant activities of cannabis

สุมิตา นียมเดชา¹ และ มุฮัมหมัด นียมเดชา²

Sumita Niyomdecha¹ and Muhammad Niyomdecha²

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร นครปฐม^{1,2}

Faculty of Science, Silpakorn University, Nakhonpathom, Thailand^{1,2}

E-mail: 1fadaniyomdacha@gmail.com

Retrieved July 12, 2022; Revised August 18, 2022; Accepted August 19, 2022

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันกัญชาในประเทศไทยเป็นพืชที่กำลังได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย เนื่องจากกัญชาบางส่วนได้รับการปลดล็อกออกจากกฎหมายยาเสพติดประเภท 5 การทดสอบสารพฤกษเคมี และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของกัญชา มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารพฤกษเคมี และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบกัญชา เป็นการวิจัยเชิงปริมาณและคุณภาพ มีขั้นตอนการวิจัย 4 ขั้นตอน คือ การเตรียมสารสกัดหยาบ การหาระบบการแยกสารบริสุทธิ์ การทดสอบองค์ประกอบ และการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การวิเคราะห์ข้อมูล ใช้การวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ และการวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารสกัด

ผลการทดลองพบว่า ในสารสกัดหยาบกัญชาพบสารพฤกษเคมีดังนี้ Terpenoids พบได้ในทุกตัวทำละลาย Anthraquinone และTannins ไม่พบในทุกตัวทำละลาย Saponins พบในตัวทำละลาย Hexane และ Dichloromethane, Flavonoids พบในตัวทำละลาย Dichloromethane, Ethyl acetate, Ethanol และ Methanol สุดท้ายคือ Alkaloids พบในตัวทำละลาย Ethanol, Methanol และ Distilled water ในส่วนของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของกัญชา พบว่า สารสกัดหยาบทุกชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ความเข้มข้นต่ำสุดจากการทดลอง 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบ Methanol มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับ Vitamin C 53.57 ± 0.06 และ 54.58 ± 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

คำสำคัญ: กัญชา; สารสกัดหยาบ; ต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

Currently, cannabis in Thailand is a plant that is gaining widespread popularity. This is because some cannabis has been unlocked from Category 5 drug laws. Phytochemical testing and the antioxidant activity of cannabis aimed at the study of phytochemicals and antioxidant activity of cannabis crude

extract. The results showed that the following phytochemicals were found in cannabis crude extracts: Terpenoids were found in all solvents. Anthraquinone and Tannins were not found in all solvents. Saponins were found in Hexane and Dichloromethane solvents, and Flavonoids were found in Solvents of Dichloromethane, Ethyl acetate, Ethanol, and Methanol. Finally, Alkaloids were found in solvents Ethanol, Methanol, and Distilled water. In terms of the antioxidant activity of cannabis, it was found that all crude extracts had antioxidant activity. The lowest concentration from the experiment was 0.15 mg/mL. Methanol crude extract had antioxidant activity equivalent to that of Vitamin C 53.57 ± 0.06 and 54.58 ± 0.00 . milligrams per milliliter, respectively.

