

# ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบของกัญชาสายพันธุ์ต่างประเทศ (Cluster Bomb) และสายพันธุ์ไทย (Thai Stick)

## The Antioxidant Activity of Crude Extracts from the Foreign cannabis Strain (Cluster Bomb) and the Thai Strain (Thai Stick)

อริสา โรจนเบญจกุล<sup>1</sup>, ภัทรวดี จิมเล็ก<sup>2</sup>, ญนภัทร วรธรรณัจฉ<sup>3</sup>, คุณพัทธ์ ลามาตีพานนท์<sup>4</sup>, ศิริกาญจน์ บุรณวิทย์ยานนท์<sup>5</sup>, บันทิตา ประังประโคน<sup>6</sup>, สาริต เอี่ยมจงจันทร์<sup>7\*</sup>

Arisa Rojanabenjakul<sup>1</sup>, Pattarawadee Chimlek<sup>2</sup>, Kannapat Waratthanachat<sup>3</sup>, Khunnapat Lamatipanont<sup>4</sup>, Sirakarn Buranavithyanon<sup>5</sup>, Banthita Prangprakhon<sup>6</sup>, Sathid Aimjongjun<sup>7\*</sup>

<sup>1</sup> โรงเรียนนานาชาติฮาร์โรว์ กรุงเทพมหานคร 10210

<sup>2</sup> โรงเรียนสาธิตมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร กรุงเทพมหานคร 10110

<sup>3</sup> โรงเรียนเซนต์โยเซฟคอนเวนต์ กรุงเทพมหานคร 10500

<sup>4</sup> โรงเรียนสาธิตแห่งมหาวิทยาลัยรังสิต จังหวัดปทุมธานี 12000

<sup>5</sup> โรงเรียนจิตจรดดา กรุงเทพมหานคร 10303

<sup>6</sup> โรงเรียนเทพศิรินทร์ร่มเกล้า กรุงเทพมหานคร 10520

<sup>7</sup> ภาควิชาวิทยาศาสตร์พื้นฐานและวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยปทุมธานี จังหวัดปทุมธานี 12000

<sup>1</sup> Harrow International School, Bangkok 10210

<sup>2</sup> Srinakharinwirot University Demonstration School Prasarnmit, Bangkok 10110

<sup>3</sup> Saint Joseph Convent School, Bangkok 10500

<sup>4</sup> Satit Bilingual School of Rangsit University, Pathum Thani 12000

<sup>5</sup> Chitralada School, Bangkok 10303

<sup>6</sup> Debsirin Romklao School, Bangkok 10520

<sup>7</sup> Department of Fundamental and Medical Sciences, Faculty of Allied Health Sciences Pathumthani University, Pathum Thani 12000

\* Corresponding author: E-mail: sathid.a@ptu.ac.th

Received: February 14, 2024;

Revised: July 11, 2024;

Accepted: August 5, 2024

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารสกัดกัญชาจากสองสายพันธุ์ คือ Thai Stick และ Cluster Bomb โดยใช้วิธีการสกัดด้วยสารสกัดตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) และวัดความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ (DPPH assay) และกิจกรรมต้านออกซิเดชันทางการตอบสนองชีวภาพ (FRAP assay) รวมถึงการยับยั้งการเกิด lipid peroxidation ของสารสกัดที่ได้จากช่อดอกใบและลำต้นทั้งสองสายพันธุ์ ผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากดอกของ Cluster Bomb มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและยับยั้งอนุมูลอิสระได้มากกว่า Thai Stick ในทั้ง DPPH assay และ FRAP assay อย่างไรก็ตาม สารสกัดจากใบของ Thai Stick กลับมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและยับยั้งอนุมูลอิสระได้มากกว่า Cluster Bomb ใน FRAP assay โดยสารสกัดจากลำต้นไม่แสดงผลต่างจากสารสกัดจากใบและดอก ดังนั้น การเลือกใช้ส่วนของพืชที่มีสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและยับยั้งอนุมูลอิสระสูงสุด เช่น ดอกหรือใบ และสายพันธุ์ที่สอดคล้องกับสภาวะอากาศจึงเหมาะสมกับการนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมอาหารหรือเครื่องสำอางหรือยาต่างๆ ได้ตามที่ต้องการ

**คำสำคัญ:** กัญชา, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน, สายพันธุ์ไทย, สายพันธุ์ผสมต่างประเทศ

## Abstract

This research aims to study the cannabinoid extracts from two strains of cannabis, Thai Stick and Cluster Bomb. Dichloromethane was used for extraction, and the extracts were evaluated for their free radical scavenging ability (DPPH assay), antioxidant activity (FRAP assay), and inhibition of lipid peroxidation. Results showed that the flower extract of Cluster Bomb exhibited higher antioxidant and free radical scavenging properties compared to Thai Stick in both DPPH and FRAP assays. Conversely, the leaf extract of Thai Stick demonstrated higher antioxidant and free radical scavenging abilities than Cluster Bomb in the FRAP assay. Stem extracts did not show significant differences from leaf and flower extracts. Therefore, selecting plant parts with the highest antioxidant and free radical scavenging properties, such as flowers or leaves, depending on environmental conditions, is suitable for use as raw materials in food, cosmetics, or pharmaceutical industries.

**Keywords:** Cannabis, Antioxidant properties, Lipid peroxidation, Thai strain, Hybrid strains

## บทนำ (Introduction)

พืชสกุลกัญชามีสารสำคัญชื่อว่า "cannabinoids" ที่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นระบบ Endocannabinoid ซึ่งมีบทบาทในการควบคุมสมดุลของร่างกาย เช่น การควบคุมปริมาณน้ำในร่างกาย การควบคุมการหายใจ การควบคุมความเครียด การควบคุมความเข้มข้นของสารอาหาร การควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดและระบบอื่นๆ (Turner et al., 2017) สาร cannabinoids ที่มีความสำคัญในกัญชา ได้แก่ delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) ที่เป็นสารที่มีความเสี่ยงในเรื่องของการก่อให้เกิดฤทธิ์ทางจิต ส่วน Cannabidiol (CBD) มีส่วนช่วยในการลดอาการอักเสบ ควบคุมความวิตกกังวล และแก้ไขอาการเครียด กัญชายังมีสาร cannabinoids อื่นๆ (Romero-Sandoval et al., 2017) ที่มีคุณสมบัติทางการแพทย์ เช่น Cannabigerol (CBG), Cannabinol (CBN) และ Cannabichromene (CBC) นอกจากนี้ในกัญชายังมีสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย (Turner et al., 2017) การทดลองในห้องปฏิบัติการและการศึกษาต่างๆ พบว่า สาร Cannabinoids มีคุณสมบัติทางการแพทย์ด้านอนุมูลอิสระที่สูง ซึ่งเป็นสารที่ช่วยป้องกันการเกิดพิษของเซลล์จากสิ่งแวดล้อม เช่น สารเคมี แสงแดด และอื่นๆ ที่อาจทำให้เกิดความเสียหายกับเซลล์ของร่างกายได้ มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระในกัญชา โดยพบว่ากัญชามีสารต้านอนุมูลอิสระอยู่เป็นจำนวนมาก อาทิเช่น วิตามินซี (Vitamin C), วิตามินอี (Vitamin E) และ โพลีฟีนอล (Polyphenols) เป็นต้น (Turner et al., 2017) (Zagzoog et al., 2020) (Grof, 2018)

