วิธีการแยกสารสำคัญในกระท่อมและกัญชา

โดย
นางสาวจิราภรณ์ รสสุคนท์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2565
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

วิธีการแยกสารสำคัญในกระท่อมและกัญชา

โดย
นางสาวจิราภรณ์ รสสุคนท์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2565
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

METHODS FOR SEPARATING ACTIVE SUBSTANCES IN KRATOM AND CANNABIS

By

MISS Jiraporn ROSSUKON

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for Master of Science (FORENSIC SCIENCE)

Graduate School, Silpakorn University

Academic Year 2022

Copyright of Silpakorn University

หัวข้อ	วิธีการแยกสารสำคัญในกระท่อมและกัญชา
โดย	นางสาวจิราภรณ์ รสสุคนท์
สาขาวิชา	นิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	อาจารย์ ดร. มูฮำหมัด นิยมเดชา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย (ผู้รักษาการแทน)
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สาธิต นิรัติศัย)

พิจารณาเห็นชอบโดย

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

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

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

620720081 : นิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
คำสำคัญ : กระท่อม, ไมทราไจนีน, กัญชา, สารสกัดหยาบ

นางสาว จิราภรณ์ รสสุคนท์: วิธีการแยกสารสำคัญในกระท่อมและกัญชา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : อาจารย์ ดร. มูฮำหมัด นิยมเดชา

ศึกษาวิธีการแยกสาระสำคัญในกระท่อมและกัญชาให้ได้มากที่สุด และเพื่อหาตำแหน่งสารเพื่อนำมาใช้เป็นสารมาตรฐานทางนิติวิทยาศาสตร์ ผลการทดลองพบว่า การเตรียมตัวทำละลายที่เหมาะสมส่งผลต่อการแยกสารไมทราไจนีนให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค Quick column chromatography ได้สารบริสุทธิ์ไมทราไจนีนนั้นถึง 0.163% และในพืชกัญชาสดจากการทดสอบโดยการนำส่วนของดอก และใบ มาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ทำการแยกด้วยเทคนิค TLC และพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR พบว่าพืชกัญชาสดส่วนดอกแถบ C (Ff-C) เป็นสาร Δ^{9}-THC เมื่อเทียบกับ ^{1}H-NMR spectrum ของ (Barthlott et al. 2021: 10) นำส่วนของ ดอก และใบ ในพืชกัญชาแห้งมาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ทำการแยกด้วยเทคนิค TLC และพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR พบว่ากัญชาแห้งส่วนดอกแถบ A (Fd-A) และส่วนใบแถบ B (Ld-B) เป็นสาร Δ^{9}-THC เมื่อเทียบกับ ^{1}H-NMR spectrum ของ (Barthlott et al. 2021: 10) และในส่วนของพืชกัญชาอัดแท่งมาสกัดเอทานอลด้วยวิธี soxhlet extraction แล้วทำการแยกด้วยเทคนิค TLC และพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR พบว่าเป็นสาร CBN จากพืชกัญชาอัดแท่งแถบ A (S-A) เมื่อเทียบกับ ^{1}H-NMR spectrum ของ (Barthlott et al. 2021: 10)

มหาวิทยาลัยศิลปากร

620720081 : Major (FORENSIC SCIENCE)
Keyword : Kratom, Mitragynine, Cannabis, Crude extract

MISS JIRAPORN ROSSUKON : METHODS FOR SEPARATING ACTIVE SUBSTANCES IN KRATOM AND CANNABIS THESIS ADVISOR : MUHAMMAD NIYOMDECHA, Ph.D.

Study how to isolate as much essence in cottages and cannabis as possible, and to locate substances to be used as forensic standards. The results showed that Proper solvent preparation affects the separation of mitragynine with the Quick Column Chromatography technique. The pure substance mitragynine is 0.163%. And in fresh cannabis plants from testing by extracting parts of flowers and leaves with ethanol solvents. Perform separation with TLC technique and prove identity with ^{1}H-NMR technique. It was found that the fresh cannabis plant, the C (Ff-C) is a substance Δ^{9}-THC compared to the ^{1}H-NMR spectrum of (Barthlott et al. 2021: 10). Take the part of the flowers and leaves in dried cannabis plants and extract them with ethanol solvents. Perform separation with TLC technique and prove identity with ^{1}H-NMR technique. It was found that dry cannabis, flower part A (Fd-A) and leaf part band B (Ld-B) were found to be Δ9-THC compared to ^{1}H-NMR spectrum of (Barthlott et al. 2021: 10). And in the part of the stick cannabis plant to extract ethanol by soxhlet extraction method. Then separate with the TLC technique and prove the identity with the ^{1}H-NMR technique. Found to be a CBN substance from the cannabis plant compressed band A (S-A) compared to ^{1}H-NMR spectrum of (Barthlott et al. 2021: 10).

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. มูฮำมัด นิยมเดชา อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย ที่ให้คำแนะนำ ให้คำปรึกษา ให้ความช่วยเหลือ สนับสนุนและแนะนำเอกสารแหล่งข้อมูลในทุกด้าน ตลอดจนปรับปรุงและแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ มาเพื่อความถูกต้องสมบูรณ์ของงานวิจัยฉบับนี้ ผู้วิจัยตระหนักถึงความทุ่มเทของอาจารย์ จึงกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง ที่ได้กรุณามาเป็นประธานกรรมการในสอบวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บุญเดช เบิกฟ้า ที่ได้กรุณารับเป็นกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกในการสอบวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ และได้ให้ข้อสังเกตและข้อแนะนำจากความรู้และประสบการณ์อันเชี่ยวชาญของท่านทั้งสอง ซึ่งก่อให้เกิดประโยชน์ในการแก้ไขปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ให้มีความถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผู้วิจัยจึงขอมอบส่วนดีทั้งหมดนี้ให้แก่เหล่าคณาจารย์ที่ได้ประสิทธิประสาทวิชาจนทำให้ผลงานวิจัยเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่เกี่ยวข้อง

ขอน้อมรำลึกในพระคุณของบิดา มารดา ผู้ซึ่งให้ทุกสิ่งทุกอย่างอันเป็นความประเสริฐยิ่งและเป็นมงคลแก่ชีวิตตลอดมา

สำหรับข้อบกพร่องต่าง ๆ ที่อาจจะเกิดขึ้นนั้น ผู้วิจัยขอน้อมรับแต่เพียงผู้เดียว และยินดีที่จะรับฟังคำแนะนำจากทุกท่านที่ได้เข้ามาศึกษา เพื่อเป็นประโยชน์ในการพัฒนางานวิจัยต่อไป