Keywords: Cannabis; Crude Extracts; Antioxidant

บทนำ

สารอนุมูลอิสระ (Free radical) เกิดจากการหลั่งสารอนุมูลอิสระออกมาเอง หรือได้รับจากปัจจัยภายนอกเช่น จากมลภาวะทางสิ่งแวดล้อม และอื่น ๆ ที่ส่งผลกระทบต่อการศึกษาสภาพร่างกายในมนุษย์เช่น เซลล์ประสาทเสื่อม ภาวะชรา โรคเบาหวาน โรคมะเร็ง ความรุนแรงของโรคเกิดขึ้นจาก ระดับของสารอนุมูลอิสระสูงกว่าสารต้านอนุมูลอิสระจนร่างกายไม่สามารถควบคุมสมดุลได้ทำให้เกิดสภาวะ “Oxidative stress” กระบวนการเมตาบอลิซึมที่ธาตุออกซิเจนในร่างกายกลายเป็นอนุมูลอิสระที่ไม่เสถียร ส่งผลกระทบต่อเปลี่ยนแปลงสารชีวโมเลกุลในร่างกาย ทั้ง สารไขมัน โปรตีน และ DNA (Lobo et al., 2010) สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ 1) สารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นเอนไซม์ (Enzyme) ได้แก่ superoxide dismutase, catalase, และ glutathione peroxidase 2) สารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์ (Nonenzymatic) โดยส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม ที่มักพบในพืชธรรมชาติ ได้แก่ วิตามินซี และกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก จำพวกฟีนอล ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนิน โกลโคไซด์ อัลคาลอยด์ ลิกนิน และอื่น ๆ (Lobo et al., 2010) กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระเกิดขึ้นจากการที่สารเข้าไปชะลอเวลา หรือยับยั้งการทำลายเซลล์ผ่านกระบวนการให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระในระบบก่อนที่โมเลกุลสำคัญจะถูกทำลาย 2-3 (Bakkalbasi et al., 2009) (Fantini et al., 2015) จากงานวิจัยทางการแพทย์ พบว่าพืชสมุนไพรไทยหลายชนิดมีสรรพคุณทางเภสัชวิทยาในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ยกตัวอย่างเช่น ขี้เหล็ก (Senna siamea) (Kaur et al., 2006) พญาวัว (Houttuynia cordata) (Toda, 2005) กำลังวัวเถลิง (Anaxagorea luzonensis Gray) (Gonda et al., 2000) พริกไทย (Piper nigrum) (Gulcin, 2005) และอื่น ๆ นอกจากนี้ ยังมีพืชสมุนไพรของไทยอีกหลายชนิดที่ยังไม่ มีรายงานการศึกษาวิจัย หรือมีการศึกษาวิจัยน้อยมากในประเทศไทย เช่น กัญชา

กัญชาเป็นพืชในภูมิอากาศอบอุ่น เช่น เอเชีย อเมริกาใต้ และตะวันออกกลาง ในประวัติศาสตร์มีรายงานการใช้ประโยชน์จากกัญชายาวนาน เช่น ใช้เป็นอาหารคน หรือสัตว์ ใช้เป็นเครื่องสำอางเพื่อการผ่อนคลาย

คล้าย และใช้ทำอุปกรณ์ต่าง ๆ เช่น เชือก หรือ เสื้อผ้า (Russo, 2007) (Li, 1974) รวมถึงใช้เพื่อประโยชน์ทางการแพทย์ ในอเมริกาช่วงศตวรรษที่ 19 มีการค้นพบสารที่เป็นองค์ประกอบในกัญชาซึ่ง ออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท โดยเฉพาะจากใบ และช่อดอก สารสำคัญในกัญชาคือ delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) เมื่อเข้าสู่สมองจะจับกับ cannabinoid receptors ทำให้เกิดอาการเคลิ้ม บางรายอาจมีการรับรู้ต่อสิ่งแวดล้อมเปลี่ยนไป (Radhakrishnan et al., 2014) สารสำคัญรองลงมา คือ cannabidiol (CBD) ซึ่งมีฤทธิ์ต่อจิตประสาทรุนแรงกว่า (Atakan, 2012) ในประเทศไทยกัญชาถูกจัดให้อยู่ในรายการยาเสพติดประเภทที่ 5 ตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522 (Begley, 2012) ในปี พ.ศ. 2559 ที่ผ่านมา หลาย ๆ ฝ่าย มีความพยายามในการเสนอให้รัฐบาลถอดกัญชาออกจากบัญชียาเสพติด โดยผู้สนับสนุนได้ให้เหตุผลทางเศรษฐกิจรวมถึงประโยชน์ทางการแพทย์ (Skoglund et al., 2013) จากข้อมูลดังกล่าวผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการทดสอบ สารพิษทุกเคมี รวมถึงศึกษาการออกฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบกัญชา การศึกษานี้จะสามารถใช้เป็นพื้นฐานสำหรับการวิจัยปฐมภูมิ (primary research) ที่เกี่ยวกับกัญชาในมิติของการออกฤทธิ์ในการรักษาโรค ต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาสารพิษทุกเคมี และฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบกัญชา

สมมติฐานการวิจัย

สามารถพบสารพิษทุกเคมี และฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบกัญชาได้

