



วันที่รับบทความ : 17/08/2566
วันแก้ไขบทความ : 13/09/2566
วันตอบรับบทความ : 15/09/2566

วารสารสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา

Journal of Allied Health Sciences Suan Sunandha Rajabhat University

การวิเคราะห์ปริมาณแคนนาบินอยด์ การทำนายคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์

และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาแก้ปวดสมุนไพรไทยอายุวัฒนะ

ภาณุพันธ์ ศรีพันธุ์¹, ขวลิต โยงรัมย์^{1*}, สุวดี โชคชัยศิริ¹, รัมภ์รดา มีบุญญา¹,

อรรวรรณ วงษ์อนันต์¹, นพดล เหลืองภิรมย์¹, ธวัชชัย กมลธรรม¹,

อนวัตร รุ่งพิสุทธิพงษ์¹, ปัญญา ปัญญาทิพย์², เพลินทิพย์ ภูทองกิ่ง³

สาขาวิชาเภสัชศาสตร์ วิทยาลัยสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา¹

สาขาวิชาเภสัชเวช คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ²

สาขาวิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น³

E-mail: chawalit.yo@ssru.ac.th*

บทคัดย่อ

ตำรับยาแก้ปวดสมุนไพรไทยมีการใช้ในการรักษาโรคต่าง ๆ มาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันซึ่งได้ถูกบันทึกไว้ในคัมภีร์ยาแผนไทยโบราณ โดยตำรับยาแก้ปวดเป็นหนึ่งในตำรับที่มีการใช้มาตั้งแต่สมัยสมเด็จพระนารายณ์มหาราช โดยในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP รวมไปถึงการวิเคราะห์ปริมาณแคนนาบินอยด์ด้วยเทคนิค HPLC และปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมของตำรับยาอายุวัฒนะแก้ปวด 3 ตำรับได้แก่ ตำรับยาอินทจวร ตำรับยาหมวกหัวตะกั่ว และตำรับยาแก้ธาตุพิการ นอกจากนี้ยังศึกษาการทำนายคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของสารแคนนาบินอยด์ที่พบในตำรับยาอายุวัฒนะ จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดตำรับยาอินทจวร มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ $54.21 \pm 1.81 \mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ด้วยวิธี ABTS และตำรับยาหมวกหัวตะกั่วมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงด้วยวิธี DPPH และ FRAP โดยทั้ง 3 ตำรับมีปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมสูง ซึ่งในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค HPLC พบว่ามีปริมาณของ CBDV และ $\Delta 9\text{-THC}$ เป็นสารที่พบได้มากในตำรับยาอายุวัฒนะในแต่ละตำรับ นอกจากนี้แล้วการทำนายคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์พบว่า สารในกลุ่มแคนนาบินอยด์มีคุณสมบัติที่โดดเด่นที่สามารถซึมผ่านเข้าสู่สมองได้ดี ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับยาอายุวัฒนะ 3 ตำรับมีความสัมพันธ์กันกับปริมาณฟีนอลิกรวมและกรดแกลลิก จากผลการวิจัยสามารถสรุปได้ว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาทั้ง 3 มีความสัมพันธ์กันกับปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม นอกจากนี้แล้วผลการทดลองนี้สามารถนำไปพัฒนาตำรับยาแก้ปวดไทยไปสู่เภสัชภัณฑ์ที่ดีได้

คำสำคัญ : อายุวัฒนะ, กัญชา, แคนนาบินอยด์, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

* ผู้ประพันธ์บรรณกิจ



Cannabinoids analysis, pharmacokinetic prediction and antioxidant activity of elixir Thai traditional cannabis recipes

Panupan Sripan¹, Chawalit Yongram^{1*}, Suwadee Chokchaisiri¹, Rumrada Meeboonya¹,
Orawan Wonganan¹, Nophadon Luangpirom¹, Thavatchai Kamoltham¹,
Anuvat Roongpisuthipong¹, Panyada Panyatip², Ploenthip Puthongking³

Division of Cannabis Health Sciences, College of Allied Health Sciences, Suan Sunandha Rajabhat University¹

Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Srinakharinwirot University²

Division of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University³

E-mail: chawalit.yo@ssru.ac.th*

ABSTRACT

The Thai traditional medicinal recipes were used for treatment of several diseases from the past to the present, which have been recorded in the ancient Thai medicine recipe. Cannabis is one of the ingredients in the Thai medicinal recipes of King Narai the Great. In this study, the antioxidant was determined using by DPPH, ABTS and FRAP assays. The cannabinoid content was analyzed by HPLC. The 3 elixirs cannabis medical recipes which are Inthajaworn, Mahawattana, and Kaedhatuphikar, were determined TPC and TFC. In addition, the pharmacokinetic prediction of cannabinoids was studied. The results showed the Inthajaworn extract demonstrated the highest antioxidant activity with IC₅₀ values of 54.21±1.81 µg/ml by ABTS assay. Mahawattana showed high activity with DPPH and FRAP assays. These 3 recipes showed high TPC and TFC values. The results from HPLC analysis showed CBDV and Δ⁹-THC as major compounds in each recipe. The pharmacokinetic prediction of cannabinoids using ADME method showed good pharmacokinetic properties and are permeable into the brain. The correlation analysis, the result showed that the antioxidant activity of 3 recipes showed a significant correlation with TPC and gallic acid content. In conclusion, antioxidant activity of 3 Thai traditional medicinal recipes made with cannabis correlated with total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC). Moreover, the result of this research can be developed from traditional medicinal recipes into pharmaceutical products.

