การศึกษาสารพฤกษเคมี ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และวิธีการแยกสารสำคัญในกัญชาเพื่องานทางนิติวิทยาศาสตร์

โดย

นางสาวสุมิตา นิยมเดชา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2564

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

การศึกษาสารพฤกษเคมี ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และวิธีการแยกสารสำคัญในกัญชาเพื่องานทางนิติวิทยาศาสตร์

โดย
นางสาวสุมิตา นิยมเดชา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2564
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

PHYTOCHEMICAL SCREENING, ANTIOXIDANT AND PURIFICATION COMPOUND OF CANNABIS FOR FORENSIC SCIENCE

By

MISS Sumita NIYOMDECHA

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for Master of Science (FORENSIC SCIENCE)

Graduate School, Silpakorn University

Academic Year 2021

Copyright of Silpakorn University

หัวข้อ	การศึกษาสารพฤกษเคมี ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และวิธีการแยกสารสำคัญในกัญชาเพื่องานทางนิติวิทยาศาสตร์
โดย	นางสาวสุมิตา นิยมเดชา
สาขาวิชา	นิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	อาจารย์ ดร. มูฮำหมัด นิยมเดชา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.จุไรรัตน์ นันทานิช)

พิจารณาเห็นชอบโดย

.....ประธานกรรมการ
(อาจารย์ ดร. ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(อาจารย์ ดร. มูฮำหมัด นิยมเดชา)

.....ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. บุญเดช เบิกฟ้า)

620720084 : นิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
คำสำคัญ : พืชกัญชา, สารสกัดหยาบ, องค์ประกอบทางพฤกษเคมี, ต้านอนุมูลอิสระ

นางสาว สุมิตา นิยมเดชา: การศึกษาสารพฤกษเคมี ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และวิธีการแยกสารสำคัญในกัญชาเพื่องานทางนิติวิทยาศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : อาจารย์ ดร. มูฮำหมัด นิยมเดชา

การศึกษาวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และวิธีการแยกสารสำคัญในกัญชาเพื่องานทางนิติวิทยาศาสตร์ ผลการทดลองพบว่าในสารสกัดหยาบกัญชาพบสารพฤกษเคมีดังนี้ 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 ในส่วนของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของกัญชา พบว่า สารสกัดหยาบทุกชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ความเข้มข้นต่ำสุดจากการทดลอง 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบ Methanol มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับ Vitamin C 53.57±0.06 และ 54.58±0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และในการแยกสารบริสุทธิ์พบว่าในตัวทำละลาย Hexane, Dichloromethane, Ethyl acetate และ Methanol พบสารบริสุทธิ์ที่มีปริมาณเยอะในทุก fraction คือสาร CBN และในตัวทำละลาย Ethanol มี 4 ตำแหน่งคือ a, b, c และ d พบสารบริสุทธิ์ของ CBD ในตำแหน่ง d แต่พบในปริมาณน้อย และไม่พบสารบริสุทธิ์ของ THC ในการทดลองของกัญชาครั้งนี้

620720084 : Major (FORENSIC SCIENCE)
Keyword : Cannabis, Crude Extracts, Phytochemical screening, Antioxidant

MISS SUMITA NIYOMDECHA : PHYTOCHEMICAL SCREENING, ANTIOXIDANT AND PURIFICATION COMPOUND OF CANNABIS FOR FORENSIC SCIENCE THESIS ADVISOR : MUHAMMAD NIYOMDECHA, Ph.D.

The objectives of this research were to 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. In the separation of pure substances, hexane, dichloromethane, ethyl acetate and methanol were found to be highly pure in all fractions, CBN and in the solvent, ethanol have 4 fractions is a, b, c and d. The pure CBD was found in position d, but in small quantities. And no pure THC was found in this cannabis experiment.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. มูฮำหมัด นิยมเดชา ที่ได้กรุณารับเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทาง ตลอดจนแนะนำเอกสารและแหล่งข้อมูลอันเป็นประโยชน์ยิ่งต่อการจัดทำวิทยานิพนธ์ อีกทั้งกรุณาสละเวลาในการตรวจแก้ไขในส่วนที่บกพร่องต่างๆ เพื่อความถูกต้องสมบูรณ์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ รวมทั้งคอยติดตาม ดูแลและให้ความช่วยเหลือผู้วิจัยอย่างดีเสมอมา ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี จึงกราบขอบพระคุณท่านเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง ที่ได้กรุณารับเป็นประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุญเดช เบิกฟ้า ที่กรุณาเป็นกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิในการสอบวิทยานิพนธ์ ได้ให้ข้อสังเกตและข้อแนะนำจากความรู้และประสบการณ์อันเชี่ยวชาญของท่านทั้งสอง ซึ่งก่อให้เกิดประโยชน์ในการแก้ไขปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ให้มีความถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณครูบาอาจารย์ทุกท่าน ผู้ซึ่งประสิทธิ์ประสาทวิชาและวางรากฐานการศึกษา ให้เป็นผู้มีความรู้และมีคุณธรรม นำมาซึ่งความสำเร็จในชีวิต

ขอขอบคุณ นาย กิตติศักดิ์ เหมือนดาว สำหรับแรงบันดาลใจ ความรู้และความเข้าใจที่มีให้ตลอดจนการช่วยเหลือและเป็นกำลังใจสำคัญในช่วงเวลาที่กำลังศึกษาและจัดทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอน้อมรำลึกในพระคุณของบิดามารดา ผู้ซึ่งให้ทุกสิ่งทุกอย่างอันเป็นความประเสริฐยิ่งและเป็นมงคลแก่ชีวิตตลอดมา

สุดท้ายนี้ คุณค่าและประโยชน์ใดๆ จากวิทยานิพนธ์อันพึงมีต่อผู้ที่ศึกษาและผู้มีส่วนเกี่ยวข้อง ผู้วิจัยขอมอบเป็นกตเวทิตาคุณแด่บิดามารดาและบูรพาจารย์ที่เคยอบรมสั่งสอนตลอดจนผู้มีพระคุณทุกท่าน

นางสาว สุมิตา นิยมเดชา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญรูปภาพ ..... ญ

บทที่ 1 บทนำ ..... ซ

1.1 ที่มาและความสำคัญ ..... ซ

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 1

1.3 สมมุติฐานการวิจัย 1

1.4 ขอบเขตของการวิจัย 1

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ 2

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3

2.1 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของกัญชา 3

2.2 สารพฤกษเคมี (Phytochemical) 7

2.3 การสกัดพืชกัญชา และวิธีการวิเคราะห์สารในกัญชา 11

2.4 อนุมูลอิสระ (Free radical) 12

2.5 ประโยชน์ และพิษวิทยาของกัญชาที่ส่งผลต่อมนุษย์ 13

2.6 กฎหมายกัญชาต่างประเทศ และของประเทศไทย 15

2.7 กฎหมายกัญชาต่อการพัฒนาทางการแพทย์ 21

2.8 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 24

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการศึกษา 28
3.1. อุปกรณ์และสารเคมี 28
3.2. วิธีการทดลอง 29
บทที่ 4 ผลการศึกษา 34
4.1 ผลการเตรียมสารสกัดหยาบ (Crude extract) 34
4.2 ผลการตรวจสอบสารสกัดหยาบด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง (Thin Layer Chromatography; TLC) 35
4.3 การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดกัญชา 35
4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity 36
4.5 ผลการตรวจสอบการแยกเพื่อหาสารบริสุทธิ์ด้วยวิธี TLC plate 38
บทที่ 5 สรุปผลการศึกษา และข้อเสนอแนะ 57
รายการอ้างอิง 59
ประวัติผู้เขียน 62

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 กฎหมายฝ่าฝืนการจ่ายยาที่มีส่วนผสมกัญชาให้กับผู้ป่วยโดยไม่ได้รับอนุญาต..... 23

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การสกัดหยาบที่ได้จากตัวทำละลายชนิดต่างๆ..... 34

ตารางที่ 3 สารพฤกษเคมีของสารสกัดกัญชา..... 36

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกัญชาด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity..... 37

ตารางที่ 5 ความเข้มข้นของสารสกัดกัญชาที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (IC_{50})..... 38

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 แสดงลักษณะดอกกัญชาช่อดอกเพศผู้และเพศเมีย 4

ภาพที่ 2 แสดงลักษณะใบของกัญชา 4

ภาพที่ 3 แสดงลักษณะของผลกัญชา 5

ภาพที่ 4 โครงสร้างของ Tetrahydrocannabinol (THC) 6

ภาพที่ 5 โครงสร้างของ cannabidiol (CBD) 6

ภาพที่ 6 ตัวอย่างของสารกลุ่มอัลคาลอยด์ 8

ภาพที่ 7 โครงสร้างสารไมทราไจนีน 8

ภาพที่ 8 ตัวอย่างของสารกลุ่มแทนนิน 9

ภาพที่ 9 ตัวอย่างของโครงสร้างสารแอนทราควิโนน 9

ภาพที่ 10 ตัวอย่างของสารกลุ่มเทอร์พีนอยด์ 10

ภาพที่ 11 ตัวอย่างของสารกลุ่มซาโปนิน 10

ภาพที่ 12 ตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoid compounds) 11

ภาพที่ 13 การเตรียมสารสกัดหยาบกัญชา 29

ภาพที่ 14 สารละลายกัญชาที่ผ่านการกรอง 29

ภาพที่ 15 การจุดสารตัวอย่างลงบน TLC 31

ภาพที่ 16 การนำแผ่น TLC ลงแทงค์เพื่อหาตำแหน่งสาร 32

ภาพที่ 17 ส่องภายใต้แสง UV 32

ภาพที่ 18 กำหนดตำแหน่งบนแผ่น TLC ขูดเพื่อนำไปทดสอบ ^{1}H-NMR 33

ภาพที่ 19 ^{1}H-NMR spectra of cannabinoids 33

ภาพที่ 20 การแยกสารภายในสารสกัดหยาบด้วยเทคนิค TLC 35

ภาพที่ 21 แสดงตำแหน่งสารที่ขูดในตัวทำละลายเฮกเซน 39

ภาพที่ 22 แสดง ^{1}H-NMR spectrum ของตัวทำละลายของเฮกเซน (Hexane)ที่แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott I et al., 2021) 40

ภาพที่ 23 แสดงตำแหน่งสารที่ขูดตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนเพื่อนำไป Run ^{1}H-NMR..... 41

ภาพที่ 24 แสดง ^{1}H-NMR spectrum ของตัวทำละลายของไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) ที่แยกได้เทียบกับspectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน..... 42

ภาพที่ 25 แสดงตำแหน่งสารที่ขูดตัวทำละลายเอทธิลอะซิเตทเพื่อนำไป Run ^{1}H-NMR 43

ภาพที่ 26 แสดง ^{1}H-NMR spectrum ของตัวทำละลายของเอธิลอะซิเตต ((Ethyl acetat) ที่แยกได้เทียบกับspectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott I et al., 2021)..... 44

ภาพที่ 27 แสดงตำแหน่งสารที่ขูดตัวทำละลายเอทานอลเพื่อนำไป Run ^{1}H-NMR 45

ภาพที่ 28 แสดง ^{1}H-NMR spectrum ของตัวทำละลายของเอทานอล ((Ethanol)ที่แยกได้ เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott I et al., 2021) 46

ภาพที่ 29 แสดงตำแหน่งสารที่ขูดตัวทำละลายเมทานอลเพื่อนำไป Run ^{1}H-NMR 47

ภาพที่ 30 แสดง ^{1}H-NMR spectrum ของตัวทำละลายของเมทานอล ((Methanol) ที่แยกได้เทียบกับspectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott I et al., 2021) 48

ภาพที่ 31 แสดงตำแหน่งสารที่ขูดตัวทำละลาย เอทานอล ตำแหน่ง a พื่อนำไป Run ^{1}H-NMR..... 49

ภาพที่ 32 แสดง ^{1}H-NMR spectrum ตำแหน่ง a ของตัวทำละลายเอทานอล (Ethanol) ที่ แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al., 2021)..... 50

ภาพที่ 33 แสดงตำแหน่งสารที่ขูดตัวทำละลาย เอทานอล ตำแหน่ง b เพื่อนำไป Run ^{1}H-NMR 51

ภาพที่ 34 แสดง ^{1}H-NMR spectrum ตำแหน่ง b ของตัวทำละลายเอทานอ(Ethanol)แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott I et al., 2021)..... 52

ภาพที่ 35 แสดงตำแหน่งสารที่ขูดตัวทำละลายเอทานอล ตำแหน่ง c เพื่อนำไป Run ^{1}H-NMR..... 53

ภาพที่ 36 แสดง ^{1}H-NMR spectrum ตำแหน่ง c ของตัวทำละลายเอทานอล (Ethanol) ที่แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott I et al., 2021) 54

ภาพที่ 37 แสดงตำแหน่งสารที่ขูดตัวทำละลาย เอทานอล ตำแหน่ง d เพื่อนำไป Run ^{1}H-NMR 55

ภาพที่ 38 แสดง ^{1}H-NMR spectrumตำแหน่ง d ของตัวทำละลายเอทานอล(Ethanol) ที่ แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott I et al., 2021) 56

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

สารอนุมูลอิสระ (Free radical) เกิดจากการหลั่งสารอนุมูลอิสระ ที่ส่งผลกระทบต่อร่างกายมนุษย์ เช่น ทำให้แก่เร็ว โรคเบาหวาน โรคมะเร็ง ทำให้ประสาทเสื่อม การเกิดสภาวะ “Oxidative stress” เกิดจากระดับของสารอนุมูลอิสระสูงกว่าสารต้านอนุมูลอิสระจะทำให้ร่างกายไม่สามารถควบคุมสมดุล กระทบต่อการเมตาบอไลท์ธาตุออกซิเจนในร่างกายกลายเป็นอนุมูลอิสระที่ไม่เสถียร เกิดเปลี่ยนแปลงสารชีวโมเลกุลในร่างกาย ทั้งสารไขมัน โปรตีน และ DNA สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) มี 2 กลุ่ม คือ สารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นเอนไซม์ (Enzyme) และสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์ (Nonenzymatic) พบได้ในพืชธรรมชาติ ได้แก่ วิตามินซี และกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก (Lobo et al., 2010) สารต้านอนุมูลอิสระทำงานโดยการยับยั้งการทำลายเซลล์ผ่านกระบวนให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระในระบบก่อนที่โมเลกุลสำคัญจะถูกทำลาย (Fantini et al., 2015) มีการทดลองทางการแพทย์ พบว่ามีสรรพคุณทางเภสัชวิทยาในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพรไทยหลายชนิด เช่น ขี้เหล็ก (Senna siamea) (Kaur et al., 2006) พลูคาว (Houttuynia cordata) กำลังวัวเถลิง (Anaxagorea luzonensis A. Gray) พริกไทย (Piper nigrum) และอื่น ๆ นอกจากนี้ยังมีพืชสมุนไพรของไทยอีกหลายชนิดที่ยังไม่ มีรายงานศึกษาวิจัย หรือมีการศึกษาวิจัยน้อยมากในประเทศไทย เช่น กัญชา เป็นต้น

กัญชาเป็นพืชในภูมิอากาศอบอุ่น เช่น เอเชีย อเมริกาใต้ และตะวันออกกลาง ในประวัติศาสตร์มีรายงานการใช้ประโยชน์จากกัญชายาวนาน เช่น ใช้เป็นอาหารคน หรือสัตว์ ใช้เป็นสิ่งเสพติดเพื่อการผ่อนคลาย และใช้ทำอุปกรณ์ต่าง ๆ เช่น เชือก หรือ เสื้อผ้า รวมถึงใช้เพื่อประโยชน์ทางการแพทย์ ในช่วงศตวรรษที่ 19 อเมริกาได้ค้นพบสารสำคัญในกัญชาที่มีการ ออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท สารสำคัญในกัญชาคือ delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) เมื่อเข้าสู่สมองจะจับกับ cannabinoid receptors ทำให้เกิดอาการเคลิ้ม (Radhakrishnan et al., 2014) สารสำคัญ

รองลงมา คือ cannabidiol (CBD) ซึ่งมีฤทธิ์ต่อจิตประสาทน้อยกว่า (Atakan, 2012) ในประเทศไทยกัญชาถูกจัดให้อยู่ในรายการยาเสพติดประเภทที่ 5 ตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522 ในปี พ.ศ. 2559 ที่ผ่านมา หลายๆ ฝ่าย มีความพยายามในการเสนอให้รัฐบาลถอดกัญชาออกจากบัญชียาเสพติด โดยผู้สนับสนุนได้ให้เหตุผลทางเศรษฐกิจรวมถึงประโยชน์ทางการแพทย์ จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการศึกษาสารสำคัญในกัญชา ซึ่งมีหลากหลายชนิดที่มีความเป็นพิษต่อร่างกาย ด้วยวิธีการวิเคราะห์และแยกสารให้บริสุทธิ์ เพื่อนำมาพิสูจน์เอกลักษณ์ โดยใช้เทคนิค Thin Layer Chromatography (TLC) เป็นการตรวจพิสูจน์ทางคุณภาพวิเคราะห์เพื่อทำให้ทราบว่าในกัญชามีสารสำคัญประเภทใดบ้าง ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก รวดเร็วและสามารถนำไปใช้ในงานทางนิติวิทยาศาสตร์ได้ จากข้อมูลดังกล่าวผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการทดสอบสารพฤกษเคมี รวมถึงศึกษาการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และวิธีการแยกสารสำคัญในกัญชาเพื่องานทางนิติวิทยาศาสตร์ การศึกษานี้จะสามารถใช้เป็นพื้นฐานสำหรับการวิจัยปฐมภูมิ (primary research) ที่เกี่ยวกับกัญชาในมิติของการออกฤทธิ์ในการรักษาโรคต่อไปในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาวิธีการสกัด หาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากกัญชา
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบกัญชา
3. เพื่อนำสารสกัดหยาบที่ได้มาทำการแยกหาสารบริสุทธิ์เพื่อใช้เป็นสารมาตรฐานทางนิติวิทยาศาสตร์

1.3 สมมุติฐานการวิจัย

1.พบวิธีการสกัดและพบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีหลากหลายในเบื้องต้น ของสารสกัดหยาบจากกัญชา
2. พบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบกัญชา
3. สามารถนำสารสกัดหยาบที่ได้มาทำการแยกหาสารบริสุทธิ์เพื่อนำไปใช้เป็นสารมาตรฐานทางนิติวิทยาศาสตร์

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

1. สกัดสารด้วยตัวทำละลายหลากหลายชนิด และพบสารพฤกษเคมีจากส่วนสกัดหยาบของกัญชาโดยการตรวจสารสำคัญดังนี้ แอนทราควิโนน เทอร์พีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน แทนนิน และแอลคาลอยด์

2. วิเคราะห์โครงสร้างสารที่แยกได้ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR เปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิง

3. ทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบกัญชาจากตัวทำละลายหลากหลายชนิด

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

พืชกัญชา หมายถึง พืชเสพติดประเภทที่ 5 ตามพระราชราชบัญญัติ พ.ศ 2522 เป็นพืชล้มลุกให้ดอก เป็นพืชที่มีต้นตัวผู้ และตัวเมียแยกกัน มีสารสำคัญ คือสารแคนาบินอยด์ (CBD) และสารเตตร้าไฮโดรแคนนาบินอยด์ (THC) เป็นสารสำคัญ

สารสกัดหยาบ (Crude extract) หมายถึง สารสกัดเบื้องต้นจากพืชที่ยังไม่ใช่สารบริสุทธิ์ ซึ่งสารสกัดที่ได้จะยังมีสารหลายชนิดปะปนกันอยู่

ตรวจสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมี หมายถึง องค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดในพืช เพื่อทดสอบว่ามีสารเคมี กลุ่มใดบ้างที่ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เป็นวิธีที่ง่ายและรวดเร็ว ซึ่งมีสารทั้งหมด 9 กลุ่ม เช่น อัลคาลอยด์ แทนนิน ฟลาโวนอย์ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ แอนทราควิโนน คูมาริน สเตอรอยด์ เทอร์พีนอยด์ และซาโปนิน

ต้านอนุมูลอิสระ หมายถึง อิสระ เป็นสารที่ช่วยยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน ที่ทำให้เกิดความผิดปกติของเซลล์ เกิดจากการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนของสาร ที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของร่างกาย และเป็นสาเหตุให้เกิดโรคต่างๆ หรือแม้แต่ความแก่ชรา

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การวิจัยเรื่องการสกัด การศึกษาสารพฤกษเคมี ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และวิธีการแยกสารสำคัญในกัญชาเพื่องานทางนิติวิทยาศาสตร์ ผู้วิจัยได้กำหนดประเด็นการศึกษาดังนี้

2.1 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของกัญชา

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

กัญชา เป็นพืชล้มลุก และให้ดอกอยู่ในตระกูล *Canabaceae* มีต้นตัวผู้ และตัวเมียแยกกัน (dioecious plant) ชื่อทั่วไปคือ Cannabis มี 3 สายพันธุ์ได้แก่ ซาติว่า (*Cannabis sativa*) อินดิกา *(Cannabis indica)* และรูเดราริส *(Cannabis ruderalis)* มีต้นกำเนิดอยู่แถบเอเชียกลาง เรียกได้หลายชื่อโดยทั่วไปจะเรียกว่า cannabis, Marijuana, Ganja หรือ Indian Hemp และกัญชามีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cannabis sativa L.* โดยนักพฤกษศาสตร์ได้จัดให้ อยู่ในวงศ์ตำแย (Urticaceae) แต่ต่อมาพบว่ามีคุณสมบัติเฉพาะหลายประการที่แตกต่างออกไปจากพืชในกลุ่มตำแย จึงได้รับการจำแนกออกเป็นวงศ์เฉพาะคือ Cannabidaceae ในปี ค.ศ. 1998 โดยนักพฤกษศาสตร์ชาวอเมริกันได้จำแนกกัญชาตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology) และพฤกษเคมี (Phytochemistry) โดยให้ชื่อวิทยาศาสตร์ของกัญชาว่า *Cannabis sativa L*. subsp. indica (Lam.) E.Small & Cronquist (Russo, 2007)

สารสำคัญในกัญชา คือ cannabinoids มีมากกว่า 100 ตัว โดยมี Tetrahydrocannabinol-THC และ สาร Cannabidiol (CBD) และสาร Cannabinol (CBN) สารดังกล่าวจะเจอใน ช่อดอก (flower heads) และใบ (leaves) มากที่สุด (ชาญชัย เอื้อชัยกุล, 2560)