การทบทวนวรรณกรรม

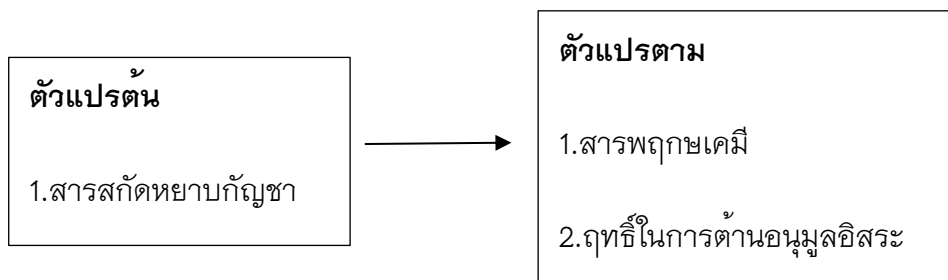
Borgelt และคณะ (2013) ได้ศึกษาเรื่อง ผลทางเภสัชวิทยาและทางคลินิกของกัญชาทางการแพทย์ มีวัตถุประสงค์เพื่อบรรยายถึงเภสัชวิทยาของกัญชา ผลของการกำหนดขนาดยาต่าง ๆ ประโยชน์ในการรักษาและความเสี่ยงของอาการปวดและกล้ามเนื้อของกัญชาอาการกระตุกและความกังวลด้านความปลอดภัยของการใช้กัญชาทางการแพทย์ ซึ่งพบว่า สารแคนนาบินอยด์สร้างปฏิกิริยาที่หลากหลายโดยการใช้งานตัวรับ CB1 และ CB2 และผลกระทบอื่น ๆ ที่เป็นไปได้ในระบบประสาทส่วนกลาง ผลกระทบทางด้านเภสัชวิทยาและเภสัชพลศาสตร์ของกัญชาอาจแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับลักษณะผู้ป่วยและตัวยา ซึ่งทำให้ยากต่อการใช้งานที่หลากหลาย อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย

Wallace และคณะ (2015) โดยศึกษาการลดอาการปวดจากปลายประสาทในผู้ป่วยเบาหวาน 16 คนด้วยการสูบกัญชาเทียบกับยาหลอก พบว่ากัญชาช่วยลดอาการปวดได้อย่างมีนัยสำคัญ และผลการรักษาสัมพันธ์กับความเข้มข้นของ THC แต่การได้รับ THC ที่ความเข้มข้นสูงก็ส่งผลข้างเคียงในเรื่องการทำงานของสมองด้านความคิดของผู้ป่วยมากกว่าผู้ที่ได้รับ THC ในขนาดต่ำกว่า

Matson และคณะ (2020) ได้ศึกษา การใช้กัญชา การใช้อื่น ๆ และความเสี่ยงของการรักษาแบบเฉียบพลันภายในผู้ป่วยปฏุนาฏุมิ โดยการศึกษา เก็บข้อมูลย้อนหลังแบบกลุ่มโดยใช้ EHR และอ้างข้อมูลจาก 8 ไซต์ ในรัฐวอชิงตัน ซึ่งดำเนินการคัดกรองการใช้สารเสพติดเป็นประจำทุกปี ในผู้ป่วยสูงวัยที่มีสิทธิ์รักษาด้วยกัญชาหรือการใช้อื่น ๆ รวมถึงการใช้ยาที่ผิดกฎหมายและการใช้ยาตามใบสั่งแพทย์ในทางที่ผิด และประเมินความถี่ของกัญชาในปีที่ผ่านมาและการใช้อื่น ๆ ประเมินตามเกณฑ์ คือ ไม่เคย น้อยกว่ารายเดือน รายเดือน รายสัปดาห์ รายวัน/เกือบทุกวัน. ผลการทดลองพบว่า รายงานกัญชาใช้น้อยกว่ารายเดือน(อัตราส่วนอันตราย [HR] = 1.12, 95 % CI = 1.03–1.21) หรือรายวัน (HR = 1.24; 1.10–1.39) มีความเสี่ยงที่จะเกิดภาวะเฉียบพลันมากกว่าดูแลระหว่างติดตามผลมากกว่าที่รายงานไม่มีประโยชน์ ผู้ป่วยรายงานการใช้อื่น่น้อยกว่ารายเดือน (HR = 1.34; 1.13–1.59) ทุกสัปดาห์ (HR = 2.21; 1.46–3.35) หรือรายวัน (HR = 2.53; 1.86–3.45) มีความเสี่ยงสูงที่จะได้รับการรักษาแบบเฉียบพลันกว่าที่รายงานว่าไม่มีการใช้อื่น

