ISSN 3027-6357 (Print)
ISSN 3027-6365 (Online)

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี Homepage : *http://li01.tci-thaijo.org/index.php/tstj*
ปีที่ 32 ฉบับที่ 4 (กรกฎาคม-สิงหาคม 2567) หน้า [16-29]

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบในหลอดทดลองของพืชสกุลกัญชา

Effects of *Cannabis* sp. on Antioxidant and *in vitro* Anti-inflammatory Activities

ชุติมา แก้วพิบูลย์[1], อับดุลวาหาบ สาแล๊ะ[2], ณวงศ์ บุนนาค[3,*]

[1]สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมดิจิทัล มหาวิทยาลัยทักษิณ พัทลุง 93210

[2]สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต ภูเก็ต 83000

[3]สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์พื้นฐาน คณะวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมดิจิทัล มหาวิทยาลัยทักษิณ สงขลา 90000

Chutima Kaewpiboon[1], Abdul-Wahab Salae[2], Nawong Boonnak[3,*]

[1]Department of Biology, Faculty of Science and Digital Innovation, Thaksin University, Phatthalung 93210

[2]Department of Science and Mathematics, Faculty of Science, Phuket Rajabhat University, Phuket 83000

[3]Department of Basic Science and Mathematics, Faculty of Science and Digital Innovation, Thaksin University, Songkhla 90000

Received 10 October 2023; Received in revised 4 April 2024; Accepted 18 April 2024

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษากัญชา 4 สายพันธุ์ ผลการศึกษาสามารถจำแนกชนิดตามสัดส่วนขององค์ประกอบทางเคมีในกลุ่มแคนนาบินอยด์ชนิด THC (tetrahydrocannabinol) CBD (cannabidiol) และ CBG (cannabigerol) ได้เป็น 4 type ได้แก่ สายพันธุ์ Thai stick จัดเป็น type I (THC dominant) สายพันธุ์ King garden จัดเป็น type II (hybrid) สายพันธุ์ Charlotte's angle จัดเป็น type III (CBD dominant) และสายพันธุ์ CBG zerodue จัดเป็น type IV (CBG dominant) การศึกษาปริมาณสารฟีนอลิกรวมพบว่าสายพันธุ์ King garden มีปริมาณสารสูงที่สุด เท่ากับ 1033.60±9.42 mgGAE/g extract การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และวิธี ABTS พบว่า สายพันธุ์ King garden มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด มีค่า EC_{50} เท่ากับ 15.06±0.73 และ 0.50±0.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และยังพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารฟีนอลิกรวมของแต่ละสายพันธุ์ การศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบด้วยวิธี protein denaturation inhibition assay พบว่า สายพันธุ์ CBG zerodue มีฤทธิ์ดีที่สุด โดยที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเสื่อมสภาพของโปรตีนได้ร้อยละ 57.51

***ผู้รับผิดชอบบทความ:** nawong@tsu.ac.th

Science32-N4.indd 16 8/8/2567 BE 15:02

คำสำคัญ: กัญชา; เตตร้าไฮโดรแคนนาบินอล; แคนนาบิไดออล; แคนนาบิเกอรอล; ต้านอนุมูลอิสระ; ต้านการอักเสบ

Abstract

This research studied four cultivars of *Cannabis* sp. The results of the study classified the cultivars according to their cannabinoids composition of THC (tetrahydrocannabinol), CBD (cannabidiol) and CBG (cannabigerol) into four types (type I (THC dominant), type II (hybrid), type III (CBD dominant) and type IV (CBG dominant). These cultivars were the Thai stick, the King garden, the Charlotte's angle, and the CBD zerodue, respectively. The total phenolic contents showed that the King garden cultivar had the highest level at 1033.60±9.42 mgGAE/g extract. The antioxidant activity, measured using the DPPH and ABTS assays, indicated that the King garden cultivar had the best antioxidant activity with EC_{50} values of 15.06±0.73 and 0.50±0.10 mg/mL, respectively. Moreover, it was found that the antioxidant activity was related to the total phenolic contents of each cultivar. The study of anti-inflammatory effects using protein denaturation inhibiting assay found that the CBG zerodue cultivar had the best effect, inhibiting protein denaturation by 57.51% at a concentration of 500 ug/mL.

Keywords: *Cannabis* sp.; Tetrahydrocannabinol; Cannabidiol; Cannabigerol; Antioxidant; Anti-inflammatory

Science32-N4.indd 17 8/8/2567 BE 15:02

1. บทนำ

พืชสกุลกัญชา (*Cannabis sativa* L.) วงศ์ Cannabaceae จัดเป็นพืชสมุนไพรควบคุม สำหรับการนำมาใช้ประโยชน์ด้านการแพทย์ พบสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบอย่างน้อย 538 ชนิด [1] ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์กลุ่มเทอร์พีนอยด์ ฟีนอลิก และแคนนาบินอยด์ [2] ซึ่งสารแคนนาบินอยด์หลักที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ได้แก่ เตตร้าไฮโดรแคนนาบินอล (tetrahydrocannabinol; THC) และ แคนนาบิไดออล (cannabidiol; CBD) [3] พบว่าในวิถีการสังเคราะห์สารกลุ่มแคนนาบินอยด์ 2 ชนิดนี้ เกิดจากการดีคาร์บอกซีเลท (decarboxylation) อย่างรวดเร็ว เมื่อกรด tetrahydrocannabinolic (THCA) และ กรด cannabidiolic (CBDA) เมื่อได้รับความร้อน และยังพบสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ชนิดอื่น ๆ ที่พบในปริมาณน้อย ได้แก่ cannabigerol (CBG) (ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในวิถีการสังเคราะห์สาร THC และ CBD) tetrahydrocannabivarin (THCV) และ cannabidivarin (CBDV) [4] ปัจจุบันมีการผลิตยาที่มีองค์ประกอบของทั้ง THC และ CBD เพื่อนำมาใช้ทางการแพทย์ เช่น Marinol และ Cesamet ที่มี THC เป็นองค์ประกอบ นำมาใช้เพิ่มความอยากอาหาร และลดอาการคลื่นไส้ และการอาเจียนในผู้ป่วยที่ได้รับเคมีบำบัด [5] ยา Sativex ซึ่งมีทั้ง THC และ CBD เพื่อกระตุ้นการนอนหลับในผู้ป่วยที่มีอาการปวดเรื้อรัง เช่น โรคเส้นโลหิตตีบ [6] และยา Epidiolex ที่ใช้ CBD ตัวแรก เพื่อใช้รักษาโรคลมชัก [7] นอกจากนี้มีรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ ในพืชสกุลกัญชา ทั้งในรูปสารสกัดและสารที่แยกจากส่วนต่าง ๆ พบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อรา ต้านแบคทีเรีย [8] ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ [9] ต้านเชื้อมาลาเรีย [10] ต้านเซลล์มะเร็ง [11] ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านการอักเสบของพืชสกุลกัญชาสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่มีปริมาณสารกลุ่มแคนนาบินอยด์แตกต่างกัน เพื่อให้ทราบถึงฤทธิ์ทางชีวภาพของแต่ละสายพันธุ์ ทำให้สามารถเลือกใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ของพืชสกุลกัญชาได้อย่างเหมาะสม