Glandular trichomes เป็นส่วนของพืชกัญชาพบได้ที่ใต้ใบและในบริเวณช่อดอก ใช้บอกระยะเวลาที่เหมาะต่อการเก็บเกี่ยวของช่อดอกตัวเมีย ที่มีการสร้างสารสำคัญในปริมาณสูง Glandular trichomes มีขนาดใหญ่ พบบริเวณช่อดอกของต้นตัวเมีย และบริเวณใบส่วนของผิวเมล็ด Glandular trichomes จะให้สาร เรซิน (resin)

ดอกกัญชา มีลักษณะเป็นช่อมีดอกที่ปลายกิ่ง มีขนาดเล็ก แยกเพศต่างต้นมีทั้งช่อเพศผู้ และเพศเมีย ออกดอกเป็นช่อตามซอกใบและปลายยอด ในส่วนของยอดช่อดอกตัวเมีย หรือที่เรียกกันว่า กระหรี่กัญชา สามารถใช้เสพโดยนำมาสูบด้วย “บ้อง” ส่วนของกิ่ง ก้านใบ และยอดช่อดอก เป็นส่วนที่นิยมมาตากแห้งแล้วนำมาอัดแท่ง เมื่อต้องการเสพผู้เสพนำมาหั่นเป็นฝอยละเอียด มวนสูบแบบบุหรี่ หรือใช้ “บ้อง”

ภาพที่ 1 แสดงลักษณะดอกกัญชาช่อดอกเพศผู้และเพศเมีย
ที่มา: ส.สุทธิพันธ์ (2562: 12)

ใบกัญชา มีลักษณะเป็นใบเดี่ยว รูปยาวรี ขอบใบมีลักษณะเป็นหยัก ลักษณะจะคล้ายๆกับใบฝิ่น มีสีเขียวเข้มด้านบนใบ สีเทาอ่อนตรงใบด้านล่าง มีขนต่อมกระจายทั่วผิวใบด้านบน ในหนึ่งก้านจะมีใบเดี่ยว 3-11 ใบ มีกลิ่นเหม็นเขียว และมีปริมาณสาร THC น้อย

ภาพที่ 2 แสดงลักษณะใบของกัญชา
ที่มา: วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม (2562 : 56)

ผลกัญชา มีลักษณะแห้ง ผลจะเป็นรูปไข่ ผิวเรียบมัน มีสีน้ำตาลแกมเทาหรือเทาเข้ม เป็นเมล็ดเดี่ยว มีการพัฒนาภายใน 2-3 สัปดาห์หลังออกดอก ภายในเมล็ดจะมีอาหารสะสมพวกแป้งและไขมัน

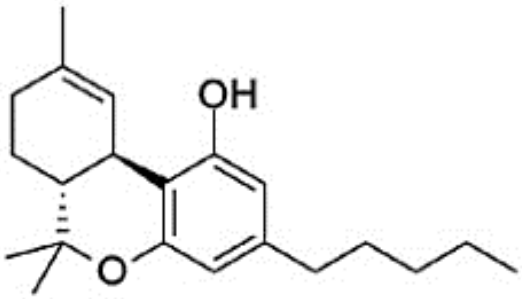
ภาพที่ 3 แสดงลักษณะของผลกัญชา
ที่มา: วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม (2562: 56)

2.1.2 สารสำคัญในกัญชา

กัญชาในแต่ละสายพันธุ์มีส่วนประกอบทางเคมีที่ต่างกันโดยส่วนประกอบทางเคมีที่เห็นได้ชัด คือ Cannabinoids มีสารหลายชนิดในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ต่อระบบประสาท

สารที่มีความสำคัญต่อบทบาททางวิทยาศาสตร์นำมาใช้ทางการแพทย์มากที่สุด คือ delta-9-Tetrahydrocannabinoids (เรียกชื่อย่อว่า THC) และ cannabidiol (เรียกชื่อย่อว่า CBD)

THC เป็นสารสำคัญที่ทำให้เกิดการกระตุ้นประสาทและเป็นส่วนประกอบหลักที่ออกฤทธิ์ทางจิต และประสาท (major psychoactive component) เป็นสารออกฤทธิ์ในประเภทที่1 ตามพระราชบัญญัติวัตถุที่ออกฤทธิ์ต่อจิต และประสาท พ.ศ. 2559 เป็นสารที่ทำให้รู้สึก “High” มีคุณสมบัติทำให้เกิดภาวะเคลิ้ม (euphoriant property) นอกจากนี้ THC ยังมีฤทธิ์เป็นยาแก้ปวด ยาต้านอาเจียน ยาลดการอักเสบ และยาต้านออกซิเดชั่นอีกด้วย ผลการกระตุ้นประสาทจาก THC มีมากหรือน้อยขึ้นกับสายพันธุ์ และส่วนที่นำมาใช้ (ชาญชัย เอื้อชัยกุล, 2560)

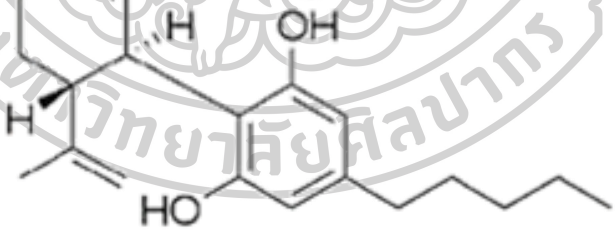


ภาพที่ 4 โครงสร้างของ Tetrahydrocannabinol (THC)

ที่มา : สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทหาร, พฤศจิกายน 2561,

เข้าถึงได้จาก http://afrims.go.th/uploads/userfiles/files/msr2018/MSR-ฉบับที่%2017.pdf

CBD เป็นสารประกอบหลักแคนาบินอยด์ ที่พบในกัญชา พบมากในสายพันธุ์ที่ให้เส้นใยและเมล็ด ไม่มีฤทธิ์เสพติดทางจิตใจ (non psychoactive) จับกับ cannabinoid receptor 1 (เรียกชื่อย่อว่า CB1) และ cannabinoid receptor 2 (เรียกชื่อย่อว่า CB2) ได้น้อยกว่า สามารถต้านฤทธิ์ Psychoactive effects ของ THC ได้ CBD มีฤทธิ์ระงับอาการวิตกกังวล (anxiolytic activity) และมีฤทธิ์ต้านการชัก (anticonvulsive) (วีรยา ถาอุปชิต & นุศราพร เกษสมบูรณ์, 2560)



ภาพที่ 5 โครงสร้างของ cannabidiol (CBD)

ที่มา: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทหาร, พฤศจิกายน 2561,

เข้าถึงได้จาก http://afrims.go.th/uploads/userfiles/files/msr2018/MSR-ฉบับที่%2017.pdf

ปัจจุบันมีการพัฒนาผลิตยามาจากพืชหลายชนิด โดยใช้วิธีการสกัดสาร หรือสังเคราะห์ทางเคมีให้มีโครงสร้างเช่นเดียวกับสาร cannabinoids มีผลิต และจำหน่ายในต่างประเทศ แต่มีราคาแพง มีหลายรูปแบบ ได้แก่

โดรนาบินอล (Dronabinol) มีชื่อการค้าว่า มารินอล (Marinal®) มีลักษณะของยาแคปซูล เป็นสารสังเคราะห์ของ tetrahydrocannabinol (THC) แนะนำให้ใช้สำหรับรักษาต้านการอาเจียน กระตุ้นความอยากอาหาร ใช้ลดอาการคลื่นไส้อาเจียนที่เกิดจากยาที่ใช้รักษาโรคมะเร็งที่ได้รับยาเคมีบำบัด ใช้ในกรณีที่ใช้ยาอื่นแล้วไม่ได้ผล และยังใช้เพิ่มความอยากอาหารในผู้ป่วยโรคเอดส์ มีจำหน่ายในรูปยารับประทานเป็นเม็ดเจลาตินแคปซูลทั้งในสหรัฐอเมริกาและแคนาดา

นาบิโลน (Nabilone) มีชื่อการค้าคือ ซีซาเมท (Cesamet) เป็นยาแคปซูล ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของสาร THC ที่ไม่พบในกัญชาแต่มีฤทธิ์สูงกว่า THC ใช้สำหรับผู้ป่วยโรคเอดส์ และผู้ป่วยมะเร็ง ใช้ป้องกันคลื่นไส้อาเจียนที่เกิดจากยาที่ใช้รักษาโรคมะเร็ง และแนะนำให้ใช้ในผู้ที่มีอาการหดเกร็งของกล้ามเนื้อในโรคปลอกประสาทเสื่อม ใช้ในกรณีที่ใช้ยาอื่นแล้วไม่ได้ผล มีจำหน่ายในรูปยารับประทานเป็นเม็ดแคปซูล ไม่มีจำหน่ายในสหรัฐอเมริกา มีแต่ในแคนาดา

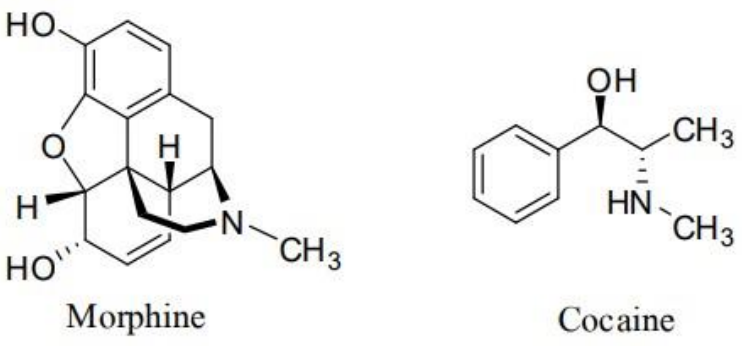
นาบิกซีมอล (Nabiximol) ชื่อการค้า คือ ซาติเวกซ์ (Sativex) สกัดจากส่วนใบและดอกของกัญชาที่ถอดแบบทางพันธุกรรม (cloning) เป็นสารสกัดที่ประกอบด้วย tetrahydrocannabinol และ cannabidiol เป็นหลักในสัดส่วนที่เกือบเท่าๆกันโดยมี THC : CBD = 1.08:1 ให้ยาโดยสเปรย์พ่นให้ดูดซึมในช่องปาก ใต้ลิ้น แทนการสูบสามารถลดการปวดประสาท อาการนอนไม่หลับและรักษาอาการปวดเส้นประสาทอย่างรุนแรง ขึ้นทะเบียนยาในประเทศแคนาดา นิวซีแลนด์และอีก 8 ประเทศในยุโรป (Borgelt et al., 2013)

อิพิไดโอเลกซ์ (Epidiolex) โดยมี CBD เป็นตัวยาสำคัญที่สกัดจากกัญชา แต่จะมี THC ปนมาไม่เกินร้อยละ 0.1 มีข้อบ่งใช้ในผู้ป่วยลมชักชนิดดื้อยา (บังอร ศรีพานิชกุลชัย, 2562)

2.2 สารพฤกษเคมี (Phytochemical)

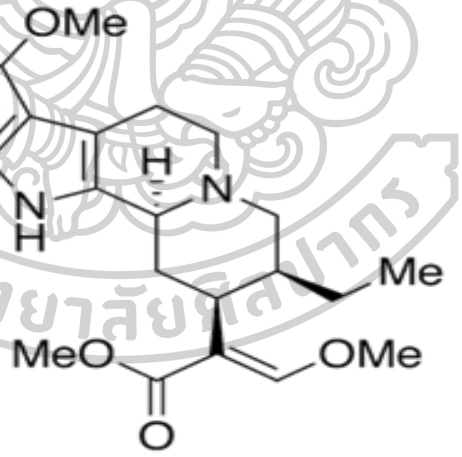
สารพฤกษเคมี (phytochemical) พบในพืชสมุนไพรทั่วไป แบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ สารปฐมภูมิ และสารทุติยภูมิ ในแต่ละชนิดได้ถูกสังเคราะห์ขึ้นมาให้มีฤทธิ์ทางเภสัชต่างกัน สำหรับการทดสอบสารพฤกษเคมีในพืชกัญชานั้น ได้ทดลองขึ้นเพราะถือว่าพืชกัญชาเป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่ง และในพืชกัญชายังมีสารประกอบที่ยังเป็นพิษต่อร่างกาย การทดสอบในการแยกสารพฤกษเคมีต่างๆ ในพืชกัญชาจึงเป็นเรื่องสำคัญเพื่อเป็นประโยชน์ต่อการนำไปพิสูจน์ทางคดีที่เกี่ยวข้องกับการใช้กัญชาเป็นยาเสพติดได้ว่าสารพฤกษเคมีในร่างกายที่เจอนั้นเป็นสารที่มาจากพืชกัญชาหรือพืชสมุนไพรชนิดใด สำหรับตัวอย่างของสารพฤกษเคมี ที่สามารถทดสอบได้ในพืชกัญชาจากส่วนต่างๆ ได้แก่

2.2.1 อัลคาลอยด์ (Alkaloids) เป็นสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ พบได้ในพืชชั้นสูง มีรสขม มีฤทธิ์เป็นด่าง ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ มีโครงสร้างเป็นคาเฟอีน มีฤทธิ์ทางเภสัชที่นำมาเป็นยารักษาระงับแก้ปวดได้ แต่ก็มีจำนวนมากที่เป็นสารพิษ ตัวอย่างเช่น มอร์ฟีนและโคเคน (อรุณรัตน์ สัณฐิติกวินสกุล, 2557)



ภาพที่ 6 ตัวอย่างของสารกลุ่มอัลคาลอยด์

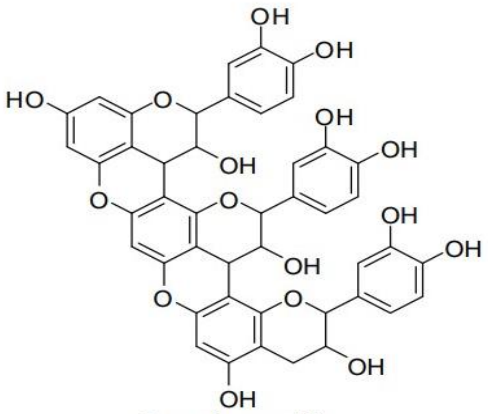
ที่มา : จุฑารัตน์ ศรีประเสริฐ (2559: 8)



ภาพที่ 7 โครงสร้างสารไมทราไจนีน

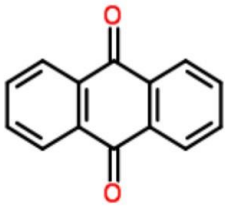
ที่มา : http://www.trc-canada.com/prod-img/M373550.png

2.2.2 แทนนิน (Tannins) คือสารที่ทำให้เกิดรสฝาด พบได้ที่เปลือกของพืช ขนาดของโมเลกุลของแทนนินจะทำให้ลักษณะและชนิดแตกต่างกัน มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียและเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ



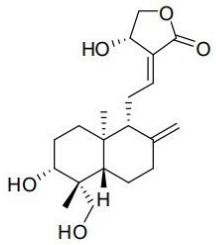
ภาพที่ 8 ตัวอย่างของสารกลุ่มแทนนิน
ที่มา: จุฑารัตน์ ศรีประเสริฐ (2559: 10)

2.2.3 แอนทราควิโนน (Anthraquinines) เป็นสารประกอบอินทรีย์ มีโครงสร้างพื้นฐานประกอบด้วย 3-ring system พบในพืชหลายสกุล พบได้ทั้งในรูปอิสระและไกลโคไซด์ มีคุณสมบัติให้กลิ่นหอม มีสีแดงส้ม นำมาใช้ประโยชน์เป็นยาระบาย



ภาพที่ 9 ตัวอย่างของโครงสร้างสารแอนทราควิโนน
ที่มา: เฉลิมขวัญ จันดี, 2559

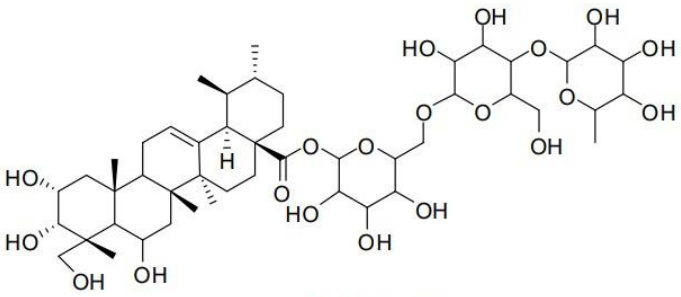
2.2.4 เทอร์พีนอยด์ (Terpenoids) เป็นสารประกอบหลักอีกหนึ่งประเภทสามารถพบได้ตามธรรมชาติเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะในพืชมีดอก เป็นสารที่ทำให้กัญชามีกลิ่นและรสแตกต่างกัน ในแต่ละสายพันธุ์ ละลายได้ดีในไขมัน เป็นกลุ่มสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชมากมาย สารเหล่านี้ทำงานร่วมกับสารแคนาบินอยด์เพื่อเปลี่ยนหรือเพิ่มฤทธิ์ทางยา ซึ่งเรียกการทำงานร่วมกันของสารนี้ว่า Entourage effect (เฉลิมขวัญ จันดี, 2559)



Andrographolide

ภาพที่ 10 ตัวอย่างของสารกลุ่มเทอร์พีนอยด์
ที่มา: จุฑารัตน์ ศรีประเสริฐ (2559: 11)

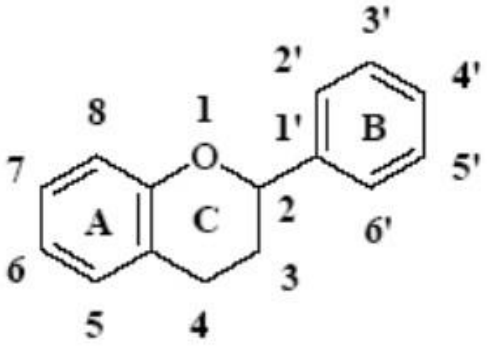
2.2.5 ซาโปนิน (Saponins) พบในพืชหลายชนิดเช่นพืชตระกูลชา มีคุณสมบัติที่ทำให้เกิดฟอง มีรสขม และมีคุณสมบัติในการลดแรงตึงผิด เป็นสารประกอบประเภทไกลโคไซด์ มีสารประกอบที่สามารถละลายได้ในไขมัน นิยมนำมาประยุกต์ใช้ทำผลิตภัณฑ์การเกษตร และเภสัชกรรม



Madecassoside

ภาพที่ 11 ตัวอย่างของสารกลุ่มซาโปนิน
ที่มา: จุฑารัตน์ ศรีประเสริฐ (2559: 10)

2.2.6 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นสารสำคัญในกัญชา ซึ่งเป็นกลุ่มหนึ่งของสารประกอบโพลิฟีนอล พบในผักและผลไม้ มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและยังช่วยลดการเกิดโรคเรื้อรังชนิดต่างๆ มีประโยชน์ต่อระบบสมองหลอดเลือดและหัวใจ และมักพบเป็นเม็ดสีในส่วนต่างๆของพืช ทำให้เกิดสีสันในพืชที่มีดอก ในฟลาโวนอยด์ยังมีสารประกอบฟลาโวนอล (flavonols) ซึ่งเป็นสารที่เจอในใบชาทำให้ใบชามีรสฝาดและขมอีกด้วย



ภาพที่ 12 ตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoid compounds)

ที่มา: ณัฏฐิกา ศิลาลาย (2549: 1)

2.3 การสกัดพืชกัญชา และวิธีการวิเคราะห์สารในกัญชา

2.3.1การสกัดสารจากพืชกัญชา

การสกัดสารจากพืชกัญชา สามารถสกัดออกมาได้ทั้งของแข็งและของเหลว ขึ้นอยู่กับสารที่ต้องการ สำหรับสารสกัดเบื้องต้นที่ได้จากการสกัดจากกัญชา จะได้มาในรูปแบบของสารสกัดหยาบ (crud extract) มีองค์ประกอบทางเคมี หลากหลายชนิด แต่สาระสำคัญที่ต้องการจากการสกัดและแยกองค์ประกอบจากกัญชาเป็นหลักจะมี 2 ชนิด คือ THC และ CBD สำหรับการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้ทำการสกัดกัญชาโดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

การสกัดด้วยวิธีแช่หมัก (Maceration) เป็นการสกัดด้วยตัวทำละลายโดยการแยกสารออกจากสารผสม ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์โดยเทคนิคการเพิ่มลำดับขั้วตัวทำละลาย ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดพืชกัญชา เช่น เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน อีเธอร์ เอทิลอะซิเตต เอธานอล เมทานอล และน้ำ ทั้งนี้การสกัดด้วยตัวทำละลายสามารถทำได้ในอุณหภูมิห้อง ซึ่งขึ้นอยู่กับเสถียรภาพขององค์ประกอบเคมีในพืชที่ต้องการสกัด (เฉลิมขวัญ จันดี, 2559)

การแยกตัวทำละลาย คือการนำเอาตัวทำละลายออกจากสารสกัดเพื่อทำให้ได้สารสกัดหยาบ จะมีความเข้มข้นมากขึ้น มีหลายวิธี คือ การระเหยด้วยการให้ความร้อน และการระเหยภายใต้ลดความดัน สำหรับงานวิจัยชิ้นนี้ใช้หลักการระเหยภายใต้ลดความดัน ด้วยการใช้เครื่องระเหยลดความดันแบบหมุน ซึ่งเครื่องจะต่อกับปั๊มสุญญากาศ (vacuum pump) ในระบบนี้จะประกอบไปด้วย 3 ส่วน คือ ส่วนที่1 ให้ความร้อนและกลั่นแยก จะมีการใส่สารสกัดภายในขวดก้นกลมโดยในส่วนนี้ จะทำให้สารสกัดเกิดการกระจายความร้อน ส่วนที่ 2 เป็นส่วนที่มีระบบในการลดความดันหรือทำสุญญากาศ และ ส่วนที่ 3 เป็นส่วนที่ควบคุมอุณหภูมิภายในระบบ มีอ่างน้ำเป็นระบบหมุนเวียนที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ต่ำกว่าอุณหภูมิห้อง

2.3.2 วิธีการวิเคราะห์สารในกัญชา

วิธีการวิเคราะห์สารในกัญชาสามารถทำได้หลายวิธีแต่สำหรับงานวิจัยชิ้นนี้ได้ทำการทดลองแยกสารด้วยวิธีการหาระบบโดยวิธี TLC plate ซึ่งการแยกสารบนแผ่นTLC (Development of TLC plate) เป็นเทคนิคการแยกสารที่เกี่ยวข้องกับการกระจายของสาร เป็นวิธีการใช้วิเคราะห์เชิงคุณภาพ นิยมนำมาใช้สำหรับหาตัวทำละลายเพื่อนำไปแยกสารผสมที่มีจำนวนมาก และใช้วิเคราะห์สารประกอบอินทรีย์เพื่อหาจำนวนสารที่มีอยู่ในสารผสม โดยมีหลักการกระจายสารระหว่างภาคนิ่งซึ่งเป็นตัวดูดซับที่เคลือบอยู่บนแผ่นแก้วหรือแผ่นพลาสติกแข็งและตัวทำละลายซึ่งเป็นภาคเคลื่อนที่ที่เคลื่อนผ่านตัวดูดซับ