นางสาว จิราภรณ์ รสสุคนท์

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ฎ

สารบัญรูปภาพ ..... ฎ

บทที่ 1 บทนำ 16

1.1 ที่มาและความสำคัญ 16

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 18

1.3 สมมติฐานงานวิจัย/คำถามงานวิจัย 18

1.4 ขอบเขตของงานวิจัย 18

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ 19

บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 20

2.1 พืชกระท่อม (Kratom) 20

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ (Botany characteristics) 21

2.1.2 พฤกษเคมี (Phytochemical) 22

2.1.3 ไมทราไจนีน (Mitragynine) 24

2.1.4 อัลคาลอยด์ (Alkaloids) 25

2.1.5 การศึกษาทางเภสัชวิทยา (Pharmacology) 26

2.1.6 การศึกษาทางพิษวิทยา (Toxicology) 26

2.1.7 การตรวจพืชกระท่อมและวิธีการวิเคราะห์สาร mitragynine (Kratom authentication and mitragynine analysis) 27
2.1.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 28
2.2 พืชกัญชา 30
2.2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ (Botany characteristics) 31
2.2.2 สารสำคัญของพืชกัญชา 33
2.2.3 การศึกษาทางเภสัชวิทยา (Pharmacology) 35
2.2.4 การศึกษาทางพิษวิทยา (Toxicology) 36
2.2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 37
2.3 กรอบแนวคิดการวิจัย 39
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 40
3.1. ตัวอย่างพืชกระท่อมและกัญชา 40
3.1.2 พืชกัญชา 1. แบบแห้ง และ 2. แบบสด 40
3.1.3 พืชกัญชาแบบอัดแท่งสำเร็จรูป 40
3.2 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี 40
3.2.1 อุปกรณ์ 40
3.2.2 สารเคมี 40
3.3 วิธีการทดลอง 41
3.3.1 การเตรียมสารสกัดหยาบ (crude extract) จากใบพืชกระท่อม 41
3.3.2 การแยกสารบริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคควิกคอลัมน์โครมาโตกราฟี (quick column chromatography) 42
3.3.3 วิธีการแยกสารไมทราไจนีนให้บริสุทธิ์มากที่สุด 43
3.3.4 การเตรียมสารสกัดหยาบ (crude extract) จากใบพืชกัญชาสด 44
3.3.5 วิธีการแยกสารแคนนาบินอยด์ 45

3.3.6 การเตรียมสารสกัดหยาบ (crude extract) จากใบพืชกัญชาแห้ง 46
3.3.7 การเตรียมสารสกัดหยาบ (crude extract) จากใบพืชกัญชาอัดแท่ง 47
3.3.8 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR 49
บทที่ 4 ผลการวิจัย 50
4.1 ปริมาณสารสกัดหยาบ (Crude extract) จากพืชกระท่อมแห้ง 50
4.2 ผลการแยกสารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค quick column chromatography 50
4.3 ผลการตรวจสอบและวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR ของพืชกระท่อมแห้ง 52
4.4 ปริมาณสารสกัดหยาบ (Crude extract) จากพืชกัญชาสด 53
4.5 ผลการตรวจสอบสารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง (Thin Layer Chromatography; TLC) 53
4.6 ผลการตรวจสอบและวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR ของพืชกัญชาสด 56
4.6.1 Spectrum กัญชาสดส่วนดอก 56
4.7 ปริมาณสารสกัดหยาบ (Crude extract) จากพืชกัญชาแห้ง 56
4.8 ผลการตรวจสอบสารสกัดหยาบจากพืชกัญชาแห้งด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง (Thin Layer Chromatography; TLC) 57
4.9 ผลการตรวจสอบและวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR ของพืชกัญชาแห้ง 58
4.9.1 Spectrum กัญชาแห้งส่วนดอก 59
4.9.2 Spectrum กัญชาแห้งส่วนใบ 60
4.10 ปริมาณสารสกัดหยาบ (Crude extract) จากพืชกัญชาอัดแท่ง 60
4.11 ผลการตรวจสอบสารสกัดหยาบจากพืชกัญชาอัดแท่งด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง (Thin Layer Chromatography; TLC) 61
4.12 ผลการตรวจสอบและวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR ของพืชกัญชาอัดแท่ง 62
4.12.1 Spectrum กัญชาอัดแท่ง 62
บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผล 63
ข้อเสนอแนะ 64

รายการอ้างอิง 65

ภาคผนวก 69

ประวัติผู้เขียน 76

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ตารางเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียของพืชกระท่อม..... 20

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีที่พบในส่วนต่าง ๆ ของพืชกระท่อม 22

ตารางที่ 3 ตารางเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียของพืชกัญชา..... 30

ตารางที่ 4 ปริมาณใบกระท่อมที่ใช้ในการสกัดในแต่ละครั้งและสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัด..... 43

ตารางที่ 5 สารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดพืชกระท่อมแห้ง 50

ตารางที่ 6 การใช้สารสกัดหยดลงบนแผ่น TLC ในแต่ละครั้ง..... 50

ตารางที่ 7 ปริมาณชิ้นส่วนของพืชกัญชาสดที่ใช้ในการสกัดและสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัด 53

ตารางที่ 8 ปริมาณในการหยดสารจากสารสกัดหยาบทั้งหมดของพืชกัญชาสด..... 53

ตารางที่ 9 ปริมาณชิ้นส่วนของพืชกัญชาแห้งที่ใช้ในการสกัดและสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัด ... 57

ตารางที่ 10 ปริมาณในการหยดสารจากสารสกัดหยาบทั้งหมดของพืชกัญชาแห้ง..... 57

ตารางที่ 11 ปริมาณชิ้นส่วนของพืชกัญชาอัดแท่งที่ใช้ในการสกัดและสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัด 60

ตารางที่ 12 ปริมาณในการหยดสารจากสารสกัดหยาบทั้งหมดของพืชกัญชาอัดแท่ง..... 61

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ลักษณะใบของกระท่อมชนิดต่าง ๆ 21

ภาพที่ 2 ตัวอย่างโครงสร้างสารอัลคาลอยด์ที่พบในพืชกระท่อม 24

ภาพที่ 3 โครงสร้างของไมทราไจนีน 25

ภาพที่ 4 เปรียบเทียบลักษณะต้นของพืชกัญชาและพืชกัญชง 31

ภาพที่ 5 ลักษณะใบของพืชกัญชาและพืชกัญชง 32

ภาพที่ 6 ลักษณะของช่อดอกพืชกัญชา 32

ภาพที่ 7 โครงสร้างของแคนนาบินอยด์จากพืชทั้งชนิดที่มีผลต่อจิตประสาท 33

ภาพที่ 8 ภาพขยายของขนมีต่อม ที่ประกอบด้วยสารแคนนาบินอยด์และสารเทอร์ปีน 34

ภาพที่ 9 ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดหยาบ (crude extract) จากใบพืชกระท่อม 41