Keywords: Elixirs, Cannabis, Cannabinoids, Antioxidant

* Corresponding Author



บทนำ

พืชสมุนไพรยังคงเป็นยาที่ใช้ในการรักษาโรคเบื้องต้นในประเทศไทย โดยมีตำรับยาไทยที่ได้ถูกบรรจุไว้ในบัญชียาหลักแห่งชาติที่ใช้ในการรักษาโรคต่าง ๆ¹ การใช้กัญชาโดยใช้เป็นสมุนไพรได้ถูกบันทึกไว้ในสมัยสมเด็จพระนารายณ์มหาราชโดยกัญชาเป็นยาสำหรับพระมหากษัตริย์ สำหรับประชาชนใช้กัญชามาปรุงอาหารและบริโภคได้² ในตำรับยาที่มีกัญชาเป็นส่วนประกอบในตำรับยาแผนไทยโบราณสามารถใช้ในการรักษาโรคต่าง ๆ ได้โดยมีสรรพคุณช่วยให้นอนหลับ เป็นยาชูกำลัง เจริญอาหาร³ พืชกัญชามีส่วนที่ใช้เป็นตัวยาในตำรับเกือบทุกส่วน ไม่ว่าจะเป็น ราก ต้น ใบ ดอก ผล โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ช่อดอกเพศเมีย (มีฤทธิ์แรงที่สุด) ในตำรับสรรพคุณยาไทยระบุว่ากัญชามีรสเมาเบื่อ ใบมีสรรพคุณแก้หอบหืด เจริญอาหาร ชูกำลัง แต่ทำให้จิตใจ ขลาดกลัว ตาลาย ดอกมีสรรพคุณแก้โรคประสาท ทำให้นอนหลับ เจริญอาหาร กัดเสมหะในคอ เป็นต้น⁴

ตำรับยาอายุวัฒนะเป็นยาช่วยบำรุงธาตุ เจริญอาหาร ช่วยทำให้นอนหลับ ในประเทศมอริเชียส มีการใช้ตำรับยาอายุวัฒนะที่มีชื่อว่า Harpago และ Hemidesmus ที่สามารถในการรักษาโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์⁵ ในประเทศไทยได้พบบันทึกตำรับยาอายุวัฒนะในสมุดข่อยของแพทย์สมัยโบราณในรัชสมัยสมเด็จพระนารายณ์มหาราช และตำรายาของสมเด็จพระมหาสมณเจ้า กรมพระยาปวเรศวริยาลงกรณ์⁶ โดยตำรับยาอินทจวร เป็นตำรับยาที่ใช้เป็นยาอายุวัฒนะ ชูกำลัง และช่วยในการขับถ่าย ตำรับยามหาวัฒนะใช้ในการแก้ฉันทนุติโรค 98 ประการ และ

ตำรับยาแก้ธาตุพิการมีสรรพคุณช่วยในการขับลม ช่วยให้นอนหลับและรับประทานอาหารได้ ซึ่งทั้ง 3 ตำรับเป็นตำรับยาที่บันทึกไว้อยู่ในคัมภีร์แผนไทยที่ใช้เป็นยาอายุวัฒนะ⁷

สารที่ใช้เป็นยาอายุวัฒนะ ด้านความขรา ทำให้อายุยืนยาวและรักษาโรคได้อาจเป็นสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ⁸ ซึ่งสารที่ยับยั้งอนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในทั้งระบบอาหารและในร่างกายมนุษย์ เพื่อลดกระบวนการออกซิเดชัน ได้แก่ สารในกลุ่มฟีนอลและฟลาโวนอยด์ ที่ช่วยในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ที่มีอยู่ในพืชสมุนไพรและพืชที่กินได้⁹ รวมไปถึงสารในกลุ่มแคนนาบินอยด์ ที่พบได้ในพืชสกุลกัญชาและพืชอื่น ๆ ได้แก่พืชสกุล *Helichrysum* สกุล *Radula* และสกุล *Rhododendron* อีกด้วย¹⁰

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำรับยาอายุวัฒนะทั้ง 3 ได้แก่ ตำรับยาอินทจวร ตำรับยามหาวัฒนะ และตำรับยาแก้ธาตุพิการ
2. เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและทำนายคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของสารแคนนาบินอยด์ในตำรับยาอายุวัฒนะทั้ง 3 ตำรับ

ระเบียบวิธีการวิจัย

1. การเตรียมตำรับยาอายุวัฒนะ

การเตรียมตำรับยาเข้ากัญชา 3 ตำรับได้เตรียมตามตำรับยาแผนไทยของชาติที่เข้าด้วยกัญชา ได้แก่ ยาอินทจวร ยามหาวัฒนะ และยาแก้ธาตุพิการ จากนั้นนำสมุนไพรแต่ละตัวมาบดเป็นผงและใช้ผงเครื่องยามาผสมรวมกันเป็นตำรับยาดังนี้



ยาอินทจวร ใช้ผงเครื่องยาได้แก่ หิงยางโพธิ์ 1.00 g ว่านน้ำ 2.00 g ลูกพิลังกาสา 2.00 g ชิงแห้ง 2.00 g พริกไทย 1.00 g กัญชา 1.00 g ดีปลี 4.46 g และบุงรอก 37.00 g ผสมให้เข้ากัน

ยามหาวิฆเนศ ใช้ผงเครื่องยาได้แก่ ลูกจันทน์ 0.30 g ดอกจันทน์ 0.30 g กระวาน 0.30 g กานพลู 0.30 g เทียนดำ 0.62 g เทียนขาว 0.62 g เทียนแดง 0.62 g เทียนสัตตบุษย์ 0.62 g เทียนยาวพาวณี 0.62 g โกฐสอโกฐเขมา 0.62 g โกฐกั๊กกรา 0.62 g โกฐพุงปลา 0.62 g บอระเพ็ด 0.62 g ใบกัญชา 0.62 g หัสศุน ทั้งสอง 0.62 g ลูกพิลังกาสา 0.62 g รากไคร้เครือ 0.62 g หัวหมูใหญ่ 0.62 g ขมิ้นอ้อย 0.62 g พริกหอม 0.62 g พริกทาง 0.62 g ดีปลี 12.98 g และใบกระเพราแห้ง 25.96 g ผสมให้เข้ากัน

ยาแก้ธาตุพิการ ใช้ผงเครื่องยาได้แก่ รากข้าพลุ 1.86 g ดีปลี 35.70 g ผักแพรวแดง 9.60 พริกไทย 1.80 g และใบกัญชา 1.80 g ผสมให้เข้ากัน⁷