ขั้นตอนการทำ TLC plate

เทคนิค TLC plate สามารถทำได้โดยไม่ยากในห้องปฏิบัติการ เป็นการทดลองหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกสารผสมจากแผ่น TLC โดยการนำแผ่น TLC ตามขนาดที่ต้องการหาปริมาณสาร นำมาจุดสารตัวอย่าง ตามจำนวนของต้องการ และวางในแทงค์แก้ว ที่ใส่ตัวทำละลาย โดยวางแผ่น TLC ให้ตรงตำแหน่งของจุดบนตัวทำละลาย ซึ่งในภาชนะแก้วจะมีวางกระดาษกรองไว้และปิดฝาแทงค์แก้วให้สนิทเพื่อให้ตัวทำละลายเคลื่อนที่ได้เร็ว เมื่อตัวทำละลายเคลื่อนที่ขึ้นด้านบนจนเกือบถึงตำแหน่งบนแผ่น TLC และนำแผ่น TLC มาตรวจหาตำแหน่งของจุดบน TLC โดยการนำแผ่น TLC ส่องภายใต้แสง UV โดยเรียกเครื่องที่ให้กำเนิดแสง UV ว่า Ultraviolet lamp ภายใต้การส่องแสง UV จะมองเห็นแสงสีเขียวบนแผ่น TLC ที่มีการดูดกลืนสาร ทำให้เราสามารถมองเห็นแสงสีเขียวและสามารถหาตำแหน่งสาร และคำนวณหาค่า R_f ได้ดังนี้

$$R_f \frac{\text{ระยะที่สารตัวอย่างเคลื่อนที่}}{\text{ระยะที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่}}$$

2.4 อนุมูลอิสระ (Free radical)

อนุมูลอิสระ คือสารที่มีอิเล็กตรอนไม่มีคู่ ทำให้โมเลกุลบางชนิดสูญเสียอิเล็กตรอน และดึงเอาอิเล็กตรอนจากอะตอมอื่นเพื่อทำให้เข้าคู่ จะเกิดความเสถียรและทำให้เกิดปฏิกิริยาว่องไวมากขึ้น สามารถเกิดขึ้นได้ทุกองค์ประกอบของเซลล์ ทั้ง ดีเอ็นเอ ไขมัน และ โปรตีน เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงของโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ ก็จะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุลในร่างกาย และจะทำให้เกิดสภาพของร่างกายเสื่อมสภาพ (อเนก หาลี & บุณยกฤต รัตนพันธุ์, 2560)

2.4.1 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants)

สารต้านอนุมูลอิสระ เป็นสารที่ช่วยยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน ที่ทำให้เกิดความผิดปกติของเซลล์ เกิดจากการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนของสาร ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของร่างกายและเป็นสาเหตุให้เกิดโรคต่างๆ โดยสารต้านอนุมูลอิสระจะทำหน้าที่เข้าไปยับยั้งการเกิดของปฏิกิริยาลูกโซ่โดยการจับกับอนุมูลอิสระและยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งสามารถแบ่งสารต้านอนุมูลอิสระเป็น 5 ประเภท คือ

1. Primary antioxidant เป็นกลุ่มที่ทำหน้าที่หยุดปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาออกซิเดชัน ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic substance)

2. Oxygen scavenger เป็นกลุ่มสารที่ช่วยกำจัดออกซิเจน โดยการเข้าทำปฏิกิริยากับออกซิเจน เช่น กรดแอสคอร์บิกหรือวิตามินซี เป็นต้น

3. Secondary antioxidant เป็นสารที่ช่วยสลายโมเลกุลในกลุ่ม Lipid hydroperoxide ทำให้สารมีความเสถียรมากขึ้น

4. Enzymic antioxidant เป็นสารในกลุ่มเอนไซม์ ที่ทำหน้าที่ในการกำจัดออกซิเจน

5. Chelating agent เป็นสารกลุ่มที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยการจับกับไอออนของโลหะ ซึ่งจะทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อน เช่น สารในกลุ่ม กรดอะมิโน หรือกรดซิตริก เป็นต้น

2.5 ประโยชน์ และพิษวิทยาของกัญชาที่ส่งผลต่อมนุษย์

2.5.1 ประโยชน์ของกัญชาในทางการแพทย์

มีรายงานการใช้ประโยชน์จากกัญชามาเป็นเวลายาวนานกว่า โดยใช้กัญชาเป็นอาหารคนและสัตว์ นำมาใช้ประดิษฐ์อุปกรณ์ต่างๆ และนำมาใช้เป็นสารเสพติดเพื่อทำให้ผ่อนคลาย รวมทั้งการนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ การพัฒนาในการใช้กัญชาทางการแพทย์ อย่างเป็นระบบเริ่มต้นในยุโรปและอเมริกาในช่วงศตวรรษที่ 19 เมื่อมีความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์มากขึ้น ก็มีการค้นพบสารที่เป็นองค์ประกอบในกัญชา โดยเฉพาะจากใบและช่อดอก (ระพีพงศ์ สุพรรณไชยมาตย์ & โชษิตา ภาวสุทธิไพศิฐ, 2561)

ปัจจุบันทางการแพทย์มีความสนใจในการนำกัญชามาใช้มากขึ้น นอกจากการใช้สารสกัดจากกัญชาแล้วยังรวมถึงการนำส่วนต่างๆของกัญชาที่ไม่ได้สกัดมาใช้โดยตรง การใช้กัญชาตามธรรมชาติจะให้ผลลัพธ์ที่ดีกว่าการกินยาที่สกัดมาเป็น cannabinoids บริสุทธิ์ ทั้งนี้การใช้กัญชาเพื่อช่วยในการรักษายังถือว่าเป็นการพัฒนาทางการแพทย์ที่ใหม่มาก ทำให้มีข้อมูลเกี่ยวกับผลข้างเคียงในระยะยาวที่ยังไม่เพียงพอ ผู้ป่วยบางรายที่ใช้กัญชาเพื่อการรักษาส่วนใหญ่เป็นโรคที่มีความผิดปกติในการทำงานของสมองอยู่แล้ว อย่างเช่น โรคปลอกประสาทเสื่อมแข็ง (multiple sclerosis) หรือ

โรคอัลไซเมอร์ ทำให้ยากต่อการประเมินผลข้างเคียงในการรักษาระบบประสาทสมองด้วยกัญชายากขึ้นไปอีก

จากหลักฐานงานวิจัยเกี่ยวกับประโยชน์ของการใช้กัญชาทางการแพทย์ยังไม่ได้พัฒนาไปในทางเดียวกัน และยังไม่มีประโยชน์ที่ชัดเจนในการรักษาภาวะทางระบบประสาทอื่นๆ เช่น โรคลมชัก (epilepsy) หรืออาการสั่น (tremors) มีการยกตัวอย่างโรคบางโรคที่เป็นที่สนใจในการนำกัญชามาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ จากการสรุปจากรายงานขององค์การอนามัยโลกในปี ค.ศ. 2016 และการสืบค้นจากวารสารทางการแพทย์ที่เกี่ยวข้อง เช่น

โรคทางระบบประสาท เช่น โรคปลอกประสาทเสื่อมแข็ง มีงานวิจัยที่เป็น RCT 2 ชิ้น ที่เกี่ยวข้องกับการใช้ในผู้ป่วยโรคปลอกประสาทเสื่อมแข็ง จะพบว่ากัญชาส่งผลเสียต่อการควบคุมการทรงตัวในผู้ป่วย

และอาการปวดเส้นประสาท มีการศึกษา RCT เกี่ยวกับการใช้กัญชาด้วยวิธีการสูบ แต่ไม่ได้มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการรักษาที่เกี่ยวข้องกับ RCT ด้วยการกินกัญชาเพื่อรักษาอาการปวดเส้นประสาทโดยตรง เนื่องจากอาการปวดเส้นประสาทสามารถเกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น โรคเบาหวาน และ โรคเอดส์

Wallace และคณะ (2015) ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับโรคเบาหวานด้วยการสูบกัญชาเทียบกับยาหลอก พบว่ากัญชาช่วยลดอาการปวดได้อย่างมีนัยสำคัญ

Abrams และคณะ (2007) ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับโรคเอดส์ ได้ศึกษาในผู้ป่วยเอดส์เปรียบเทียบการสูบกัญชา (ที่มีความเข้มข้น THC ร้อยละ 3.5) เทียบกับยาหลอก พบว่าการสูบกัญชาช่วยลดอาการปวดได้อย่างมีนัยสำคัญ (ระพีพงศ์ สุพรรณไชยมาตย์ & โชษิตา ภาวสุทธิไพศิฐ, 2561)

2.5.2 พิษวิทยาของกัญชาที่ส่งผลต่อมนุษย์

เนื่องจากการเสพกัญชามีฤทธิ์กระตุ้นประสาท อาการเบื้องต้นของการเสพกัญชา จะทำให้ผู้เสพมีอาการร่าเริง พูดมากกว่าปกติ รู้สึกตื่นเต้นและหัวเราะได้ตลอดเวลา หลังจากการเสพกัญชาได้สักพักจะทำให้เกิดฤทธิ์กดประสาท ซึ่งจะทำให้ผู้เสพมีอาการเมา ง่วงซึม หากเสพในปริมาณมากๆ จะทำให้เกิดอาการประสาทหลอน ทำให้เห็นภาพลวงตา มีอาการหูแว่ว และสับสนไม่สามารถควบคุมตัวเองได้ ผู้เสพบางรายอาจสูญเสียความทรงจำ เพราะกัญชาทำให้สมองและความจำเสื่อม ซึ่งถ้าผู้เสพมีอาการทางจิตด้วย ก็จะทำให้มีความเสี่ยงมากกว่าคนปกติทั่วไป โดยอาการทางจิตประสาทที่พบได้บ่อย คือ ความทรงจำแย่ลง สมาธิสั้น นอกจากนี้ยังส่งผลอื่นๆ ต่อร่างกายด้วยเช่น มีความผิดปกติของระบบทางเดินหายใจ เป็นต้น

นอกจากนี้สารสำคัญในกัญชายังมีฤทธิ์ทำลายสมรรถภาพทางร่างกาย ถ้าเสพเข้าไปในปริมาณมากๆและเสพเป็นเวลานานๆจะทำให้ร่างกายเกิดความเสื่อมโทรมและส่งผลเสียต่อร่างกาย เพราะสารในกัญชาจะไปทำลายระบบการทำงานของอวัยวะในร่างกายหลายส่วน และทำลายระบบสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกายจึงทำให้ร่างกายอ่อนแอ จะทำให้เกิดโรคต่างๆได้ง่าย เช่น โรคหลอดลมอักเสบเรื้อรัง และทำให้น้ำหนักลดลงอย่างรวดเร็ว มีฤทธิ์ทำลายความรู้สึกทางเพศ ทำให้ระดับฮอร์โมนเทสเตอโรนในเพศชายลดลง ทำให้ปริมาณอสุจิลดน้อยลง ผู้ที่เสพกัญชาเข้าไปจึงมักมีปัญหาเสื่อมสมรรถภาพทางเพศ และถึงแม้ว่าการเสพกัญชาของผู้เสพโดยวิธีการอัดควันกัญชาเข้าไปในปอดจะเสี่ยงทำให้เกิดโรคมะเร็งปอด แต่ก็มีข้อมูลที่ระบุว่า การสูบกัญชายังไม่ทำให้เกิดโรคมะเร็งปอด เพราะแม้ว่าการสูบกัญชาจะทำให้ร่างกายได้รับน้ำมันดิบซึ่งเกิดจากการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ แต่ในกัญชานั้นก็มีสารสำคัญ คือ THC ซึ่งมีฤทธิ์ที่ส่งผลต่อการลดการอักเสบที่เกิดจากน้ำมันดิบได้ และ ผู้ที่เสพกัญชาส่วนใหญ่ ร้อยละ 60 มีโอกาสป่วยเป็นโรคจิตได้ในภายหลังมากกว่าคนที่ไม่สูบกัญชา และการเสพกัญชาเป็นระยะเวลานานจะทำให้ภาวะไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง ทำให้เกิดความผิดปกติของการทำงานของหัวใจ และเสี่ยงเกิดภาวะหัวใจล้มเหลวเฉียบพลันได้ (ศูนย์วิจัยสุขภาพกรุงเทพ, 2558)

สำหรับการกระจายตัวของสาร THC จะพบว่าการดมควันสาร THC จะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย ประมาณ 10-35% และการเสพด้วยการกลืนทำให้การมีดูดซึมในระบบทางเดินอาหาร จะถูกดูดซึมเพียง 6-20% ร่างกายจะกำจัดปริมาณสาร THC ในกระแสเลือด 50% ผ่านทางปัสสาวะและอุจจาระโดยใช้เวลา 1.6 – 59 ชั่วโมงโดยเมื่อเสพกัญชาเข้าสู่ร่างกายแล้ว ฤทธิ์ของกัญชาจะแทรกซึมเข้าสู่กระแสเลือดอย่างรวดเร็วภายใน 2-3 นาที และใช้เวลาได้เร็วสุดถึง 1 ชั่วโมงในการออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท ทำให้เกิดอาการเซื่องซึมอย่างช้าๆ แต่บางรายก็ลดลงอย่างรวดเร็ว (กองควบคุมวัตถุเสพติด, 2558)

2.6 กฎหมายกัญชาต่างประเทศ และของประเทศไทย

2.6.1 กฎหมายยาเสพติดกัญชาของประเทศอังกฤษ

ตามกฎหมายว่าด้วยการใช้ยาในทางที่ผิด (Misuse of Drugs Act: MDA) เป็นกฎหมายที่ควบคุมยาเสพติด ซึ่งเทียบได้กับ พ.ร.บ. ยาเสพติดให้โทษของไทย เป็นการควบคุมการจำแนก การนำเข้า ผลิต จัดส่ง มีไว้เพื่อครอบครองยาควบคุมภายใต้บัญชีหมวด II (Schedule II) ของพระราชบัญญัติฉบับนี้ ยาที่ถูกจำแนกตามหลักการบัญชี ก ข ค (class A B C) ซึ่งกัญชาเป็นยาอันตรายประเภทหนึ่ง ในบัญชี ก ซึ่งกัญชาเป็นของเหลว (น้ำมันกัญชา) แคนาบินอยด์ และอนุพันธุ์ของกัญชา (Cannabinol Derivatives) และ ยาที่ทำเพื่อฉีดจัดอยู่ในบัญชี ก หรือ class A รวมทั้งกัญชา ยางกัญชา (ฉัตรสุมน พฤฒิภิญโญ, 2560)

สหราชอาณาจักรมีนโยบายยาเสพติดที่ชัดเจนเกี่ยวกับกัญชา ได้เริ่มขึ้นตั้งแต่ปี ค.ศ. 1971 (พ.ศ.2514) จากการตราพระราชบัญญัติว่าด้วยการใช้ยาในทางที่ผิด (Misuse of Drug Act) (พีรพจน์ ปิ่นทองดี, 2561)

การอนุญาตให้ใช้กัญชาเพื่อวัตถุประสงค์ทางการแพทย์ในสหราชอาณาจักร ได้เริ่มต้นขึ้น ในปี ค.ศ. 1999 (พ.ศ.2542) สภาขุนนางให้เสนอว่าแพทย์ควรสั่งใช้กัญชาเพื่อการรักษาโรคได้ และให้มีการศึกษาวิจัยเชิงทดลองทางคลินิกในระยะยาว (มานพ คณะโตและคณะ, 2559) ปัจจุบันตามกฎหมายของราชอาณาจักรอังกฤษและราชอาณาจักรเวลล์ ไม่ได้รับการยอมรับว่ากัญชาสามารถใช้บำบัดรักษาโรคได้ ดังนั้น ผู้ใดครอบครองและจำหน่ายกัญชาจะได้รับโทษตามกฎหมาย อย่างไรก็ตาม Nabiximols ที่มีชื่อทางการค้าว่า Sativex เป็นผลิตภัณฑ์ที่มาจากกัญชาได้รับอนุญาตให้แพทย์สั่งใช้ได้ภายใต้เงื่อนไขตามกฎหมาย

2.6.2 กฎหมายยาเสพติดกัญชาประเทศสหรัฐอเมริกา

ประเทศสหรัฐอเมริกามีนโยบายยาเสพติดประเภทกัญชา คือได้ร่วมลงนามในอนุสัญญาว่าด้วยยาเสพติดให้โทษ ค.ศ. 1961 (พ.ศ. 2504) ได้มีเสนอให้การเสพกัญชาเป็นสิ่งถูกกฎหมายโดยกรรมธิการยาเสพติดและกัญชา (Sharfer Commission) แต่ไม่ผ่านมติ ปัจจุบันรัฐบาลกลางได้บัญญัติกฎหมายควบคุมยาเสพติด (The Controlled Substances Act : CSA) เป็นกฎหมายควบคุมยาเสพติดของรัฐบาลกลางสหรัฐฯ ภายใต้การควบคุมการผลิต นำเข้า ครอบครอง การใช้และการกระจายตัวของสารบางชนิด (พีรพจน์ ปิ่นทองดี, 2561) ส่วนกฎหมายระดับมลรัฐพบว่า 25 มลรัฐและ Washington D.C. ได้อนุญาตให้การใช้กัญชาเพื่อการแพทย์ถูกกฎหมาย

จึงสรุปได้ว่า การใช้กัญชาในสหรัฐนั้นยังคงเป็นสิ่งผิดกฎหมายในรัฐบาลกลางซึ่งรัฐสภาสหรัฐอเมริกากำหนดให้กัญชาเป็นยาเสพติดผิดกฎหมายและการจำหน่ายกัญชาเป็นอาชญากรรมโดยมีกรมยุติธรรม (The Department of Justice) เป็นหน่วยงานบังคับใช้กฎหมายควบคุมยาเสพติด (The Controlled Substances Act)

ในประเทศสหรัฐอเมริกามีอนุญาตให้ใช้กัญชาเพื่อวัตถุประสงค์ทางการแพทย์ แต่ก็ยังถือว่ากัญชาเป็นพืชที่เป็นยาเสพติดที่ผิดกฎหมาย จึงไม่ได้รับการรับรองให้ใช้เป็นยารักษาโรค ดังนั้น ผู้ที่ครอบครองและจำหน่ายกัญชาจะต้องได้รับโทษ

2.6.3 กฎหมายยาเสพติดกัญชาประเทศเนเธอร์แลนด์

ประเทศเนเธอร์แลนด์แบ่งยาเสพติดออกเป็นสองประเภท คือ ยาเสพติดร้ายแรงและยาเสพติดไม่ร้ายแรง สำหรับผู้กระทำผิดยาเสพติดประเภทไม่ร้ายแรง จะไม่มีโทษเช่นเดียวกับผู้กระทำผิดอาญา แต่ผู้เสพยาเสพติดประเภทร้ายแรง จะต้องถูกลงโทษ ปัจจุบันนโยบายความผิดทางอาญาสำหรับยาเสพติดไม่ร้ายแรง จะไม่ถูกฟ้องร้องเป็นคดีอาญา ภายใต้คำแนะนำของ Public Prosection

Service Guideline (1996) เว้นแต่การกระทำดังกล่าวเกิดขึ้นในสถานที่ซึ่งมีเด็กและเยาวชนใช้เป็นปกติ

การทำให้กัญชาเป็นสิ่งถูกต้องตามกฎหมายของกัญชา (legalization of cannabis) เริ่มในปี พ.ศ. 2548 มีกฎหมายใหม่เรียกว่า “Amsterdam drugs Laws” (The Amsterdam Herald, 11 June 2012)

2.6.4 กฎหมายยาเสพติดกัญชาของประเทศไทย

สำหรับในประเทศไทยเองก็ได้ให้ความสำคัญกับปัญหายาเสพติด จึงได้บัญญัติกฎหมายที่เกี่ยวข้องกับยาเสพติดให้สอดคล้องกับสภาพปัญหารวมไปถึงการบังคับใช้กฎหมายในกระบวนการยุติธรรม เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในการป้องกันและปราบปรามยาเสพติดอย่างสูงสุดและเพื่อเป็นการอนุมัติการกฎหมายให้เป็นไปตามสนธิสัญญาที่ตนได้ไปเป็นภาคีอยู่ด้วย จึงได้ตรากฎหมายยาเสพติดไว้หลายฉบับ

ส่วนกัญชานั้นตามมาตรา 7 แห่งพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522 ได้บัญญัติแบ่งประเภทยาเสพติดให้โทษไว้ 5 ประเภทดังนี้

มาตรา 7 “ยาเสพติดให้โทษแบ่งออกเป็น 5 ประเภท คือ ...(5) ประเภท 5 ยาเสพติดให้โทษที่มิได้เข้าอยู่ในประเภท 1 ถึงประเภท 4 เช่นกัญชา พืชกระท่อม....”