กรอบแนวคิดการวิจัย

งานวิจัยนี้ เป็นการวิจัยเชิงปริมาณและคุณภาพ ผู้วิจัยกำหนดกรอบแนวคิดการวิจัยตามแนวคิดโดยมีรายละเอียดดังนี้



ระเบียบวิธีวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัย เชิงปริมาณ และเชิงคุณภาพ พื้นที่วิจัย คือ คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยศิลปากร โดยมีขั้นตอนการวิจัยดังนี้

1. การเตรียมสารสกัดหยาบ (Crude extract)

การเตรียมสารสกัดหยาบกัญชา โดยใช้ตัวทำละลายดังนี้ เฮกเซน (Hexane) ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) เอทิล อะซีเตต (Ethyl acetate) เอทานอล (Ethanol) เมทานอล (Methanol) และน้ำ อย่างละปริมาตร 200 มิลลิลิตร โดยชั่งผงกัญชาแห้งบดละเอียด 20 กรัม ทำการสกัดประมาณ 24 ชม. จากนั้นนำสารละลายที่ได้มากรองด้วยการกรองสุญญากาศ เพื่อแยกกากออก นำขึ้น ตัวทำละลายที่ได้ใส่ใน round bottom flasks ที่แห้ง และทราบน้ำหนัก หลังจากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator ปลอยทิ้งไว้ให้แห้ง ชั่งน้ำหนักและคำนวณเปอร์เซ็นต์ที่ได้

2. การหาระบบการแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดหยาบด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง (Thin Layer Chromatography; TLC)

ทำการตรวจสอบสารที่แยกได้แต่ละส่วนสกัดหยาบด้วยเทคนิค TLC โดยการนำสารที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกันมาตรวจสอบค่า R_f เปรียบเทียบค่า R_f ที่ได้แต่ละส่วนของสารสกัดหยาบ

3. การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดกัญชา (Harborne, 1998).

3.1 การตรวจสอบแอนทราควิโนน

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมสารละลาย 10% H_2SO_4 10 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ (water bath) 5 นาที จึงนำมารอง แล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง เติมสารละลายแอมโมเนีย (10% NH_3) 2-3 หยด สังเกตสีชมพูแดงที่เกิดขึ้นแสดงว่าพบแอนทราควิโนน

3.2 การตรวจสอบเทอร์พีนอยด์ใช้การทดสอบซาลิโคสกี (Salkowski test)

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมไดคลอโรมีเทน 2 มิลลิลิตร แล้วเขย่า ค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) หากเกิดสีน้ำตาลแดงระหว่างรอยต่อของสารละลายแสดงว่าพบเทอร์พีนอยด์

3.3 การตรวจสอบฟลาโวนอยด์

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายสารสกัดด้วยสารละลายเอทานอล 50% 3 มิลลิลิตร ใส่หลอดแมกนีเซียมชิ้นเล็ก ๆ ลงไป 2-3 ชิ้น นำไปต้ม และหยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (conc. HCl) ให้สารละลายสีเหลือง ส้ม หรือแดง แสดงว่าพบฟลาโวนอยด์

3.4 การตรวจสอบซาโปนิน

ใช้การทดสอบฟอง โดยชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร นำไปต้มให้เดือด แล้วกรอง นำของเหลวที่ผ่านการกรอง (filtrate) มาเติมน้ำกลั่น 2-3 มิลลิลิตร เขย่าอย่างแรง หากมีฟองเกิดขึ้นแสดงว่าพบซาโปนิน

3.5 การตรวจสอบแทนนิน

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ แล้วนำมารอง หยดสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3$) 2-3 หยด ลงไปในของเหลวที่กรองแล้ว หากปรากฏสีเขียวดำหรือน้ำเงินดำแสดงว่าพบแทนนิน