2. การเตรียมสารสกัด

การสกัดสารตัวอย่างเริ่มโดยนำตัวอย่างตำรับยาเข้ากัญชา 3 ตำรับได้แก่ ยาอินทจวร ยาอายุวัฒนะ และยาแก้ธาตุพิการ อย่างละ 20 g เติมน้ำ 95% เอทานอล 100 mL มาสกัดโดยใช้วิธีโซนิเคชัน เป็นเวลา 30 นาที (3 ครั้ง) จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แล้วนำสารละลายที่ได้ไประเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ ซึ่งได้ร้อยละผลได้ของตำรับยาอายุวัฒนะทั้ง 3 ตำรับดังนี้ ตำรับยามหาวิฆเนศ 7.15%, ตำรับยาแก้ธาตุพิการ 7.05% และตำรับยาอินทจวร 4.75%

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.1 วิธี DPPH radical-scavenging

เตรียมสารสกัดแต่ละตำรับให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ และผสมกับสารละลาย DPPH (ให้มีความเข้มข้นสุดท้าย 10-500 µg/ml) แล้วบ่มสารผสมเป็นเวลา 30 นาที ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH ที่ 517 nm โดยใช้ Trolox เป็นกลุ่มควบคุมเชิงบวก คำนวณค่า %Inhibition และสร้างกราฟระหว่าง %Inhibition กับความเข้มข้นเพื่อหาค่า IC₅₀ ในหน่วย µg/ml¹¹

$$\%Inhibition = [(A_{control} - A_{sample}) / A_{control}] \times 100$$

3.2 วิธี ABTS radical scavenging

ABTS จะถูกทำให้เป็นอนุมูลอิสระด้วย potassium persulfate (2.45 mM) ในน้ำกลั่น บ่มเป็นเวลา 18 ชั่วโมง ก่อนการใช้งาน ผสมสารตัวอย่างที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กับสารละลาย ABTS ในอัตราส่วนที่เท่ากัน โดยบ่มเป็นเวลา 10 นาที ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของ ABTS ที่ 415 nm โดยใช้ Trolox เป็นกลุ่มควบคุมเชิงบวก คำนวณค่า %Inhibition และสร้างกราฟระหว่าง %Inhibition กับความเข้มข้นเพื่อหาค่า IC₅₀ ในหน่วย µg/ml¹²

$$\%Inhibition = [(A_{control} - A_{sample}) / A_{control}] \times 100$$

3.3 วิธี Ferric reducing/antioxidant power (FRAP)

สารละลาย FRAP ถูกเตรียมโดยการผสมระหว่าง 300 mM acetate buffer pH 3.6, 10



mM TPTZ ใน 40 mM HCl และ 20 mM FeCl₃ solution ในอัตราส่วน 10:1:1 หลังจากนั้นนำสารละลาย FRAP มาทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างที่แปรผันความเข้มข้นในถาดหลุดชนิด 96 หลุม (96 well plate) บ่มเป็นเวลา 4 นาที ที่อุณหภูมิ 37°C แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 nm โดยใช้ Trolox เป็นกลุ่มควบคุมเชิงบวก และคำนวณค่า FRAP ในหน่วย mmol/100 g extract¹³

4. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

4.1 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม
การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu (ทำการเจือจาง Folin-Ciocalteu ในน้ำกลั่น 10 เท่าก่อนการทดสอบ) ในการทดสอบจะผสมสารตัวอย่างกับ Folin-Ciocalteu ในถาดหลุดชนิด 96 หลุม (96 well plate) บ่มเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม 7% sodium carbonate บ่มเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 nm ของ blue chromophore และคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวมซึ่งผลที่ได้จะแสดงผลในหน่วย mg gallic acid equivalents ใน 1 กรัมของน้ำหนักแห้งของสารสกัด (mg GAE/g extract)¹⁴

4.2 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม
การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดในแต่ละตัวอย่างจะใช้ปฏิกิริยาระหว่างสารละลายตัวอย่างผสมกับ 2% AlCl₃ ในอัตราส่วน 1:1 ในถาดหลุดชนิด 96 หลุม (96 well plate) บ่มเป็นเวลา 20 นาทีที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 nm และคำนวณหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม โดยแสดงผลในหน่วย mg

quercetin equivalents ใน 1 g ของน้ำหนักแห้งของสารสกัด (mg QE/g extract)¹⁵

4.3 การหาปริมาณแคนนาบินอยด์ด้วยเทคนิค HPLC

การวิเคราะห์ปริมาณแคนนาบินอยด์ได้แก่ Cannabidiol (CBDV), Cannabidiolic acid (CBDA), Cannabigerolic acid (CBGA), Cannabigerol (CBG), Cannabidiol (CBD), Tetrahydrocannabivarin (THCV), Cannabinol (CBN), Delta-9 - tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC), Cannabichromene (CBC) และ Tetrahydrocannabinolic acid (THCA) โดยใช้เครื่อง HPLC (Shimadzu Prominence-i LC-2030C 3D; Kyoto, Japan) ด้วยคอลัมน์ Shimadzu NexLeaf CBX for potency C18, 2.7 μ m particle size, 150x4.6 mm (Columbia, MD, USA) โดยใช้ mobile phase ที่เป็นส่วนผสมระหว่าง 0.085% H₃PO₄ (v/v) ในน้ำ (solvent A) และ 0.085% H₃PO₄ (v/v) ใน acetonitrile (solvent B) ซึ่งใช้ระบบ gradient program เริ่มจาก 0-3 นาที, 70% solvent B; จาก 3-7 นาที, 85% solvent B; จาก 7-8 นาที, 95% solvent B; จาก 8-12 นาที, 70% solvent B ที่อัตราการไหล 1.6 mL/min อุณหภูมิคอลัมน์ 35°C และฉีดสารตัวอย่างปริมาตร 5 μ L โดยใช้ UV-diode array detector ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 220 nm ซึ่ง HPLC chromatogram ของสารตัวอย่างจะถูกเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน cannabinoid ที่เวลาเดียวกัน¹⁶

5. การทำนายคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์

การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของสารที่เป็นองค์ประกอบที่พบในสารสกัดตำรับยา