จากหลักกฎหมายดังกล่าวจึงเห็นได้ว่า “กัญชา” เป็นยาเสพติดให้โทษประเภท 5 แต่พระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522 กลับไม่ได้มีบทนิยามความหมายของคำว่า กัญชา ไว้แต่อย่างใด แต่ต่อมาได้มีประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 135 (พ.ศ. 2539) เรื่องระบุชื่อและประเภทยาเสพติดให้โทษตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522 ให้ความหมายของคำว่ากัญชา ดังนี้ “กัญชา (Cannabis) ซึ่งหมายความรวมถึงทุกส่วนของพืชกัญชา (Cannabis sativa L. และ Cannabis indica Auth) และวัตถุหรือสารต่างๆที่มีอยู่ในพืชกัญชา เช่น ใบ ดอก ยอดผล ยาง และ ลำต้น เป็นต้น” และต่อมาได้มีประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ระบุชื่อและประเภทยาเสพติดให้โทษ (ฉบับที่ 12) ได้แก้ไขชื่อยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 ลำดับที่ 1 ในบัญชีท้ายประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 135 (พ.ศ. 2539) เรื่อง ระบุชื่อและประเภทยาเสพติดให้โทษ ตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ.2522 และให้ใช้ความต่อไปนี้แทน

ยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 กัญชา (Cannabis) ซึ่งหมายความรวมถึงทุกส่วนของพืชกัญชา (Cannabis sativa L. และ Cannabis indica Auth) และวัตถุหรือสารต่างๆที่มีอยู่ในพืชกัญชายกเว้นเปลือกแห้ง แกนลำต้น เส้นใย และผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากเปลือกแห้ง แกนลำต้นแห้ง เส้นใยแห้ง

ในปัจจุบันได้มีการปรับปรุงกฎหมายของกัญชา และจะเห็นได้ว่า กัญชา เป็นยาเสพติดให้โทษประเภท ๕ ซึ่งในวันที่ ๑๗ กุมภาพันธ์ ๒๕๖๒ เข้าสู่ที่ประชุมสมาชิกสภานิติบัญญัติแห่งชาติในเดือนกันยายน 2561 จนมีผลบังคับใช้ในวันที่ 19 กุมภาพันธ์ 2562 และสิ้นสุดการจดแจ้งในวันที่ 21 พฤษภาคม 2562 ซึ่งพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2562 ได้บัญญัติขึ้นเพื่อเปิดโอกาสให้สามารถนำกัญชาไปทำการศึกษาวิจัยและพัฒนาเพื่อประโยชน์ทางการแพทย์ และสามารถนำไปใช้ในการรักษาโรคภายใต้การดูแลและควบคุมของแพทย์ได้

สมเด็จพระเจ้าอยู่หัวมหาวชิรลงกรณ บดินทรเทพยวรางกูร มีพระราชโองการโปรดเกล้าฯ ให้ประกาศว่า โดยที่เป็นการสมควรแก้ไขเพิ่มเติมกฎหมายว่าด้วยยาเสพติดให้โทษ

พระราชบัญญัตินี้มีบทบัญญัติบางประการเกี่ยวกับการจำกัดสิทธิและเสรีภาพของบุคคล ซึ่งมาตรา ๒๖ ประกอบกับมาตรา ๒๘ มาตรา ๓๔ มาตรา ๓๗ มาตรา ๓๘ และมาตรา ๔๐ ของรัฐธรรมนูญแห่งราชอาณาจักรไทย บัญญัติให้กระทำได้โดยอาศัยอำนาจตามบทบัญญัติแห่งกฎหมาย

เหตุผลและความจำเป็นในการจำกัดสิทธิและเสรีภาพของบุคคลตามพระราชบัญญัตินี้ เพื่อกำหนดมาตรการในการควบคุมยาเสพติดให้โทษในประเภท ๕ ให้เหมาะสมกับสถานการณ์ปัจจุบันและสอดคล้องตามหลักสากล ซึ่งการตราพระราชบัญญัตินี้สอดคล้องกับเงื่อนไขที่บัญญัติไว้ในมาตรา ๒๖ ของรัฐธรรมนูญแห่งราชอาณาจักรไทยแล้ว

จึงทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ ให้ตราพระราชบัญญัติขึ้นไว้โดยคำแนะนำและยินยอมของสภานิติแห่งชาติทำหน้าที่รัฐสภา

ตาม “มาตรา ๒๖/๒ ห้ามมิให้ผู้ใดผลิต นำเข้า หรือส่งออกซึ่งยาเสพติดให้โทษในประเภท ๕ เว้นแต่ในกรณีดังต่อไปนี้

(๑) ในกรณีจำเป็นเพื่อประโยชน์ของทางราชการ การแพทย์ การรักษาผู้ป่วย หรือการศึกษาวิจัยและพัฒนา ทั้งนี้ ให้รวมถึงการเกษตรกรรม พาณิชยกรรม วิทยาศาสตร์ หรืออุตสาหกรรมเพื่อประโยชน์ทางการแพทย์ ซึ่งได้รับใบอนุญาตจากผู้อนุญาตโดยความเห็นชอบของคณะกรรมการ

(๒) ในกรณีที่เป็นกัญชง (Hemp) ซึ่งเป็นพืชที่มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Cannabis sativa* L. subsp. *Sativa* และมีลักษณะตามที่คณะกรรมการกำหนดโดยประกาศในราชกิจจานุเบกษา ซึ่งได้นำไปใช้ประโยชน์ตามที่กำหนดในกฎกระทรวง ให้กระทำได้เมื่อได้รับใบอนุญาตจากผู้อนุญาตโดยความเห็นชอบของคณะกรรมการ

(๓) ในกรณีที่เป็นการนำติดตัวเข้ามาหรือออกไปนอกราชอาณาจักรไม่เกินปริมาณที่จำเป็นสำหรับใช้รักษาโรคเฉพาะตัว โดยมีใบสั่งยาหรือหนังสือรับรองของผู้ประกอบวิชาชีพเวชกรรม ผู้ประกอบวิชาชีพทันตกรรม ผู้ประกอบวิชาชีพการแพทย์แผนไทย ผู้ประกอบวิชาชีพการแพทย์แผนไทยประยุกต์หรือหมอพื้นบ้านตามกฎหมายว่าด้วยวิชาชีพการแพทย์แผนไทย ซึ่งเป็นผู้ให้การรักษา

ให้กระทำได้เมื่อได้รับใบอนุญาต ทั้งนี้ ผู้ประกอบวิชาชีพการแพทย์แผนไทยและหมอพื้นบ้านให้เป็นไปตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่รัฐมนตรีประกาศกำหนดโดยความเห็นชอบของคณะกรรมการ

การผลิต นำเข้า หรือส่งออกซึ่งยาเสพติดให้โทษในประเภท ๕ มีปริมาณตั้งแต่สิบกิโลกรัมขึ้นไปให้สันนิษฐานว่าเป็นการผลิต นำเข้า หรือส่งออกเพื่อจำหน่าย

การขอรับใบอนุญาต และการออกใบอนุญาต ให้เป็นไปตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่กำหนดในกฎกระทรวง

ในการพิจารณาอนุญาต ให้ผู้ขออนุญาตเป็นผู้รับผิดชอบชำระค่าใช้จ่ายในการตรวจวิเคราะห์หรือประเมินเอกสารทางวิชาการ หรือค่าใช้จ่ายอื่นที่เกี่ยวข้อง ตามหลักเกณฑ์และวิธีการที่คณะกรรมการกำหนดโดยประกาศในราชกิจจานุเบกษา

มาตรา ๒๖/๓ ห้ามมิให้ผู้ใดจำหน่ายหรือมีไว้ในครอบครองซึ่งยาเสพติดให้โทษในประเภท ๕ เว้นแต่ได้รับใบอนุญาตจากผู้อนุญาต

การมียาเสพติดให้โทษในประเภท ๕ ไว้ในครอบครองมีปริมาณตั้งแต่สิบกิโลกรัมขึ้นไปให้สันนิษฐานว่ามีไว้ในครอบครองเพื่อจำหน่าย

การขอรับใบอนุญาตและการออกใบอนุญาต ให้เป็นไปตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่กำหนดในกฎกระทรวง

มาตรา ๒๖/๔ บทบัญญัติมาตรา ๒๖/๓ ไม่ใช้บังคับแก่

(๑) การมียาเสพติดให้โทษในประเภท ๕ ไว้ในครอบครองไม่เกินปริมาณที่จำเป็นสำหรับใช้รักษาโรคเฉพาะตัว โดยมีใบสั่งยาหรือหนังสือรับรองของผู้ประกอบวิชาชีพเวชกรรม ผู้ประกอบวิชาชีพการแพทย์แผนไทยและหมอพื้นบ้าน ให้เป็นไปตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่รัฐมนตรีประกาศกำหนดโดยความเห็นชอบของคณะกรรมการ

(๒) การมียาเสพติดให้โทษในประเภท ๕ ไว้ในครอบครองไม่เกินปริมาณที่จำเป็นสำหรับใช้ประจำในการปฐมพยาบาล หรือกรณีเกิดเหตุฉุกเฉินในเรือ เครื่องบิน หรือยานพาหนะอื่นใดที่ใช้ในการขนส่งสาธารณะระหว่างประเทศที่ไม่ไม่ได้จดทะเบียนในราชอาณาจักร แต่ถ้ายานพาหนะดังกล่าวจดทะเบียนในราชอาณาจักร ให้ยื่นคำขอรับใบอนุญาตตามมาตรา ๒๖/๓

มาตรา ๒๖/๕ ผู้อนุญาตจะออกใบอนุญาตให้ผลิต นำเข้า ส่งออก จำหน่าย หรือมีไว้ในครอบครองซึ่งยาเสพติดให้โทษในประเภท ๕ ได้เมื่อปรากฏว่าผู้ขออนุญาตเป็น

(๑) หน่วยงานของรัฐที่มีหน้าที่ศึกษาวิจัยหรือจัดการเรียนการสอนทางการแพทย์ เภสัชศาสตร์ วิทยาศาสตร์ หรือเกษตรศาสตร์ หรือมีหน้าที่ให้บริการทางการแพทย์ เภสัชกรรม หรือวิทยาศาสตร์หรือมีหน้าที่ให้บริการทางเกษตรกรรมเพื่อประโยชน์ทางการแพทย์หรือเภสัชกรรม หรือหน่วยงานของรัฐที่มีหน้าที่ในการป้องกัน ปราบปราม และแก้ไขปัญหายาเสพติด หรือสภากาชาดไทย

(๒) ผู้ประกอบวิชาชีพเวชกรรม ผู้ประกอบวิชาชีพเภสัชกรรม ผู้ประกอบวิชาชีพทันตกรรม ผู้ปรกอบวิชาชีพการสัตวแพทย์ชั้นหนึ่ง ผู้ประกอบวิชาชีพการแพทย์แผนไทย ทั้งนี้ผู้ประกอบวิชาชีพการแพทย์แผนไทยและหมอพื้นบ้าน ให้เป็นไปตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่รัฐมนตรีประกาศกำหนดโดยความเห็นชอบของคณะกรรมการ

(๓) สถาบันอุดมศึกษาตามกฎหมายว่าด้วยสถาบันอุดมศึกษาเอกชนที่มีหน้าที่ศึกษาวิจัยและจัดการเรียนการสอนเกี่ยวกับทางการแพทย์หรือเภสัชศาสตร์

(๔) ผู้ประกอบอาชีพเกษตรกรรมที่รวมกลุ่มเป็นวิสาหกิจชุมชนซึ่งจดทะเบียนตามกฎหมายว่าด้วยการส่งเสริมวิสาหกิจชุมชน วิสาหกิจเพื่อสังคมตามกฎหมายว่าด้วยการนั้น หรือสหกรณ์การเกษตรซึ่งจดทะเบียนตามกฎหมายว่าด้วยสหกรณ์ ซึ่งดำเนินการภายใต้ความร่วมมือและกำกับดูแลของผู้ขออนุญาตตาม (๑) หรือ (๓) ทั้งนี้ ผู้ประกอบอาชีพเกษตรกรรมดังกล่าว สามารถร่วมผลิตและพัฒนาสูตรตำรับยาแผนโบราณหรือยาสมุนไพรได้เพื่อประโยชน์ทางการแพทย์ ภายใต้ความร่วมมือและกำกับดูแลของผู้ขออนุญาตตาม (๑) หรือ (๓) ด้วย

(๕) ผู้ประกอบการขนส่งสาธารณะระหว่างประเทศ

(๖) ผู้ป่วยเดินทางระหว่างประเทศที่มีความจำเป็นต้องนำยาเสพติดให้โทษในประเภท ๕ ติดตัวเข้ามาในหรือนอกราชอาณาจักรเพื่อใช้รักษาโรคเฉพาะตัว

(๗) ผู้ขออนุญาตอื่นตามที่รัฐมนตรีโดยความเห็นชอบของคณะกรรมการกำหนดในกฎกระทรวง

ผู้ขออนุญาตตามวรรคหนึ่ง (๒) (๓) (๔) และ (๗) ในกรณีที่เป็นบุคคลธรรมดาต้องมีสัญชาติไทยและมีถิ่นที่อยู่ในประเทศไทย ในกรณีที่เป็นนิติบุคคลต้องจดทะเบียนตามกฎหมายไทยและกรรมการของนิติบุคคล หุ้นส่วนหรือผู้ถือหุ้นอย่างน้อยสองในสามต้องเป็นผู้มีสัญชาติไทยและมีสำนักงานในประเทศไทย

มาตรา ๒๒ ผู้ใดมีไว้ครอบครองซึ่งยาเสพติดให้โทษในประเภท ๕ เฉพาะกัญชาเพื่อประโยชน์ทางการแพทย์ การรักษาผู้ป่วย การใช้รักษาโรคเฉพาะตัว หรือการศึกษาวิจัย อยู่ก่อนวันที่พระราชบัญญัตินี้ใช้บังคับ ไม่ต้องรับโทษสำหรับการกระทำนั้นเมื่อดำเนินการดังต่อไปนี้

(๑) ยื่นคำขอรับใบอนุญาตต่อเลขาธิการคณะกรรมการอาหารและยาภายในเก้าสิบวันนับแต่วันที่พระราชบัญญัตินี้ใช้บังคับ ในกรณีที่เป็นผู้มีคุณสมบัติตามมาตรา ๒๖/๕ แห่งพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. ๒๕๒๒ ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัตินี้ และให้สามารถครอบครองยาเสพติดให้โทษดังกล่าวได้ต่อไปจนกว่าการพิจารณาอนุญาตจะแล้วเสร็จ ในกรณีไม่ได้รับอนุญาต ให้ยาเสพติดให้โทษนั้นตกเป็นของกระทรวงสาธารณสุขหรือให้ทำลาย ทั้งนี้ ตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขประกาศกำหนดโดยความเห็นชอบของคณะกรรมการควบคุมยาเสพติดให้โทษ

(๒) ในกรณีนอกจาก (๑) ให้แจ้งการครอบครองต่อเลขาธิการคณะกรรมการอาหารและยาภายในกำหนดเก้าสิบวันนับแต่วันที่พระราชบัญญัตินี้ใช้บังคับ ทั้งนี้ หากเป็นผู้ป่วยที่มีความจำเป็นต้องใช้ยาเสพติดให้โทษในประเภท ๕ เฉพาะกัญชาเพื่อรักษาโรคเฉพาะตัว และปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการและเงื่อนไขที่รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขประกาศกำหนดโดยความเห็นชอบของคณะกรรมการควบคุมยาเสพติดให้โทษ สำหรับบุคคลอื่นเมื่อแจ้งการครอบครองแล้วให้ยาเสพติดให้โทษดังกล่าวตกเป็นของกระทรวงสาธารณสุขหรือให้ทำลาย ทั้งนี้ ตามหลักเกณฑ์ วิธีการและเงื่อนไขที่รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขประกาศกำหนดโดยความเห็นชอบของคณะกรรมการควบคุมยาเสพติดให้โทษ (พระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ-ฉบับที่7 พ.ศ. 2562 มีผลบังคับใช้ 19 กุมภาพันธ์ 2562)

2.7 กฎหมายกัญชาต่อการพัฒนาทางการแพทย์

เนื่องจากกฎหมายยาเสพติดของประเทศไทยมีการกระจายไปในหลายฉบับ ทำให้เกิดความไม่ต่อเนื่องของกฎหมาย ทำให้เกิดความสับสนในการนำมาใช้ เช่น ความหมายของกัญชา ซึ่งพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522 เป็นกฎหมายยาเสพติดหลักของประเทศไทย แต่ไม่ได้ให้ความหมายของกัญชาไว้ แต่ได้ประกาศไว้ในประกาศกระทรวงสาธารณสุข ทำให้เกิดความเข้าใจผิดและมีความสับสนในการค้นหาตัวบทกฎหมาย จึงเป็นอุปสรรคต่อการบังคับใช้กฎหมายยาเสพติดและการพัฒนากัญชาทางการแพทย์

2.7.1กฎหมายการใช้กัญชาสำหรับวิชาชีพทางการแพทย์

สำหรับกฎหมายของกัญชานั้นได้มีกฎหมายควบคุมเพื่อไม่นำพืชเสพติดไปใช้ในทางที่ผิดนั้นมีมานานแล้ว แต่ยังไม่สามารถเอาไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์หรือการทดลองทางวิทยาศาสตร์ได้ ทำให้การพัฒนาในการใช้กัญชา เพื่อประโยชน์ทางการแพทย์ หรือการศึกษางานวิจัยของประเทศไทยหยุดมาในระยะเวลาหนึ่ง พระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2562 บัญญัติขึ้นเพื่อเปิดโอกาสให้สามารถนำกัญชาไปทำการศึกษาวิจัยและพัฒนาเพื่อประโยชน์ทางการแพทย์ และสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการรักษาโรคภายใต้การดูแลและควบคุมของแพทย์ได้ โดยกฎหมายการใช้กัญชาทางการแพทย์ได้ระบุไว้สำหรับผู้ที่เกี่ยวข้องกับการใช้ทางการแพทย์ไว้ดังนี้

สำหรับผู้ป่วย ตามมาตรา 58 วรรคสอง โดยมีใบรับรองตามคำสั่งแพทย์จะได้รับการยกเว้นไม่เป็นความผิดฐานเสพ และได้รับการยกเว้นไม่เป็นความผิดฐานครอบครองตามมาตรา 26/4(1) สามารถใช้เพื่อการรักษาโรคได้ ซึ่งผู้ป่วยจะต้องได้รับการตรวจวินิจฉัยจากแพทย์หรือผู้ประกอบวิชาชีพที่กำหนด แพทย์จะพิจารณาถึงความจำเป็นในการใช้ หากมีความจำเป็น แพทย์จะออกใบรับรองและสั่งจ่ายยาจากสถานพยาบาลให้ โดยผู้ป่วยไม่ต้องไปขออนุญาต เว้นแต่ผู้ป่วยจำนำ

ยาที่มีส่วนผสมของกัญชาติดตัว เข้าหรือออกจากราชอาณาจักรก็จะต้องขออนุญาตจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาก่อน โดยผู้ป่วยที่ใช้และครอบครองยาที่มีส่วนผสมของกัญชา

การใช้งานสำหรับ แพทย์ ทันตแพทย์ แพทย์แผนไทยประยุกต์หรือหมอพื้นบ้าน ตามที่กำหนดในกฎหมายฉบับนี้ แพทย์ที่ได้กล่าวมาข้างต้น สามารถสั่งใช้ในผู้ป่วยเฉพาะรายของตนที่มีความจำเป็นได้ โดยผู้ประกอบวิชาชีพที่จะสั่งให้ผู้ป่วยใช้กัญชาได้ ต้องใช้ในสถานที่ที่ได้รับอนุญาตจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา และให้มีการฝึกอบรมการใช้กัญชาทางการแพทย์ตามหลักสูตรที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนด

สำหรับเภสัชกร ให้พิจารณาจากสถานที่ที่ได้รับอนุญาตจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาใดที่มีเภสัชกรทำหน้าที่ในการควบคุมและจัดเก็บ ซึ่งเภสัชกรจะต้องจ่ายยาตามการสั่งของผู้ประกอบวิชาชีพที่ผ่านการอบรมและต้องผ่านการฝึกอบรมตามหลักสูตรที่กระทรวงสาธารณสุขได้กำหนดไว้ต้องมีการจัดทำบัญชีตามที่กฎหมายกำหนด

สำหรับนักวิจัยนั้น ก่อนจะมีการประกาศใช้พระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ (ฉบับที่ 7) พ.ศ. 2562 ไม่สามารถทำการศึกษาวิจัยในมนุษย์ได้ เนื่องจากมีข้อกฎหมายที่ห้ามมิให้ผู้ใดเสพโดยเด็ดขาดไม่ว่าจะเพื่อวัตถุประสงค์ใดก็ตาม แต่กฎหมายฉบับนี้ได้มีการอนุญาตให้สามารถทำได้ นักวิจัยจึงสามารถทำการศึกษาวิจัยในมนุษย์ได้ (พิศิษฐ์ ศรีประเสริฐ, 2563: 10)

2.7.2 กฎหมายสำหรับการฝ่าฝืนต่อการใช้กัญชาในผู้ป่วย

สำหรับผู้ป่วยที่ใช้กัญชาโดยไม่ได้รับการตรวจจากแพทย์ผู้เชี่ยวชาญหรือผู้ที่ประกอบวิชาชีพที่ได้ผ่านการอบรมตามหลักสูตรที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนด และไม่มีใบรับรองหรือใบอนุญาตจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ถือว่าผู้ป่วยเป็นผู้ฝ่าฝืนซึ่งจะไม่ได้รับอนุญาตในการครอบครอง หากมีการครอบครองปริมาณกัญชาไม่เกิน 5 กรัม สามารถเข้ารับการบำบัดตามประกาศคณะรักษาความสงบแห่งชาติ ฉบับที่ 108/25572 เรื่อง การปฏิบัติต่อผู้ต้องสงสัยว่ากระทำผิดกฎหมายเกี่ยวกับยาเสพติด เพื่อเข้าสู่การบำบัดฟื้นฟูและการดูแลผู้ผ่านการบำบัดฟื้นฟู หากมีในครอบครองเกินกว่า 5 กรัม ดำเนินการตามกระบวนการยุติธรรมตามฐานความผิดต่อไป

ในกรณีการจ่ายสั่งยาของผู้ประกอบวิชาชีพ ยาที่มีส่วนผสมของกัญชาให้กับผู้ป่วยโดยไม่ผ่านการฝึกอบรม และไม่ได้รับอนุญาต เป็นการฝ่าฝืนกฎหมาย มีบทกำหนดโทษตามกรณีดังนี้

ตารางที่ 1 กฎหมายฝ่าฝืนการจ่ายยาที่มีส่วนผสมกัญชาให้กับผู้ป่วยโดยไม่ได้รับอนุญาต

ความผิด	บทกำหนดโทษ
ความผิดฐานผลิต นำเข้า หรือส่งออกตามมาตรา 26/2	จำคุกไม่เกิน 5 ปี และปรับไม่เกิน 500,000 บาทถ้าเป็นการผลิต นำเข้าหรือส่งออกเพื่อจำหน่าย จำคุก 1-5 ปี และปรับ 100,000 – 1,500,000 บาท
ความผิดฐานจำหน่าย หรือมีไว้ในครอบครองเพื่อจำหน่ายตามมาตรา 26/3	ถ้ามีไม่ถึงสิบกิโลกรัม จำคุกไม่เกิน 5 ปี หรือปรับไม่เกิน 100,000 บาท หรือทั้งจำทั้งปรับถ้ามีตั้งแต่ 10 กิโลกรัมขึ้นไป จำคุก 1- 15 ปี และปรับ 100,000 – 1,500,000 บาท
ความผิดฐานครอบครอง ตามมาตรา 26/3	จำคุกไม่เกิน 5 ปี หรือปรับไม่เกิน 100,000 บาท หรือทั้งจำทั้งปรับ (มาตรา 76)
ความผิดฐานเสพ ตามมาตรา 58 วรรคสอง	จำคุกไม่เกิน 1 ปี หรือปรับไม่เกิน 20,000 บาท หรือทั้งจำทั้งปรับ (มาตรา 92 วรรคแรก)