ในปัจจุบันการใช้กัญชาในทางการแพทย์ในประเทศไทย ยังไม่ได้รับการยอมรับเป็นทางการอย่างแพร่หลาย เนื่องจากยังไม่ได้มีการพิสูจน์ว่ามีประสิทธิภาพและปลอดภัยอย่างชัดเจน อย่างไรก็ตาม ในปี พ.ศ.2564 ได้มีการประกาศของกระทรวงสาธารณสุขยอมรับในการใช้กัญชาในทางการแพทย์โดยมีเงื่อนไขและกฎระเบียบที่ควบคุมเข้มงวด เพื่อป้องกันการใช้กัญชาในทางการแพทย์เพื่อประโยชน์ส่วนบุคคลหรือใช้ในทางที่ไม่เหมาะสม การใช้กัญชาในทางการแพทย์ในประเทศไทยได้รับความสนใจจากหลายภาคส่วนของสังคม (Assanangkornchai et al., 2022) โดยเฉพาะในการรักษาอาการที่เกี่ยวข้องกับการชัก (Epilepsy) (Huntsman et al., 2020) และอาการปวดเนื่องจากมะเร็ง (Cancer-related pain) (Jett et al., 2018) ซึ่งมีการทดลองใช้กัญชาเพื่อรักษาผู้ป่วยบางรายแล้ว แสดงผลการรักษาที่ดีในหลายกรณี แต่การใช้กัญชาในทางการแพทย์ต้องใช้กับผู้ป่วยที่มีอาการหนักและไม่สามารถรับการรักษาด้วยทางการแพทย์ทั่วไปได้ต้องมีการควบคุมและดูแลตามมาตรฐานของแพทย์และเจ้าหน้าที่สาธารณสุข

การปลูกกัญชาเพื่อการเกษตรในประเทศไทยได้รับความสนใจมากขึ้น เนื่องจากได้รับการแก้ไขให้เป็นกฎหมายแล้วในบางกรณี โดยมีการออกประกาศของรัฐบาลว่าอนุญาตให้ปลูกกัญชาเพื่อใช้ในการผลิตยาและการแพทย์ได้ เช่น กัญชาที่ใช้ในการรักษาโรคมะเร็งและโรคร้ายแรงอื่นๆ โดยกฎหมายได้กำหนดเงื่อนไขในการปลูกกัญชาอย่างเคร่งครัด โดยเฉพาะเรื่องของปริมาณ THC ในกัญชาที่ต้องไม่เกินระดับที่กำหนดโดยกฎหมาย (Assanangkornchai et al., 2022) การปลูกกัญชาเพื่อการเกษตรในประเทศไทยยังเป็นเรื่องใหม่และยังอยู่ในช่วงการพัฒนาและส่งเสริมการใช้งาน จึงต้องมีการศึกษาและพัฒนาเทคโนโลยีการปลูกและการผลิตให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมในประเทศไทย และต้องได้รับการวิจัยของสายพันธุ์กัญชาหรือสารสำคัญในกัญชาที่มีส่วนช่วยให้สารออกฤทธิ์ดีที่สุดและเหมาะสมกับการเพาะปลูกในประเทศไทย เพื่อเป็นประโยชน์ในการนำสารสำคัญไปใช้ในการรักษาโรคต่างๆ ดังนั้น การพัฒนาจากกัญชามีความสำคัญอย่างมาก และได้รับความสนใจจากนักวิจัยและผู้เชี่ยวชาญในด้านการแพทย์ นอกจากนี้สารสกัดจากกัญชามีส่วนผสมที่หลากหลายซึ่งมีฤทธิ์ต่างๆ และมีฤทธิ์ในการป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระ ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้ ต้องการทดสอบพืชสกุลกัญชาสองสายพันธุ์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้สายพันธุ์ต่างประเทศ (Cluster Bomb) สายพันธุ์ไทย (Thai Stick) การศึกษาเปรียบเทียบปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดกัญชา โดยทำการสกัดในส่วนของลำต้น ใบ และดอกในสายพันธุ์ต่างประเทศ (Cluster Bomb) ที่เป็นสายพันธุ์ผสม (hybrid) ระหว่าง Cannabis Sativa L. กับ Cannabis Indica Lam และกัญชาสายพันธุ์ไทย

(Thai Stick) *Cannabis sativa* L. ด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay, Ferric reducing antioxidant power (FRAP) และเปรียบเทียบปริมาณฤทธิ์ต้าน lipid peroxidation ด้วยวิธี TBARs Assay เพื่อเป็นข้อมูลพิจารณาการใช้สายพันธุ์กัญชาที่สอดคล้องกับบริบทการควบคุมและการใช้ตามมาตรฐานการควบคุมของสาธารณสุข พนวกเข้ากับบริบทของสิ่งแวดล้อมและการเกษตรเพื่อที่จะพัฒนาสารสกัดจากกัญชาเชิงในอุตสาหกรรม หรือเป็นข้อมูลพื้นฐานที่ช่วยในการปรับปรุงคุณภาพ และปริมาณของสารสำคัญในแต่ละชนิดของสายพันธุ์ในอนาคต

## วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ (Material and Methodology)

### การเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างกัญชาได้มาจากฟาร์มสวนกระท่อม ดร. ก๊ก เพาะปลูกที่ อำเภอบางระกำ จังหวัดพิษณุโลก พืชทั้งสองชนิดปลูกเมื่อเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2565 และเก็บเกี่ยวในช่วง พฤศจิกายน พ.ศ. 2565 กัญชาทั้งสองชนิดมีอายุประมาณ 4 เดือนก่อนนำมาทำการทดลอง โดยแยกส่วนลำต้น ดอก และใบของกัญชาทั้งสองชนิดมาตากแห้งธรรมชาติเป็นเวลา 5 วัน จากนั้นนำกัญชาที่แห้งแล้ว 50 กรัมผสมกับตัวทำละลาย Dichloromethane 100 mL และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 2 วัน นำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาระเหยในตู้ Fume Hood ละลายสารสกัดตัวอย่างกัญชาอีกครั้งด้วยเมทานอล ให้ได้ปริมาณ 1 มิลลิกรัมต่อ 1 mL และเก็บตัวอย่างสารสกัดเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

### การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยเตรียมสารละลาย DPPH เข้มข้น 0.6 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งสาร DPPH หนัก 0.06 กรัม ละลายด้วยเมทานอลลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL ปรับปริมาตรให้พอดีด้วยเมทานอล โดยมีวิธีการดังนี้ ผสมสารสกัดที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ 0-1000 µg/mL กับสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl radical (DPPH) ในเมทานอลที่มีความเข้มข้น 0.6 มิลลิโมลาร์ อัตราส่วน 1:1 วางไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านไมโครเพลต (microplate reader) รายงานผลเป็นค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ โดยคำนวณจากสมการดังนี้

$$\% \text{ inhibition} = [1 - (\text{OD sample} / \text{OD blank})] \times 100$$

### การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) โดยใช้ FRAP เป็นอนุมูลอิสระ เริ่มจากปิเปตสารสกัดตัวอย่างที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ 0-1000 µg/mL ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ใส่ใน 96 well plate เติมสารละลาย FRAP ปริมาตร 180 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร สำหรับ blank ใช้เมทานอลแทนสารสกัดตัวอย่าง และแสดงค่าเป็นสารมาตรฐานรายงานผลในหน่วยของ ปริมาณ  $\text{Fe}^{2+}$

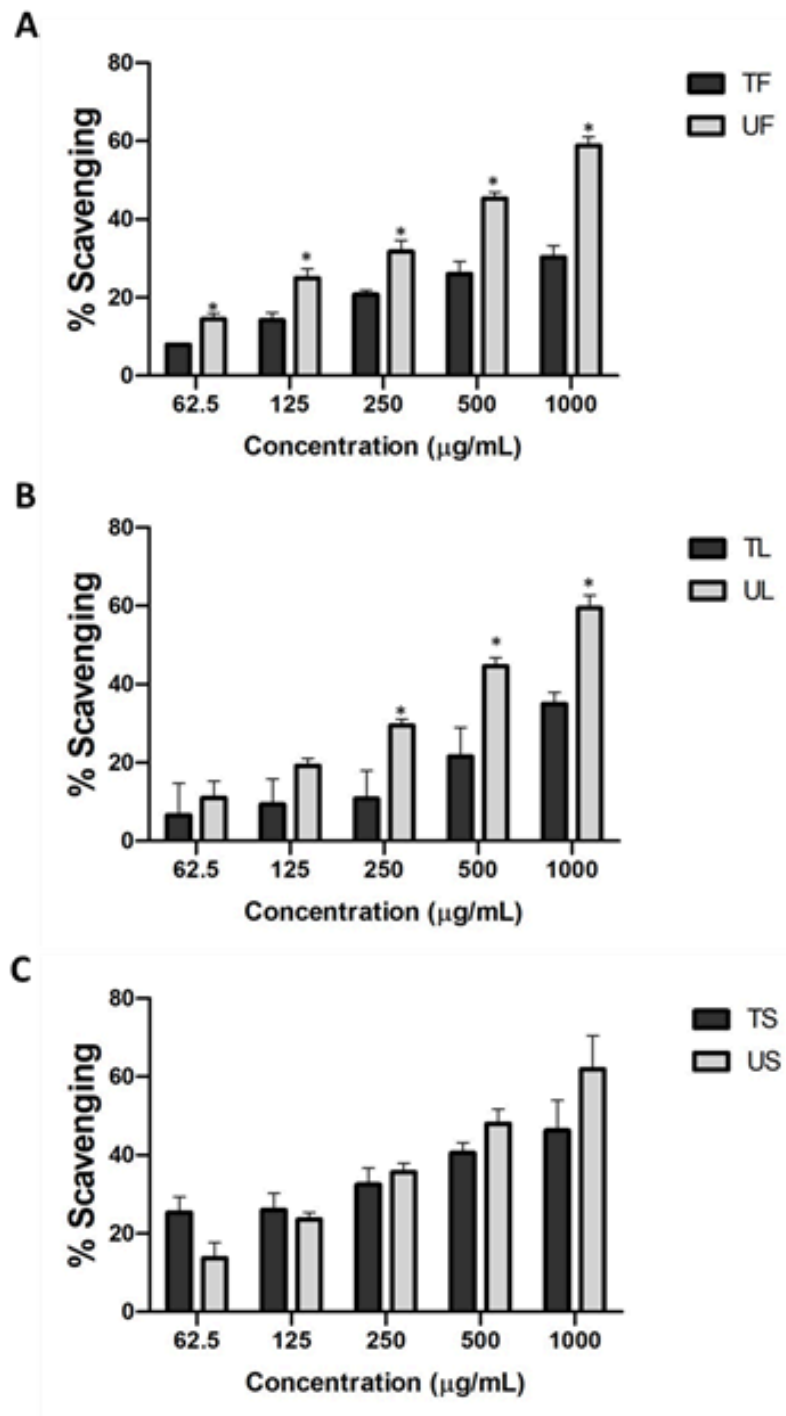
### ทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง lipid peroxidation ของสารสกัดด้วยวิธี TBARs Assay

การทดสอบปฏิกิริยา lipid peroxidation จะวัดโดย thiobarbituric acid reactive substance (TBARs assay) ใช้ homogenous rat brain เป็นแหล่งไขมัน นำไปวัดปริมาณโปรตีนด้วย BCA assay kit ใช้ porcine placenta 4 mg protein/mL บ่มร่วมกับสารสกัดตัวอย่างมีความเข้มข้นต่าง ๆ 0-1000  $\mu\text{g/mL}$  ที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ 37 °C นาน 30 นาที แล้วกระตุ้นการเกิด oxidation ด้วย 0.4 mM ferrous sulfate และ 0.2 mM ascorbic acid จากนั้นเติม TBARs reagent (10% trichloroacetic acid, 1% thiobarbituric acid, 5% HCl และ 1% SDS) แล้ว incubate ที่ 90 °C เป็นเวลา 1 ชม. หลังจากทิ้งให้เย็นนำไปปั่นที่ 5000 rpm 5 นาที และนำส่วนใสไปวัดการดูดกลืนแสงที่ 532 nm