แต่อย่างไรก็ตามสารกลุ่มแคนนาบินอยด์จัดเป็นสารทุติยภูมิ จึงทำให้ความเข้มข้นของสารแต่ละชนิดขึ้นอยู่กับทั้งปัจจัยภายใน เช่น สายพันธุ์ และส่วนของพืช และปัจจัยภายนอก เช่น สภาพแวดล้อมในการเจริญ สภาพภูมิอากาศ และช่วงเวลาในการเก็บเกี่ยว ที่ส่งผลกระทบต่อปริมาณสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ในพืชสกุลกัญชา [12] ซึ่งในต่างประเทศมีการพัฒนาสายพันธุ์ของพืชสกุลกัญชาได้เป็นหลายร้อยสายพันธุ์เพื่อเพิ่มหรือลดปริมาณสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ [13] ทำให้สามารถจำแนกสายพันธุ์พืชสกุลกัญชาได้ตามสัดส่วนของสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ (chemotypes) ออกเป็น 4 กลุ่มหลัก ได้แก่ แบบที่ 1 (type I) กัญชาที่ให้สาร THC สูงกว่าร้อยละ 0.3 โดยน้ำหนัก และ CBD ต่ำกว่าร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก มีสัดส่วนสาร CBD:THC น้อยกว่า 0.02 แบบที่ 2 (type II) กัญชาที่ให้ทั้งสาร THC และ CBD มีสัดส่วนสาร CBD:THC ระหว่าง 0.6-4 แบบที่ 3 (type III) กัญชาที่ให้สาร CBD สูง มีสัดส่วนสาร CBD:THC มากกว่า 5 และแบบที่ 4 (type IV) กัญชาที่ให้สาร CBG สูง มีสัดส่วน CBG:CBD มากกว่า 0.5 [14] ซึ่งกลุ่มของสายพันธุ์ส่งผลโดยตรงต่อสัดส่วนของสารแคนนาบินอยด์ชนิด THC และ CBD และประสิทธิภาพในการรักษาโรค นอกจากนี้พบว่าการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่แตกต่างกันของพืชสกุลกัญชามีสาเหตุมาจากชนิด และอัตราส่วนของ THC ต่อ CBD ที่แตกต่างกัน [15]

ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านการอักเสบในหลอดทดลอง ของสารสกัดพืชสกุลกัญชาทั้ง 4 กลุ่มสายพันธุ์ที่มีสัดส่วนของสารกลุ่มแคนนาบินอยด์แตกต่างกัน เพื่อเป็นข้อมูลในการใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ของพืชสกุลกัญชาได้อย่างถูกต้อง

Science32-N4.indd 18 8/8/2567 BE 15:02

2. อุปกรณ์ และวิธีการ

2.1 ตัวอย่าง และเตรียมสารสกัดของพืชสกุลกัญชา

เก็บตัวอย่างช่อดอกของพืชสกุลกลุ่มต่าง ๆ ที่อายุประมาณ 3-4 เดือน จากแหล่งปลูกที่มีความน่าเชื่อถือด้านสายพันธุ์ปลูก เนื่องจากเป็นผู้เพาะสายพันธุ์เพื่อจำหน่ายทางการค้าที่ได้รับอนุญาตตามกฎหมาย ได้แก่ วิสาหกิจชุมชนบ้านนาปะขอ จังหวัดพัทลุง กลุ่มเกษตรกรพัฒนาสายพันธุ์ Indy Samui จังหวัดสุราษฎร์ธานี และจังหวัดสงขลา และบริษัท แคนาบิช เทค จังหวัดปราจีนบุรี ดังแสดงใน Table 1

จากนั้นนำช่อดอกของพืชสกุลกัญชาทั้ง 4 ชนิด ผึ่งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7-10 วัน จากนั้นนำมาบดละเอียด และชั่งตัวอย่างช่อดอกแห้ง 200 กรัม แช่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน โดยมีการเขย่าในทุกวัน เมื่อครบเวลานำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วนำสารละลายที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดัน เก็บสารสกัดหยาบพืชทั้ง 4 ตัวอย่างในตู้ดูดความชื้น (desiccator) จนกว่าจะนำมาใช้ทดสอบ

2.2 วิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ ด้วยเทคนิค HPLC

เตรียมตัวอย่างความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งตัวอย่างแห้ง 100 มิลลิกรัม เติมเอทานอล 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (sonicate) เป็นเวลา 10 นาที และเจือจางสารละลายด้วยเอทานอล 10 เท่า จากนั้นกรองด้วย Membrane Filter 0.45 ไมโครเมตร เก็บสารละลายที่ได้ใส่ขวดที่มีฝาปิด แล้วนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLCโดยใช้ Mobile phase ดังนี้ กรดฟอร์มิกร้อยละ 0.1 และ กรดฟอร์มิกในอะซิโตไนไตรล์ โดยปิเปตกรดฟอร์มิก ร้อยละ 0.1 ด้วยอัตราการไหลที่มีผลต่อการแยกของที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และใช้คอลัมน์ C18 ขนาด 5 ไมโครเมตร (150 X 4.6 mm) ซึ่งมีการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของสาร THC CBD และ CBG รวม