2.7.3 กฎหมายสมุนไพรควบคุมกัญชา พ.ศ.๒๕๖๕

โดยพิจารณาเห็นว่า กัญชา เป็นสมุนไพรที่มีค่าต่อการศึกษาหรือวิจัย มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เพื่อประโยชน์ในการคุ้มครองและส่งเสริมการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๔ มาตรา ๔๔ มาตรา ๔๕ (๓) และ (๕) แห่งพระราชบัญญัติคุ้มครองและส่งเสริมภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย พ.ศ. ๒๕๔๒ รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขโดยคำแนะนำของคณะกรรมการและส่งเสริมภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย จึงออกประกาศไว้ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ ให้กัญชา หรือสารสกัดจากกัญชาซึ่งเป็นพืชในสกุล Cannabis เป็นสมุนไพรควบคุม

ข้อ ๒ อนุญาตให้ผู้ที่มีอายุตั้งแต่ยี่สิบปีขึ้นไปสามารถครอบครองใช้ประโยชน์ ดูแล เก็บรักษาขนย้าย จำหน่ายสมุนไพรควบคุมตามข้อ ๑ ได้ยกเว้นการกระทำ ดังต่อไปนี้

(๑) การใช้ประโยชน์ในที่สาธารณะโดยการสูบ

(๒) การใช้ประโยชน์กับสตรีมีครรภ์ หรือสตรีให้นมบุตร

(๓) การจำหน่ายให้กับผู้ที่มีอายุต่ำกว่ายี่สิบปี สตรีมีครรภ์หรือสตรีให้นมบุตร

ข้อ ๓ อนุญาตให้ผู้ประกอบวิชาชีพเวชกรรม ผู้ประกอบวิชาชีพการแพทย์แผนไทยผู้ประกอบวิชาชีพการแพทย์แผนไทยประยุกต์ ผู้ประกอบโรคศิลปะสาขาการแพทย์แผนจีน และหมอพื้นบ้านตามกฎหมายว่าด้วยวิชาชีพการแพทย์แผนไทย สามารถใช้ประโยชน์จากสมุนไพรควบคุมตามข้อ ๑ ให้กับผู้ป่วยของตน

ข้อ ๔ อนุญาตให้ผู้ป่วยตามข้อ ๓ สามารถครอบครอง ขนย้าย ดูแล เก็บรักษา ใช้ประโยชน์ในปริมาณที่จ่ายสำหรับการใช้ประโยชน์เป็นเวลาสามสิบวัน

ข้อ ๕ ประกาศฉบับนี้ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันถัดไปจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

2.8 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ผู้วิจัยขอเสนองานวิจัยที่เกี่ยวข้องใน 2 หัวข้อ ได้แก่ 1) งานวิจัยในประเทศ และ 2) งานวิจัยต่างประเทศ โดยรายละเอียดดังต่อไปนี้

2.8.1 งานวิจัยในประเทศ

(จุฑารัตน์ ศรีประเสริฐ, 2559) ศึกษาสารพฤกษเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่างๆ ของแคนา พบสารที่ได้ คือ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน เทอร์พีนอยด์ สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอคไกลโคไซด์ และได้ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radiacal scavenging พบว่า สารสกัดหยาบเอทานอลจากใบแคนามีฤทธิ์ของการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด รองลงมาคือ กิ่ง ฝัก เมล็ดและดอก และจากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ลิพอกซิเดสของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่างๆของแคนา พบว่าที่ความเข้มข้น 1.00 mg/mL สารสกัดหยาบเอทานอลของใบแคนาสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ลิพอกซิเดสได้มากที่สุด

(เฉลิมขวัญ จันดี, 2559) ได้ศึกษา พฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านแบคทีเรียนของสารสกัดองุ่นป่า มีวัตถุเพื่อทดสอบสารพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และต้านต้านแบคทีเรียของส่วนสกัดหยาบจากรากและเถาองุ่นป่าซึ่งสกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน 3 ชนิดคือ เมทานอล95% เอทานอล 95% และเหล้าขาว 35% ผลการศึกษาพบ สารพฤกษเคมี 4 กลุ่ม ได้แก่ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ แทนนิน เทอร์พีนอยด์ และซาโปนิน ส่วนสกัดหยาบทุกส่วนแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากการทดสอบโดยวิธี TLC Screening ด้วยสารละลาย DPPH และเมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียด้วยวิธี disc diffusion พบว่า ส่วนสกัดหยาบทุกส่วนมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก

Bacillus subtilis และ Staphylococus aureus แต่ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ โดยเปรียบเทียบบริเวณการยับยั้งกับสารมาตรฐาน chloramphenicol

(ฉัตรสุมน พฤฒิภิญโญ, 2560) ศึกษา กฎหมายการควบคุมยาเสพติดเปรียบเทียบ เป็นการศึกษาวิจัยเชิงเอกสาร (Documentary research) เปรียบเทียบกับกฎหมายยาเสพติดประเทศไทย ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา อังกฤษ และเนเธอร์แลนด์ พบว่า ประเทศญี่ปุ่นใช้นโยบายมุ่งปราบปรามการเสพยาเสพติดอย่างเข้มงวด มีมาตรการเชิงป้องกันอันตรายต่อสุขภาพของประชาชน การให้การบำบัดรักษาผู้ติดยา ประเทศเนเธอแลนด์ รัฐจะสร้างระบบบำบัดรักษาให้กับผู้เสพ การให้ความรู้ถึงอันตรายของยาเสพติดติดต่อสังคมและโรงเรียน รวมทั้งการมีระบบที่ปรึกษาสายด่วน นโยบายการลดอันตรายจากการเสพยาเสพติด และบังคับบำบัดสำหรับผู้ติดยาจนเป็นนิสัย ประเทศสหราชอาณาจักรหรืออังกฤษ มีนโยบายที่ผ่อนปรนโทษทางยาเสพติดมากขึ้น เพราะยุทธศาสตร์ยาเสพติดมีประสิทธิผลน้อยมากในการลดการใช้ยาเสพติดในทางที่ผิดและการจำหน่ายที่ผิดกฎหมาย ประเทศสหรัฐอเมริกา นโยบายระดับรัฐบาลกลางยังเข้มงวด แต่ในระดับมลรัฐกลับเริ่มทยอยใช้นโยบายลดทอนมากขึ้นในความผิดคดียาเสพติด โดยมองผู้เสพว่าเป็นผู้ป่วยมากกว่าจะเป็นอาชญากร

(ชาญชัย เอื้อชัยกุล, 2560) ศึกษา การศึกษาพืชกัญชา ประโยชน์ โทษ และข้อเสนอการพัฒนาการกำกับดูแล มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาให้สามารถใช้ประโยชน์จากพืชกัญชาได้อย่างเต็มที่ เนื่องจากการที่กฎหมายของไทยมีบทบัญญัติห้ามการเสพกัญชา จึงทำให้การมีข้อจำกัดในการศึกษาวิจัยทางคลินิกทำให้ที่ผ่านมาไม่มีการศึกษาเพื่อเพิ่มพูนองค์ความรู้การใช้กัญชาในทางการแพทย์ แต่จากการที่มีการใช้กัญชาในทางการแพทย์ในต่างประเทศ และมีการวิจัยถึงสารในพืชกัญชาที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาซึ่งในบางกรณี สารดังกล่าวก็สามารถใช้ทดแทนยาแผนปัจจุบันที่มีอยู่ ในกรณีที่ผู้ป่วยไม่สามารถใช้ยาดังกล่าวในการรักษาได้ จึงทำให้พืชกัญชาเป็นที่สนใจของสาธารชน แต่อย่างไรก็ตามหากมีการนำกัญชามาใช้ในทางที่ไม่เหมาะสม หรือใช้ในทางที่ผิดก็ย่อมเกิดผลกระทบทางเช่นกัน

(วีรยา ถาอุปชิต & นุศราพร เกษสมบูรณ์, 2560) ศึกษา การใช้กัญชาทางการแพทย์ โดยมุ่งเน้นไปที่การใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ (medical use) และเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์ (Adverse Event) ของการใช้กัญชา ดำเนินการวิจัยโดยวิธี ทบทวนตำราแพทย์แผนไทย 2 เล่ม คือตำแพทย์ศาสตร์ และตำราพระโอสถพระนารายณ์ ในส่วนของตำราแพทย์แผนปัจจุบันสืบค้นข้อมูลจากฐานข้อมูลทางการแพทย์ Pubmed และ Cochrane Library โดยจำกัดการศึกษาแบบ systematic reviews สรุปผลการศึกษาได้ว่า กัญชา เป็นพืชสมุนไพรที่มีประโยชน์ทางการแพทย์ ซึ่งมีหลักฐานทางวิชาการสนับสนุนทั้งแพทย์แผนไทยและแผนปัจจุบันสรุปข้อบ่งใช้หลักคือ อาการปวดเรื้อรังและโรคปลอกประสาทเสื่อมแข็ง ด้านผลข้างเคียงของกัญชาในระยะสั้นพบว่าข้างเคียงที่ไม่รุนแรง ส่วนผลข้างเคียงในระยะยาวยังไม่มีข้อมูลที่แน่ชัด

(พีรพจน์ ปิ่นทองดี, 2561) ศึกษา กัญชา : กฎหมายยาเสพติดอันเป็นอุปสรรคต่อการพัฒนากัญชาการแพทย์ ซึ่งได้ทำการศึกษาตั้งแต่รากฐานทางประวัติศาสตร์การใช้กัญชา จึงสรุปได้ว่า พระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ พ.ศ. 2522 เป็นอุปสรรคต่อการพัฒนาในการพัฒนาทางการแพทย์แคนนาบินอยด์และกัญชาการแพทย์ สมควรมีการปรับปรุงและแก้ไขสถานะทางกฎหมายของกัญชาเพื่อประโยชน์ต่อการใช้กัญชาเป็นยารักษาโรค เนื่องจากผลทางคลินิกของกัญชาทางการแพทย์ (Clinical effects of medical cannabis)ได้กล่าวถึงคุณประโยชน์ของกัญชาต่อการรักษาอาการปวด อาการเกร็งกล้ามเนื้อ (Muscle spasm) และมะเร็งท่อน้ำดี

(ระพีพงศ์ สุพรรณไชยมาตย์ & โชษิตา ภาวสุทธิไพศิฐ, 2561) ศึกษา ประโยชน์และโทษที่อาจเกิดขึ้นจากการใช้กัญชาในทางการแพทย์และการเปิดเสรีการใช้กัญชา มีวัตถุประสงค์เพื่อทบทวนสถานการณ์ของการใช้กัญชาทางการแพทย์ และประสบการณ์การเปิดเสรีการใช้กัญชาในต่างประเทศ (อาศัยประเทศเนเธอแลนด์ สหรัฐอเมริกา และอุรุกวัย เป็นกรณีศึกษา) ผลการศึกษาพบว่า งานวิจัยที่เกี่ยวกับกัญชาส่วนใหญ่เป็นงานวิจัยในห้องปฏิบัติการหรือทำในสัตว์ทดลอง ส่วนงานวิจัยในมนุษย์ก็จะเป็นงานวิจัยขนาดเล็กและมักเป็นการเปรียบเทียบผลการรักษาด้วยกัญชากับยาหลอก การเปิดกว้างต่อการใช้กัญชาในต่างประเทศมีหลายระดับ ตั้งแต่อนุญาตให้ใช้ยาที่ผลิตจากสารสกัดจากกัญชาเพื่อเป็นยาเสริมหรือใช้ในผู้ป่วยที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาปกติ บางประเทศอนุญาตให้ใช้กัญชาเพื่อการผ่อนคลาย บางประเทศลดโทษทางอาญาในการเสพและถือครอง

2.8.2 งานวิจัยต่างประเทศ

D.I. Abrams และคณะ (2007) ได้ศึกษาในผู้ป่วยเอดส์จำนวน 50 คน เปรียบเทียบการสูบกัญชา (ที่มีความเข้มข้น THC ร้อยละ 3.5) เทียบกับยาหลอก พบว่าการสูบกัญชาช่วยลดอาการปวดได้อย่างมีนัยสำคัญ แต่ผู้ที่สูบกัญชาก็ได้รับผลข้างเคียง เช่น ทำให้เกิดอาการวิตกกังวล สับสน (disorientation) และหวาดระแวง (paranoid) มากกว่าผู้ที่ได้รับยาหลอก (Abrams et al., 2007)

Laura M. Borgelt และคณะ (2013) ได้ศึกษาเรื่อง ผลทางเภสัชวิทยาและทางคลินิกของกัญชาทางการแพทย์ มีวัตถุประสงค์เพื่อบรรยายถึงเภสัชวิทยาของกัญชา ผลของการกำหนดขนาดยาต่างๆ ประโยชน์ในการรักษาและความเสี่ยงของอาการปวดและกล้ามเนื้อของกัญชาอาการกระตุกและความกังวลด้านความปลอดภัยของการใช้กัญชาทางการแพทย์ ซึ่งพบว่า สารแคนนาบินอยด์สร้างปฏิกิริยาที่หลากหลายโดยการใช้งานตัวรับ CB1 และ CB2 และผลกระทบอื่นๆ ที่เป็นไปได้ในระบบประสาทส่วนกลาง ผลกระทบทางด้านเภสัชวิทยาและเภสัชพลศาสตร์ของกัญชาอาจแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับลักษณะผู้ป่วยและตัวยา ซึ่งทำให้ยากต่อการใช้งานที่หลากหลาย อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย (Borgelt et al., 2013)

Mark S. Wallace และคณะ (2015) โดยศึกษาการลดอาการปวดจากปลายประสาทในผู้ป่วยเบาหวาน 16 คนด้วยการสูบกัญชาเทียบกับยาหลอก พบว่ากัญชาช่วยลดอาการปวดได้อย่างมีนัยสำคัญ และผลการรักษาสัมพันธ์กับความเข้มข้นของ THC แต่การได้รับ THC ที่ความเข้มข้นสูงก็ส่งผลข้างเคียงในเรื่องการทำงานของสมองด้านความคิดของผู้ป่วยมากกว่าผู้ที่ได้รับ THC ในขนาดต่ำกว่า (Wallace et al., 2015)

Theresa E. Matson และคณะ (2020) ได้ศึกษา การใช้กัญชา การใช้ยาอื่นๆ และความเสี่ยงของการรักษาแบบเฉียบพลันภายหลังในผู้ป่วยปฐมภูมิ โดยทำการศึกษา เก็บข้อมูลย้อนหลังแบบกลุ่มโดยใช้ EHR และอ้างข้อมูลจาก 8 ไซต์ ในรัฐวอชิงตัน ซึ่งดำเนินการคัดกรองการใช้สารเสพติดเป็นประจำทุกปี ในผู้ป่วยสูงวัยที่มีสิทธิ์รักษาด้วยกัญชาหรือการใช้ยาอื่น ๆ รวมถึงการใช้ยาที่ผิดกฎหมายและการใช้ยาตามใบสั่งแพทย์ในทางที่ผิด และประเมินความถี่ของกัญชาในปีที่ผ่านมาและการใช้ยาอื่นๆ 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 ผู้ป่วยรายงานการใช้ยาอื่นน้อยกว่ารายเดือน (HR =1.34; 1.13–1.59) ทุกสัปดาห์ (HR = 2.21; 1.46–3.35) หรือรายวัน (HR = 2.53; 1.86–3.45) มีความเสี่ยงสูงที่จะได้รับการรักษาแบบเฉียบพลันกว่าที่รายงานว่าไม่มีการใช้ยาอื่น

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการศึกษา

3.1. อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 อุปกรณ์

1. ระบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary Evaporator)
2. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
3. เครื่องปั๊มสุญญากาศ (vacuum pump)
4. เครื่องแก้วพื้นฐาน
5. กระดาษกรอง เบอร์ 1
6. เครื่องให้ความร้อน (Hot plate)
7. เครื่อง spectrophotometry ที่ 540 nm (ELX-800; Bio-Tek Instrument, Inc.)
8. dimethylsulphoxide (DMSO)
9. tetrazolium salt (3-(4,5-dimethyldiazol-2-yl)-2,5 diphenyl tetrazolium bromide, MTT)

3.1.2 สารเคมี

1. กัญชาแห้ง
2. Hexane
3. Ethyl Acetate
4. Ethanol
5. Water
6. Dichloromethane
7. Conc. Sulfuric acid and 2% Sulfuric acid
8. 10% Ammonia Solution
9. 10% Ferric Chloride
10. Magnesium metal
11. Conc. Nitric acid

มหาวิทยาลัยศิลปากร

3.2. วิธีการทดลอง

3.2.1 การเตรียมสารสกัดหยาบ (Crude extract)

ตัวอย่างของกัญชาที่นำมาทดสอบเป็นกัญชาอัดแท่ง มีลักษณะเป็นก้อนโดยการนำมาตัดแบ่งเพื่อเตรียมการทดสอบการเตรียมสารสกัดหยาบดังนี้

1. การเตรียมสารสกัดหยาบกัญชา โดยใช้ตัวทำละลายดังนี้ เฮกเซน (Hexane) ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) เอทธิล อะซีเตท (Ethyl acetate) เอทานอล (Ethanol) เมทานอล (Methanol) และน้ำ อย่างละปริมาตร 200 มิลลิลิตร โดยชั่งผงกัญชาแห้งบดละเอียด 20 กรัม ทำการสกัดประมาณ 24 ชม.

ภาพที่ 13 การเตรียมสารสกัดหยาบกัญชา

2. นำสารละลายที่ได้มากรองด้วยการกรองสุญญากาศ เพื่อแยกกากออก นำชั้นตัวทำละลายที่ได้ใส่ใน round bottom flasks ที่แห้ง และทราบน้ำหนัก หลังจากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง rotary evaporator ปล่อยทิ้งไว้ให้แห้ง ชั่งน้ำหนัก และคำนวณเปอร์เซ็นต์ที่ได้

ภาพที่ 14 สารละลายกัญชาที่ผ่านการกรอง

ทำการตรวจสอบสารที่แยกได้แต่ละส่วนสกัดหยาบด้วยเทคนิค TLC โดยการนำสารที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกันมาตรวจสอบค่า R_f เปรียบเทียบค่า R_f ที่ได้แต่ละส่วนของสารสกัดหยาบ

3.2.2 การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดกัญชา (Harborne, 1998).

3.2.2.1 การตรวจสอบแอนทราควิโนน

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

3.2.2.2 การตรวจสอบเทอร์พีนอยด์ใช้การทดสอบซาลโควสกี (Salkowski test)

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

3.2.2.3 การตรวจสอบฟลาโวนอยด์

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

3.2.2.4 การตรวจสอบซาโปนิน

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

3.2.2.5 การตรวจสอบแทนนิน

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

3.2.2.6 การตรวจสอบแอลคาลอยด์

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

3.2.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity

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

ตัวอย่างสารสกัดกัญชา 100 ไมโครลิตร เติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งไว้ในที่มืดนาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตามสมการ % radical scavenging = (Acontrol–Asample) / Acontrol) x100 เมื่อ A sample คือ ค่าดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง + DPPH, Acontrol คือ ค่าดูดกลืนแสงของ DPPH

3.2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

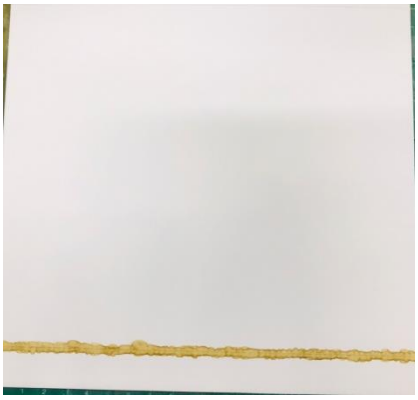
ทำการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ (mean ± standard derivation)

การวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการต้านอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) ใช้โปรแกรม IC_{50} Calculator

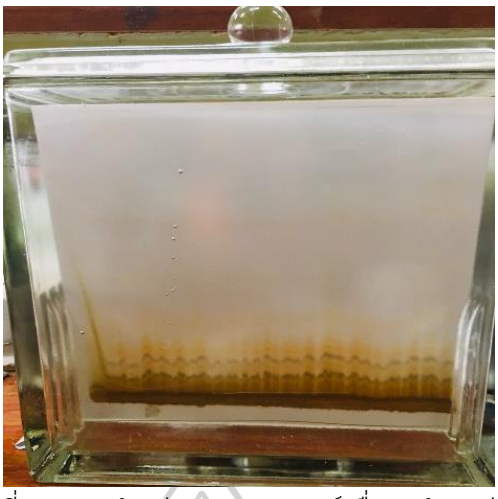
3.2.5 การหาระบบการแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดหยาบด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง (Thin Layer Chromatography; TLC)

1. นำสารสกัดกัญชาแต่ละตัวทำละลายที่ต้องการแยกมาละลายด้วยตัวละลายทั้งหมด 6 ตัว ได้แก่ เฮกเซน (Hexane) ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) เอทธิล อะซีเตท (Ethyl acetate) เอทานอล (Ethanol) เมทานอล (Methanol) และน้ำ โดยใช้ mobile phase เป็น Hexane : Dichloromethane ในอัตราส่วน 1:1

2. เมื่อได้ระบบที่เหมาะสมแล้วจึงนำสารสกัดแต่ละตัวทำละลายมาจุดสารลงบนแผ่นTLC เพื่อแยกสารสำคัญในกัญชาให้ได้สารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค TLC plate



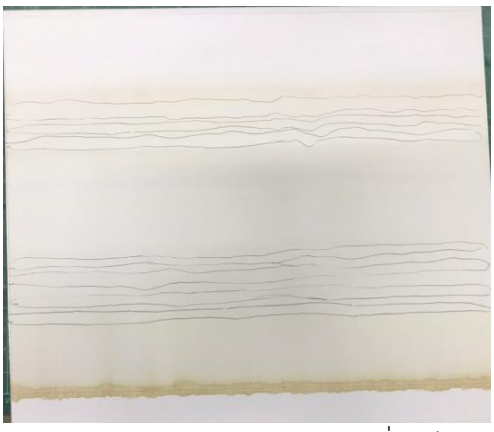
ภาพที่ 15 การจุดสารตัวอย่างลงบน TLC



ภาพที่ 16 การนำแผ่น TLC ลงแทงค์เพื่อหาตำแหน่งสาร

3. นำแผ่น TLC ของแต่ละตัวทำละลายมาส่องภายใต้แสง UV เพื่อหาตำแหน่งสารที่แยกได้และนำมาทำการขูดตำแหน่งของสารสำคัญและนำไป Run ^{1}H-NMR เพื่อหาสารบริสุทธิ์ที่ได้ว่าเป็นสารสำคัญชนิดใด

ภาพที่ 17 ส่องภายใต้แสง UV



ภาพที่ 18 กำหนดตำแหน่งบนแผ่น TLC ขูดเพื่อนำไปทดสอบ^{1}H-NMR

3.2.6 พิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR เปรียบเทียบกับ Spectrum มาตรฐาน (Barthlott et al., 2021) นำสารแต่ละแบรนด์มาสกัด และชะล้างด้วยตัวทำละลาย Ethanol กรอง แล้วระเหยตัวทำละลายออก นำไปชั่งน้ำหนัก และนำไป Run ^{1}H-NMR เพื่อนำ spectrum มาเทียบว่าเป็นสารตัวใดในกัญชากับ peak มาตรฐานของ Barthlott I et al. ดังภาพที่ 20