ภาพที่ 10 การแยกสารบริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคควิกคอลัมน์โครมาโตกราฟี (quick column chromatography) 42

ภาพที่ 11 ใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ (Mobile phase) เพื่อหาตำแหน่งของสาร 44

ภาพที่ 12 ส่วนดอกและใบของพืชกัญชาสด 44

ภาพที่ 13 นำสารสกัดที่ได้ทำการระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator 45

ภาพที่ 14 สพอทสารตัวอย่างลงบนแผ่นเพลต TLC (Thin-layer chromatography) 45

ภาพที่ 15 ใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ (Mobile phase) เพื่อหาตำแหน่งของสาร 46

ภาพที่ 16 ส่องภายใต้แสงยูวี (Ultraviolet) ที่ช่วงความยาวคลื่น 254 nm 46

ภาพที่ 17 ส่วนดอกและใบของพืชกัญชา 47

ภาพที่ 18 นำสารสกัดที่ได้ทำการระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator 47

ภาพที่ 19 นำตัวอย่างกัญชาอัดแท่งมาห่อด้วยผ้าขาวบางมัดให้แน่น 48

ภาพที่ 20 เติมตัวทำละลาย Ethanol 800 mL 48

ภาพที่ 21 นำสารสกัดที่ได้ ไปทำการระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator... 49

ภาพที่ 22 ครั้งที่ 1 โครมาโทแกรมของสารสกัดหยาบเมื่อทำการแยกหาไมทราไจนีนด้วยเทคนิค TLC 51

ภาพที่ 23 ครั้งที่ 2 โครมาโทแกรมของสารสกัดหยาบเมื่อทำการแยกหาไมทราไจนีนด้วยเทคนิค TLC 51

ภาพที่ 24 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกระท่อมแห้ง ที่แยกได้ เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน 52

ภาพที่ 25 แสดง ^{1}H-NMR spectrum มาตรฐานของไมทราไจนีน (Abdul et al. 2012: 11431).. 52

ภาพที่ 26 แสดง ^{1}H-NMR spectrum มาตรฐานของกัญชา (Barthlott et al. 2021: 10)..... 54

ภาพที่ 27 โครมาโทแกรมของสารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดส่วนดอก (Ff)..... 55

ภาพที่ 28 โครมาโทแกรมของสารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดส่วนใบ (Lf)..... 55

ภาพที่ 29 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดส่วนดอกแถบ C (Ff-C) ที่แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าตรงกับสาร Δ^{9}-THC 56

ภาพที่ 30 โครมาโทแกรมของสารสกัดหยาบจากพืชกัญชาแห้งส่วนของดอก (Fd) เมื่อทำการแยกหาสารสำคัญด้วยเทคนิค TLC..... 57

ภาพที่ 31 โครมาโทแกรมของสารสกัดหยาบจากพืชกัญชาแห้งส่วนของใบ (Ld) เมื่อทำการแยกหาสารสำคัญด้วยเทคนิค TLC..... 58

ภาพที่ 32 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาแห้งส่วนดอกแถบ A (Fd-A)) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าตรงกับสาร Δ^{9}-THC 59

ภาพที่ 33 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาแห้งส่วนใบแถบ B (Ld-B) ที่แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าตรงกับสาร Δ^{9}-THC 60

ภาพที่ 34 โครมาโทแกรมของสารสกัดหยาบจากพืชกัญชาอัดแท่ง (S) เมื่อทำการแยกหาสารสำคัญด้วยเทคนิค TLC..... 61

ภาพที่ 35 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาอัดแท่งแถบ A (S-A) ที่แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าตรงกับสาร CBN 62

ภาพที่ 36 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดส่วนดอกแถบ A (Ff-A) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าไม่ตรงกับสารใด 69

ภาพที่ 37 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดส่วนดอกแถบ B (Ff-B) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าไม่ตรงกับสารใด 69

ภาพที่ 38 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดส่วนดอกแถบ D (Ff-D) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าไม่ตรงกับสารใด 70

ภาพที่ 39 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดส่วนดอกแถบ E (Ff-E) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าไม่ตรงกับสารใด 70

ภาพที่ 40 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดส่วนดอกแถบ F (Ff-F) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าไม่ตรงกับสารใด 71

ภาพที่ 41 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดส่วนใบแถบ A (Lf-A) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าไม่ตรงกับสารใด 71

ภาพที่ 42 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดส่วนใบแถบ B (Lf-B) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าไม่ตรงกับสารใด 72

ภาพที่ 43 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดส่วนใบแถบ C (Lf-C) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าไม่ตรงกับสารใด 72

ภาพที่ 44 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดส่วนใบแถบ D (Lf-D) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าไม่ตรงกับสารใด 73

ภาพที่ 45 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาแห้งส่วนดอกแถบ B (Fd-B) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott, I., et al., 2021) พบว่าไม่ตรงกับสารใด .. 73

ภาพที่ 46 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาแห้งส่วนดอกแถบ C (Fd-C) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าไม่ตรงกับสารใด.. 74

ภาพที่ 47 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาแห้งส่วนใบแถบ A (Ld-A) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าไม่ตรงกับสารใด 74

ภาพที่ 48 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาแห้งส่วนใบแถบ C (Ld-C) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าไม่ตรงกับสารใด 75

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ในอดีตกระท่อมและกัญชาเคยอยู่ในบัญชียาเสพติดให้โทษประเภทที่ 5 ปี พ.ศ. 2522 แต่เมื่อวันที่ 24 สิงหาคม พ.ศ. 2564 ได้มีการปลดพืชกระท่อมออกจากบัญชียาเสพติดประเภทที่ 5 ซึ่งในปัจจุบันเมื่อปี พ.ศ. 2564 ตามพระราชบัญญัติยาเสพติดให้โทษ (ฉบับที่ 8) พ.ศ. 2564 และประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ระบุชื่อยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2564 (ราชกิจจานุเบกษา, 2565) เป็นการกำหนดยกเลิกพืชกระท่อมจากการเป็นยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 ซึ่งมีผลใช้บังคับตั้งแต่วันที่ 24 สิงหาคม 2564 เป็นต้นไป ซึ่งจะมีผลให้พืชกระท่อมไม่ถูกควบคุมเป็นยาเสพติดให้โทษ โดยกระทรวงยุติธรรมได้มีการยกร่างพระราชบัญญัติพืชกระท่อม ในหลายประเทศไม่ได้มีการกำหนดให้พืชกระท่อมเป็นยาเสพติดให้โทษ และอนุสัญญาเดี่ยวว่าด้วยยาเสพติด พ.ศ. 1972 ไม่ได้กำหนดให้พืชกระท่อมเป็นยาเสพติดให้โทษ ดังนั้นเพื่อให้สอดคล้องกับหลักสากล และบริบทของสังคมไทย จึงยกเลิกให้พืชกระท่อมเป็นสารเสพติดให้โทษประเภทที่ 5 และส่วนของกัญชาในปัจจุบันเมื่อวันที่ 8 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2565 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ให้ยกเว้นจากการเป็นยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 ประกาศนี้ให้ใช้บังคับเมื่อพ้นกำหนดหนึ่งร้อยยี่สิบวันนับแต่วันประกาศในราชกิจจานุเบกษา เป็นต้นไป (ราชกิจจานุเบกษา, 2565) หลังจากพระราชบัญญัตินี้ประกาศใช้ มีประชาชนให้ความสนใจอย่างแพร่หลาย