อายุวัฒนะเพื่อวิเคราะห์และคัดกรอง การดูดซึม (Absorption) กระจายตัว (Distribution) เพาผลาญ (Metabolism) และขับถ่าย (Excretion) [ADME] โดยใช้โปรแกรม SwissADME ของ Molecular Modelling Group of the Swiss Institute of Bioinformatics¹⁷

6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลต่าง ๆ จะถูกแสดงในรูปแบบ ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน การวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยใช้เทคนิค one-way ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างด้วยวิธี Tukey's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

ผลการวิจัย

1.ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาอายุวัฒนะทั้ง 3 ตำรับด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP แสดงดังตารางที่ 1 จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าตำรับยา

หาวัฒนะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 175.34 ± 0.67 $\mu\text{g/ml}$ รองลงมาได้แก่ ตำรับยาอินทจวร (188.71 ± 2.45 $\mu\text{g/ml}$) และตำรับยาแก้ธาตุพิการ (331.42 ± 4.19 $\mu\text{g/ml}$) ตามลำดับ ซึ่งการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS พบว่าตำรับยาอินทจวรมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 54.21 ± 1.81 $\mu\text{g/ml}$ รองลงมาได้แก่ ตำรับยาหาวัฒนะ และตำรับยาแก้ธาตุพิการ ตามลำดับ และการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP พบว่าตำรับยาอายุวัฒนะทั้ง 3 ตำรับมีค่า FRAP อยู่ในช่วง 103.30 ถึง 198.65 $\text{mmol}/100$ g extract ซึ่งตำรับยาหาวัฒนะฤทธิ์สูงที่สุด โดยมีค่า FRAP เท่ากับ 198.65 ± 8.78 $\text{mmol}/100$ g extract ตามลำดับ และพบว่าตำรับยาอินทจวรและตำรับยาแก้ธาตุพิการมีฤทธิ์ใกล้เคียงกัน แต่อย่างไรก็ตามสารสกัดตำรับยาอายุวัฒนะทั้ง 3 ตำรับยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่า Trolox ซึ่งเป็นสารมาตรฐานในทุกวิธีการทดสอบ

ตารางที่ 1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาอายุวัฒนะ 3 ตำรับ

ตำรับยาอายุวัฒนะ	DPPH; IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	ABTS; IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	FRAP ($\text{mmol}/100$ g extract)
ยาอินทจวร	188.71 ± 2.45^c	54.21 ± 1.81^b	107.95 ± 5.94^c
ยาหาวัฒนะ	175.34 ± 0.67^b	60.92 ± 1.55^c	198.65 ± 8.78^b
ยาแก้ธาตุพิการ	331.42 ± 4.19^d	80.23 ± 1.25^d	103.30 ± 1.38^c
Trolox	4.89 ± 0.03^a	2.97 ± 0.06^a	2506.15 ± 13.60^a

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษหมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบระหว่างแถวในคอลัมน์เดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



2. ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมของตำรับยาอายุวัฒนะ 3 ตำรับ

การศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมของตำรับยาอายุวัฒนะ พบว่าตำรับยายามหาวิวัฒนะมีปริมาณฟีนอลิกรวมมากที่สุด (38.63 ± 0.84 mg GAE/g extract) อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งรองลงมาได้แก่ ตำรับยาอินทจวร และตำรับยาแก้ธาตุพิการ โดยมีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 37.02 ± 1.40 และ

22.30 ± 1.55 mg GAE/g extract ตามลำดับ ดังตารางที่ 2 และการศึกษาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมพบว่าสารสกัดตำรับยาอายุวัฒนะมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมอยู่ในช่วง 40.02 ถึง 72.79 mg QE/g extract ซึ่งตำรับยายามหาวิวัฒนะมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ รองลงมาได้แก่ ตำรับยาแก้ธาตุพิการ และตำรับยาอินทจวร ตามลำดับดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมของตำรับยาอายุวัฒนะ 3 ตำรับ

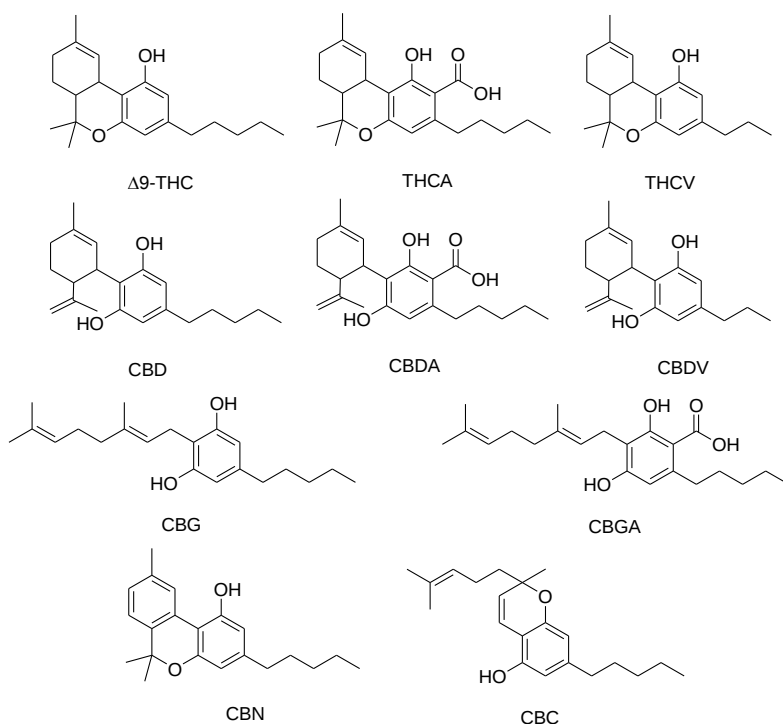
ตำรับยาอายุวัฒนะ	TPC	TFC
	(mg GAE/g extract)	(mg QE/g extract)
ยาอินทจวร	37.02 ± 1.40^a	40.02 ± 0.46^b
ยามหาวิวัฒนะ	38.63 ± 0.84^a	72.79 ± 0.20^a
ยาแก้ธาตุพิการ	22.30 ± 1.55^b	56.19 ± 0.20^b