2.3 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ตามวิธีของ Wong-Paz และคณะ [16] เตรียมตัวอย่างความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งสารสกัดหยาบ 5 มิลลิกรัม ละลายใน DMSO 1 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางความเข้มข้นเท่ากับ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เติมลงใน 96-well plate และเติมสารละลาย 10% Folin-Ciocalteu regent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และ 7.5% Sodium carbonate (Na_2CO_3) ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเทียบกับ

Table 1 *Cannabis* sp. strains, seed sources and sample collection areas for the experiments

Strains	Seed sources	Sample collection
Thai stick	Inbreeding house	Phatthalung province, Thailand
King garden	Inbreeding house	Surat Thani province, Thailand
Charlotte's angel	Dutch passion	Prachin Buri province, Thailand
CBG zerodue	Seed stocker	Songkhla province, Thailand

Science32-N4.indd 19 8/8/2567 BE 15:02

กราฟมาตรฐาน Gallic acid ปริมาณที่ได้แสดงในหน่วย mg GAE/g of extract

2.4 วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

2.4.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

การวิเคราะห์การกำจัดอนุมูลอิสระ (DPPH) ตามวิธีของ Kaewpiboon และคณะ [17] เตรียมสารสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในเอทานอล (10 50 100 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เติมสารสกัดลงใน 96 well plate ปริมาตร 25 ไมโครลิตร จากนั้นเติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 75 ไมโครลิตร โดยทำการทดลองความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ บ่มในที่มืด ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงคำนวณร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (%DPPH radical scavenging) ดังสมการที่ 1 เพื่อคำนวณความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถทำให้อนุมูลอิสระ DPPH ลดลงร้อยละ 50 (EC_{50}) โดยใช้กรดแอสคอบิกเป็นสารควบคุมเชิงบวก

$$\text{DPPH radical scavenging (\%)} = [(Ac-As)/Ac] \times 100 \quad \text{สมการที่ 1}$$

เมื่อ Ac = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีสารสกัด

As = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่มีสารสกัด

2.4.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-Azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic Acid (ABTS)

การวิเคราะห์การกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ตามวิธีของ Re และคณะ [18] เตรียมสารสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในเอทานอล (0.1 0.5 1 5 10 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เติมสารสกัดลงใน 96 well plate ปริมาตร 50 ไมโครลิตร จากนั้นเติมสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร โดยทำการทดลองความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ บ่มในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงคำนวณร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS (%ABTS radical scavenging) ดังสมการที่ 2 เพื่อคำนวณความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถทำให้อนุมูลอิสระ ABTS ลดลงร้อยละ 50 (EC_{50}) โดยใช้กรดแอสคอบิกเป็นสารควบคุมเชิงบวก

$$\text{ABTS radical scavenging (\%)} = [(Ac - As)/Ac] \times 100 \quad \text{สมการที่ 2}$$

เมื่อ Ac = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ABTS ที่ไม่มีสารสกัด

As = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ABTS ที่มีสารสกัด

2.5 ทดสอบฤทธิ์ต้านการอักเสบในหลอดทดลอง

การยับยั้งการเสียสภาพของโปรตีน (Protein denaturation inhibitory assay) ตามวิธีของ Gunathilake และคณะ [19]

เตรียมสารสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในน้ำกลั่น (100 200 300 400 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เติมสารสกัดลงในหลอดทดลอง ปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย Bovine serum albumin (BSA) ความเข้มข้น 1%w/v ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เติมสารละลาย PBS (pH 6.4) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร โดยทำการทดลองความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 75 องศา

Science32-N4.indd 20 8/8/2567 BE 15:02

เซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้สารเย็นลง จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเสื่อมสภาพ (% inhibition of denaturation) ดังสมการที่ 3 โดยใช้ diclofenac sodium เป็นสารควบคุมเชิงบวก

$$\text{Inhibition of denaturation (\%)} = (Ac/As)) \times 100 \quad \text{สมการที่ 3}$$

เมื่อ Ac = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ที่ไม่มีสารสกัด

As = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ที่มีสารสกัด

2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

แสดงข้อมูลผลการทดลองในรูปแบบของค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลโดยใช้ One-way Anova และ Post Hoc tests ด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Tests (DMRT) และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่าง 2 ตัวแปรด้วย Pearson correlation โดยใช้โปรแกรม Software SPSS V.26.0

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 เก็บตัวอย่าง และเตรียมสารสกัดของพืชสกุลกัญชา

ตัวอย่างช่อดอกพืชสกุลกัญชา 4 กลุ่มสายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ไทยหางกระรอก (Thai stick) King garden Charlotte's angel และ CBG zerodue จากแหล่งปลูกต่าง ๆ ที่มีความน่าเชื่อถือด้านสายพันธุ์ปลูก (Figure 1) สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล โดยใช้ปริมาตรตัวทำละลายชนิดละ 500 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการสกัด 72 ชั่วโมง ได้เป็นสารสกัดหยาบ (crude extract) ที่แสดงให้เห็นว่า การสกัดสารจากช่อดอกเพศเมียของพืชสกุลกัญชาด้วยตัวทำละลายเอทานอลจะให้สารฟีนอลิกรวมสูงที่สุด [20] เนื่องจากสภาพขั้วของตัวทำละลายมีความเหมาะสมต่อการสกัดสารกลุ่มฟีนอลิก บทบาทของตัวทำละลายขั้วสูงจะช่วยให้การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพออกจากพืชตัวอย่างได้ดีกว่าตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำ จึงมักนำมาสกัดสารออกฤทธิ์จำพวก phenol และ polyphenol ซึ่งพันธะไฮโดรเจนระหว่างสภาพขั้วตัวทำละลายและตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ในสารประกอบฟีนอลิกมีผลต่อประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูล

(a) (b) (c) (d)