พืชกระท่อม (Kratom) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Mitragyna Speciosa (Korth) อยู่ในวงศ์ Rubiaceae มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนชื้น มีลักษณะเป็นไม้ยืนต้น มีใบเดี่ยวสีเขียว มีก้านใบสีแดงและสีเขียว ดอกสีขาวอมเหลือง ปัจจุบันสามารถพบพืชกระท่อมได้ ในบางจังหวัดของภาคกลาง ได้แก่ ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา ลพบุรี กาญจนบุรี ภาคเหนือ เช่น สุโขทัย อุตรดิตถ์ พิษณุโลก แต่จะพบมากในป่าธรรมชาติบริเวณภาคใต้ของประเทศไทย เช่น นครศรีธรรมราช ตรัง สตูล พัทลุง สงขลา ยะลา ปัตตานี นราธิวาส และตอนบนของประเทศมาเลเซีย

แต่ด้วยสรรพคุณทางยาของกระท่อมมักจะใช้ในตำราพื้นบ้าน นอกจากนี้กระท่อมยังถูกใช้เป็นยารักษาโรค วิธีการรักษาแบบภูมิปัญญาท้องถิ่น พวกประเภทยาแก้ท้องเสีย ในสูตรยาของหมอพื้นบ้านหรือหมอแผนโบราณ

โดยในปี พ.ศ. 2562 มีวารสารตีพิมพ์ โดยมีการสำรวจคุณภาพชีวิตและสภาพความเป็นอยู่ของประชาชนเพื่อประมาณการจำนวนประชากรที่เกี่ยวข้องกับสารเสพติด โดยจะทำการสำรวจประสบการณ์ในการใช้สารเสพติดชนิดต่าง ๆ ในประชากรอายุช่วงอายุ 12-65 ปี ทั่วประเทศ พบว่าใบกระท่อมเป็นสารเสพติดที่มีจำนวนผู้ใช้มากเป็นอันดับสาม รองจากกัญชา (Cannabis) และยาบ้า (Amphetamine) และใช้สูงสุดในภาคใต้ (สาวิตรี อัษณางค์กรชัย และคณะ, 2020)

พืชกระท่อมมีสารหลายกลุ่ม เช่น alkaloids, phenolic compounds, flavonoids, triterpenes เป็นสารกลุ่ม indole alkaloids มีสารสำคัญหลักคือ mitragynine 66% โดยน้ำหนักเมื่อเทียบกับปริมาณสารสกัด alkaloid ทั้งหมด (สมนึก บุญสุภา, 2564)

ในทางนิติวิทยาศาสตร์ ไมทราไจนีนเป็นสารออกฤทธิ์หลักของกระท่อมยังคงมีความจำเป็นที่จะต้องทำมาใช้เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบสารตัวอย่างต่าง ๆ ที่เป็นวัตถุพยาน

การศึกษาหาวิธีการแยกสารไมทราไจนีนออกจากใบกระท่อม จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจในการศึกษาในทางนิติวิทยาศาสตร์ เพื่อให้ได้สารไมทราไจนีนในปริมาณที่มากพอ เพื่อจะนำมาใช้เป็นสารมาตรฐาน ในงานทางนิติวิทยาศาสตร์ต่อไป

ในส่วนกัญชา (Cannabis) เป็นพืชไม้ล้มลุก ใบรูปฝ่ามือ มีรอยหยักลึกเป็นแฉกแหลม 5-7 แฉก มีต้นกำเนิดอยู่ในแถบเอเชียกลาง (จักรกฤษณ์ สิงห์บุตร & ชยันต์ พิเชียรสุนทร, 2562) มีทั้งหมด 3 สายพันธุ์ ได้แก่ 1. สายพันธุ์ซาติวา (Cannabis sativa) 2. สายพันธุ์อินดิกา (Cannabis indica) และ 3. สายพันธุ์รูเดอราลิส (Cannabis ruderalis) ในส่วนของประเทศไทยเป็นถิ่นกำเนิดของกัญชา (Cannabis, Marijuana) ที่มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Cannabis sativa L. subsp. indica อยู่ในวงศ์ Cannabidaceae (ตระกูล Cannabaceae) (ประชาชาติธุรกิจ, 2565)

กัญชา (Cannabis) มีส่วนประกอบทางเคมีมากกว่า 500 ชนิด ในแต่ละสายพันธุ์จะพบสารเคมีและลักษณะทางกายภาพแตกต่างกันออกไป (Woodbridge, 2562) ซึ่งสารสำคัญในกัญชาจะมีหลายชนิด แต่สารสำคัญที่มีการศึกษามากที่สุดคือ กลุ่มแคนนาบินอยด์ (cannabinoids) (บังอร ศรีพานิชกุลชัย, 2562) โดยสารสำคัญทั้ง 2 ชนิด มีรายงานวิจัยอย่างแพร่หลาย ได้แก่ delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) และ cannabidiol (CBD) โดย delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) มีฤทธิ์ต่อจิตและประสาท ทำให้เกิดประสาทหลอน ความจำแย่ลง ส่วนสารสำคัญชนิดที่ 2 คือ cannabidiol (CBD) ซึ่งมีฤทธิ์ต่อจิตประสาทน้อยกว่า ซึ่งจะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ที่ใช้ทำลายยาอื่น ซึ่งสัดสวนของสาร delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) และ cannabidiol (CBD) มีเกณฑ์ในการจำแนกสายพันธุ์กัญชาได้ ซึ่งปริมาณสารแคนนาบินอยด์ในกัญชา (สุวรรณา อรุณพงศ์ไพศาล, 2562)