### ผลและอภิปราย (Result and Discussion)

#### ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ radical scavenging activity ของสารสกัดกัญชาสองสายพันธุ์

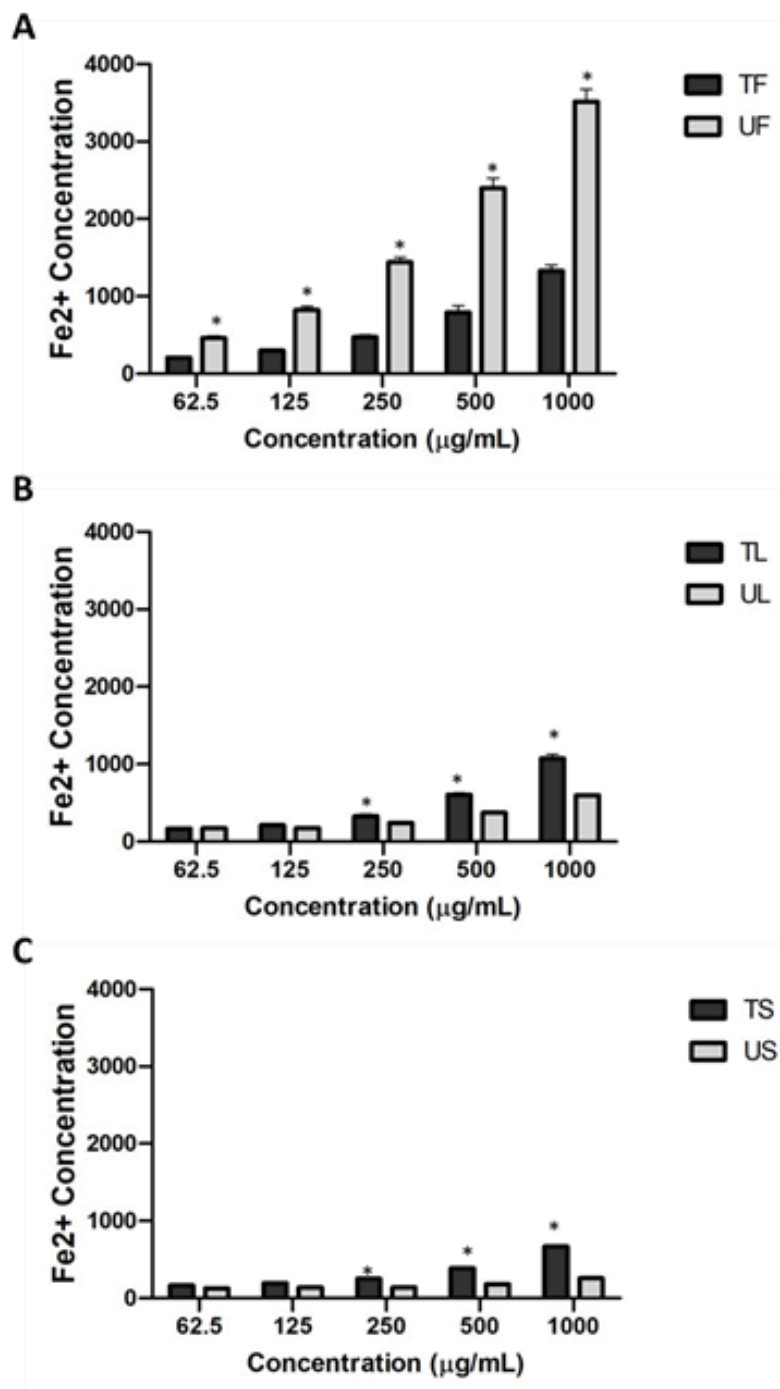
ผลการทดลองพบว่าสารสกัดกัญชาจากส่วนของใบ ดอก และลำต้นสายพันธุ์ Cluster Bomb มีค่า DPPH assay ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสายพันธุ์ Thai Stick โดยค่า % scavenging มีแนวโน้มที่มากขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัด ไม่ว่าจะเป็นสารสกัดจากส่วนของใบ ดอก หรือ ลำต้น นอกจากนี้ยังพบว่าสายพันธุ์ Cluster Bomb มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าสารสกัดจากสายพันธุ์ Thai Stick (ภาพที่ 1) โดยสารสกัดจากใบที่ความเข้มข้นสูงสุด (1,000 mg/mL) ของสายพันธุ์ Flower Cluster จะมีค่า % scavenging ประมาณ 60 ในขณะที่สารสกัดจากใบสายพันธุ์ Thai Stick อยู่ที่ประมาณ 40 (ภาพที่ 1B) และยังพบว่าสารสกัดส่วนของดอกที่ความเข้มข้นสูงสุด (1,000 mg/mL) ของสายพันธุ์ Cluster Bomb จะมีค่า % scavenging ประมาณ 60 เช่นเดียวกัน ส่วนสารสกัดจากส่วนของดอกสายพันธุ์ Thai Stick ประมาณ 30 (ภาพที่ 1A) นอกจากนี้ ค่า % scavenging ของสารสกัดที่ได้จากลำต้นของทั้งสองสายพันธุ์มีแนวโน้มที่ใกล้เคียงกันที่ความเข้มข้น 250, 500 และ 1,000 mg/mL และไม่พบความแตกต่างที่มีนัยสำคัญของสารสกัดทั้งสองชนิดดังกล่าว (ภาพที่ 1C) ดังนั้นสารสกัดกัญชาจากสายพันธุ์ Flower Cluster มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า Thai Stick และน่าจะมีแนวโน้มเป็นพืชที่มีศักยภาพในการสกัดสาร ใช้เป็นส่วนประกอบในการพัฒนาสารสำคัญของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารหรือยาได้ในอนาคต



ภาพที่ 1 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบสายพันธุ์ Thai Stick (T) และ Cluster Bomb (U) ที่ความเข้มข้น 62.5-1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (µg/mL) โดยสารสกัดจากดอก (F), สารสกัดจากใบ (L), สารสกัดจากลำต้น (S), TF, สารสกัดจากดอก Thai Stick, UF, สารสกัดจากดอก Cluster Bomb, TL, สารสกัดจากใบ Thai Stick, UL, สารสกัดจากใบ Cluster Bomb, TS, สารสกัดจากลำต้น Thai Stick, US, สารสกัดจากลำต้น Cluster Bomb \*มีค่า p < 0.05

### ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ของสารสกัดกัญชาสองสายพันธุ์

ผลการทดลองพบว่าสารสกัดกัญชาจากส่วนของใบ ดอกและลำต้นของสายพันธุ์ Cluster Bomb และสายพันธุ์ Thai Stick มีค่าปริมาณความเข้มข้น  $Fe^{2+}$  ที่มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณสารสกัด เช่นเดียวกัน ไม่ว่าจะเป็นสารสกัดจากส่วนของใบ ดอก หรือลำต้น (ภาพที่ 2) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากดอกของสายพันธุ์ Cluster Bomb มีค่าปริมาณความเข้มข้น  $Fe^{2+}$  ที่สูงที่สุดเมื่อเทียบกับสารสกัดจากส่วนของใบและลำต้น โดยสามารถเปลี่ยน  $Fe^{3+}$  เป็น  $Fe^{2+}$  ที่ความเข้มข้น 1,000 mg/mL ได้ค่าความเข้มข้นของ  $Fe^{2+}$  ประมาณ 3500 ในขณะที่ค่าปริมาณความเข้มข้น  $Fe^{2+}$  จากสารสกัดส่วนของดอกจากสายพันธุ์ Thai Stick มีประมาณ 1,300 เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นทั้งสองชนิดดังกล่าวยังพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในทุกความเข้มข้น (ภาพที่ 2A) นอกจากนี้ ยังพบว่าสารสกัดจากสายพันธุ์ Thai Stick และ Cluster Bomb ในส่วนของใบและลำต้นมีค่าปริมาณความเข้มข้น  $Fe^{2+}$  น้อยมากเมื่อเทียบกับสารสกัดที่ได้จากส่วนดอก โดยมีค่า  $Fe^{2+}$  ที่ความเข้มข้นของสารสกัดสูงสุด (1,000 mg/mL) ประมาณ 1000 และยังพบว่าค่า  $Fe^{2+}$  ทุกความเข้มข้นของสารสกัดจากสายพันธุ์ Thai Stick มีมากกว่าสารสกัดจากสายพันธุ์ Cluster Bomb (ภาพที่ 2C) ดังนั้นจากการทดลองนี้สามารถบ่งบอกได้ว่าการเป็น reducing power สารสกัดกัญชาจากส่วนของดอกจากสายพันธุ์ Cluster Bomb มีฤทธิ์การเป็นต้านอนุมูลอิสระที่เป็น reducing antioxidant power ยังคงสูงกว่าสายพันธุ์ Thai Stick ถึงแม้ว่าสารสกัดในส่วนของใบและลำต้นของสายพันธุ์ Thai Stick สูงกว่าสายพันธุ์ Cluster Bomb ก็ตามแต่ยังคงอยู่ในปริมาณที่น้อย ทั้งนี้ อาจขึ้นอยู่กับประกอบหลักอื่นๆ ที่มีฤทธิ์ในการเป็น reducing power ในกัญชงของสายพันธุ์ไทยอาจจะมีมากก็ตามแต่อย่างไรก็ตามค่าปริมาณ  $Fe^{2+}$  ของสายพันธุ์ Cluster Bomb ในส่วนสารสกัดที่ได้จากดอกยังมีค่าที่มากกว่ามากและยังคงมีแนวโน้มเป็นพืชมีศักยภาพในการสกัดสารที่มีฤทธิ์ดีเช่นกัน