3.6 การตรวจสอบแอลคาลอยด์

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก 15 mL (2% H_2SO_4) นำไปอุ่น 2-3 นาที แล้วกรอง จากนั้นนำของเหลวที่กรองแล้วไปหยดน้ำยาตราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent) หากปรากฏตะกอนสีส้มแดงแสดงว่าพบแอลคาลอยด์

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity

ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยเตรียมสารละลาย DPPH เข้มข้น 0.6 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งสาร DPPH หนัก 0.0236 กรัม ละลายด้วยเอทานอลลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้พอดีด้วยเอทานอล

ตัวอย่างสารสกัดกัญชา 100 ไมโครลิตร เติมน้ำละลาย DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งไว้ในที่มืดนาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตามสมการ % radical scavenging = $((A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}) \times 100$ เมื่อ A sample คือ ค่าดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง + DPPH, Acontrol คือ ค่าดูดกลืนแสงของ DPPH

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ (mean $\pm$ standard derivation) การวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการต้านอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) ใช้โปรแกรม IC_{50} Calculator

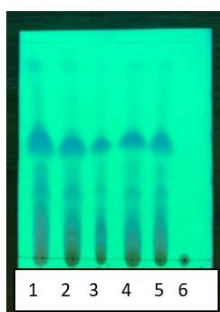
ผลการวิจัย

ศึกษาสารพิษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบกัญชา ผลการวิจัยพบว่า

1. ผลการเตรียมสารสกัดหยาบ (Crude extract)

จากการศึกษาการสกัดกัญชาด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท เอทานอล เมทานอล และน้ำ โดยใช้ปริมาตรตัวทำละลายชนิดละ 200 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการสกัด 24 ชั่วโมง ได้ปริมาณสารสกัดหยาบ (Crude extract) ดังนี้ เฮกเซน 1.6%, ไดคลอโรมีเทน 3.6%, เอทิลอะซิเตท 12.2%, เอทานอล 7.2%, เมทานอล 9.8%, และน้ำ 9% จากนั้นนำสารที่สกัดได้ ไปตรวจสอบสารสกัดหยาบด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง (Thin Layer Chromatography; TLC) และทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

2. ผลการตรวจสอบสารสกัดหยาบด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง (Thin Layer Chromatography; TLC) นำสารที่สกัดด้วยตัวทำละลาย (Crude products) แต่ละชนิดมาทำการตรวจสอบสารสำคัญ ด้วยเทคนิค TLC ให้ผลดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 การแยกสารภายในสารสกัดหยาบด้วยเทคนิค TLC (1 = สารสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน 2 = สารสกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน 3 = สารสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท 4 = สารสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 5 = สารสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล 6 = สารสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำ โดยใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ Ethyl acetate: Dichloromethane (1:1)

ผลที่ปรากฏให้เห็นสารชนิดต่าง ๆ จากผลความแตกต่างนี้ อาจเกิดขึ้นจากสมบัติการมีขั้วของตัวทำละลายซึ่งมีผลต่อความสามารถในการสกัดสารต่างชนิดกัน ในสารส่วนใหญ่ ทั้ง CBD, THC และสารสำคัญในกัญชา อื่น ๆ เช่น เทอร์พีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ เป็นสารอินทรีย์ที่ละลายได้ดีในตัวทำละลาย เช่น เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท เอทานอล เมทานอล แต่ไม่ละลายน้ำ

3. การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดกัญชา

ผลการทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดกัญชา ได้ผลดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สารพฤกษเคมีของสารสกัดกัญชา

Phytochemicals	Solvents					
	Hexane	Dichloro- methane	Ethyl- acetate	Ethanol	Methanol	Distilled- water
Anthraquinone	-	-	-	-	-	-
Terpenoids	+	+	+	+	+	+
Saponins	+	+	-	-	-	-
Tannins	-	-	-	-	-	-
Flavonoids	-	+	+	+	+	-
Alkaloids	-	-	-	+	+	+