ภาพที่ 19 ^{1}H-NMR spectra of cannabinoids

CBD, CBDA, CBN, CBG, Δ^{9} –THC, THCA, Δ^{8} –THC, THCV dissolved in $CDCl_3$.*Cannabinoid stabilized as N,N-dicyclohexylammonium salt ที่มา: Barthlott I et al (2021)

บทที่ 4
ผลการศึกษา

4.1 ผลการเตรียมสารสกัดหยาบ (Crude extract)

จากการศึกษาการสกัดกัญชาด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทธิลอะซีเตท เอทานอล เมทานอล และน้ำ โดยใช้ปริมาตรตัวทำละลายชนิดละ 200 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการสกัด 24 ชั่วโมง ได้ปริมาณสารสกัดหยาบ (Crude extract) ต่อตัวทำละลาย 1 ชนิด ได้ผลดังตารางที่ 2

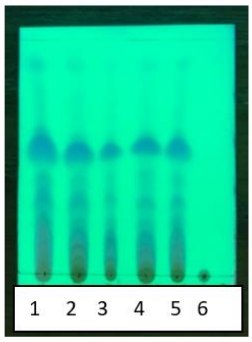
ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การสกัดหยาบที่ได้จากตัวทำละลายชนิดต่างๆ

ตัวทำละลาย	**เปอร์เซ็นต์ที่สกัดได้ (% Yield)**
เฮกเซน (Hexane)	1.6
ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane)	3.6
เอทธิล อะซีเตท (Ethyl Acetate)	12.2
เอทานอล (Ethanol)	7.2
เมทานอล (Methanol)	9.8
น้ำ (Distilled water)	9

จากนั้นนำสารที่สกัดได้ ไปตรวจสอบสารสกัดหยาบด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง (Thin Layer Chromatography; TLC) ทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและทำการแยกสารสำคัญให้บริสุทธิ์

4.2 ผลการตรวจสอบสารสกัดหยาบด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง (Thin Layer Chromatography; TLC)

จากการนำสารที่สกัดด้วยตัวทำละลาย (Crude products) แต่ละชนิดมาทำการตรวจสอบสารสำคัญ ด้วยเทคนิค TLC ให้ผลดังภาพที่ 2



ภาพที่ 20 การแยกสารภายในสารสกัดหยาบด้วยเทคนิค TLC

(1 = สารสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน 2= สารสกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน 3 = สารสกัดด้วยตัวทำละลายเอทธิลอะซีเตท 4 = สารสกัดด้วยตัวทำละลาย เอทานอล 5 = สารสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล 6 = สารสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำ โดยใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ Hexane : Dichloromethane (1:1)

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

4.3 การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดกัญชา

การทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น 6 ชนิดได้แก่ แอนทราควิโนน เทอร์พีนอยด์ ซาโปนิน แทนนิน ฟลาโวนอยด์ และอัลคาลอยด์ ผลการทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดกัญชาได้ผลดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 สารพฤกษเคมีของสารสกัดกัญชา

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

จากตารางที่ 3 ผลการทดลองสารพฤกษเคมีของสารสกัดกัญชา 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

4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity

จากการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของกัญชาด้วยวิธีการทดสอบ DPPH โดยทดสอบในตัวทำละลายทั้งหมด 7ตัว ได้แก่ Vitamin C, Hexane, Dichloromethane, Ethyl acetate, Ethanol, Methanol, Distilled water ได้ผลดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกัญชาด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity

สารสกัด	เปอร์เซ็นต์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ความเข้มข้นของสารสกัดกัญชา (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
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 4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกัญชาด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity พบว่า

ความเข้มข้นของสารสกัด 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัด Vitamin C, Hexane, Dichloromethane, Ethyl acetate, Ethanol, Methanol และDistilled water มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ70.15±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 มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ68.23±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 และDistilled water มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ64.41±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 และDistilled water มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ53.57±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 IC_{50} พบว่า ค่าความเข้มข้นของสารสกัดกัญชาที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (IC_{50}) ของตัวควบคุมบวก ได้แก่ Vitamin C เท่ากับ 0.0441 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ สารสกัดหยาบ Hexane, Dichloromethane, Ethyl acetate, Ethanol, Methanol และ Distilled water พบว่า ค่าความเข้มข้นของสารสกัดกัญชามีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (IC_{50}) 0.0441, 0.0220, 0.3526, 0.468, 0.4882, 5.5932 และ6.6588 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ความเข้มข้นของสารสกัดกัญชาที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (IC_{50})

สารสกัด	ความเข้มข้นของสารสกัดกัญชาที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 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

4.5 ผลการตรวจสอบการแยกเพื่อหาสารบริสุทธิ์ด้วยวิธี TLC plate

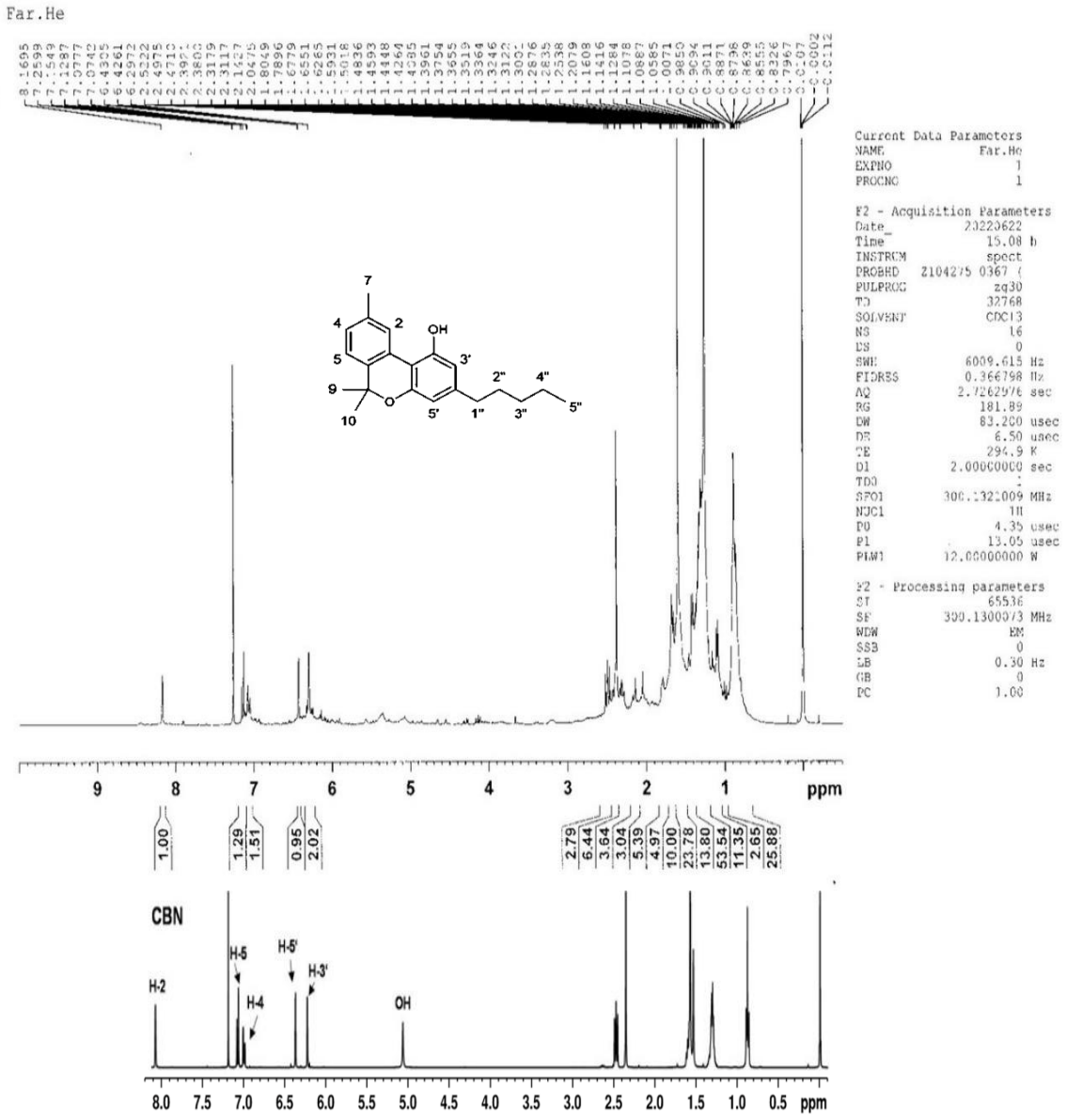
จากการนำสารที่สกัดด้วยตัวทำละลาย (Crude products) ทั้ง5 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน (Hexane), ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane), เอทธิลอะซิเตท (Ethyl acetate), เอทานอล (Ethanol) และ เมทานอล (Methanol) มาทำการแยกเพื่อหาสารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค TLC plate และนำสารที่คาดว่าจะเป็นสารสำคัญในกัญชา มาพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR พบว่าตัวทำละลายที่ให้ผลในการเจอสารสำคัญได้มากที่สุด คือตัวทำละลายเอทานอล เมื่อเทียบกับพีค ^{1}H-NMR spectrum ของกัญชา (Barthlott et al., 2021) ซึ่งผลการเปรียบเทียบของตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด

ได้ผล ^{1}H-NMR ดังนี้

4.5.1 ตัวทำละลาย เฮกเซน (Hexane) ได้ขูดเอาตำแหน่งดังภาพที่ 21 ไป Run ^{1}H-NMR ผลปากฏเจอ peak ดังภาพที่ 22

ภาพที่ 21 แสดงตำแหน่งสารที่ขูดในตัวทำละลายเฮกเซน
เพื่อนำไป Run ^{1}H-NMR

มหาวิทยาลัยศิลปากร



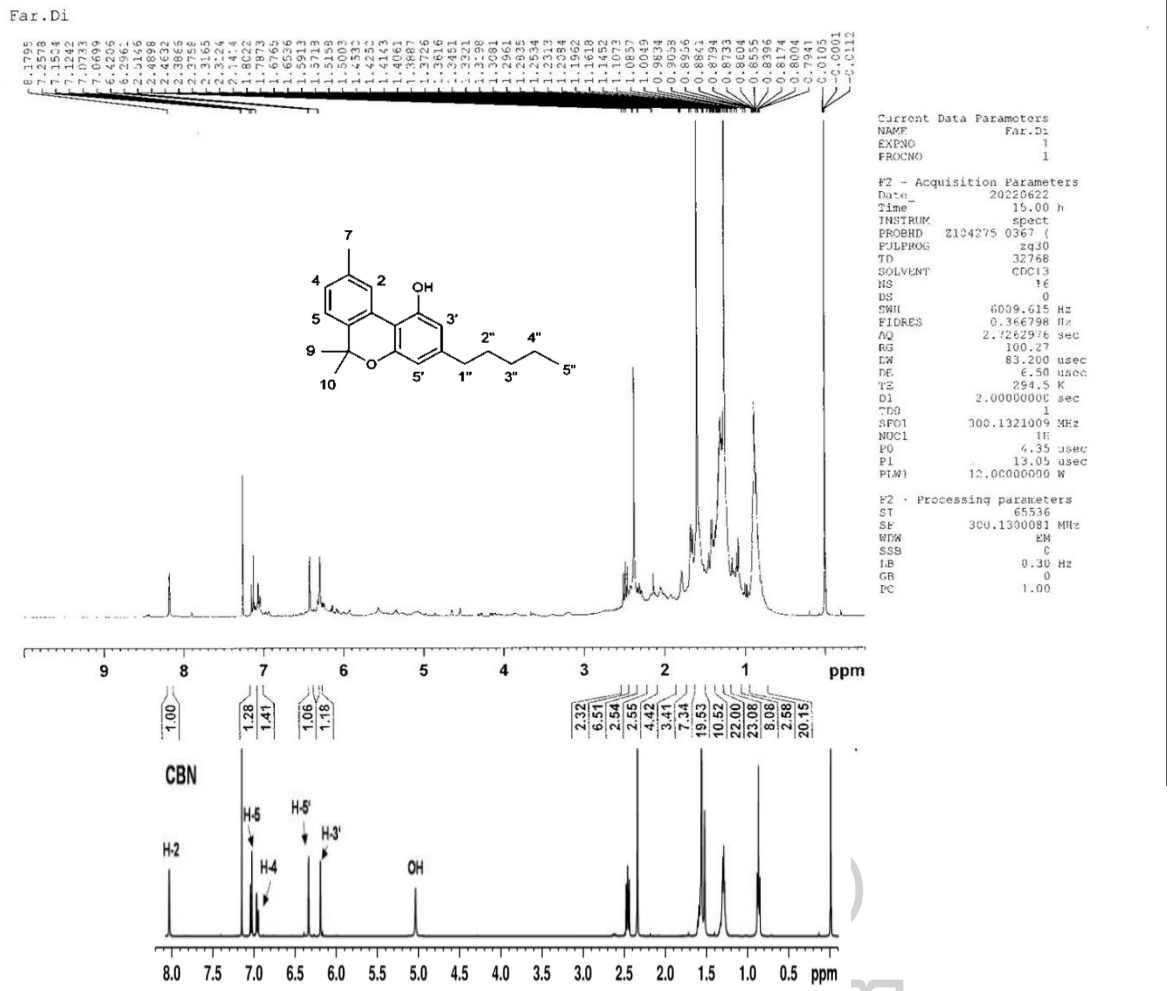
ภาพที่ 22 แสดง ^{1}H-NMR spectrum ของตัวทำละลายของเฮกเซน (Hexane)ที่แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott I et al., 2021)

จาก spectrum ^{1}H-NMR มีตำแหน่งที่สำคัญของ ^{1}H-NMR ซึ่งตรงกับสาร CBN (Cannabinol) ในตัวทำละลายเฮกเซน (Hexane)

4.5.2 ตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) ได้ขูดเอาตำแหน่งดังภาพที่ 23 ไป Run ^{1}H-NMR ผลปากฏเจอ peak ดังภาพที่ 24

ภาพที่ 23 แสดงตำแหน่งสารที่ขูดตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนเพื่อนำไป Run ^{1}H-NMR

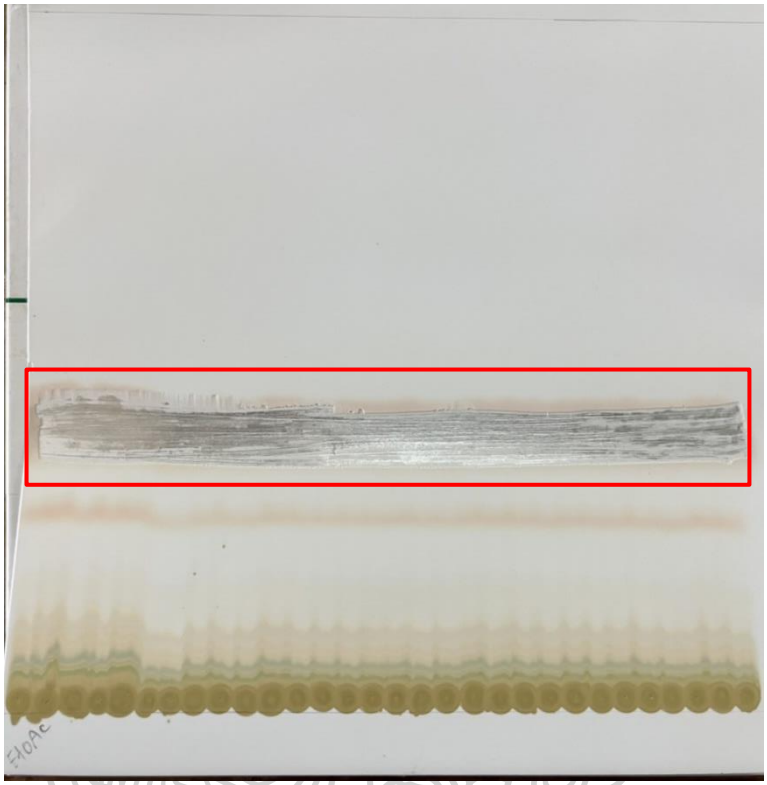
มหาวิทยาลัยศิลปากร



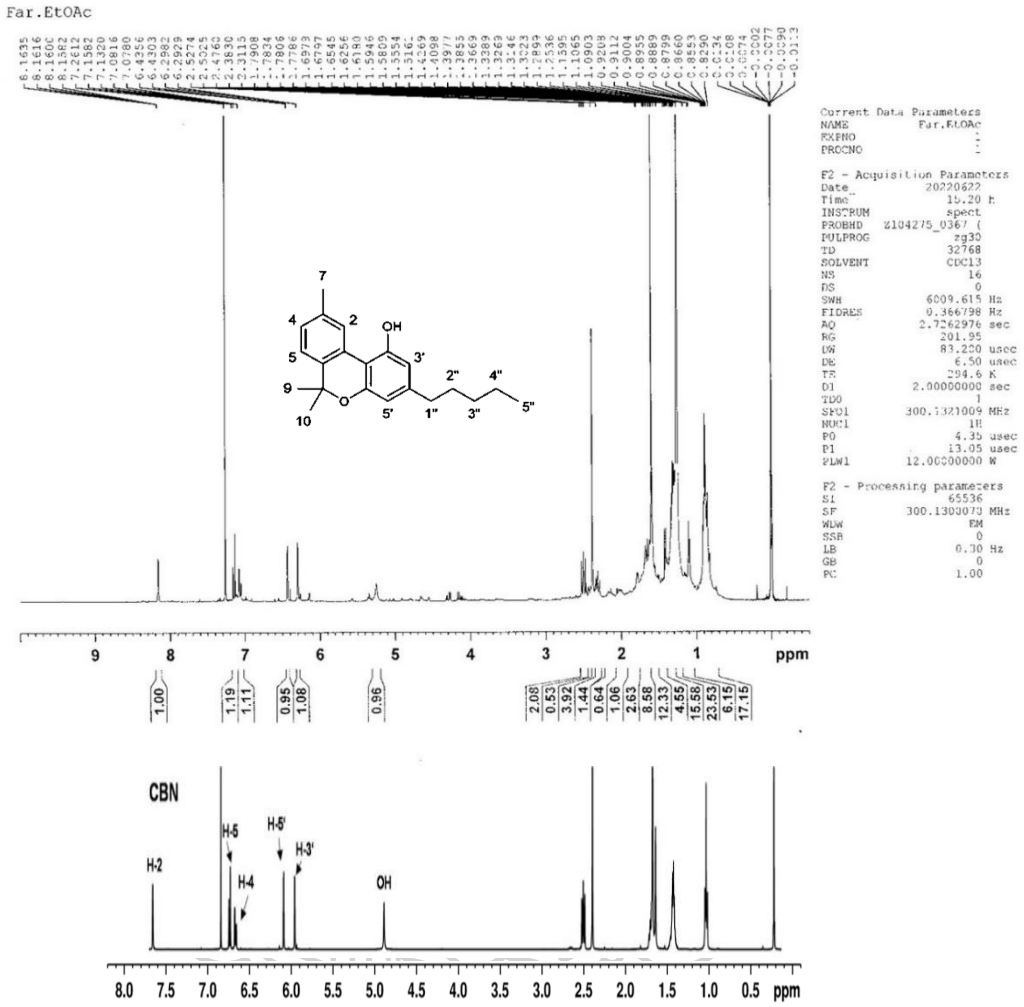
ภาพที่ 24 แสดง ^{1}H-NMR spectrum ของตัวทำละลายของไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) ที่แยกได้เทียบกับspectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott I et al., 2021)

จาก spectrum ^{1}H-NMR มีตำแหน่งที่สำคัญของ ^{1}H-NMR ซึ่งตรงกับสาร CBN (Cannabinol) ในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane)

4.5.3 ตัวทำละลายเอทธิลอะซิเตท (Ethyl acetate) ได้ขูดเอาตำแหน่งดังภาพที่ 25 ไป Run ^{1}H-NMR ผลปากฏเจอ peak ดังภาพที่ 26



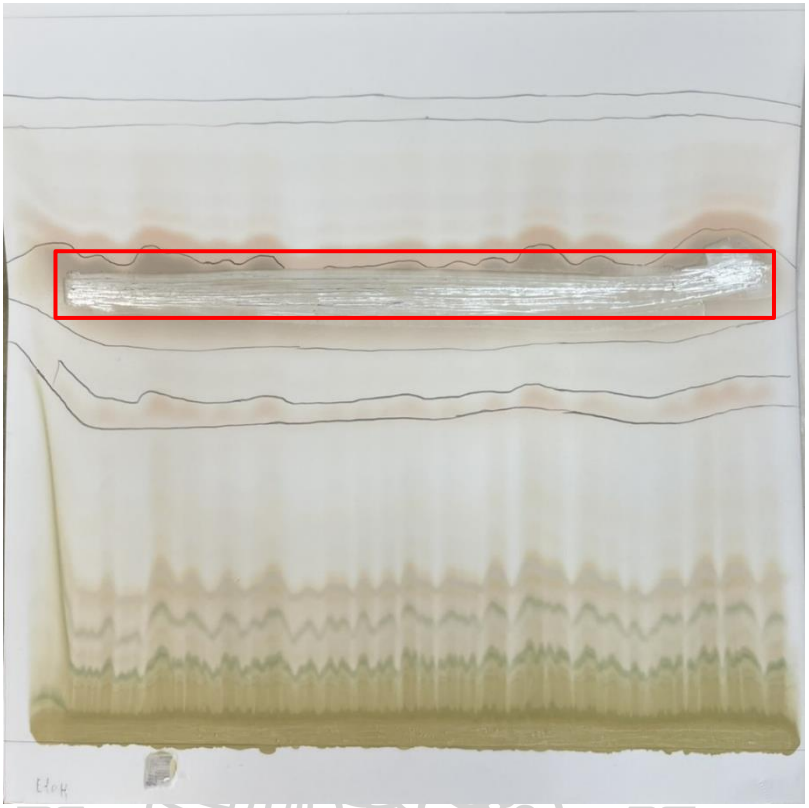
ภาพที่ 25 แสดงตำแหน่งสารที่ขูดตัวทำละลายเอทธิลอะซิเตทเพื่อนำไป Run ^{1}H-NMR



ภาพที่ 26 แสดง ^{1}H-NMR spectrum ของตัวทำละลายของเอธิลอะซิเตต ((Ethyl acetat) ที่แยกได้เทียบกับspectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott I et al., 2021)