ภาพที่ 2 ผลการทดสอบ Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) ของสารสกัดพันธุ์ Thai Strick (T) และ Cluster Bomb (U) ที่ความเข้มข้น 62.5-1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร (µg/mL) โดยสารสกัดจากดอก (F), สารสกัดจากใบ (L), สารสกัดจากลำต้น (S) TF, สารสกัดจากดอก Thai Strick, UF, สารสกัดจากดอก Cluster Bomb, TL, สารสกัดจากใบ Thai Strick, UL, สารสกัดจากใบ Cluster Bomb, TS, สารสกัดจากลำต้น Thai Strick, US, สารสกัดจากลำต้น Cluster Bomb, \* มีค่า  $p < 0.05$



### ฤทธิ์ยับยั้ง lipid peroxidation ของสารสกัดกัญชาสองสายพันธุ์

จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดกัญชาที่มีความเข้มข้น 500 และ 1,000  $\mu\text{g/mL}$  จะสามารถยับยั้งการเกิด lipid peroxidation ได้ โดยสารสกัดจากดอกของสายพันธุ์ Thai Stick มีค่าการยับยั้งการเกิด lipid peroxidation ที่ 20% และ 45% ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจาก Cluster Bomb มีค่าการยับยั้งการเกิด lipid peroxidation ที่ 18% และ 25% ตามลำดับ (ตารางที่ 1) จากผลการทดลองนี้เราสามารถสรุปได้ว่าสารสกัดกัญชาจากสองสายพันธุ์นี้สามารถยับยั้งการเกิด lipid peroxidation ได้ โดย Thai Stick จะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มากกว่า Cluster Bomb ในการยับยั้งการเกิด lipid peroxidation ในความเข้มข้น 1,000  $\mu\text{g/mL}$  นอกจากนี้สกัดจากส่วนของใบของ Thai Stick มีค่าการยับยั้งการเกิด lipid peroxidation ไม่แตกต่างกันกับสารสกัดจากส่วนของดอกของสายพันธุ์ Thai Stick ในทั้งสองความเข้มข้นประมาณคือ 30% และ 40% ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดจากส่วนของใบของ Cluster Bomb มีค่าการยับยั้งการเกิด lipid peroxidation สูงกว่าสารสกัดจากดอกของ Cluster Bomb ในทั้งสองความเข้มข้น คือ 37% และ 42% ตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดจากส่วนของใบและดอกของสายพันธุ์ Cluster Bomb อาจจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิด lipid peroxidation สูงกว่า Thai Stick อย่างไรก็ตามสารสกัดจากส่วนของลำต้นของสายพันธุ์ Thai Stick และ Cluster Bomb มีค่าการยับยั้งการเกิด lipid peroxidation ที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000  $\mu\text{g/mL}$  โดยสารสกัดจากส่วนของลำต้น Thai Stick มีค่าการยับยั้งการเกิด lipid peroxidation ที่ 38% และ 42% ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากส่วนของลำต้นสายพันธุ์ Cluster Bomb มีค่าการยับยั้งการเกิด lipid peroxidation ที่ 41% และ 44% ตามลำดับ โดยสารสกัดจากส่วนของลำต้นสองสายพันธุ์นี้มีค่าการยับยั้งการเกิด lipid peroxidation สูงกว่าสารสกัดจากส่วนของใบและดอกของสองสายพันธุ์นั้นๆ โดยสามารถสรุปได้ว่าสารสกัดกัญชาสามารถยับยั้งการเกิด lipid peroxidation ได้ในทุกส่วนของพืช และสามารถใช้เป็นสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้โดยทั่วไป ซึ่งอาจจะสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการพัฒนาสารสกัดเสริมอาหารหรือยาที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ในอนาคต

ตารางที่ 1 ผลของฤทธิ์ยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของสารสกัดพันธุ์ Thai Strick และ Cluster Bomb ที่ความเข้มข้น 500 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ( $\mu\text{g/mL}$ ) แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเฉลี่ย  $\pm$  SEM

Crude extract concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )	Flowers		Leaves		Stem	
	Thai Strick	Cluster Bomb	Thai Strick	Cluster Bomb	Thai Strick	Cluster Bomb
	% Inhibition		% Inhibition		% Inhibition	
500	22.75 $\pm$ 1.54	19.31 $\pm$ 3.14	29.78 $\pm$ 3.43	36.83 $\pm$ 3.05	36.89 $\pm$ 3.47	45.10 $\pm$ 3.10
1,000	44.29 $\pm$ 2.71	26.08 $\pm$ 1.25	19.31 $\pm$ 1.71	39.89 $\pm$ 2.97	43.92 $\pm$ 2.27	48.13 $\pm$ 2.75

## สรุปผล (Conclusion)

สายพันธุ์กัญชา Thai Stick และ Cluster Bomb มีความแตกต่างกันทั้งทางด้านลักษณะทางกายภาพ และคุณสมบัติทางเคมี ซึ่งอาจจะส่งผลต่อการใช้งานและคุณค่าทางสุขภาพของสองสายพันธุ์นี้ที่โดดเด่นแตกต่างกันไป โดยทั่วไปลักษณะทางกายภาพของกัญชาสายพันธุ์ Thai Stick มีลักษณะที่สูงและแข็งแรง (Somman et al., 2022) ส่วน Cluster Bomb นั้นมีลักษณะที่สั้นและกว้าง และทำให้สายพันธุ์ Thai Stick มักจะมีการเก็บเกี่ยวที่อายุมากกว่า Cluster Bomb (Gilbert & Diverdi 2018) ส่วนทางด้านคุณสมบัติทางเคมี ผู้ทดลองได้ทำการทดสอบฤทธิ์ antioxidant activity ด้วยวิธี DPPH assay พบว่า Cluster Bomb มีฤทธิ์ที่สูงกว่า Thai Stick แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจาก Cluster Bomb สามารถยับยั้งการเกิด free radical ได้มากกว่า Thai Stick โดยเฉพาะเมื่อเข้มข้นสารสกัดเพิ่มขึ้น ในการทดสอบฤทธิ์ antioxidant activity ด้วยวิธี FRAP assay พบว่า Thai Stick มีฤทธิ์ที่สูงกว่า Cluster Bomb แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจาก Thai Stick สามารถลดการเกิด free radical และยับยั้งการเกิด lipid peroxidation ได้ดีกว่า Cluster Bomb ด้วยคุณสมบัติที่แตกต่างกันของสองสายพันธุ์นี้ การเลือกใช้สายพันธุ์กัญชาจึงต้องพิจารณาถึงวัตถุประสงค์และสิ่งที่ต้องการเพื่อให้ได้ผลลัพธ์ที่ต้องการตามความต้องการของผู้ใช้งาน