จากตารางที่ 1 ผลการทดลองสารพฤกษเคมีของสารสกัดกัญชา พบ Terpenoids ได้ในทุกตัวทำละลาย Anthraquinone และ Tannins ไม่พบในทุกตัวทำละลาย Saponins พบในตัวทำละลาย Hexane และ Dichloromethane, Flavonoids พบในตัวทำละลาย Dichloromethane, Ethyl acetate, Ethanol และ Methanol และสุดท้ายคือ Alkaloids พบในตัวทำละลาย Ethanol, Methanol และ Distilled water

4. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity

การทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของกัญชา ได้ผลดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกัญชาด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity

สารสกัด	เปอร์เซ็นต์ในการต้านอนุมูลอิสระขอที่ความเข้มข้นของ สารสกัดกัญชา (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)			
	1.25	0.62	0.31	0.15
Vitamin C	70.15±0.00	68.23±0.00	64.41±0.01	53.57±0.06
Hexane	83.92±0.04	69.94±0.01	68.93±0.00	48.15±0.01
Dichloromethane	53.71±0.00	44.08±0.01	31.98±0.01	20.07±0.01
Ethyl acetate	76.14±0.01	57.22±0.01	34.62±0.01	16.78±0.00

สารสกัด	เปอร์เซ็นต์ในการต้านอนุมูลอิสระของ			
	สารสกัดกัญชา			
	(มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)			
	1.25	0.62	0.31	0.15
Ethanol	98.40±0.02	82.18±0.01	48.99±0.00	39.87±0.01
Methanol	88.35±0.01	70.72±0.01	65.60±0.01	54.58±0.00
Distilled water	22.46±0.01	9.54±0.01	7.73±0.02	ND

จากตารางที่ 2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกัญชาด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity พบว่า

ความเข้มข้นของสารสกัด 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัด Vitamin C, Hexane, Dichloromethane, Ethyl acetate, Ethanol, Methanol และ Distilled water มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ 70.15±0.00, 83.92±0.04, 53.71±0.00, 76.14±0.01, 98.40±0.02, 88.35±0.01 และ 22.46±0.01 ตามลำดับ

ความเข้มข้นของสารสกัด 0.62 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัด Vitamin C, Hexane, Dichloromethane, Ethyl Acetate, Ethanol, Methanol และ Distilled water มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ 68.23±0.00, 69.94±0.01, 44.08±0.01, 57.22±0.01, 82.18±0.01, 70.72±0.01 และ 9.54±0.01 ตามลำดับ

ความเข้มข้นของสารสกัด 0.31 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัด Vitamin C, Hexane, Dichloromethane, Ethyl Acetate, Ethanol, Methanol และ Distilled water มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ 64.41±0.01, 68.93±0.00, 31.98±0.01, 34.62±0.01, 48.99±0.00, 65.60±0.01 และ 7.73±0.02 ตามลำดับ

ความเข้มข้นของสารสกัด 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัด Vitamin C, Hexane, Dichloromethane, Ethyl Acetate, Ethanol, Methanol และ Distilled water มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ 53.57±0.06, 48.15±0.01, 20.07±0.01, 16.78±0.00, 39.87±0.01, 54.58±0.00 และไม่พบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ตามลำดับ

ในการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารสกัดกัญชา เพื่อนำมาหาค่า IC₅₀ พบว่า ค่าความเข้มข้นของสารสกัดกัญชาที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (IC₅₀) ของตัวควบคุมบวก ได้แก่ Vitamin C เท่ากับ 0.0441 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ สารสกัดหยาบ Hexane, Dichloromethane, Ethyl acetate, Ethanol, Methanol และ Distilled water พบว่า ค่าความเข้มข้นของสารสกัดกัญชาที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (IC₅₀) 0.0441, 0.0220, 0.3526, 0.468, 0.4882, 5.5932 และ 6.6588 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ความเข้มข้นของสารสกัดกัญชาที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (IC₅₀)

สารสกัด	ความเข้มข้นของสารสกัดกัญชา ที่มีฤทธิ์ การต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (IC ₅₀)
Vitamin C	0.0441
Hexane	0.0220
Dichloromethane	0.3526
Ethyl acetate	0.468
Ethanol	0.4882
Methanol	5.5932
Distilled water	6.6588