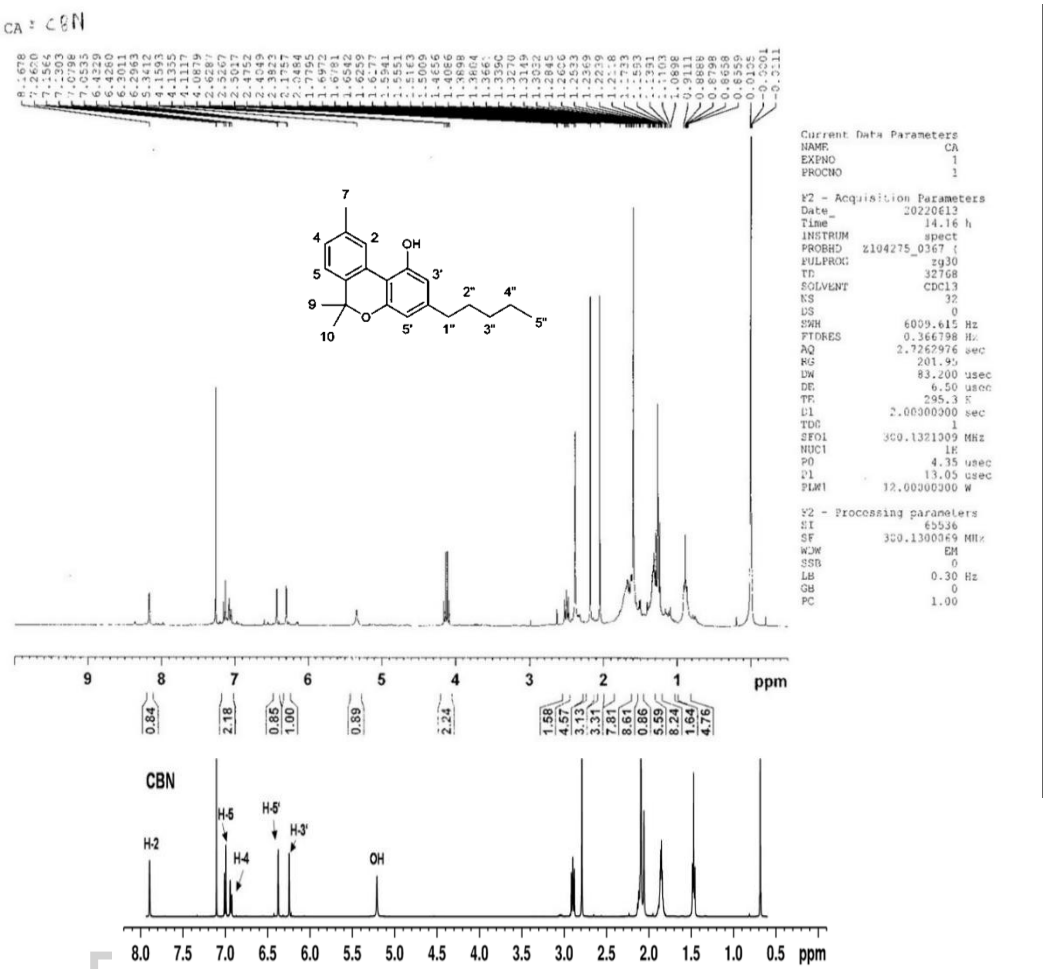
จาก spectrum ^{1}H-NMR มีตำแหน่งที่สำคัญของ ^{1}H-NMR ซึ่งตรงกับสาร CBN (Cannabinol) ในตัวทำละลายเอธิลอะซิเตต ((Ethyl acetate)

4.5.4 ตัวทำละลายของเอทานอล (Ethanol) ได้ขูดเอาตำแหน่งดังภาพที่ 27 ไป Run ^{1}H-NMR ผลปากฏเจอ peak ดังภาพที่ 28



ภาพที่ 27 แสดงตำแหน่งสารที่ขูดตัวทำละลายเอทานอลเพื่อนำไป Run ^{1}H-NMR

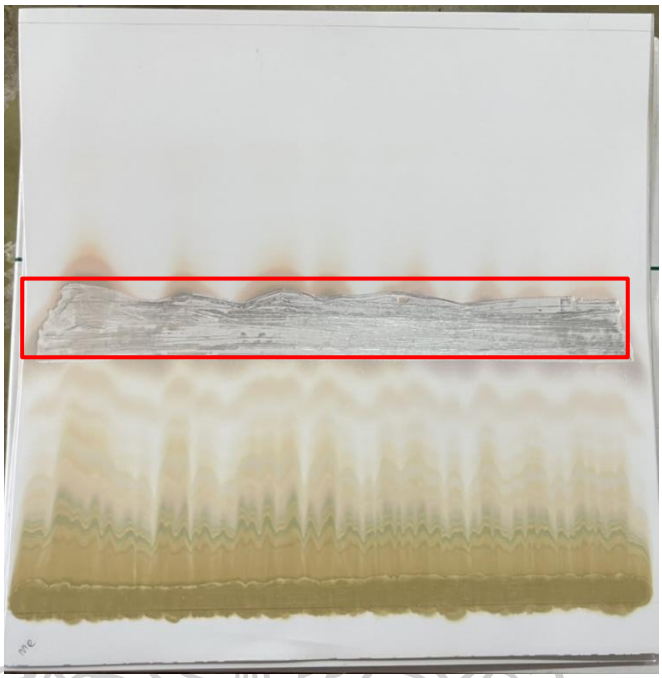
มหาวิทยาลัยศิลปากร



ภาพที่ 28 แสดง ^{1}H-NMR spectrum ของตัวทำละลายของเอทานอล ((Ethanol)ที่แยกได้เทียบกับspectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott I et al., 2021)

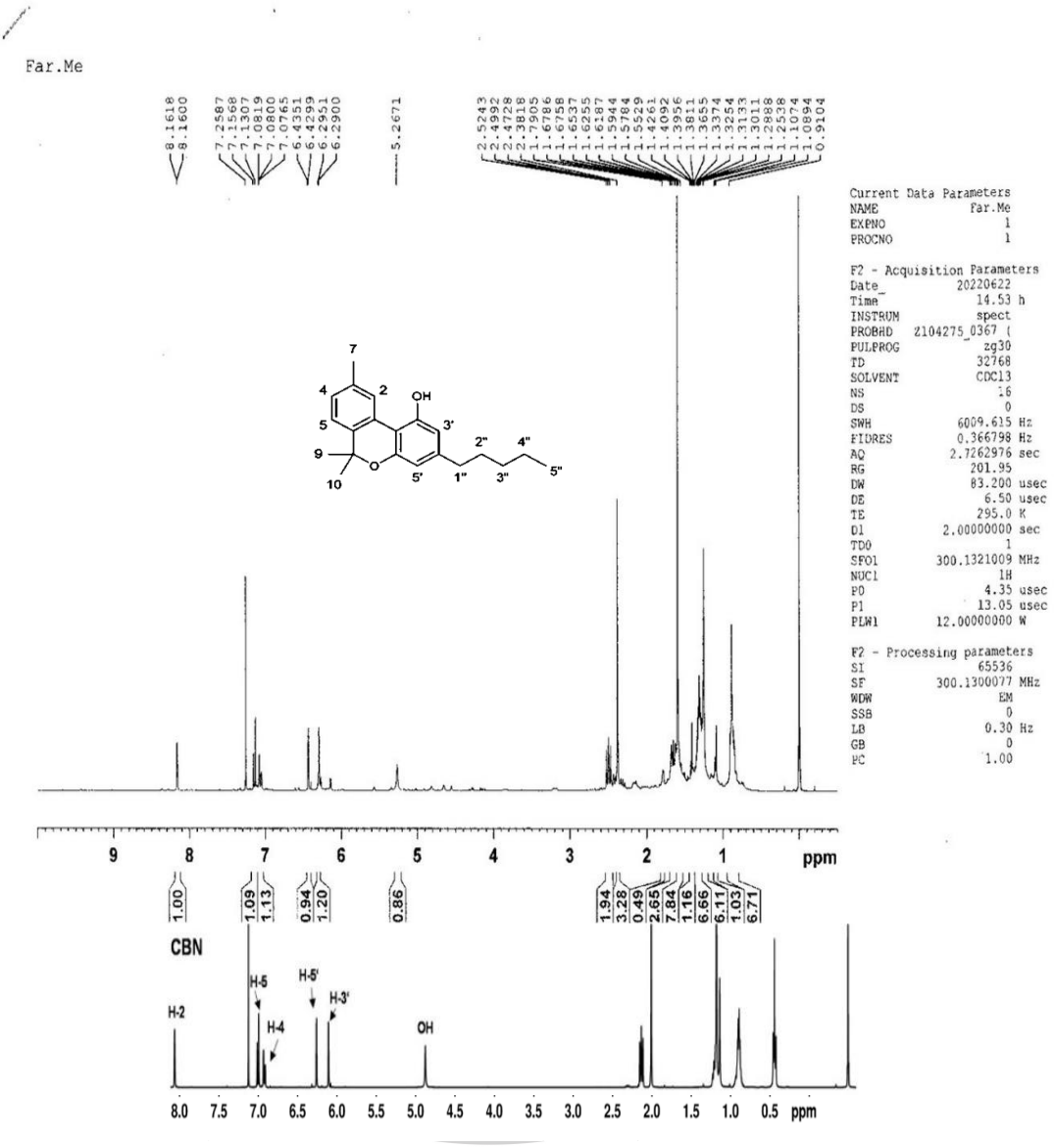
จาก spectrum ^{1}H-NMR มีตำแหน่งที่สำคัญของ ^{1}H-NMR ซึ่งตรงกับสาร CBN (Cannabinol) ในตัวทำละลายเอทานอล ((Ethanol)

4.5.5 ตัวทำละลายของเมทานอล (Methanol) ได้ขูดเอาตำแหน่งดังภาพที่ 29 ไป Run ^{1}H-NMR ผลปากฏเจอ peak ดังภาพที่ 30



ภาพที่ 29 แสดงตำแหน่งสารที่ขูดตัวทำละลายเมทานอลเพื่อนำไป Run ^{1}H-NMR

มหาวิทยาลัยศิลปากร



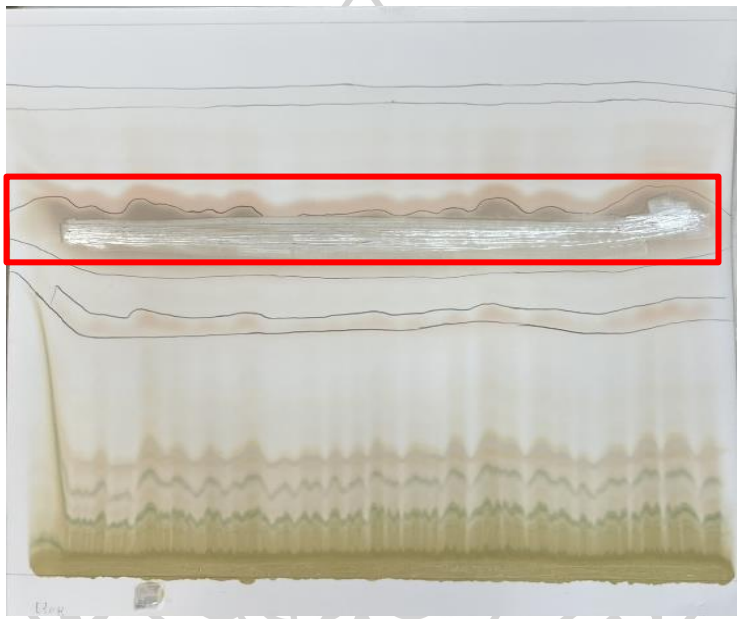
ภาพที่ 30 แสดง ^{1}H-NMR spectrum ของตัวทำละลายของเมทานอล ((Methanol) ที่แยกได้เทียบกับspectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott I et al., 2021)

จาก spectrum ^{1}H-NMR มีตำแหน่งที่สำคัญของ ^{1}H-NMR ซึ่งตรงกับสาร CBN (Cannabinol)ในตัวทำละลายเมทานอล (Methanol)

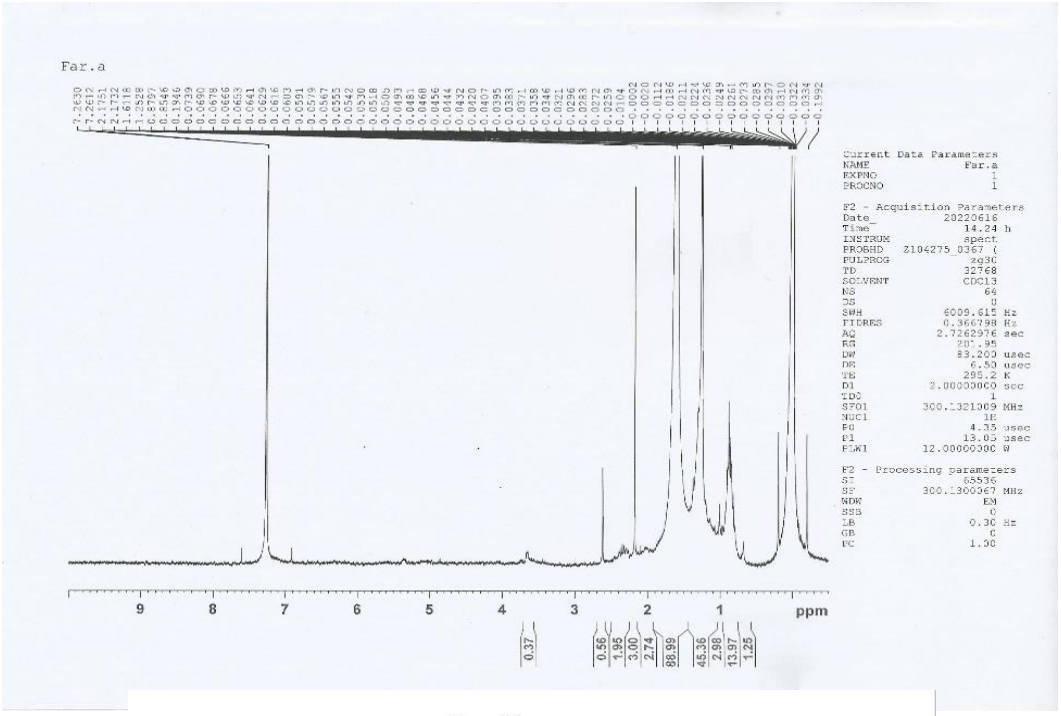
จากการแยกสารบริสุทธิ์ด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิดด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR และเปรียบเทียบกับ Spectrum มาตรฐาน (Barthlott et al., 2021) พบว่า ตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ Hexane, Dichloromethane, Ethyl Acetate, Ethanol และ Methanol พบสารบริสุทธิ์ของกัญชาที่มี

ปริมาณเยอะที่สุดในทุก fractions คือสาร CBN ทั้งนี้ผู้วิจัยมีความสนใจต้องการหาตำแหน่งของสาร THC และ CBD จึงเลือกตัวทำละลาย เอทานอล (Ethanol) เนื่องจากมีความเป็นพิษน้อยที่สุด มาทำการขูดแต่ละแบรนด์ เพื่อนำมาทำการแยกสารด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR พบว่าในตัวทำละลายของเอทานอล (Ethanol) มีตำแหน่งของสารที่น่าสนใจทั้งหมด 4 ตำแหน่ง ดังนี้

4.5.6 ตัวทำละลายของเอทานอล (Ethanol) ในตำแหน่ง a ได้ขูดเอาตำแหน่งดังภาพที่ 31 ไป Run ^{1}H-NMR ผลปากฏเจอ peak ดังภาพที่ 32



ภาพที่ 31 แสดงตำแหน่งสารที่ขูดตัวทำละลาย เอทานอล ตำแหน่ง a พื่อนำไป Run ^{1}H-NMR



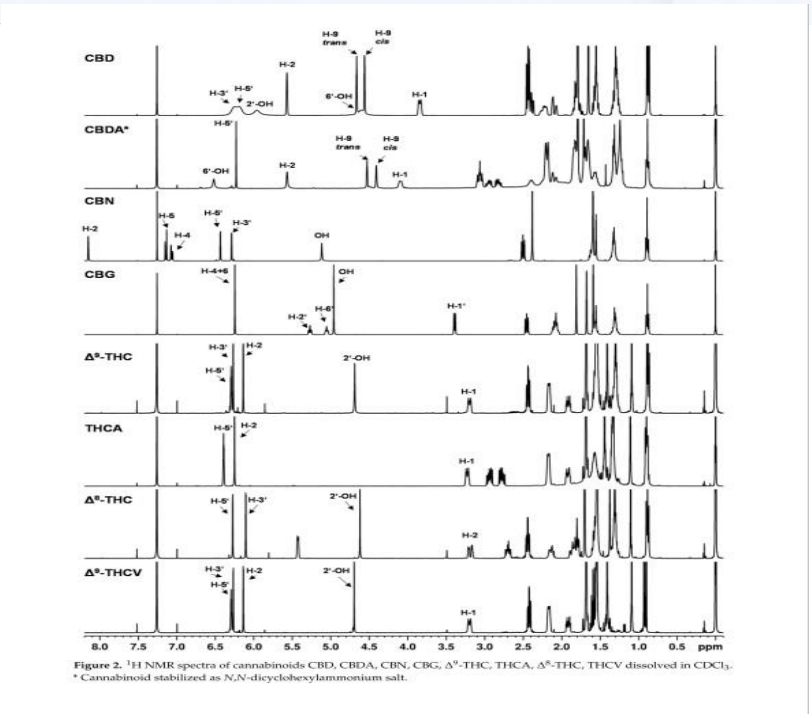
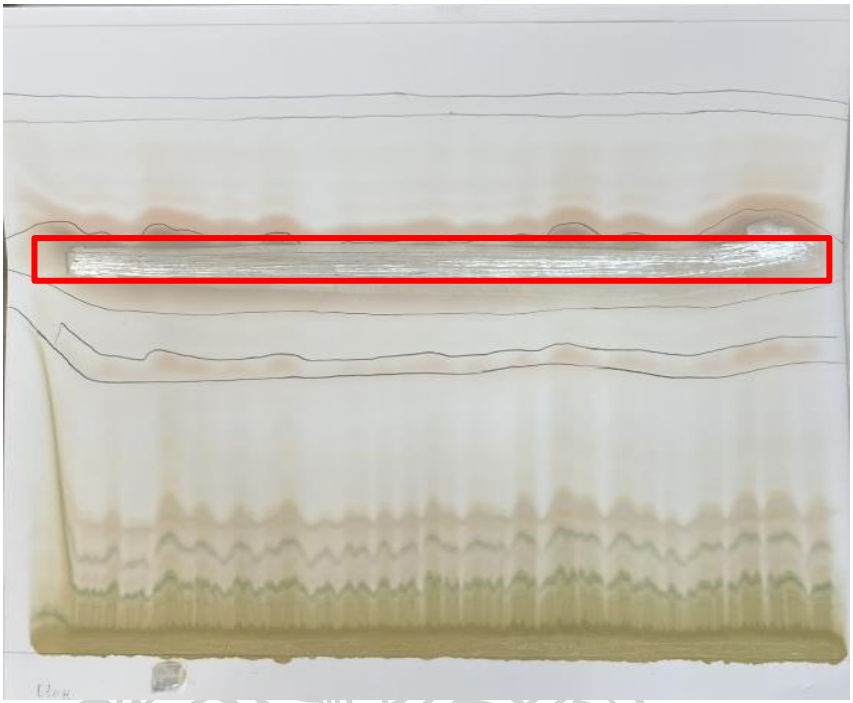


Figure 2. ^{1}H NMR spectra of cannabinoids CBD, CBDA, CBN, CBG, Δ⁹-THC, THCA, Δ⁸-THC, THCV dissolved in $CDCl_3$.
* Cannabinoid stabilized as *N,N*-dicyclohexylammonium salt.