โดยทั่วไป Thai Stick และ Cluster Bomb ทั้งสองสายพันธุ์นี้เป็นที่รู้จักกันดี ว่าเป็นสายพันธุ์กัญชาที่นิยมปลูกกันทางเศรษฐกิจ โดยเฉพาะ Thai Stick หรือพันธุ์หางกระรอกเป็นพืชกัญชาที่มีลักษณะลำต้นและใบที่แตกต่างจากกลุ่มอื่นๆ โดยใบและลำต้นของกัญชาสายพันธุ์นี้มีความเรียวยาว ลักษณะใบเป็นแบบยาวแบนและเรียวยาวเล็กน้อย มีสีเขียวเข้มและใบจะมีขนาดใหญ่กว่าสายพันธุ์อื่นๆ มีขนที่ลำต้นเป็นสีแดงหรือน้ำตาลส้ม ดอกมีขนาดใหญ่และมีความเข้มข้นของ THC สูงกว่าสายพันธุ์อื่น มีกลิ่นหอมอันเป็นเอกลักษณ์ที่โดดเด่นไปจากสายพันธุ์อื่นๆ จุดเริ่มต้นของสายพันธุ์นี้ พบตามพื้นที่ที่ต่ำกว่าระดับน้ำทะเล ซึ่งทำให้สายพันธุ์นี้มีความเข้มข้นและทนทานต่อสภาพอากาศที่มีความหลากหลายได้สายพันธุ์นี้มีต้นกำเนิดมาจากประเทศไทยและสายพันธุ์นี้เคยเป็นที่นิยมในแวดวงกัญชาในสหรัฐอเมริกาอย่างมาก

ในช่วงปี 1970 อีกทั้งเป็นสายพันธุ์กัญชาที่มีชื่อเสียงและเป็นที่ยอมรับในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และรวมถึงประเทศญี่ปุ่น (Somman et al., 2022) ในขณะที่สายพันธุ์ Cluster Bomb เป็นสายพันธุ์กัญชาที่เกิดมาจากการผสมของสายพันธุ์ Cannabis sativa และ Cannabis indica โดยมีลักษณะลำต้นที่เตี้ยมากกว่าสายพันธุ์ Thai Stick แต่มีอัตราส่วน THC/CBD ที่สูงกว่า ซึ่งทำให้เป็นสายพันธุ์ที่ได้รับความนิยมในการใช้ทางการแพทย์ (Muro & Castella 2021) และกำลังเป็นที่นิยมในการใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์สุขภาพและความงาม เช่น น้ำมันกัญชา ครีมกัญชา และผลิตภัณฑ์สำหรับสุขภาพทางเลือกอื่นๆ (Casiraghi et al., 2020) (Alzeer et al., 2021) (Hsu et al., 2021) สายพันธุ์นี้มีลักษณะใบเลี้ยงเรียวยาว สีเขียวเข้ม ก้านใบสีแดง และต้นไม่สูง มักจะมีการเจริญเติบโตที่รวดเร็วจึงไม่จำเป็นต้องการเวลานานในการปลูก และยังสามารถปลูกได้หลายฤดู นอกจากนี้พืชชนิดนี้ยังมีความต้านทานต่อโรคและแมลงที่สูงกว่าสายพันธุ์อื่นๆ (Jin et al., 2021) ทำให้เกษตรกรสามารถปลูกได้โดยไม่ต้องใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ในทางการเกษตรสายพันธุ์นี้นิยมปลูกเพื่อเก็บเกี่ยวดอกลำต้น เพื่ออุตสาหกรรมเส้นใยและใบซึ่งมีคุณค่าทางเศรษฐกิจสูงในตลาดสินค้ากัญชา (Gloss , 2015) (Stepanink & Kanani, 2021)

นอกจากนี้ผู้ทำการทดลองยังพบว่า สารสกัดจากดอกของกัญชาทั้งสองสายพันธุ์มีฤทธิ์มากกว่าสารสกัดที่ได้จากใบและลำต้น เนื่องจากชื่อหรือดอกมีการสะสมของสารสำคัญอย่างสารทุติยภูมิในพืช (secondary metabolites) ที่มีฤทธิ์สูง เช่น โพลีฟีนอลอยด์, ฟลาโวนอยด์, แอนโทไซยานิน และอื่นๆ ที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) (Siracusa et al., 2023) (Milay et al., 2020) (Melzer et al., 2022) โดยดอกของกัญชามีสารสำคัญที่พบได้หลายชนิด และบางชนิดอาจพบได้เฉพาะที่ดอกและไม่สามารถพบได้ในใบและลำต้น เนื่องจากดอกเป็นส่วนสำคัญในการผลิตเมล็ดพันธุ์สารสำคัญที่พบในใบและลำต้น

เนื่องจากดอกเป็นส่วนที่สำคัญในการผลิตเมล็ดพันธุ์ สารสำคัญที่พบในดอกของกัญชาได้แก่ ไฮโดรคาร์บอน, ไฮโดรไซน, ไฮโดรกวานอลีน, ไฮโดรแกมมา-ไลโคลิน, และไพเรน (Jin et al., 2020) (Mhando et al., 2023) ซึ่งเป็นสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต่อการบรรเทาอาการปวด ลดการอักเสบ และช่วยสมดุลระบบประสาท นอกจากนี้ ยังมีสารสำคัญอื่นๆ เช่น โพลีฟีนอล, ฟลาโวนอยด์, และทีทราโคลาโบล ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์สามารถลดอาการปวดและการอักเสบของเนื้อเยื่อต่างๆ ในร่างกายได้ (Mhando et al., 2023) (Pantoja-Ruiz et al., 2022) ในส่วนใบของกัญชาและกัญชามีสารสำคัญหลายชนิด โดยที่สารสำคัญที่พบได้บ่อยคือ คานาบินอยด์, เทอพินอยด์ และฟลาโวนอยด์ (Tiago et al., 2022) แน่นอนอยู่แล้วว่า Cannabinoid: สารสำคัญที่พบได้ในใบกัญชาได้แก่ THC และ CBD และยังมีกลุ่มของ เทอพินอยด์สารชนิดหนึ่งที่มีกลิ่นหอม เช่น ไลโมนีน, ไมกรีน, ไพนีน, ไลนาลอล (Cantele et al., 2020) มีประโยชน์ในการรักษาโรคต่างๆ เช่น ปวดเมื่อยต่างๆ ซึ่งทำให้กัญชามีกลิ่นหอมที่แตกต่างกันไปตามชนิดของ เทอพินอยด์ รวมถึง ฟลาโวนอยด์ (Anferson et al., 2021) (Wanas et al., 2020) และสารสำคัญที่มีสีส้มสวยงาม เช่น cannflavin A, cannflavin B, apigenin ซึ่งมีฤทธิ์ทางยาและมีประโยชน์ในการรักษาโรคต่างๆ เช่น ตับอักเสบ นิ่วในลำไส้ และมะเร็ง (Ibrahim et al., 2010) (Barrett et al., 1986) ส่วนในลำต้นของกัญชามีสารประกอบหลักได้แก่ สารสีและสารสกัด (resin), สารไขมัน, สารต่างๆ (Vastolo et al., 2021) ที่มีส่วนช่วยในการผลิตสารสีและสารสกัด, และสารซึ่งมีฤทธิ์ทางเคมีที่สำคัญอย่าง THC และ CBD ซึ่งเป็นสารสำคัญที่พบในดอกและใบ นอกจากนี้ยังมีสารอื่นๆ เช่น ฟลาโวนอยด์, เทอพินอยด์, และฟลาโวนอยด์ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชด้วย (Kanabus et al., 2021)