อภิปรายผลการวิจัย

จากสมมติฐานสามารถพบสารฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่า ผลการทดลองสารฟลาโวนอยด์ของสารสกัดกัญชา พบ Terpenoids ได้ในทุกตัวทำละลาย Anthraquinones และ Tannins ไม่พบในทุกตัวทำละลาย Saponins พบในตัวทำละลาย Hexane และ Dichloromethane, Flavonoids พบในตัวทำละลาย Dichloromethane, Ethyl acetate, Ethanol และ Methanol และสุดท้ายคือ Alkaloids พบในตัวทำละลาย Ethanol, Methanol และ Distilled water ซึ่งสอดคล้องกับสมมติฐานการวิจัยที่ตั้งไว้ จากการทดลองสารสกัดหยาบทุกชนิดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ความเข้มข้นต่ำสุดของการทดลอง 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบ Methanol มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เทียบเท่ากับ Vitamin C 53.57 ± 0.06 และ 54.58 ± 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งผลการวิจัยนี้เป็นผลการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกัญชาที่น่าสนใจซึ่งในประเทศไทยยังมีการทำการทดลองฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากกัญชาน้อยมาก งานวิจัยส่วนใหญ่ใช้การทดสอบสารฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในพืชชนิดอื่นที่ไม่ใช่พืชกัญชา ทั้งนี้ได้มีงานวิจัยที่สอดคล้องกับการศึกษาของงานวิจัยในการทดสอบสารฟลาโวนอยด์โดยการศึกษาของ Rudolf Brenneisen ได้ศึกษาเรื่อง การทดสอบทางเคมีและการวิเคราะห์ไฟโตเคมิคัลในนอยด์และส่วนประกอบอื่น ๆ ของกัญชา พบว่าพืชกัญชาและผลิตภัณฑ์กัญชาประกอบด้วยสารเคมีมากมายมหาศาล มีสารประกอบ ประมาณ 483 ชนิด บางชนิดที่ระบุนั้นมีลักษณะเฉพาะของกัญชาตัวอย่างเช่น cannabinoids มีมากกว่า 60 ตัว ในขณะที่ terpenes มีประมาณ 140 ชนิด

องค์ความรู้ใหม่จากการวิจัย

จากการทดสอบสารพฤกษเคมีพบ Terpenoids Saponins Flavonoids และ Alkaloids ตัวทำละลายที่แตกต่างกันให้ผลในการพบสารพฤกษเคมีที่ต่างกัน สารกลุ่ม Terpenoids ช่วยในเรื่องการผ่อนคลายและบรรเทาความเครียด กลุ่มสาร Saponins เป็นสารต้านจุลินทรีย์ สารต้านอนุมูลอิสระ กลุ่ม Flavonoids มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในกระแสเลือด จากการพบสารพฤกษเคมี สอดคล้องกับผลของฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของกัญชา พบว่า สารสกัดหยาบทุกชนิดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ความเข้มข้นต่ำสุดจากการทดลอง 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบ Methanol มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เทียบเท่ากับ Vitamin C 53.57 ± 0.06 และ 54.58 ± 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ความรู้ในการทดลองนี้ สามารถเป็นแนวทางให้ก่อเกิดองค์ความรู้ใหม่ ๆ ในการใช้กัญชาทางการแพทย์ เราจะเห็นได้ว่า สารสกัดหยาบกัญชาที่ต่างกัน สามารถพบสารพฤกษเคมี และมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ได้แตกต่างกัน

สรุป

การทดสอบสารพฤกษเคมี และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของกัญชา มีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาสารพฤกษเคมี และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบกัญชา ผลการทดลองพบว่า ในสารสกัดหยาบกัญชาพบสารพฤกษเคมีดังนี้ Terpenoids พบได้ในทุกตัวทำละลาย Anthraquinone และ Tannins ไม่พบในทุกตัวทำละลาย Saponins พบในตัวทำละลาย Hexane และ Dichloromethane, Flavonoids พบในตัวทำละลาย Dichloromethane, Ethyl acetate, Ethanol และ Methanol สุดท้ายคือ Alkaloids พบในตัวทำละลาย Ethanol, Methanol และ Distilled water ส่วนของฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของกัญชา พบว่า สารสกัดหยาบทุกชนิดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ความเข้มข้นต่ำสุดจากการทดลอง 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบ Methanol มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เทียบเท่ากับ Vitamin C 53.57 ± 0.06 และ 54.58 ± 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