หลังจากที่รัฐบาลมีนโยบายกัญชาเสรีไปเมื่อวันที่ 9 มิถุนายน พ.ศ. 2565 พบเด็กและเยาวชนมากกว่า 37% มาทดลองสูบกัญชา ต่อมาคงเหลือ 22% ที่ยังคงสูบกัญชาอยู่ โดยรวมแล้วกัญชานั้นส่งผลต่อการเจริญเติบโตของร่างกายและพัฒนาการของสมองและระบบประสาท งานวิจัย The Effect of Medical Marijuanna Laws on Marijuana, Alcohol, and Hard Drug Use บ่ งชี้ให้เห็นว่า การทำให้กัญชาและสารสกัดจากกัญชานั้นถูกกฎหมาย ทำให้มีการนำมาใช้อย่างไม่ถูกต้องเพิ่มขึ้น (ฐานเศรษฐกิจดิจิทัล, 2565) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ระบุชื่อยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 (ฉบับที่ 8) พ.ศ. 2565 กำหนดไว้ว่าสารสกัดที่มีปริมาณสารเตตราไฮโดรแคนนาบินอล (tetrahydrocannabinol, THC) ไม่เกินร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนัก

ดังนั้นงานวิจัยนี้ ได้ศึกษาหาวิธีการแยกสาร delta-9-tetrahydro cannabinol (THC) และ cannabidiol (CBD) ออกจากพืชกัญชา เพื่อให้ได้สารดังกล่าวในปริมาณที่มากพอ เพื่อจะนำมาใช้เป็นสารมาตรฐานในงานทางนิติวิทยาศาสตร์ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 สกัดสารสำคัญของพืชกระท่อมและกัญชาด้วยเทคนิคที่แตกต่างกัน

1.2.2 เพื่อหาวิธีในการแยกสารสำคัญในพืชกระท่อมและพืชกัญชาให้ได้มากที่สุด

1.2.3 เพื่อหาตำแหน่งสารสำคัญของพืชกระท่อมและพืชกัญชาเพื่อนำมาใช้เป็นสารมาตราฐานทางนิติวิทยาศาสตร์

1.3 สมมติฐานงานวิจัย/คำถามงานวิจัย

1.3.1 พบวิธีการแยกสารสำคัญในพืชกระท่อมและพืชกัญชา

1.3.2 พบตำแหน่งสารสำคัญของพืชกระท่อมและพืชกัญชาเพื่อนำมาใช้เป็นสารมาตราฐานทางนิติวิทยาศาสตร์

1.4 ขอบเขตของงานวิจัย

1.4.1 นำพืชกระท่อมและพืชกัญชาที่มาจากแหล่งเดียวกันและประเภทเดียวกัน

1.4.2 นำพืชกระท่อมและพืชกัญชามาสกัดและแยกหาสารสำคัญ

1.4.2 นำสารสำคัญที่ได้จากพืชกระท่อมและพืชกัญชา มาหาตำแหน่งเพื่อนำมาใช้เป็นสารมาตราฐานทางนิติวิทยาศาสตร์

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

1.5.1 สารสกัด หมายถึง สารที่ได้จากกระบวนการแยกสารสำคัญหรือสารออกฤทธิ์ออกมาโดยการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม ทำการละลายสารออกฤทธิ์ที่ต้องการ

1.5.2 การแยกสาร หมายถึง การที่แยกสารที่ผสมกันตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไปออกจากกัน เพื่อนำสารที่ได้นั้นไปใช้ประโยชน์ตามต้องการ

1.5.3 นิติวิทยาศาสตร์ หมายถึง การนำเอาความรู้ทางวิทยาศาสตร์ทุกสาขามาประยุกต์ใช้เพื่อประโยชน์ในด้านกฎหมาย ทั้งประโยชน์ทางนิติบัญญัติในเรื่องการออกกฎหมายและประโยชน์ของการคลี่คลายปัญหาและการพิสูจน์ข้อเท็จจริงในคดีความเพื่อผลในการบังคับใช้ กฎหมายและการลงโทษ

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ถึงแม้ว่าในปัจจุบันจะมีนโยบายในการปลดล็อคพืชกระท่อมและพืชกัญชาแล้ว แต่ก็ยังมีการถกเถียงกันถึงข้อดีและข้อเสียหลังจากใช้พืชดังกล่าวอยู่ (ตารางที่ 1) (ตารางที่ 2)

2.1 พืชกระท่อม (Kratom)

จากงานวิจัยพบว่าสารในใบกระท่อมทำปฏิกิริยากับร่างกายซึ่งจะมีผลต่อเซลล์ประสาทบางชนิดในร่างกาย แต่ด้วยสรรพคุณทางยามักจะใช้ในตำราพื้นบ้าน นอกจากนี้กระท่อมยังถูกใช้เป็นยารักษาโรค แต่ถ้าเสพใบกระท่อมมากเกินไปก็จะทำให้ผลที่ตามมาอาจจะมีผลลัพธ์ตรงกันข้าม

ตารางที่ 1 ตารางเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียของพืชกระท่อม

ข้อดีของพืชกระท่อม	ข้อเสียของพืชกระท่อม
- ช่วยบรรเทาอาการเจ็บปวดในส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย	- ท้องผูก ปัสสาวะบ่อย ปากแห้ง
- นำไปใช้บรรเทาอาการปวดแทนมอร์ฟีน โดยมีความแรงต่ำกว่ามอร์ฟีนประมาณ 10 เท่า เช่น กระท่อมไม่กดระบบทางเดินหายใจ ไม่ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ใช้บำบัดอาการติดฝิ่นหรือมอร์ฟีนได้	- วิตกกังวล และกระวนกระวายใจ
- ช่วยลดการหลั่งกรด	- แพ้แดด หรือผิวหนังมีสีเข้มกว่าเม็ดสีปกติ
- ช่วยลดการบีบตัวของลำไส้เล็ก	- หัวใจเต้นเร็วผิดปกติ
- ช่วยให้มีสมาธิและระงับประสาท	- รู้สึกกระวนกระวาย สับสน
- แก้ท้องเสีย ท้องร่วง ปวดเบ่ง แก้บิด	- เห็นภาพหลอน
- ช่วยรักษาอาการไอ	- อาการคลื่นไส้ และอาเจียน

ที่มา : นำข้อมูลจาก กระท่อม ยาระงับปวดหรือยาเสพติดเรียบเรียงโดย ผศ.ดร.นิวัติ แก้วประดับ ภาควิชาเภสัชเวท และเภสัชพฤษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ มาเรียบเรียง

ในงานวิจัยนี้จึงศึกษาหาสารมาตราฐานของพืชกระท่อมและพืชกัญชาเพื่อใช้ในงานทางนิติวิทยาศาสตร์

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ (Botany characteristics)

พืชกระท่อม (Kratom) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Mitragyna Speciosa (Korth) อยู่ในวงศ์ Rubiaceae มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนชื้น มีลักษณะเป็นไม้ยืนต้น มีใบเดี่ยวสีเขียว มีก้านใบสีแดงและสีเขียว ดอกสีขาวอมเหลือง ปัจจุบันสามารถพบพืชกระท่อมได้ ในบางจังหวัดของภาคกลาง ได้แก่ ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา ลพบุรี กาญจนบุรี ภาคเหนือ เช่น สุโขทัย อุตรดิตถ์ พิษณุโลก แต่จะพบมากในป่าธรรมชาติบริเวณภาคใต้ของประเทศไทย เช่น นครศรีธรรมราช ตรัง สตูล พัทลุง สงขลา ยะลา ปัตตานี นราธิวาส และตอนบนของประเทศมาเลเซีย