จะเห็นว่าสารสกัดของกัญชงทั้งสองสายพันธุ์จากส่วนต่างๆ พบการออกฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่เหมือนกัน ทั้งนี้ สาร antioxidant ของกัญชงที่สกัดได้อาจขึ้นอยู่กับสารหลัก major compound และสารรอง minor compound ที่พบได้แตกต่างกันในส่วนต่างๆ ของต้นพืชทำให้คุณสมบัติที่ได้แตกต่างกัน (Andre et al., 2016) หรืออาจเป็นความสามารถของคุณสมบัติของสาร antioxidant ขึ้นอยู่กับวิธีการทดสอบและสภาวะสิ่งแวดล้อมที่ใช้ในการทดสอบ สารหนึ่งอาจมีคุณสมบัติ antioxidant ที่ดีเมื่อทดสอบด้วยวิธีหนึ่ง แต่อาจไม่มีคุณสมบัตินั้นเมื่อทดสอบด้วยวิธีอื่นๆ (Pellati et al., 2018) (Walsh et al., 2021) โดยปัจจัยอาจรวมถึงความแตกต่างของกลไกการต้านอนุมูลอิสระที่ต่างกัน เช่น scavenging free radicals หรือ chelating metal ions หรือตัวสารที่เป็นตัวกำเนิด radicals หรือ oxidants ของสารสกัดนั้นๆ (Kornpointner et al., 2021)

เป็นที่น่าสนใจว่าสารสกัดส่วนของดอกที่ได้จากกัญชาของสายพันธุ์ Thai Stick มีความสามารถในการยับยั้งการเกิด lipid peroxidation มากกว่าสายพันธุ์ Cluster Bomb และในขณะเดียวกันก็มีความสามารถในการยับยั้งการเกิดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ Ferric reducing antioxidant power และ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ radical scavenging activity น้อยกว่า Cluster Bomb ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเนื่องมาจากสารสำคัญ Tetrahydrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC) มีปริมาณที่สูงกว่าสายพันธุ์ Cluster Bomb ประมาณ 19 % ซึ่งสารดังกล่าวมีคุณสมบัติมีฤทธิ์ยับยั้ง lipid peroxidation ได้ดีโดยมีการทดลองในหนูทดลองสามารถลดการสร้าง MDA ที่เป็นผลผลิตสุดท้ายของการเกิด lipid peroxidation ที่พบในสมองหนูได้ (Kubiliene et al., 2021) นอกจากนี้  $\Delta^9$ -THC ยังมีความสามารถในการละลายในสารละลายที่เป็นไขมันได้ดีกว่าจึงเห็นผลในการการยับยั้ง lipid peroxidation ได้ดีกว่าเช่นกัน (Sharma et al., 2012)

โดยสรุปกัญชาทั้งสองสายพันธุ์มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันไม่ว่าจะเป็นส่วนของใบ ลำต้นและช่อดอก Thai stick เหมาะเป็นสายพันธุ์ที่ใช้ในทางการแพทย์และควบคุมพิเศษ เพราะมีสาร THC/CBD ในระดับที่สูง ส่วน Cluster Bomb ได้รับการเพาะพันธุ์เพื่อวัตถุประสงค์ทางอุตสาหกรรมเพราะมี THC ในระดับต่ำและ CBD ในระดับที่สูง ดังนั้นการเลือกสายพันธุ์ รวมถึงเลือกส่วนต่างๆของพืชนั้นมีส่วนสำคัญที่จะพัฒนาเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สารสกัดหรือสารตั้งต้นที่จะนำมาพัฒนาเป็นยา โดยผลการศึกษาค้างนี้ อาจเป็นหนึ่งปัจจัยในการหาสายพันธุ์กัญชา เพื่อส่งเสริมทางด้านเศรษฐกิจ และการเกษตรที่อาจจะเอื้อกับวัตถุประสงค์ และศักยภาพของสายพันธุ์กัญชาที่สร้างผลผลิตได้ดีและเหมาะสมกับสภาวะเพาะปลูกในสายพันธุ์นั้นๆ ซึ่งจะส่งผลดีต่อเกษตรกร ผู้ผลิตหรือต่อยอดผลิตภัณฑ์ธรรมชาติหรือผู้ใช้กัญชาเป็นแพทย์แผนทางเลือกได้

### เอกสารอ้างอิง (Reference)

- Alzeer, J., Hadeed, KA., Basar, H., Al-Razem, F., Abdel-Wahhab M.A. & Alhamdan Y. 2021. Cannabis and Its Permissibility Status. *Cannabis Cannabinoid Res*, 6(6): 451-456.
- Andre, C.M., Hausman, J.F. & Guerriero, G. 2016. Cannabis sativa: The Plant of the Thousand and One Molecules. *Front Plant Sci*, 7:19.
- Anderson, S.L., Pearson, B., Kjelgren, R. & Brym, Z. 2021. Response of essential oil hemp (Cannabis sativa L.) growth, biomass, and cannabinoid profiles to varying fertigation rates. *PLoS One*, 16(7): e0252985.
- Assanangkornchai, S., Thaikla, K., Talek, M. & Saingam, D. 2022 Medical cannabis use in Thailand after its legalization: a respondent-driven sample survey. *PeerJ*, 10: e12809.
- Barrett, M.L., Scutt, A.M. & Evans, F.J. 1986. Cannflavin A and B, prenylated flavones from Cannabis sativa L. *Experientia*, 42(4): 452-453.
- Cantele, C., Bertolino, M., Bakro, F., Giordano, M., Jedryczka, M. & Cardenia, V. 2020. Antioxidant Effects of Hemp (Cannabis sativa L.) Inflorescence Extract in Stripped Linseed Oil. *Antioxidants (Basel)*, 9(11).
- Casiraghi, A., Musazzi, U.M., Centin G., Franze, S. & Minghetti, P. 2020. Topical Administration of Cannabidiol: Influence of Vehicle-Related Aspects on Skin Permeation Process. *Pharmaceuticals (Basel)*, 13(11).
- Gilbert, A.N. & DiVerdi J.A. 2018. Consumer perceptions of strain differences in Cannabis aroma. *PLoS One*, 2018. 13(2): e0192247.
- Gloss, D. 2015. An Overview of Products and Bias in Research. *Neurotherapeutics*, 2015. 12(4): 731-4.
- Grof, C.P.L. 2018. Cannabis, from plant to pill. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 84(11): 2463-2467.
- Hsu, Y.H., Fang MC., Huang SC., Kao, Y.M., Tseng, S.H. & Wang, D.Y. 2021. Determination of cannabinoids in hemp oil based cosmetic products by LC-tandem MS. *J Food Drug Anal*, 29(3): 502-509.
- Huntsman, R.J., Tang-Wai, R. & Shackelford, A.E. 2020. Cannabis for Pediatric Epilepsy. *J Clin Neurophysiol*, 37(1): p. 2-8.