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษหมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบระหว่างแถวในคอลัมน์เดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3. การวิเคราะห์ปริมาณแคนนาบินอยด์ด้วยเทคนิค HPLC

การวิเคราะห์ปริมาณแคนนาบินอยด์ 10 สาร ได้แก่ CBDV, CBDA, CBGA, CBG, CBD, THCV, CBN, Δ^9 -THC, CBC และ THCA ดังภาพที่ 1 โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานแคนนาบินอยด์ในช่วงความเข้มข้น 0.5-100 ppm ดังตารางที่ 3 ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าปริมาณสัมพัทธ์ของแคนนาบินอยด์ในตำรับยาแก้ธาตุพิการ มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 15.89 ± 0.32 mg/g extract รองลงมาได้แก่ ตำรับยาอินทจวร (5.00 ± 0.03 mg/g extract) และตำรับยามหาวิวัฒนะ (3.93 ± 0.01 mg/g extract) ตามลำดับ

ดังตารางที่ 2 โดยใน ตำรับยาแก้ธาตุพิการปริมาณสารอยู่ในช่วง 0.23-7.15 mg/g extract ซึ่งพบว่ามี Δ^9 -THC มากที่สุด ตำรับยาอินทจวรปริมาณสารอยู่ในช่วง 0.48-2.05 mg/g extract ซึ่งพบว่ามี CBDV มากที่สุด และตำรับยามหาวิวัฒนะปริมาณสารอยู่ในช่วง 0.38-1.79 mg/g extract ซึ่งพบว่ามี CBDV มากที่สุดดังตารางที่ 4 แต่อย่างไรก็ตามไม่พบปริมาณ CBDA ในตำรับยาทั้ง 3 ตำรับ ซึ่งสามารถสรุปได้ว่า CBDV และ Δ^9 -THC เป็นสารสำคัญที่มีปริมาณมากที่สุดที่พบได้ในตำรับยาอายุวัฒนะทั้ง 3 ตำรับ



ภาพที่ 1 โครงสร้างของสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

ตารางที่ 3 สมการเส้นตรงและค่า R^2 ของสารมาตรฐานแคนนาบินอยด์

สารมาตรฐาน	สมการเส้นตรง	R^2
CBDV	$y = 13259.6x - 480.096$	0.9996
CBDA	$y = 24238.6x - 1288.65$	0.9995
CBGA	$y = 13098.9x - 768.586$	0.9995
CBG	$y = 12656.6x - 588.956$	0.9996
CBD	$y = 12835.8x - 565.245$	0.9996
THCV	$y = 12942.2x - 483.047$	0.9996
CBN	$y = 19782.9x - 1168.59$	0.9994
Δ9-THC	$y = 12708.8x - 255.379$	0.9997
CBC	$y = 11972.5x - 531.893$	0.9995
THCA	$y = 11069.7x - 532.213$	0.9994



ตารางที่ 4 ปริมาณแคนนาบินอยด์ของตำรับยาอายุวัฒนะด้วยเทคนิค HPLC

สารสำคัญ	ปริมาณแคนนาบินอยด์ (mg/g extract)		
	ยาอินทจวร	ยามหาวิวัฒนะ	ยาแก้ธาตุพิการ
CBDV	2.05±0.01 ^b	1.79±0.00 ^c	5.15±0.02 ^a
CBDA	ND	ND	ND
CBGA	0.62±0.00 ^b	0.39±0.00 ^c	1.37±0.02 ^a
CBG	ND ^c	0.49±0.00 ^a	0.23±0.02 ^b
CBD	ND	ND	ND
THCV	ND	ND	ND
CBN	0.65±0.00 ^b	0.46±0.00 ^c	0.72±0.03 ^a
Δ9-THC	1.21±0.03 ^b	0.38±0.02 ^c	7.15±0.32 ^a
CBC	0.48±0.00 ^b	0.41±0.00 ^c	1.01±0.00 ^a
THCA	ND ^b	ND ^b	0.28±0.01 ^a
ปริมาณสารสัมพันธ์	5.00±0.03 ^b	3.93±0.01 ^c	15.89±0.32 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษหมายถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบระหว่างคอลัมน์ในแถวเดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ ND คือตรวจไม่พบ

4. การทำนายคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์

ในการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของสารสำคัญที่พบในตำรับยาอายุวัฒนะ 3 ตำรับ เพื่อวิเคราะห์และคัดกรอง การดูดซึม (Absorption) กระจายตัว (Distribution) เผลาผลาญ (Metabolism) และขับถ่าย (Excretion) [ADME] โดยใช้โปรแกรม SwissADME ของสารแคนนาบินอยด์ ดังแสดงในภาพที่ 2 พบว่า CBC, Δ9-THC, CBN, CBD, CBDV และ THCV สามารถซึมผ่านเข้าสู่สมองได้ (อยู่ในพื้นที่สีเหลือง) และให้ผลเช่นเดียวกันกับ Trolox ที่เป็นสารมาตรฐาน และมีสารสำคัญ 4 สาร

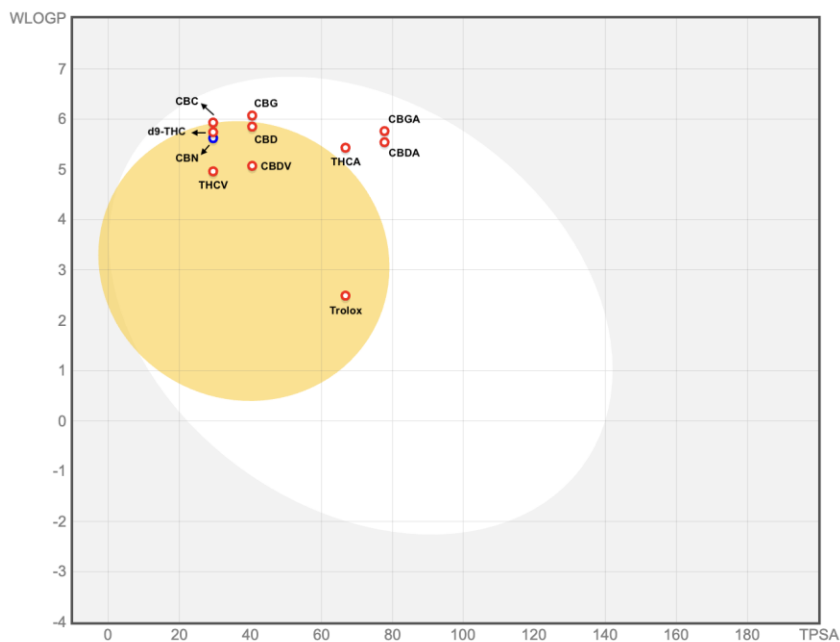
ได้แก่ THCA, CBDA, CBG และ CBGA สามารถทำนายได้ว่าถูกดูดซึมได้ดี (อยู่ในพื้นที่สีขาว)