แต่ด้วยสรรพคุณทางยาของกระท่อมมักจะใช้ในตำราพื้นบ้าน นอกจากนี้กระท่อมยังถูกใช้เป็นยารักษาโรค วิธีการรักษาแบบภูมิปัญญาท้องถิ่น พวกประเภทยาแก้ท้องเสีย ในสูตรยาของหมอพื้นบ้านหรือหมอแผนโบราณ

ภาพที่ 1 ลักษณะใบของกระท่อมชนิดต่าง ๆ

ที่มาของภาพ : กระท่อมทางการแพทย์แผนไทย [ออนไลน์], ค้นหาเมื่อ 9 กันยายน 2565 เข้าถึงได้จาก https://ockt.dtam.moph.go.th/index.php

2.1.2 พฤกษเคมี (Phytochemical)

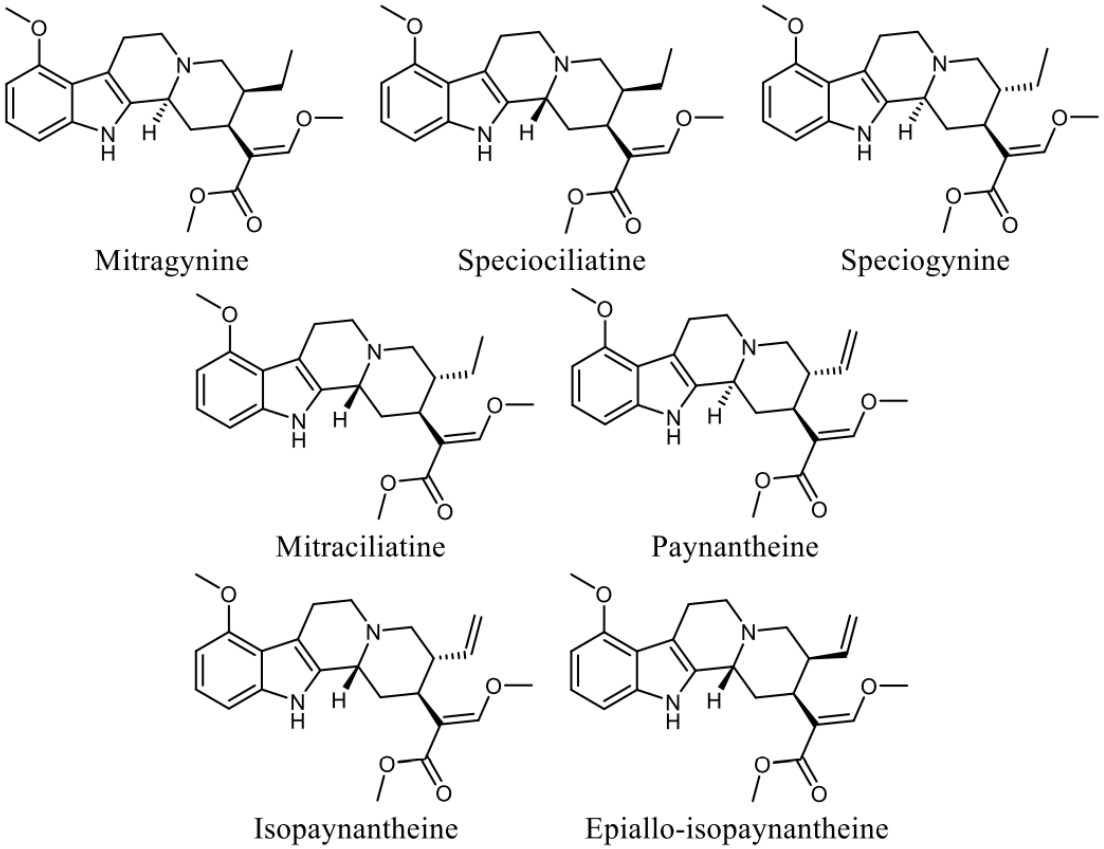
พืชกระท่อมมีสารหลายกลุ่ม เช่น alkaloids, phenolic compounds, flavonoids,triterpenes เป็นสารกลุ่ม indole alkaloids มีสารสำคัญหลักคือ mitragynine 66% โดยน้ำหนักเมื่อเทียบกับปริมาณสารสกัด alkaloid ทั้งหมด (สมนึก บุญสุภา, 2564)

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีที่พบในส่วนต่าง ๆ ของพืชกระท่อม

ส่วนของพืช	ชื่อสารเคมี
ใบ	กลุ่มสาร : แอลคาลอยด์ ajmalicine; akuammigine; angustine; corynantheidine; corynantheidaline; corynantheidalinic acid; corynoxeine; corynoxine; corynoxine B; hirsutine; hirsuteine; isocorynoxeine; isomitraphylline; isomitrafoline; isospeciofoline; isorhynchophylline; isocorynantheidine; javaphylline; mitraciliatine; mitrafoline; mitragynalinic acid; mitragynine oxindole mitrajavine; mitraphylline; mitrasulgynine; mitragynaline; mitragynine; mitralactonal; paynantheine; speciociliatine; speciofoline; speciogynine; 3-isoajmalicine; 3,4,5,6-tetradehydromitragynine; 7-hydroxy-7H-mitragynine; 3-dehydro-mitragynine กลุ่มสาร : ฟลาโวนอยด์ apigenin; apigenin-7-O- rhamnoglucoside; astragalin; cosmosiin; hyperoside; kaempferol; quercetin; quercitrin; quercetin-3 -galactoside-7-rhamnoside; rutin; (-)-epicatechin9,13 กลุ่มสาร : เฟนิลโพรพานอยด์ caffeic acid; chlorogenic acid13 กลุ่มสาร : ลิกแนน (+)-pinoresinol14 กลุ่มสาร : ไตรเทอร์ปีนอยด์ ursolic acid; oleanolic acid15

ส่วนของพืช	ชื่อสารเคมี
เปลือกต้น	กลุ่มสาร : แอลคาลอยด์ ciliaphylline; isomitraphylline; isorhynchophylline; isospecionoxeine; javaphylline; mitraciliatine; mitragynine oxindole A; mitragynine oxindole B; mitraphylline; rhynchociline; rhynchophylline; speciogynine; speciociliatine; specionoxeine
เปลือกราก	กลุ่มสาร : แอลคาลอยด์ ciliaphylline; corynoxeine; isocorynoxeine; isomitraphylline; isorhynchophylline; isospecionoxeine; mitraciliatine; mitraphylline; rhynchociline; rhynchophylline; speciociliatine; speciogynine; specionoxeine;
ผล	กลุ่มสาร : แอลคาลอยด์ 7-hydroxyspeciociliatine
หมักด้วยแบคทีเรีย (Microbial transformation of leaves)	กลุ่มสาร : แอลคาลอยด์ Mitragynine pseudoindoxyl; hydroxylmitragynine pseudoindoxyl