Figure 1 Characteristics of floral phenotypes of *Cannabis* sp. strains (a) Thai stick (b) King garden (c) Charlotte's angel (d) CBG zerodue at 3-4 months from Phatthalung, Surat thani, Prachin Buri and Songkhla province, respectively

Science32-N4.indd 21 8/8/2567 BE 15:02

อิสระ โดยตัวทำละลายที่มีขั้ว (เช่น water, EtOH, EtOAc, acetonitrite, tert-butyl alcohol และ acetic acid) จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว (เช่น DCM, chloroform, hexane, petroleum ether, n-decane และ chlorobenzene) เนื่องจากตัวทำละลายจะเข้าจับกับอนุมูลอิสระก่อนที่หมู่-OH ในสาร phenol จะเข้าจับอนุมูลอิสระโดยตรงและทำให้ความเป็นอนุมูลอิสระหมดไป [21]

3.2 วิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ ด้วยเทคนิค HPLC

การวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ในพืชสกุลกัญชาทั้ง 4 สายพันธุ์ จากโครมาโทแกรมการแยกสารด้วยเทคนิค HPLC สามารถคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก (%w/w) ของสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ สายพันธุ์ Thai stick พบเฉพาะสารแคนนาบินอยด์กลุ่ม total THC ประกอบด้วยสาร THCA และ THC เท่ากับ 3.92 %w/w สัดส่วนของสารแคนนาบินอยด์ชนิด CBD/THC เป็น 0/3.92 = 0 จัดอยู่ในกลุ่มกัญชาแบบที่ 1 (type I) สายพันธุ์ King Garden พบทั้งสารแคนนาบินอยด์ชนิด THC และ CBD เท่ากับ 3.58 และ 5.49 %w/w ตามลำดับ สัดส่วนสารแคนนาบินอยด์ชนิด CBD/THC เป็น 1.53/1 = 1.53 จัดอยู่ในกลุ่มกัญชาแบบที่ 2 (type II) สายพันธุ์ Charlotte's angel พบว่ามีปริมาณ total CBD 5.19 %w/w สัดส่วนของ CBD/THC เท่ากับ 5.19 จัดอยู่ในกลุ่มกัญชาแบบที่ 3 (type III) และในสายพันธุ์ CBG zerodue พบสาร CBG เป็นหลักเท่ากับ 4.16 %w/w และพบสาร CBD 1.23 %w/w สัดส่วนสาร CBG/CBD เป็น 4.16/1.23 = 3.38 จัดอยู่ในกลุ่มกัญชาแบบที่ 4 (type IV) (Table 2) ซึ่งการจัดกลุ่มพืชสกุลกัญชาตามสัดส่วนการสะสมสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ (chemotype) สอดคล้องกันกับรายงานการวิจัย ซึ่งแบ่งกลุ่มสายพันธุ์ของพืชสกุลกัญชาออกเป็น 4 ชนิด ดังนี้ แบบที่ 1 (type I) กัญชาที่ให้สาร THC สูงกว่าร้อยละ 0.3 โดยน้ำหนัก และ CBD ต่ำกว่าร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก มีสัดส่วนสาร CBD:THC น้อยกว่า 0.02 แบบที่ 2 (type II) กัญชาที่ให้ทั้งสาร THC และ CBD มีสัดส่วนสาร CBD:THC ระหว่าง 0.6-4 แบบที่ 3 (type III) กัญชาที่ให้สาร CBD สูง มีสัดส่วนสาร CBD:THC มากกว่า 5 และแบบที่ 4 (type IV) กัญชาที่ให้สาร CBG สูง มีสัดส่วน CBG:CBD มากกว่า 0.5 [14]

ดังนั้นในพืชสกุลกัญชาทั้ง 4 สายพันธุ์ สามารถแบ่งออกตามสัดส่วนของสาร total THC CBD และ CBG ออกเป็น 4 แบบ ซึ่งพบโครงสร้างของสารที่พบหลักในตัวอย่างพืชสกุลกัญชา ดังแสดงใน Figure 2

3.3 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบพืชสกุลกัญชา 4 สายพันธุ์ คำนวณจากสมการเส้นตรงของกราฟสารมาตรฐานกรดแกลลิก ($y = 0.0033x + 0.1067$, $R^2 = 0.9974$) แสดงใน Table 3 พบว่าสารสกัดหยาบทั้ง 4 สายพันธุ์ มีปริมาณฟีนอลิกรวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยสายพันธุ์ King garden มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุดเท่ากับ 1,033.60±9.42 mgGAE/g extract รองลงมาคือสายพันธุ์ Charlotte's angel เท่ากับ 884.29±9.57 mgGAE/g extract ทั้งนี้จากโครงสร้างของสารแคนนาบินอยด์ จัดเป็นสารประกอบฟีนอล ตามโครงสร้างโมเลกุลของวงแหวนอะโรมาติก ทั้งนี้สายพันธุ์ King Garden ซึ่งจัดเป็นสายพันธุ์ที่มีทั้งสาร THC และ CBD จึงมีปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกมากกว่าสายพันธุ์อื่น ๆ และฟีนอลจากพืชที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพจัดเป็นแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของพืชเป็นตัวแปรสำคัญสำหรับคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ [22]

3.4 วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสามารถพิจารณาได้ทั้งการป้องกัน การให้การรักษา หรือการฟื้นฟู ซึ่งกิจกรรมที่นำมาใช้มากที่สุด ได้แก่ การวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ เพื่อลดไอออนของโลหะ และเพื่อชะลอกระบวนการออกซิเดชันของโมเลกุลเป้าหมาย โดยใช้วิธี ABTS และ DPPH [23]

Science32-N4.indd 22 8/8/2567 BE 15:02

Table 2 Total THC and CBD contents (%w/w), ratio content of CBD/THC and CBG/CBD and types of *Cannabis* sp.