ภาพที่ 32 แสดง ^{1}H-NMR spectrum ตำแหน่ง a ของตัวทำละลายเอทานอล (Ethanol) ที่ แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al., 2021)

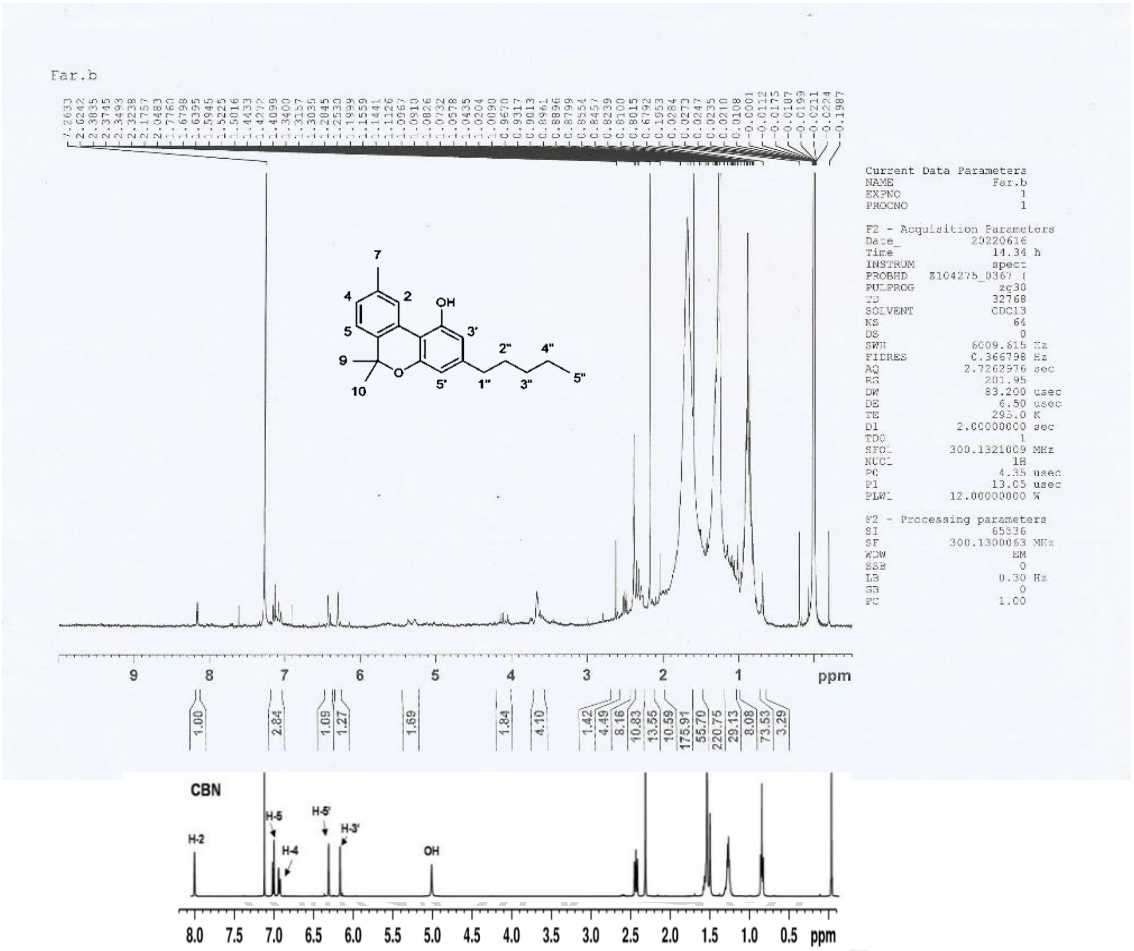
ไม่พบ peak ที่สำคัญตรงกับสารอ้างอิงใดเลย

4.5.7 ตัวทำละลายของเอทานอล (Ethanol) ในตำแหน่ง b ได้ขูดเอาตำแหน่งดังภาพที่ 33 ไป Run ^{1}H-NMR ผลปากฏเจอ peak ดังภาพที่ 34



ภาพที่ 33 แสดงตำแหน่งสารที่ขูดตัวทำละลาย เอทานอล ตำแหน่ง b เพื่อนำไป Run ^{1}H-NMR

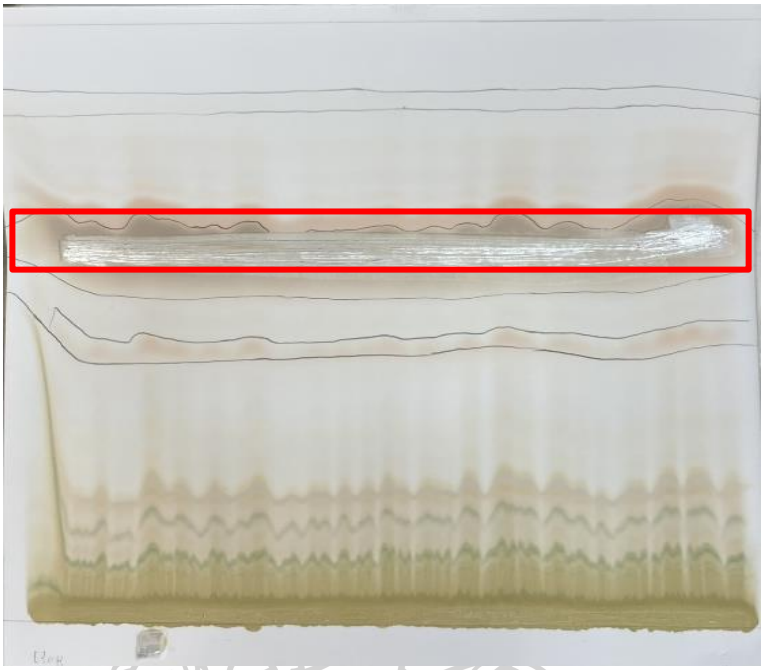
มหาวิทยาลัยศิลปากร



ภาพที่ 34 แสดง ^{1}H-NMR spectrum ตำแหน่ง b ของตัวทำละลายเอทานอ(Ethanol)แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott I et al., 2021)

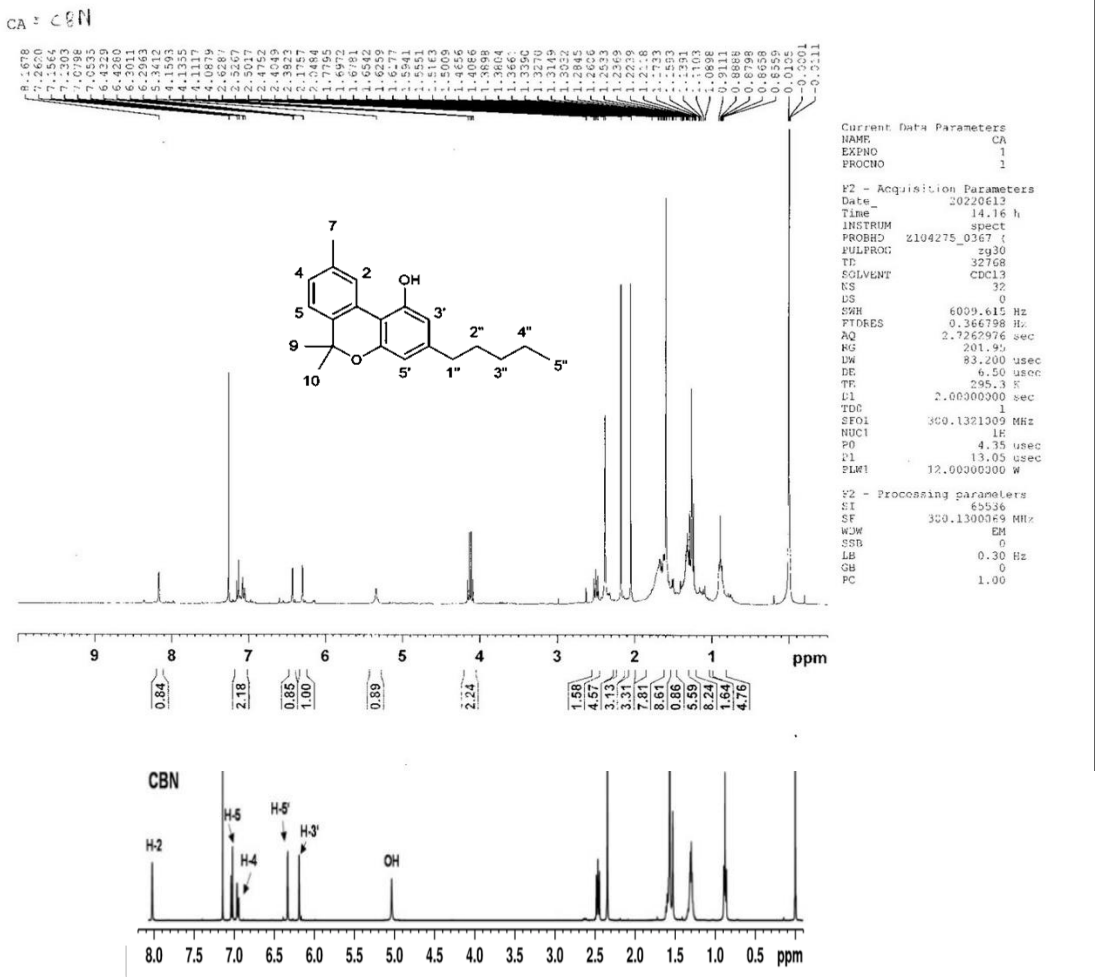
ในตัวทำละลายเอทานอล (Ethanol) ตำแหน่ง b พบpeak ตรงกับสาร CBN (Cannabinol)แต่ยังไม่บริสุทธิ์

4.5.8 ตัวทำละลายของเอทานอล (Ethanol) ในตำแหน่ง c ได้ขูดเอาตำแหน่งดังภาพที่ 35 ไป Run ^{1}H-NMR ผลปากฏเจอ peak ดังภาพที่ 36



ภาพที่ 35 แสดงตำแหน่งสารที่ขูดตัวทำละลายเอทานอล ตำแหน่ง c เพื่อนำไป Run ^{1}H-NMR

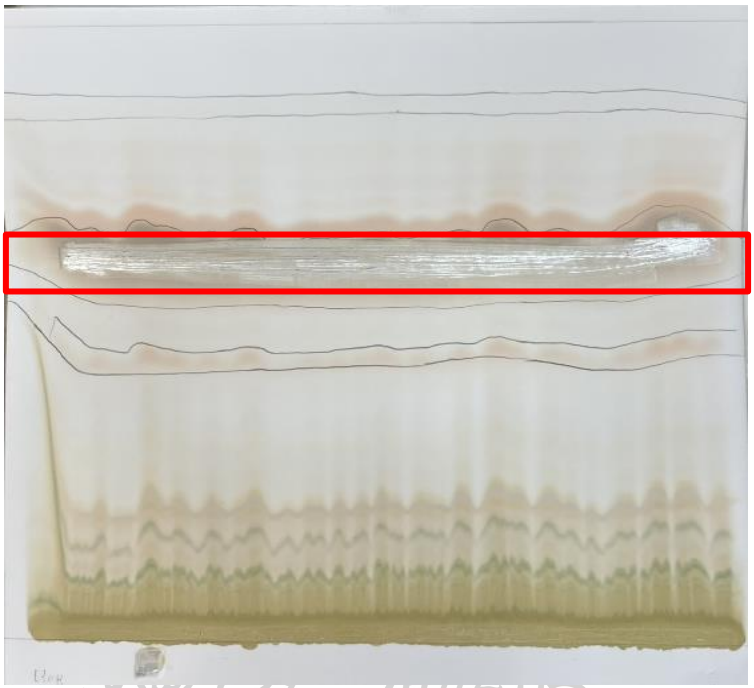
มหาวิทยาลัยศิลปากร



ภาพที่ 36 แสดง ^{1}H-NMR spectrum ตำแหน่ง c ของตัวทำละลายเอทานอล (Ethanol) ที่แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott I et al., 2021)

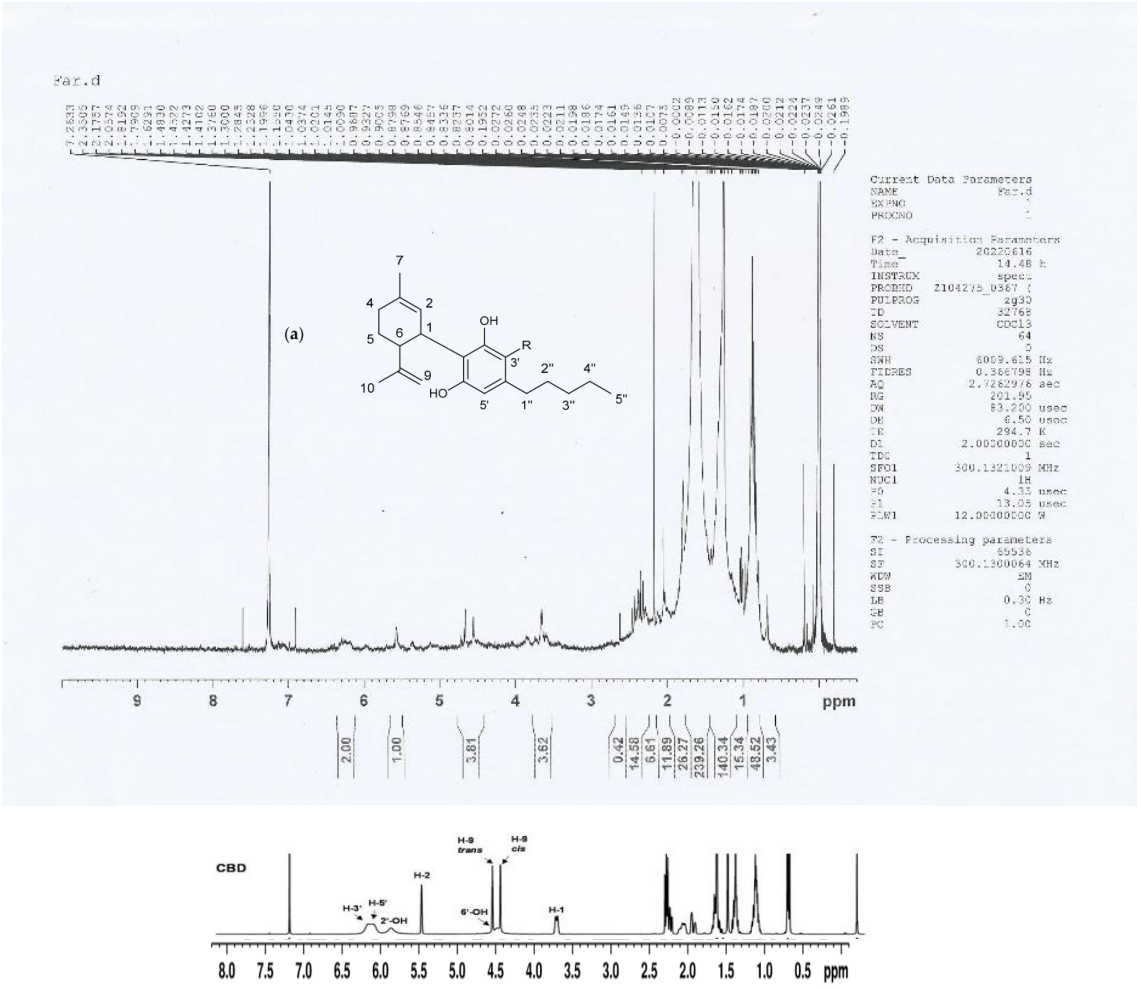
จาก spectrum ^{1}H-NMR มีตำแหน่งที่สำคัญของ ^{1}H-NMR ซึ่งตรงกับสาร CBN (Cannabinol)ในตัวทำละลายเอทานอล (Ethanol) ตำแหน่ง c

4.4.9 ตัวทำละลายของเอทานอล (Ethanol) ในตำแหน่ง d ได้ขูดเอาตำแหน่งดังภาพที่ 37 ไป Run ^{1}H-NMR ผลปากฏเจอ peak ดังภาพที่ 38



ภาพที่ 37 แสดงตำแหน่งสารที่ขูดตัวทำละลาย เอทานอล ตำแหน่ง d เพื่อนำไป Run ^{1}H-NMR

มหาวิทยาลัยศิลปากร



ภาพที่ 38 แสดง ^{1}H-NMR spectrumตำแหน่ง d ของตัวทำละลายเอทานอล(Ethanol) ที่ แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott I et al., 2021)

จาก spectrum ^{1}H-NMR มีตำแหน่งที่สำคัญของ ^{1}H-NMR ซึ่งตรงกับสาร CBD (Cannabidiol)

จากการนำแผ่น TLC ของตัวทำละลายเอทานอล (Ethanol) 4 ตำแหน่ง ได้แก่ a, b, c, d มา run^{1}H-NMR และเทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al., 2021) พบว่าเจอสารสำคัญชนิด CBN ใน 3 ตำแหน่ง คือ a, b และ c ตามลำดับ และเจอสารสำคัญชนิด CBD ในตำแหน่ง d และไม่พบสารTHC ในสารสกัดของกัญชาครั้งนี้

บทที่ 5
สรุปผลการศึกษา และข้อเสนอแนะ

จากการทดลองในงานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการทดลองทั้งหมด 3 เรื่อง คือ การทดสอบสารพฤกษเคมี ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของกัญชาและการแยกสารสำคัญในกัญชาเพื่องานนิติวิทยาศาสตร์ มีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาสารพฤกษเคมี และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบกัญชา สามารถสรุปผล ได้ดังนี้

การเตรียมสารสกัดหยาบกัญชา ใช้ตัวทำละลายทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ Hexane, Dichloromethane, Ethyl acetate, Ethanol, Methanol และน้ำ และนำไปตรวจสอบสารสกัดหยาบด้วยเทคนิคโครมาโทรกราฟีแผ่นบาง (Thin Layer Chromatography; TLC) ผลที่ได้ปรากฏให้เห็นสารชนิดต่างๆ อาจเกิดขึ้นจากสมบัติการมีขั้วของตัวทำละลายซึ่งมีผลต่อความสามารถในการสกัดสารต่างชนิดกัน

การทดสอบองค์ประกอบทางสารพฤกษเคมีของสารสกัดกัญชา โดยการทดสอบสารพฤกษเคมีทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ แอนทราควิโนน, เทอร์พีนอยด์ โดยใช้การทดสอบซาลโควสกี (Salkowski test), ฟลาโวนอยด์, ซาโปนิน, แทนนิน, แอลคาลอยด์ 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

สำหรับการทดสอบของฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของกัญชาด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity พบว่า สารสกัดหยาบทุกชนิดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ความเข้มข้นต่ำสุดจากการทดลอง 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบ Methanol มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับ Vitamin C 53.57±0.06 และ 54.58±0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และนำข้อมูลมาทำการวิเคราะห์ โดยการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ (mean ± standard derivation) การวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการต้านอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) ใช้โปรแกรม IC_{50} Calculator พบว่า ในการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารสกัดกัญชา เพื่อนำมาหาค่า IC_{50} พบว่า ค่าความเข้มข้นของสารสกัดกัญชาที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (IC_{50}) ของตัวควบคุมบวก ได้แก่ Vitamin C เท่ากับ 0.0441 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ พบว่าสารสกัดหยาบ Hexane มีค่าค่าความเข้มข้นของสารสกัดกัญชามีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (IC_{50}) ใกล้เคียงกับตัวควบคุมบวก Vitamin C มากที่สุด คือ 0.0220 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

และในการหาระบบการแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดหยาบด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง(Thin Layer Chromatography; TLC) และนำตัวอย่างสารที่ขูดจากตำแหน่งที่คาดว่าจะเป็นสารสำคัญในกัญชา ไปพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยการ Run^{1}H-NMR พบว่าในตัวทำละลาย Hexane, Dichloromethane, Ethyl acetate และ Methanol พบสารบริสุทธิ์ที่มีปริมาณเยอะในแต่ละ fraction แต่เมื่อนำมาทำการขูดและไปทดสอบด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR พบว่าในทุกแบรนด์พบสารสำคัญในกัญชาคือ CBN และในตัวทำละลาย Ethanol พบสารบริสุทธิ์ของ CBD แต่พบในปริมาณน้อย

ข้อเสนอแนะ

ควรศึกษาหาวิธีการแยกสารบริสุทธิ์ อย่างละเอียด ที่สามารถนำไปใช้เพื่อหาสารสำคัญในกัญชา THC, CBD ให้ได้สารที่มีความบริสุทธิ์มากที่สุด เพื่อยืนยันคุณสมบัติของพืชกัญชาก่อนนำไปใช้ทางคลินิกต่อไป ซึ่งการทดลองนี้อาจเป็นจุดเริ่มต้นที่จะทำให้มีผู้สนใจ และผู้ที่เกี่ยวข้องเห็นความสำคัญและนำพืชกัญชาไปใช้อย่างถูกต้อง ถูกวิธี และถูกกฎหมาย เพื่อไม่เป็นอันตรายต่อการใช้กัญชาเกินขนาดที่ทางกฎหมายกำหนดไว้

มหาวิทยาลัยศิลปากร

รายการอ้างอิง

Abrams, D. I., Jay, C., Shade, S., Vizoso, H., Reda, H., Press, S., Kelly, M., Rowbotham, M., & Petersen, K. (2007). Cannabis in painful HIV-associated sensory neuropathy: a randomized placebo-controlled trial. *Neurology*, 68(7), 515-521.

Atakan, Z. (2012). Cannabis, a complex plant: different compounds and different effects on individuals. *Therapeutic advances in psychopharmacology*, 2(6), 241-254.

Barthlott, I., Scharinger, A., Golombek, P., Kuballa, T., & Lachenmeier, D. W. (2021). A quantitative 1H NMR method for screening cannabinoids in CBD oils. *Toxics*, 9(6), 136.

Borgelt, L. M., Franson, K. L., Nussbaum, A. M., & Wang, G. S. (2013). The P harmacologic and C linical E ffects of M edical C annabis. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 33(2), 195-209.

Fantini, M., Benvenuto, M., Masuelli, L., Frajese, G. V., Tresoldi, I., Modesti, A., & Bei, R. (2015). In vitro and in vivo antitumoral effects of combinations of polyphenols, or polyphenols and anticancer drugs: perspectives on cancer treatment. *International journal of molecular sciences*, 16(5), 9236-9282.

Kaur, G., Alam, M. S., Jabbar, Z., Javed, K., & Athar, M. (2006). Evaluation of antioxidant activity of Cassia siamea flowers. *Journal of ethnopharmacology*, 108(3), 340-348.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*, 4(8), 118.

Radhakrishnan, R., Wilkinson, S. T., & D'Souza, D. C. (2014). Gone to pot–a review of the association between cannabis and psychosis. *Frontiers in psychiatry*, 5, 54.

Russo, E. B. (2007). History of cannabis and its preparations in saga, science, and sobriquet. *Chemistry & biodiversity*, 4(8), 1614-1648.

Wallace, M. S., Marcotte, T. D., Umlauf, A., Gouaux, B., & Atkinson, J. H. (2015). Efficacy of inhaled cannabis on painful diabetic neuropathy. *The Journal of Pain*, 16(7), 616-627.

เฉลิมขวัญ จันดี. (2559). พฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านแบคทีเรียของสารสกัดองุ่นป่า.

มหาวิทยาลัยบูรพา.].

กองควบคุมวัตถุเสพติด. (2558). กัญชา(***Cannabis)***. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข. narcotic.fda.moph.go.th

จุฑารัตน์ ศรีประเสริฐ. (2559). การทดสอบสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของแคนา มหาวิทยาลัยบูรพา].

ฉัตรสุมน พฤฒิภิญโญ. (2560). กฎหมายควบคุมยาเสพติด. วารสารกฎหมายสุขภาพและสาธารณสุข, 3(2), 148-166.

ชาญชัย เอื้อชัยกุล. (2560). พืชกัญชา :ประโยชน์ โทษและข้อเสนอการพัฒนาการกำกับดูแล. https://ccpe.pharmacycouncil.org/index.php?option=article_detail&subpage=article_detail&id=354

บังอร ศรีพานิชกุลชัย. (2562). การใช้กัญชาเพื่อประโยชน์ทางการแพทย์. วารสาร เภสัชศาสตร์อีสาน, 15(4), 1-26.

พีรพจน์ ปิ่นทองดี. (2561). กัญชา: กฎหมายยาเสพติดอันเป็นอุปสรรคต่อการพัฒนากัญชาการแพทย์. วารสารสันติศึกษาปริทรรศน์ มจร, 6(3), 1182-1198.

ระพีพงศ์ สุพรรณไชยมาตย์, & โชษิตา ภาวสุทธิไพศิฐ. (2561). ประโยชน์และโทษที่อาจเกิดขึ้นจากการใช้กัญชาในทางการแพทย์และเปิดเสรีการใช้กัญชา. วารสารวิจัยระบบสาธารณสุข 12(1).

วีรยา ถาอุปชิต, & นุศราพร เกษสมบูรณ์. (2560). การใช้กัญชาทางการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น].

ศูนย์วิจัยสุขภาพกรุงเทพ. (2558). กัญชา. www.bangkokhealth.com

อเนก หาลี, & บุณยกฤต รัตนพันธุ์. (2560). การศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักสมุนไพรพื้นบ้าน 15 ชนิด. วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ 40(2), 283-293.

อรุณรัตน์ สัณฐิติกวินสกุล. (2557). เคมีพืชสมุนไพรท้องถิ่น. มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม.].

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	สุมิตา นิยมเดชา
วัน เดือน ปี เกิด	24 กรกฎาคม 2530
สถานที่เกิด	สงขลา
ที่อยู่ปัจจุบัน	21 หมู่ที่ 1 ซ.บ่อตรุ3(กุโบร์) ต.บ่อตรุ อ.ระโนด จ.สงขลา 9014