ข้อเสนอแนะ

จากผลการวิจัย ผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะ ดังนี้

1. ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

จากการศึกษาสารพฤกษเคมีพบสารกลุ่ม Terpenoids Saponins Flavonoids และ Alkaloids และสามารถพบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ จากผลการทดลองดังกล่าว ทางผู้วิจัยเห็นว่า ควรศึกษาหาวิธีการแยกสารบริสุทธิ์ อย่างละเอียด ที่สามารถนำไปใช้เพื่อหาสารสำคัญในกัญชา THC, CBD ให้ได้สารที่มีความบริสุทธิ์มากที่สุด เพื่อยืนยันคุณสมบัติของพืชกัญชาก่อนนำไปใช้ทางคลินิกต่อไป การทดลองนี้อาจ

เป็นจุดเริ่มต้นที่จะทำให้มีผู้สนใจ และผู้ที่เกี่ยวข้องเห็นความสำคัญ และนำพืชกัญชาไปใช้อย่างถูกต้อง ถูกวิธี และถูกกฎหมาย เพื่อไม่เป็นอันตรายต่อการใช้กัญชาเกินขนาดที่ทางกฎหมายกำหนด

เอกสารอ้างอิง

- Atakan, Z. (2012). Cannabis, a complex plant: Different compounds and different effects on individuals. *Therapeutic Advances in Psychopharmacology*, 2(6), 241–54.
- Bakkalbasi, E. et al.. (2009). Food ellagitannins–occurrence, effects of processing and storage. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 49(3), 283–298.
- Begley, C.E. (2012). Access to are. In: Loue S, Sajatovic M, eds. *Encyclopedia of Immigrant Health*. Vol. 1. New York: Springer Science+Business Media.
- Borgelt, L.M. et al. (2013). The pharmacologic and clinical effects of medical cannabis. *Journal of the pharmacotherapy*, 33(2), 195–209.
- Brenneisen, R. (2007). *Chemistry and Analysis of Phytocannabinoids and Other Cannabis Constituents in Marijuana and the Cannabinoids*. New Jersey: Humana Press.
- Fantini, M. et al. (2015). In vitro and in vivo antitumoral effects of combinations of polyphenols, or polyphenols and anticancer drugs: perspectives on cancer treatment. *Journal of the Mol Sci*, 16(5), 9236–9282.
- Gonda, R. et al. (2000). Studies on the constituents of *Anaxagorea luzonensis* A. GRAY. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 48(8), 1219–1222.
- Gulcin, I. (2005). The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*Piper nigrum*) seeds. *Journal of the Food Sci Nutr*, 56(7), 491–499.
- Kaur, G. et al. (2006). Evaluation of antioxidant activity of *Cassia siamea* flowers. *Journal of the Ethnopharmacol*, 108(3), 340–348.
- Li, H.L. (1974). An archaeological and historical account of cannabis in China. *Economic Botany*, 28(4), 437–448.
- Lobo, V. et al. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev*, 4(8), 118–126.
- Radhakrishnan, R. et al. (2014). Gone to pot—a review of the association between cannabis and psychosis. *Frontiers in Psychiatry*, 5(54),1–24.
- Russo, E.B. (2007). History of cannabis and its preparations in saga, science, and sobriquet. *Chem Biodivers*, 4(8), 1614–1648.

- Skoglund, G. et al. (2013). Viking and early Middle Ages northern Scandinavian textiles proven to be made with hemp. *Sci Rep*, 3, 2686.
- Toda, S. (2005). Antioxidative effects of polyphenols in leaves of *Houttuynia cordata* on protein fragmentation by copper-hydrogen peroxide in vitro. *Journal of the Med Food*, 8(2), 266–268.
- Wallace, M. S., Marcotte, T.D., Umlauf A, Gouaux B, Atkinson JH. (2015). Efficacy of inhaled cannabis on painful diabetic neuropathy. *Journal of the Pain*, 16(7), 616–27.