การทำนายคุณสมบัติทางกายภาพของสารสำคัญโดยทำนายพารามิเตอร์ต่าง ๆ ได้แก่ ความสามารถในการละลายในไขมัน (LIPO: lipophilicity) ขนาดโมเลกุล (SIZE) ความมีขั้ว (POLAR: polarity) ความสามารถในการละลาย (INSOLU: solubility) ความยืดหยุ่น (FLEX: flexibility) และการอิ่มตัว (INSATU: saturation) พบว่าสารในกลุ่มฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ส่วนใหญ่มีความสามารถในการละลายได้น้อย ซึ่งสารที่อยู่ในพื้นที่สีชมพูมีแนวโน้มที่มีคุณสมบัติทางกายภาพที่ดีในการเป็นยาที่ดี



ดังภาพที่ 3 แต่มีเพียง Trolox มีคุณสมบัติทางกายภาพที่ดี ซึ่งมีพารามิเตอร์อยู่ในพื้นที่สีชมพู จากตารางที่ 5 พบว่าคุณสมบัติทางกายภาพของสาร โดยมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 286.41 - 360.49 g/mol ซึ่งผ่านเกณฑ์ในการประเมินน้ำหนักโมเลกุล โดยอ้างอิงเกณฑ์การประเมินของคุณสมบัติต่าง ๆ ตามการศึกษาของ Sungthong et al ในปี 2022¹⁷ โดยมีพื้นที่ผิวขั้ว (TPSA) ของสารมีค่าอยู่ในช่วง 29.46-77.76 ที่อยู่ในเกณฑ์การประเมินที่สามารถซึมผ่านที่ดี ส่วนจำนวนพันธะอิสระที่สามารถหมุนได้ (NORTB) พบว่าสารทุกตัวผ่านเกณฑ์ในการประเมินคือต้องมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 10 อีกทั้งจำนวนผู้รับพันธะไฮโดรเจน (HBA) ต้องมีค่า HBA น้อยกว่าหรือเท่ากับ 5 และ จำนวนผู้ให้พันธะไฮโดรเจน (HBD) คือต้องมีค่า HBD น้อยกว่าหรือเท่ากับ 10 ซึ่งสารในกลุ่มแคนนาบินอยด์ทุกตัวผ่านเกณฑ์ในการประเมินสำหรับเกณฑ์ของ Lipinski's violation มีเพียง CBDV, CBDA, THCV และ THCA ที่ค่าผ่านเกณฑ์ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับคุณสมบัติทางกายภาพของสารที่พบในตำรับยาอายุวัฒนะเทียบกับคุณสมบัติทางกายภาพของ Trolox พบว่า Trolox มีคุณสมบัติที่ใกล้เคียงกันหรือดีกว่าสารบางตัว

การทำนายคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของสารแคนนาบินอยด์ที่พบในตำรับยาอายุวัฒนะ โดยจะทำนายถึงการดูดซึมของยาเข้าสู่ร่างกาย (absorption) การกระจายตัวของยา (distribution) การเปลี่ยนแปลงยา (metabolism) และการขับถ่ายยาออกจากร่างกาย (excretion) ดังตารางที่ 6 พบว่า %ABS ซึ่งหมายถึงการมีความสามารถในการซึมผ่านที่ดีมีค่าในช่วง 82.17-98.84% ส่วน BBB permeant พบว่ามีเพียง Δ^9 -THC, CBN, CBD, CBDV และ THCV สามารถที่จะซึมผ่านเข้าสู่สมองได้เช่นเดียวกันกับ Trolox และการเป็นสารตั้งต้นของ Pgp substrate พบว่ามีเพียง CBN ซึ่งถูกขับออกมาจากการจากกระบวนการ efflux นอกจากนี้แล้วสารในกลุ่ม แคนนาบินอยด์สามารถถูกเผาผลาญได้โดยเอนไซม์ cytochrome P450 (CYP) ที่มี isomer ที่แตกต่างกันไป



ภาพที่ 2 การวิเคราะห์ความสามารถในการซึมผ่านเข้าสู่สมองของแคนนาบินอยด์ที่พบในตำรับยาอายุวัฒนะ



วารสารสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา

Journal of Allied Health Sciences Suan Sunandha Rajabhat University



ภาพที่ 3 กราฟชีวปริมาณของแคนนาบินอยด์ที่พบในตำรับยาอายุวัฒนะ



ตารางที่ 5 คุณสมบัติทางกายภาพของสารแคนนาบินอยด์ในตำรับยาอายุวัฒนะ

สารสำคัญ	พารามิเตอร์							Lipinski violations ^h
	MW ^a	cLogP ^b	cLogS ^c	TPSA ^d	NORTB ^e	HBA ^f	HBD ^g	
เกณท์	<500	-	-	≤140	≤10	≤5	≤10	≤0
CBDV	286.41	4.5	-6.05	40.46	4	2	2	0
CBDA	358.47	4.86	-8.03	77.76	7	4	3	0
CBGA	360.49	5.39	-8.96	77.76	10	4	3	1
CBG	316.48	5.74	-8.1	40.46	9	2	2	1
CBD	314.46	5.2	-7.17	40.46	6	2	2	1
THCV	286.41	4.58	-6.28	29.46	2	2	1	0
CBN	310.43	5.21	-6.51	29.46	4	2	1	1
Δ9-THC	314.46	5.28	-7.4	29.46	4	2	1	1
CBC	314.46	5.45	-7.29	29.46	7	2	1	1
THCA	358.47	4.93	-8.27	66.76	5	4	2	0
Trolox (positive control)	250.29	2.47	-3.9	66.76	1	4	2	0

หมายเหตุ ^aMW คือ molecular weight, ^bcLogP คือ calculated octanol/water partition coefficient, ^ccLogS คือ solubility parameter, ^dTPSA คือ topological polar surface area, ^eNORTB คือ Number of freely rotatable bonds, ^fHBA คือ Number of hydrogen bond acceptors, ^gHBD คือ Number of hydrogen bond donors และ ^hLipinski's violation: 0 violation is good.