TYPES	Variety *C. Sativa L.*	Cannabinoids content (%w/w) Total			Ratio CBD/ THC	Ratio CBG/CBD
		THC	CBD	CBG		
I : THC dominant	Thai stick	3.92	-	-	0/3.92	-
II : Hybrid	King garden	3.58	5.49	-	1.53/1	-
III : CBD dominant	Charlotte's angel	-	5.19	-	5.19/0	-
IV : CBG dominant	CBG zerodue	-	1.23	4.16	-	3.38/1

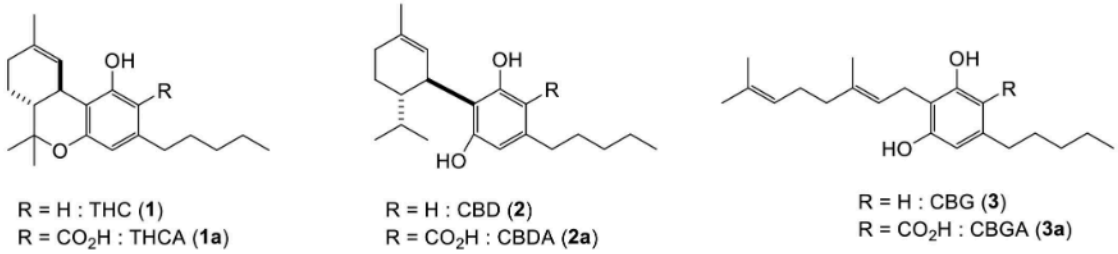

Figure 2 Structure of observed cannabinoids
Abbreviations; **(1)** THC, tetrahydrocannabinol; **(1a)** THCA, tetrahydrocannabinolic acid; **(2)** CBD, cannabidiol; **(2a)** CBDA, cannabidioloic acid3) CBG, cannabigerol; **(3a)** CBGA, cannabigerolic acid;

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชสกุลกัญชาทั้ง 4 สายพันธุ์ ซึ่งประกอบด้วยสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ที่มีสัดส่วนแตกต่างกัน จากโครงสร้างทางเคมีของแคนนาบินอยด์ที่ตรวจสอบ (Figure 3) แสดงให้เห็นว่าคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่เป็นผลมาจากหมู่ฟีนอลที่ถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายในรูปแบบควินอยด์ [24] และพันธะไม่อิ่มตัวที่พบในโครงสร้างของโมเลกุลของสารแคนนาบินอยด์บางชนิด

3.4.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบพืชสกุลกัญชา 4 สายพันธุ์ โดยวิธี DPPH แสดงใน Table 3 ผลการทดลอง พบว่าสายพันธุ์ King garden ที่ประกอบด้วยสาร THC และ CBD และมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด มีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) มีค่า EC_{50} เท่ากับ 15.06±0.73 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือสายพันธุ์ Charlotte's angel มีค่า EC_{50} เท่ากับ 24.32±1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทุกสารสกัดคงมีประสิทธิภาพในการต้านอนมูลอิสระ DPPH ได้น้อยกว่าสารมาตรฐานกรดแอสคอบิก ซึ่งกระบวนการต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นนี้เกี่ยวข้องกับโครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกที่พบในสารแคนนาบินอยด์ ชนิด THC และ CBD ที่มีหมู่ –OH บริเวณวงแหวน aromatic ring อีกทั้งหลังจากให้

Science32-N4.indd 23 8/8/2567 BE 15:02

H atom แก่อนุมูลอิสระแล้วโครงสร้างยังคงความเสถียร และสามารถเข้าทำปฏิกิริยาต่อกับอนุมูลอิสระขั้นที่ 2 ในรูป alkoxyl (RO•) ได้อีกครั้ง ซึ่ง H atom ของหมู่ –OH จะกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH• โดยจับกับอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวของอนุมูลอิสระ DPPH บริเวณ N atom ทำให้อนุมูลอิสระของ DPPH ได้รับโปรตอนหรือถูกรีดิวซ์ด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ จนเกิดความเสถียร นั่นหมายถึงสารสกัดหยาบจะมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระมากขึ้นเมื่อหมู่ –OH ที่มีจำนวนมาก และมีตำแหน่งที่เหมาะสมประกอบกับคุณสมบัติของสารประกอบฟีนอลิกที่แม้ว่าจะสูญเสียอิเล็กตรอน ให้กับอนุมูลอิสระแต่โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกยังมีความหนาแน่นของอิเล็กตรอนสูงทำให้อิเล็กตรอน สามารถย้ายไปทั่วโครงสร้าง (delocalization) และคงความเสถียรเอาไว้ได้ จึงสามารถหยุดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ [21]

3.4.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบพืชสกุลกัญชา 4 สายพันธุ์ โดยวิธี ABTS แสดงใน Table 3 ผลการทดลอง พบว่าสายพันธุ์ King garden ที่ประกอบด้วยสาร THC และ CBD และมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด มีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.50±0.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือสายพันธุ์ Charlotte's angel มีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.63±0.07 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Dawidowicz และคณะ, 2021 ที่แสดงให้เห็นว่าสารแคนนาบินอยด์ชนิด CBD มีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ได้ดีกว่า THC ซึ่งเป็นผลจากจำนวนกลุ่มฟีนอลิก –OH ที่ลดลงในแคนนาบินอยด์แต่ละชนิด และจากอันตรกิริยาของกลุ่ม OH กับอิเล็กตรอนของพันธะคู่ที่เกิดขึ้นในโครงสร้างที่ตรวจสอบ ด้วยเหตุนี้ความสามารถในการขนส่งอิเล็กตรอนจากโมเลกุลแคนนาบินอยด์ไปยังอนุมูลไอออนบวกของ ABTS จึงลดลง เพราะถูกขัดขวาง ตามลำดับดังกล่าว [24]