มหาวิทยาลัยศิลปากร

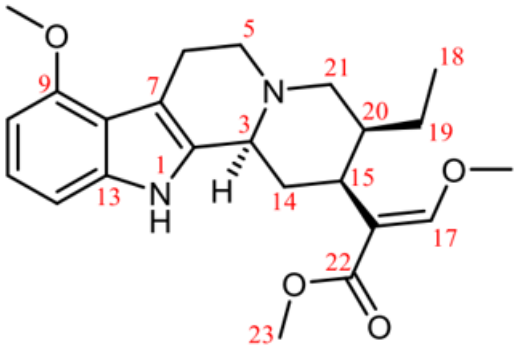


ภาพที่ 2 ตัวอย่างโครงสร้างสารอัลคาลอยด์ที่พบในพืชกระท่อม

ที่มาของภาพ : การพัฒนาวิธีการตรวจหาสารไมตราไจนีนในปัสสาวะของ มนุษย์โดยใช้เทคนิคโครมาโทรกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง [ออนไลน์], ค้นหาเมื่อ 9 กันยายน 2565 เข้าถึงได้จาก ttps://www.google.com/search?q=ตัวอย่างโครงสร้างสารอัลคาลอยด์ที่พบในพืชกระท่อม

2.1.3 ไมทราไจนีน (Mitragynine)

สารไมทราไจนีนจัดเป็นสารอัลคาลอยด์ ชนิด Corynanthe มีสูตรโมเลกุล $C_{23}H_{30}O_4N_2$ มีมวลโมเลกุล 398.503 g/M โดยจะมีโครงสร้าง **(ภาพที่ 3)** ไมทราไจนีนมีลักษณะเป็นผงสีขาว ละลายในตัวทำละลายจำพวกแอลกอฮอล์ คลอโรฟอร์ม และกรดอะซิติก โดยชื่อทางเคมีของไมทราไจนีน 9-methoxy-corynantheidine สูตรทางเคมี $C_{23}H_{30}N_2O_4$, M.W. = 398.22 g/mol M.P. = 110 – 115.6 ℃ B.P. = 230 – 240 ℃



ภาพที่ 3 โครงสร้างของไมทราไจนีน

ที่มาของภาพ : ไมทราไจนีน [ออนไลน์], ค้นหาเมื่อ 9 กันยายน 2565

เข้าถึงได้จาก สารไมทราไจนีน (disthai.com)

Mitragynine จัดเป็นสารอัลคาลอยด์ ที่สามารถออกฤทธิ์กดประสาทส่วนกลาง (CNS depressant) เช่นเดียวกับสารเสพติดกลุ่มเดียวกัน เช่น ยาบ้า (นราพงศ บุรมรา, 2554: 3-9)

2.1.4 อัลคาลอยด์ (Alkaloids)

อัลคาลอยด์เป็นสารที่มีพิษและมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา จึงถูกนำมาใช้ในการรักษาโรค เช่น ยาลดความดัน ยาระงับปวด เป็นต้น วิธีที่นิยมในการจำแนกชนิดของสารอัลคาลอยด์ คือ แบ่งตามชนิดของสารตั้งต้นในชีวสังเคราะห์ ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

- อัลคาลอยด์แท้จริง (True alkaloids) ในโครงสร้างจะมีอะตอมไนโตรเจนอย่างน้อย 1 อะตอมที่มาจากกรดอะมิโนและอะตอมไนโตรเจนจะเป็นส่วนของวงเฮเทอโรไซคลิก (heterocyclic ring) เช่น พิเพอริดีน (piperidine) พิเพอรีน (piperine) มอร์ฟีน (morphine) อะโทรปีน (atropine) โคเคน (cocaine) นิโคติน (nicotine)
- โพรโทอัลคาลอยด์ (Protoalkaloids) ไนโตรเจนในโครงสร้างมาจากกรดอะมิโนเช่นเดียวกับอัลคาลอยด์แท้จริง แต่โครงสร้างมีอะตอมไนโตรเจนอยู่นอกวงเฮเทอโรไซคลิก ได้แก่ แอล-ไทโรซีนและแอล-ทริปโตเฟน
- ซูโดอัลคาลอยด์หรืออัลคาลอยด์เทียม (Pseudoalkaloids) เป็นอัลคาลอยด์ที่โครงคาร์บอน (carbon skeleton) ไม่ได้มาจากกรดอะมิโน สูตรโครงสร้างประกอบด้วยอะตอม ไนโตรเจนในวงเฮเทอโรไซคลิก ได้แก่ แอซิเตต (acetate) กรดไพรูวิก (pyruvic acid) กรดเฟอรูลิก (ferulic acid) เจอรานิออล (geraniol) ซาโปนิน (saponins) อะดีนีน (adenine) และกวานีน (guanine) ซึ่งเป็นสารตั้งต้น (precursor) (ชลธิชา เปรมปรีดิ์, 2560)

2.1.5 การศึกษาทางเภสัชวิทยา (Pharmacology)

จากการศึกษางานวิจัยหลายกลุ่ม ได้ศึกษาผลของสาร mitragynine สกัดด้วยแอลกอฮอล์จากใบกระท่อม ทั้งในหลอดทดลอง (in vitro) สัตว์ทดลอง (in vivo) และในคน ผลของ mitragynine ต่อสรีรวิทยาและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา อาจแบ่งเป็นกลุ่มตามลำดับดังนี้

- ผลต่อระบบประสาท จากการศึกษาของ (Grewal, 1932) ทดลองในสัตว์ทดลอง พบว่า mitragynine มีผลกระตุ้นระบบประสาทเช่นเดียวกับโคเคน และได้มีการทดลองกับคนจำนวน 5 คน ให้ผลการทดลองเช่นเดียวกัน และพบว่า mitragynine acetate ขนาด 50 mg ทำให้คลื่นไส้และอาเจียน และผลการศึกษาในสัตว์ทดลองที่สรุปว่าสาร mitragynine มีคุณสมบัติลดการปวด (analgesic) แก้ไอ (antitussive) และลดไข้ (antipyretic) ทำให้บริษัท Smith, Kline and French Laboratories ได้ทดลองในขั้นพรีคลินิกในมนุษย์ แต่ผลการทดลองพบอาการไม่พึงประสงค์ (side effects) หลายอย่าง จึงไม่มีการศึกษาต่อ