ตารางที่ 6 คุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของสารแคนนาบินอยด์ในตำรับยาอายุวัฒนะ

สารสำคัญ	พารามิเตอร์							
	%ABS	BBB permeant	Pgp substrate	CYP1A2 inhibitor	CYP2C19 inhibitor	CYP2C9 inhibitor	CYP2D6 inhibitor	CYP3A4 inhibitor
CBDV	95.04	Yes	No	No	Yes	Yes	No	Yes
CBDA	82.17	No	No	No	No	Yes	No	Yes
CBGA	82.17	No	No	Yes	No	Yes	No	No
CBG	95.04	No	No	Yes	Yes	No	Yes	No
CBD	95.04	Yes	No	No	Yes	Yes	Yes	Yes
THCV	98.84	Yes	No	No	Yes	Yes	Yes	No
CBN	98.84	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	No
Δ^9 -THC	98.84	Yes	No	No	Yes	Yes	Yes	No
CBC	98.84	No	No	No	No	Yes	Yes	Yes
THCA	85.97	No	No	No	No	Yes	No	Yes
Trolox	85.97	Yes	No	No	No	No	No	No

(positive
control)หมายเหตุ: %ABS = $109 - [0.345 \times \text{TPSA}]^{18}$

สรุปและอภิปรายผล

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาอินทจรรย์ ยามหาวันนะ และยาแก้ธาตุพิการ พบว่า สารสกัดตำรับยาอินทจรรย์มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดเมื่อทดสอบด้วยวิธี ABTS และตำรับยามหาวันนะฤทธิ์ดีที่สุดด้วยวิธี DPPH และ FRAP ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมที่พบในตำรับยามหาวันนะมีปริมาณของสารกลุ่มนี้มากที่สุด ซึ่งปริมาณฟีนอลิกรวมสูงมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี¹⁹ นอกจากนี้แล้ว

ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมมีความความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย แต่อย่างไรก็ตามการออกฤทธิ์ของสารสำคัญอาจเป็นเอนไซม์ที่ยังทราบได้ เนื่องจากอาจมีการออกฤทธิ์เสริมกันหรือร่วมกันของสารสำคัญที่พบในสารสกัดในธรรมชาติ²⁰

จากการวิเคราะห์ปริมาณแคนนาบินอยด์ 10 สาร ได้แก่ CBDV, CBDA, CBGA, CBG, CBD, THCV, CBN, Δ^9 -THC, CBC และ THCA ซึ่งสารดังกล่าวเป็นสารที่พบในชีววิถีการสังเคราะห์สารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ใน polyketide pathway



และ DOXP/MEP pathway²¹ ซึ่งในการศึกษานี้พบว่า มีปริมาณของ CBDV และ $\Delta 9$ -THC ที่พบได้มาก ในตำรับยาอายุวัฒนะในแต่ละตำรับ โดยที่ CBDV พบมากที่สุดตำรับยาอินทจรรย์และตำรับยามหาวิวัฒนะ และ $\Delta 9$ -THC พบมากที่สุดตำรับยาแก้ธาตุพิการ ซึ่งจากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า CBG, CBD, $\Delta 9$ -THC, CBN, CBGA, CBDA และ $\Delta 9$ -THCA มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ป้องกันการเกิดออกซิเดชัน และรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กได้ดี²² นอกจากนี้แล้วสารในกลุ่มแคนนาบินอยด์ ยังมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ปกป้องเซลล์ประสาท ฤทธิ์ต้านมะเร็ง¹⁰ ซึ่งเมื่อยับยั้งอนุมูลอิสระได้ก็สามารถป้องกันการเกิดของมะเร็งได้อีกด้วย²³

ในการศึกษานี้สามารถสรุปได้ว่าสารสกัดตำรับยาอินทจรรย์ ยามหาวิวัฒนะ และยาแก้ธาตุพิการ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยที่ตำรับยามหาวิวัฒนะมีฤทธิ์ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ ตำรับยาอินทจรรย์ และตำรับยาแก้ธาตุพิการตามลำดับซึ่งมีปริมาณฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์รวมสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้แล้วพบว่าตำรับยาแก้ธาตุพิการมีปริมาณแคนนาบินอยด์สัมพันธ์สูงที่สุด และในการทำนายคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของสาร แคนนาบินอยด์มีคุณสมบัติที่ดีสามารถซึมผ่านเข้าสู่สมองได้ดี อีกทั้งงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาแรกที่นำตำรับยาเข้าศึกษาหาคุณสมบัติของฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา แต่อย่างไรก็ตามการใช้ตำรับยาเข้าศึกษาควรจะต้องอยู่ในความดูแลของบุคลากรทางการแพทย์ที่มีใบประกอบโรคศิลป์เพื่อการใช้กัญชาในทางการแพทย์เท่านั้น