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากพืชสกุลกัญชาทั้ง 4 สายพันธุ์ ทั้ง 2 วิธี แสดงให้เห็นว่าสารสกัดของทั้ง 4 สายพันธุ์มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน ซึ่งเป็นผลจากสัดส่วนของสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ แตกต่างกัน จะเห็นได้ว่าสายพันธุ์แบบที่ 2 ที่ประกอบด้วยสารกลุ่ม THC และ CBD มีประสิทธิภาพต้านอนุมูลอิสระทั้งวิธี DPPH และ ABTS ได้ดีที่สุด เนื่องจากทั้งสาร CBD และ THC มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เมื่อพิจารณาจากโครงสร้างทางเคมี ของ CBD และ THC พบว่าเกี่ยวข้องกับกลไกการแยกอิเล็กตรอน และไฮโดรเจนที่ตำแหน่งฟีนอล [25] และจากรายงานการวิจัย พบว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี DPPH และ ABTS มีความสัมพันธ์กับสารแคนนาบินอยด์ชนิด THC และ CBD เป็นอย่างมาก กล่าวคือในพืชสกุลกัญชาที่มีปริมาณสาร THC และ CBD สูง จะมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ แต่พบว่าในพืชสกุลกัญชาที่มีปริมาณสาร (cannabichromene) และ CBG สูง จะมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำกว่า [26] ซึ่งสอดคล้องกันกับผลการทดลองนี้

ถึงแม้ว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ต่ำกว่าการทดสอบด้วยวิธี ABTS แต่วิธีการทั้งสองแสดงแนวโน้มผลลัพธ์เดียวกัน ซึ่งเป็นผลจากอนุมูลอิสระ DPPH เป็นอนุมูอิสระสังเคราะห์ที่มีความเสถียร และโครงสร้างของ DPPH ที่มีขนาดใหญ่ มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ ทำให้การทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ DPPH นั้นยากกว่าในอนุมูลอิสระไอออนบวกของ ABTS [27] สอดคล้องกับงานวิจัยเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของอาหารที่อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ 50 อันดับจากสหรัฐอเมริกา และพบว่าสารต้านอนุมูลอิสระนั้นมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูล DPPH ต่ำกว่า ABTS [28]

นอกจากนี้เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกรวมกับประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ด้วย Pearson correlation พบว่าปริมาณสารฟีนอลิกรวมที่พบในสาร

Science32-N4.indd 24 8/8/2567 BE 15:02

สกัดหยาบของพืชสกุลกัญชาทั้ง 4 สายพันธุ์ มีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS มีค่า r = 0.9750 และ 0.9820 ตามลำดับ (Figure 3) ซึ่งจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพัทธ์ (r) สูงกว่า 0.7 หมายถึง ความสัมพันธ์ระหว่าง 2 ตัวแปร มีความสัมพันธ์เชิงบวกระดับมาก กล่าวคือ ปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกรวมที่พบในพืชสกุลกัญชามีผลต่อประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสอดคล้องกับ รายงานวิจัยต่าง ๆ ที่พบว่าสารฟีนอลิกจากพืชที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ จัดเป็นแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของพืชเป็นตัวแปรสำคัญสำหรับคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ [22]

Table 3 Total phenolic content and antioxidant activities 4 cultvars of.

TYPES	Cultivar *C. Sativa L.*	Total phenolic content (mgGAE/g extract)	Antioxidant activities	
			DPPH (EC_{50} mg/mL)	ABTS (EC_{50} mg/mL)
I	Thai stick	762.31±10.77[a]	33.44±2.24[a]	1.02±0.03[a]
II	King garden	1033.60±9.42[b]	15.06±0.73[b]	0.50±0.10[b]
III	Charlotte's angel	884.29±9.57[c]	24.32±1.25[c]	0.63±0.07[c]
IV	CBG zerodue	701.70±3.85[d]	149.25±3.23[d]	1.25±0.05[d]
	Ascobic acid	N.D.	3.57±0.24	1.75±0.04

The values are mean ± standard deviation (n=3). [a-d]Means within each column followed by different letters are significantly different ($p<0.05$) using one way ANOVA.

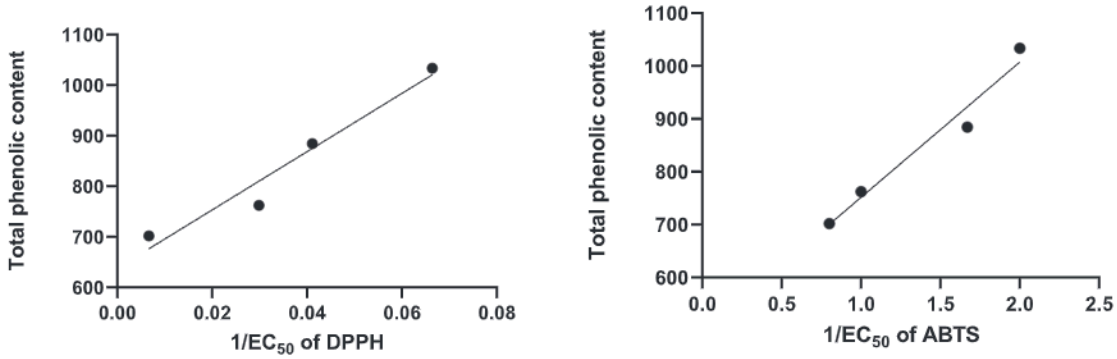

Figure 3 Correlation between total phenolic content and (A) DPPH radical scavenging activity of the extracts. Correlation coefficient, r=0.9750 and coefficient of determination, R^2=0.9506. (B) ABTS radical scavenging activity of the extracts. Correlation coefficient, r=0.9820 and coefficient of determination, R^2=0.9643.

Science32-N4.indd 25 8/8/2567 BE 15:02

3.5 ฤทธิ์ต้านการอักเสบในหลอดทดองด้วยวิธี (protein denature inhibition)

การเสียสภาพของโปรตีนเป็นกระบวนการที่โปรตีนสูญเสียโครงสร้างตติยภูมิ (tertiary structure) และโครงสร้างทุติยภูมิ (secondary structure) โดยการใช้ความเครียดภายนอกหรือสารประกอบ เช่น กรดหรือเบสที่เข้มข้น ความเข้มข้นของเกลืออนินทรีย์ ตัวทำละลายอินทรีย์ หรือความร้อน ทำให้ไม่สามารถแสดงหน้าที่ทางชีวภาพได้อีก และเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการอักเสบได้ [29] ในการทดลองนี้ ใช้ความร้อนในการทำให้โปรตีนเสียสภาพ โดยพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) หรือพันธะไฮโดรโฟบิก (hydrophobic interaction) ของโปรตีนจะถูกทำลาย และไปทำลายโครงสร้างของโปรตีน ทำให้เกิดการตกตะกอนขึ้น