- Ibrahim, A.K., Radwan, M.M., Ahmed, S.A., Slade, D., Ross, S.A., Elsohly, M.A. & Khan, I.A. 2010. Microbial metabolism of cannflavin A and B isolated from *Cannabis sativa*. *Phytochemistry*, 71(8-9): 1014-9.
- Jett, J., Stone, E., Warren, G. & Cummings K.M. 2018. Cannabis Use, Lung Cancer, and Related Issues. *J Thorac Oncol*, 13(4): 480-487.
- Jin, D., Dai, K., Xie, Z., & Chen, J. 2020. Secondary Metabolites Profiled in Cannabis Inflorescences, Leaves, Stem Barks, and Roots for Medicinal Purposes. *Sci Rep*, 10(1): 3309.
- Jin, D., Henry, P., Shan, J. & Chen, J. 2021. Classification of cannabis strains in the Canadian market with discriminant analysis of principal components using genome-wide single nucleotide polymorphisms. *PLOS ONE*, 16(6): e0253387.
- Kanabus, J., Bryta, M., Roszko, M., Modrzewska, M. & Pierzgalski, A. 2021. Cannabinoids- Characteristics and Potential for Use in Food Production. *Molecules*, 26, DOI: 10.3390/molecules26216723.
- Kornpointner, C., Martine, A.S., Marinovic, S., Marinovic, S., Haselmair-Gosch, C., Jamnik, P., Schroder, K., Lofke, C. & Halbwirth, H. 2021. Chemical composition and antioxidant potential of *Cannabis sativa* L. roots. *Industrial Crops and Products*, 165: 113422.
- Kubiliene, A., Mickute, K., Baranauskaite, J., Marksa, M., Liekis, A. & Sadauskiene, I. 2021. The Effects of *Cannabis sativa* L. Extract on Oxidative Stress Markers In Vivo. *Life (Basel)*. 2; 11(7): 647.
- Melzer, R., McCabe, P.F. & Schilling, S. 2022. Evolution, genetics and biochemistry of plant cannabinoid synthesis: a challenge for biotechnology in the years ahead. *Current Opinion in Biotechnology*, 75: 102684.
- Mhando, H.B., Sahini, M.G. & Makangara, J.J. 2023. Chemical profiling of *Cannabis sativa* from eleven Tanzanian regions. *Heliyon*, 9(5): e15892.
- Milay, L., Berman, P., Shapira, A., Guberman, O. & Meiri, D. 2020. Metabolic Profiling of Cannabis Secondary Metabolites for Evaluation of Optimal Postharvest Storage Conditions. *Frontiers in Plant Science*, 11.
- Muro, A., Cladellas, R. & Castellà, J. 2021. Cannabis and Its Different Strains. *Exp Psychol*, 68(2): 57-66.
- Pantoja-Ruiz, C., Restrepo-Jimenez, P., Castañeda-Cardona, C., Ferreiros, A. & Rosselli, D. 2022. Cannabis and pain: a scoping review. *Brazilian Journal of Anesthesiology (English Edition)*, 72(1): 142-151.
- Pellati, F., Borgonetti V., Brighenti V., Biagi, V., Biagi, M., Benvenuti, S. & Corsi, L. 2018. *Cannabis sativa* L. and Nonpsychoactive Cannabinoids: Their Chemistry and Role against Oxidative Stress, Inflammation, and Cancer. *Biomed Res Int*, : 1691428.
- Romero-Sandoval, E.A., Kolano, A.L. & Alvarado-Vázquez, P.A. 2017. Cannabis and Cannabinoids for Chronic Pain. *Current Rheumatology Reports*, 19(11): 67.
- Sharma, P., Murthy, P. & Bharath, M.M. 2012 Chemistry, metabolism, and toxicology of cannabis: clinical implications. *Iran J Psychiatry*. Fall;7(4):149-56

- Siracusa, L., Ruberto, G. & Cristino, L. 2023. Recent Research on Cannabis sativa L.:Phytochemistry, New Matrices, Cultivation Techniques, and Recent Updates on Its Brain-Related Effects (2018-2023). *Molecules*, 28(8).
- Sommano, S.R., Tangpao, T., Pankasemsuk, T., Ponpanumas, V., Phimolsiripol, Y., Rachtanapun, P. & Prasad, S.K. 2022. Growing ganja permission: a real gate-way for Thailand's promising industrial crop? *J Cannabis Res*, 4(1): 10.
- Stepaniuk, P. & Kanani, A. 2021. Selective cannabis strain allergy in a patient presenting with a local allergic reaction. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*, 17(1): 49.
- Vastolo, A., Calabrò S., Pacifico S., Koura, B.I. & Cutrignelli, M.I. 2021. Chemical and nutritional characteristics of Cannabis sativa L. co-products. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 105 Suppl 1(Suppl 1): 1-9.
- Walsh, K.B., McKinney, A.E. & Holmes, A.E. 2021. Minor Cannabinoids: Biosynthesis, Molecular Pharmacology and Potential Therapeutic Uses. *Frontiers in Pharmacology*, 12.
- Wanas, A.S., Radwan M.M., Chandra S., Lata, H., Mehmedic, Z., Ali, A., Baser, K., Demirci, B. & Elsohly, M.A. 2020. Chemical Composition of Volatile Oils of Fresh and Air-Dried Buds of Cannabis chemovars, Their Insecticidal and Repellent Activities. *Natural Product Communications*, 2020. 15(5): 1934578X20926729.
- Tiago, F.J., Paiva, A., Matias, AA. & Duarte, A.R.C. 2022. Extraction of Bioactive Compounds from Cannabis sativa L. Flowers and/or Leaves Using Deep Eutectic Solvents. *Frontiers in Nutrition*, 9.
- Turner, S.E., Williams, CM., Iversen, L. & Whalley, B. 2017. Molecular Pharmacology of Phytocannabinoids, in *Phytocannabinoids: Unraveling the Complex Chemistry and Pharmacology of Cannabis sativa*, A.D. Kinghorn, et al., Editors., Springer International Publishing: Cham. 61-101.
- Zagzoog, A., Mohamed, K.A., Kim, H.J.J., Kim, E.D., Frank, C.S., Black, T., Jadhay, P.D., Holbrook, L.A. & Laprairie, R.B. 2020. In vitro and in vivo pharmacological activity of minor cannabinoids isolated from Cannabis sativa. *Scientific Reports*, 10(1): 20405.