ข้อเสนอแนะ

การศึกษารังนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระและองค์ประกอบทางเคมีของตำรับยาเข้ากัญชาอายุวัฒนะ 3 ตำรับ ซึ่งในการวิจัยครั้งต่อไปผู้วิจัยควรศึกษาเรื่องกลไกการออกฤทธิ์ด้านอนุมูลอิสระในกลไกอื่นๆ รวมไปถึงกลไกการออกฤทธิ์ในระดับเซลล์ เพื่อนำไปสู่การต่อยอดองค์ความรู้ในการวิจัยตำรับยาเข้ากัญชาในอนาคตได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา ที่ได้สนับสนุนงบประมาณวิจัยในโครงการนักวิจัยรุ่นใหม่ ประจำปีงบประมาณ 2565 (เลขที่สัญญา 11862/2566) วิทยาลัยสหเวชศาสตร์ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย และบริษัท ธาราธรา คอร์ปอเรชั่น จำกัด ที่อนุเคราะห์ใบกัญชาในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Jaicharoensub J, Sakpakdeejaroen I, Panthong S. Validation of HPLC method for quantitative determination of active compounds in Thai traditional herbal medicine to treat gastrointestinal disease. *Talanta Open* 2023; 7:100227.
2. Narongvit T, Techapichok S, Panyawaraphirat P, Jintung P, Maranet A. The effectiveness of cannabis used in Thai traditional way on the palliative care patients in Thailand. *ART* 2021; 26(2): 219-32.



3. ณัชชา เต็งเต็มวงศ์. ประสิทธิภาพและความปลอดภัยของตำรับยาสมุนไพรคุชไสยาสน์ในโรคนอนไม่หลับเรื้อรัง: การศึกษาย้อนหลังเบื้องต้นในโรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร. วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก 2564; 19(2):331-43.
4. มุลนิธิฟื้นฟูส่งเสริมการแพทย์ไทยเดิม. ตำราการแพทย์ไทยเดิม (แพทยศาสตร์สงเคราะห์ ฉบับอนุรักษ์). กรุงเทพมหานคร: ศุภนิขการพิมพ์; 2552.
5. Neergheen-Bhujun VS, Munogee N, Coolen V. Antioxidant and anti-inflammatory efficacies of polyherbal formulations and elixirs traditionally used in Mauritius for the treatment of rheumatoid arthritis. J. Herb. Med. 2014; 4(1):1-9.
6. รสริน ใจเย็น, ศุภลักษณ์ พักคำ, ยงยุทธ วัชรคุลย์. ผลของตำรับยาอายุวัฒนะต่อคุณภาพการนอนในผู้สูงอายุที่มีภาวะนอนไม่หลับ. วารสารวิทยาลัยพยาบาลพระจอมเกล้า จังหวัดเพชรบุรี 2565; 5(2):72-84.
7. กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก. ชุดตำราภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย ฉบับอนุรักษ์: ตำรับยาแผนไทยของชาติที่เข้าด้วยกัญชา. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์สามเจริญพาณิชย์; 2564.
8. เพ็ญศรี เนื่องสิกขาเพียร. ยาอายุวัฒนะ. วารสารไทยโภชนาพันธ์ 2545; 1(1):44-56.
9. Gulcin İ. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. Arch Toxicol. 2020;94(3): 651-715.
10. Helcman M, Šmejkal K. Biological activity of cannabis compounds: a modern approach to the therapy of multiple diseases. Phytochem. Rev. 2022; 21:429-70.
11. Yongram C, Panyatip P, Siriparu P, et al. Influence of maturity stage on tryptophan, phenolic, flavonoid, and anthocyanin content, and antioxidant activity of *Morus alba* L. fruit. Rasayan J. Chem. 2022; 15(3):1693-701.
12. Kim DO, Chun OK, Kim YJ, Moon HY, Lee CY. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. J. Agric. Food Chem. 2003; 51:6509-15.
13. Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. Anal. Biochem. 1996; 239:70-6.
14. Panyatip P, Padumanonda T, Yongram C, Kasikorn T, Sungthong B, Puthongking P. Impact of tea processing on tryptophan, melatonin, phenolic and flavonoid contents in mulberry (*Morus alba* L.) leaves: quantitative analysis by LC-MS/MS. Molecules 2022; 27(15):4979.



15. Čopra-Janićijević A, Čulum D, Vidic D, Tahirović A, Klepo L, Bašić N. Chemical composition and antioxidant activity of the endemic *Crataegus microphylla* Koch subsp. *malyana* Kl Chr. & Janjić from Bosnia. Ind. Crops Prod. 2018; 113:75-9.
16. Chen X, Deng H, Heise JA, et al. Contents of Cannabinoids in Hemp Varieties Grown in Maryland. ACS Omega 2021; 6(47):32186-97.
17. Sungthong B, Sithon K, Panyatip P, Tadtong S, Nunthaboot N, Puthongking P. Quantitative analysis and *In Silico* molecular docking screening for acetylcholinesterase inhibitor and ADME prediction of coumarins and carbazole alkaloids from *Clausena harmandiana*. Rec. Nat. Prod. (2022); 16(4):358-69.
18. Bojarska J, Remko M, Breza M, et al. A supramolecular approach to structure-based design with a focus on synthons hierarchy in ornithine-derived ligands: review, synthesis, experimental and in silico studies. Molecules 2020; 25(5):1135.
19. Molole GJ, Gure A, Abdissa N. Determination of total phenolic content and antioxidant activity of *Commiphora mollis* (Oliv.) Engl. resin. BMC Chemistry 2022; 16:48.
20. Martínez S, Fuentes C, Carballo J. Antioxidant activity, total phenolic content and total flavonoid content in sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) cultivars grown in northwest Spain under different environmental conditions. Foods 2022; 11(21):3519.
21. Jin D, Dai K, Xie Z, Chen J. Secondary metabolites profiled in cannabis inflorescences, leaves, stem barks, and roots for medicinal purposes. Sci. Rep. 2020; 10:3309.
22. Dawidowicz AL, Olszowy-Tomczyk M, Typek R. CBG, CBD, Δ9-THC, CBN, CBGA, CBDA and Δ9-THCA as antioxidant agents and their intervention abilities in antioxidant action. Fitoterapia 2021; 152:104915.
23. Sznarkowska A, Kostecka A, Meller K, Bielawski KP. Inhibition of cancer antioxidant defense by natural compounds. Oncotarget 2017; 8(9):15996-6016.