ฤทธิ์ต้านการอักเสบในหลอดทดองของสารสกัดหยาบพืชสกุลกัญชา 4 สายพันธุ์ ด้วยวิธี protein denature inhibition แสดงใน Figure 4 ผลการทดลองพบว่าสายพันธุ์ CBG zerodue ที่ประกอบด้วยสาร CBG และ CBD มีประสิทธิภาพยับยั้งการเสียสภาพของโปรตีนได้ดีที่สุด คิดเป็นร้อยละ 57.51 ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือสายพันธุ์ Thai stick ที่ประกอบด้วยสาร THC มีประสิทธิภาพยับยั้งการเสียสภาพของโปรตีน คิดเป็นร้อยละ 43.41 ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

จากผลการทดสองพืชสกุลกัญชาสายพันธุ์ CBG zerodue จัดอยู่ในพืชสกุลกัญชา Type IV ซึ่งพบสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ ชนิด CBG เป็นหลัก และพบ CBD เป็นองค์ประกอบด้วย ซึ่งมีความสามารถในการต้านการอักเสบในหลอดทดลองได้ดีที่สุด จากรายงานการวิจัย พบว่าสาร CBD และ CBG มีประสิทธิภาพต้านการอักเสบและระบบภูมิคุ้มกัน รวมถึงการยับยั้งการกระตุ้นการทำงานของเซลล์ที่ทำให้เกิดการอักเสบ [9]

4. สรุป

ปัจจุบันพืชสกุลกัญชามีหลากหลายสายพันธุ์ แต่ละสายพันธุ์จะมีสัดส่วนของสารออกฤทธิ์กกลุ่มแคนนาบินอยด์ที่แตกต่างกัน ซึ่งส่งผลต่อการออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างกัน จากการทดลองพบว่าสายพันธุ์ที่มีทั้งสารแคนนาบินอยด์ชนิด THC และ CBD พบว่ามีปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกรวมสูงสุด ซึ่งส่งผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงด้วย และสายพันธุ์ที่มีปริมาณสาร CBG สูง ออกฤทธิ์ต้านการอักเสบได้ดีที่สุด ดังนั้นการเลือกใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ของพืชสกุลกัญชา จำเป็นต้องคำนึงถึงสัดส่วนของสารออกฤทธิ์กลุ่มแคนนาบินอยด์

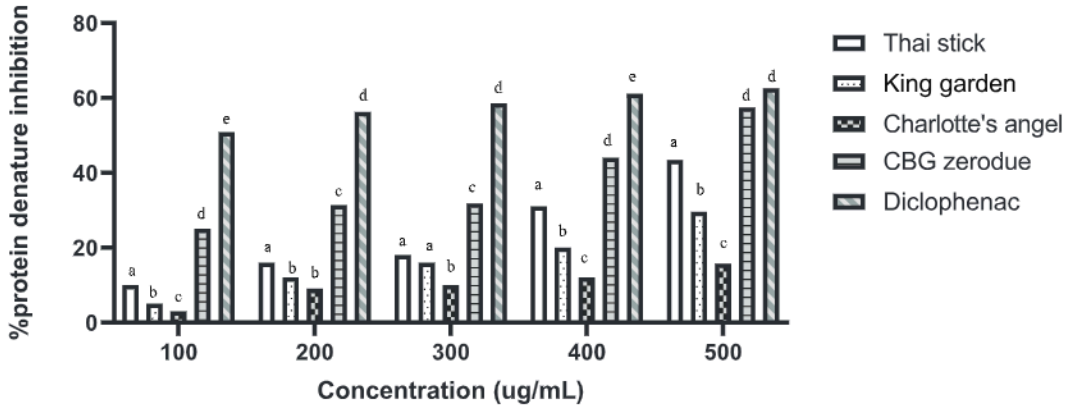

Figure 4 % Protein denature inhibition of 4 cultivars of *Cannabis* sp.
The values are mean (n=3). [a-e]Means within each bar followed by different letters are significantly different ($p<0.05$) using one way ANOVA.

Science32-N4.indd 26 8/8/2567 BE 15:02

เพื่อที่จะใช้ในการรักษาโรคได้อย่างถูกต้อง และมีประสิทธิภาพ

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยโครงการวิจัยเงินรายได้มหาวิทยาลัยทักษิณ ประเภททุนพัฒนาแผนงานริเริ่มสำคัญ (Flagship) กองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2566 และขอขอบคุณสาขาวิชาชีววิทยา และสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์พื้นฐาน คณะวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมดิจิทัล มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง

6. References

[1] Kopustinskiene, D. M.,Masteikova, R., Lazauskas, R.andBernatoniene, J., 2022, Cannabis sativa L. Bioactive Compounds and Their Protective Role in Oxidative Stress and Inflammation. Antioxidants. 11 (4): 660.

[2] Radwan, M. M.,Chandra, S.,Gul, S.andElSohly, M. A., 2021, Cannabinoids, Phenolics, Terpenes and Alkaloids of Cannabis. Molecules. 26 (9).

[3] Jin, D.,Henry, P.,Shan, J.andChen, J., 2021, Identification of Chemotypic Markers in Three Chemotype Categories of Cannabis Using Secondary Metabolites Profiled in Inflorescences, Leaves, Stem Bark, and Roots. Front Plant Sci. 12: 699530.

[4] Tahir, M. N.,Shahbazi, F.,Rondeau-Gagné, S.andTrant, J. F., 2021, The biosynthesis of the cannabinoids. J Cannabis Res. 3 (1): 7.

[5] Pertwee, R. G., 2006, Cannabinoid pharmacology: the first 66 years. Br J Pharmacol. 147 Suppl 1 (Suppl 1): S163-71.

[6] Russo, E. B.,Guy, G. W.andRobson, P. J., 2007, Cannabis, pain, and sleep: lessons from therapeutic clinical trials of Sativex, a cannabis-based medicine. Chem Biodivers. 4 (8): 1729-43.

[7] Abu-Sawwa, R.andStehling, C., 2020, Epidiolex (Cannabidiol) Primer: Frequently Asked Questions for Patients and Caregivers. J Pediatr Pharmacol Ther. 25 (1): 75-77.

[8] Vozza Berardo, M. E.,Mendieta, J. R.,Villamonte, M. D.,Colman, S. L. andNercessian, D., 2024, Antifungal and antibacterial activities of Cannabis sativa L. resins. Journal of Ethnopharmacology. 318: 116839.

[9] Atalay, S., Jarocka-Karpowicz, I. and Skrzydlewska, E., 2019, Antioxidative and Anti-Inflammatory Properties of Cannabidiol. Antioxidants (Basel). 9 (1).

[10] de Sousa, A. C. C., Combrinck, J. M., Maepa, K.andEgan, T. J., 2021, THC shows activity against cultured Plasmodium falciparum. Bioorg Med Chem Lett. 54: 128442.

[11] Guggisberg, J., Schumacher, M., Gilmore, G. and Zylla, D. M., 2022, Cannabis as an Anticancer Agent: A Review of Clinical Data and Assessment of Case Reports. Cannabis Cannabinoid Res. 7 (1): 24-33.

[12] Milay, L., Berman, P., Shapira, A., Guberman, O. and Meiri, D., 2020, Metabolic Profiling of Cannabis Secondary Metabolites for

Science32-N4.indd 27 8/8/2567 BE 15:02

Evaluation of Optimal Postharvest Storage Conditions. Front Plant Sci. 11: 583605.

[13] Barcaccia, G., Palumbo, F., Scariolo, F., Vannozzi, A., Borin, M. and Bona, S., 2020, Potentials and Challenges of Genomics for Breeding Cannabis Cultivars. Front Plant Sci. 11: 573299.

[14] Galal, A. M., Slade, D., Gul, W., El-Alfy, A. T., Ferreira, D. and Elsohly, M. A., 2009, Naturally occurring and related synthetic cannabinoids and their potential therapeutic applications. Recent Pat CNS Drug Discov. 4 (2): 112-36.

[15] Salamone, S., Waltl, L., Pompignan, A., Grassi, G., Chianese, G., Koeberle, A. and Pollastro, F., 2022, Phytochemical Characterization of Cannabis sativa L. Chemotype V Reveals Three New Dihydrophenanthrenoids That Favorably Reprogram Lipid Mediator Biosynthesis in Macrophages. Plants (Basel). 11 (16).

[16] Wong-Paz, J. E., Muñiz-Márquez, D. B., Aguilar-Zárate, P., Rodríguez-Herrera, R. and Aguilar, C. N., 2014, Microplate Quantification of Total Phenolic Content from Plant Extracts Obtained by Conventional and Ultrasound Methods. Phytochemical Analysis. 25 (5): 439-444.

[17] Kaewpiboon, C., Lirdprapamongkol, K., Srisomsap, C., Winayanuwattikun, P., Yongvanich, T., Puwaprisirisan, P., Svasti, J. and Assavalapsakul, W., 2012, Studies of the in vitro cytotoxic, antioxidant, lipase inhibitory and antimicrobial activities of selected Thai medicinal plants. BMC Complement Altern Med. 12: 217.

[18] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C., 1999, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic Biol Med. 26 (9-10): 1231-7.

[19] Gunathilake, K., Ranaweera, K. and Rupasinghe, H. P. V., 2018, In Vitro Anti-Inflammatory Properties of Selected Green Leafy Vegetables. Biomedicines. 6 (4).

[20] Isidore, E.,Karim, H.andIoannou, I. Extraction of Phenolic Compounds and Terpenes from Cannabis sativa L. By-Products: From Conventional to Intensified Processes *Antioxidants* [Online], 2021.

[21] Dai, J.andMumper, R. J., 2010, Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules. 15 (10): 7313-52.

[22] Aryal, S., Baniya, M. K., Danekhu, K., Kunwar, P., Gurung, R. and Koirala, N., 2019, Total Phenolic Content, Flavonoid Content and Antioxidant Potential of Wild Vegetables from Western Nepal. Plants (Basel). 8 (4).

[23] Christodoulou, M. C., Orellana Palacios, J. C., Hesami, G., Jafarzadeh, S., Lorenzo, J. M., Domínguez, R., Moreno, A. and Hadidi, M. Spectrophotometric Methods for Measurement of Antioxidant Activity

Science32-N4.indd 28 8/8/2567 BE 15:02

in Food and Pharmaceuticals *Antioxidants* [Online], 2022.

[24] Dawidowicz, A. L.,Olszowy-Tomczyk, M.andTypek, R., 2021, CBG, CBD, Δ9-THC, CBN, CBGA, CBDA and Δ9-THCA as antioxidant agents and their intervention abilities in antioxidant action. Fitoterapia**.** 152: 104915.

[25] Borges, R. S.,Batista, J.,Viana, R. B.,Baetas, A. C.,Orestes, E.,Andrade, M. A.,Honório, K. M.andDa Silva, A. B. F. Understanding the Molecular Aspects of Tetrahydrocannabinol and Cannabidiol as Antioxidants *Molecules* [Online], 2013, p. 12663-12674.

[26] Stasiłowicz-Krzemień, A., Sip, S., Szulc, P. and Cielecka-Piontek, J., 2023, Determining Antioxidant Activity of Cannabis Leaves Extracts from Different Varieties & mdash; Unveiling Nature & rsquo; s Treasure Trove. Antioxidants**.** 12 (7): 1390.

[27] Dawidowicz, A. L. and Olszowy, M., 2013, The importance of solvent type in estimating antioxidant properties of phenolic compounds by ABTS assay. European Food Research and Technology**.** 236 (6): 1099-1105.

[28] Floegel, A., Kim, D.-O., Chung, S.-J., Koo, S. I. and Chun, O. K., 2011, Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. Journal of Food Composition and Analysis**.** 24 (7): 1043-1048.

[29] Suganya, G., Kumar, P., Dheeba, B. and Sivakumar, R., 2014, In vitro antidiabetic, antioxidant and anti-inflammatory activity of Clitoria Ternatea L. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**.** 6: 342-347.

Science32-N4.indd 29 8/8/2567 BE 15:02