- ผลต่อระบบทางเดินอาหาร จากการศึกษาของ (Tsuchiya et al., 2002) สาร mitragynine มีฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารในหนูขาว พืชกระท่อมที่สกัดด้วยเมทานอล มีผลลดความอยากอาหารและน้ำทำให้น้ำหนักของหนูขาวลดลง นอกจากนี้ยังมีผลทำให้การอุจจาระและปริมาณอุจจาระลดลง

- ฤทธิ์ต้านอักเสบ (anti-inflammatory effect) พืชกระท่อมที่สกัดด้วยเมทานอล เมื่อฉีดเข้าช่องท้องของหนูขาว ที่เหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบที่อุ้งเท้าหนู พบว่ายับยั้งการอักเสบภายใน 3 ชั่วโมงแรก เพิ่มการทำงานของระบบอิมมูนและกระตุ้นกระบวนการสมานแผล

- ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย สารสกัดในใบกระท่อมมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในลำไส้ มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ glutathione transferase (GST) ในหนูขาว กำจัดพิษออกจากร่างกาย พบว่าสารสกัดชั้นน้ำมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ

2.1.6 การศึกษาทางพิษวิทยา (Toxicology)

มีรายงานการศึกษาที่เกี่ยวกับพิษวิทยาของพืชกระท่อมน้อยมาก ซึ่งมีรายงานการศึกษาทำการทดลองในสุนัขในขนาดยา 920 mg/kg ไม่พบอาการสั่นและชัก ส่วนการทดลองในหนูทั้งแบบเฉียบพลัน (acute) และกึ่งเรื้อรัง (subchronic) พบว่าขนาดยา 100, 500 และ 1000 mg/kg พบการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ตับ และที่ขนาดสารสกัด 1000 mg/kg ทำให้ระดับ creatinine เพิ่มขึ้น สรุปว่าสารสกัดกระท่อมเป็นพิษต่อตับและไต (จุไรทิพย์ หวังสิน, 2551)

กรณีศึกษาที่ 1 (Boyer et al., 2008) ในชายวัย 43 ปี ที่ได้รับ hydromorphone ขนาด 10 mg/day เพื่อรักษาอาการ opioid withdrawal ในช่วงเวลาหนึ่ง พบว่าไม่สามารถหายา hydromorphone ได้ จึงสั่งซื้อพืชกระท่อมผ่านทางอินเตอร์เน็ตชงดื่มในรูปแบบชา วันละ 4 ครั้ง หลังจากนั้นมีการใช้ร่วมกับยา modafinil ขนาด 100 mg หลังจากได้รับยา modafinil เพียง 20 นาที ทำให้ชายผู้นี้มีอาการชัก (tonic-clonic seizure)

กรณีศึกษาที่ 2 (Tungtananuwat & Lawanprasert, 2010) การตายของชายวัย 21 ปี ที่เสพน้ำต้มใบกระท่อม 4 x100 และเมื่อตรวจปัสสาวะและเลือดด้วยวิธี Liquid chromatography-electrospray ionization-time of flight mass spectrometry พบว่าสามารถตรวจพบ mitragynine, caffeine, diphenhydramine, alprazolam, nortriptyline, methadone, tramadol, methamphetamineและ สารเมตาบอไลท์อื่นๆ ซึ่งผู้วิจัยได้ตั้งข้อสมมติฐานการตายของชายดังกล่าวว่าเกิดจากความผิดปกติของระบบประสาทส่วนกลางและภาวการณ์หายใจล้มเหลวซึ่งอาจเกิดจากสาเหตุการเสพยาหลายชนิด รวมถึงน้ำต้มใบกระท่อม 4 x 100 ร่วมกับเครื่องดื่มจากโคล่า ยาแก้ไอและยากล่อมประสาทหรือขดยากันยุง

กรณีศึกษาที่ 3 (Neerman et al., 2013) การรายงานการตายของชายวัย 17 ปี ที่มีอาการบวมน้ำและน้ำท่วมปอด ผู้ตายมีประวัติการใช้พืชกระท่อมเพื่อรักษาอาการปวดหลัง ต่อมาภายหลังจากการตรวจเลือดด้วยวิธี LC-MS พบสาร dextromethorphan (0.28 mg/L), diphenhydramine (0.33 mg/L), temazepam (0.21 mg/L),7amino-clonazepam (0.21 mg/L) และmitragynine (0.60mg/L) จึงสรุปว่าสาเหตุการตายที่เป็นไปได้ของชายดังกล่าวเป็นผลเนื่องจากพิษของพืชกระท่อม

จากกรณีศึกษาข้างต้น สามารถตั้งข้อสังเกตได้ว่ายังไม่มีรายงานการตายของผู้ที่บริโภคพืชกระท่อมเพียงอย่างเดียว ส่วนใหญ่จะเกิดจากการบริโภคแบบผสมกัน โดยผู้ที่บริโภคจะใช้ยาออกฤทธิ์ต่อจิตและประสาทร่วมกันหลาย ๆ ตัว จนทำให้การทำงานของสมองและการทำงานของหัวใจล้มเหลว

2.1.7 การตรวจพืชกระท่อมและวิธีการวิเคราะห์สาร mitragynine (Kratom authentication and mitragynine analysis)

จากการศึกษาการตรวจพืชกระท่อมทำได้หลายวิธี เช่น การตรวจลักษณะภายนอก (macroscopic examination) ดูรูปร่างของใบ หูใบ แต่ถ้าอยู่ในรูปผงยาสามารถตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (microscopic examination) (List, 2013) สกัดสารจากผงยาดังกล่าว สามารถนำมาตรวจสอบหาสาร mitragynine ด้วยวิธีโครมาโตกราฟี ได้แก่ thin layer chromatography, high-performance liquid chromatography HPLC เป็นต้น นอกจากนี้อาจใช้เทคนิคทางโมเลกุลใช้ลาย

พิมพ์ดีเอ็นเอ (PCR-RFLP) มาแยกแยะกระท่อมออกจากพืชสกุล *Mitragyna* spp. อื่นๆ (Sukrong et al., 2007)

ในปัจจุบันมีรายงานการพัฒนาวิธีวิเคราะห์พืชกระท่อมทั้งในเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพ ซึ่งวิธีโครมาโตกราฟีเป็นเทคนิคที่มีการใช้อย่างแพร่หลาย โดยการใช้สาร mitragynine เป็น marker เช่น ตัวอย่างพืชกระท่อม ผลิตภัณฑ์ที่มีพืชกระท่อมเป็นส่วนประกอบ รวมถึงการวิเคราะห์หาสาร mitragynine โดยเทคนิคที่มีการรายงานได้แก่ high performance liquid chromatography (HPLC) ร่วมกับเครื่องตรวจวัดต่างๆ เช่น UV, diode array detector (DAD) และ MS นอกจากนี้ยังมีการใช้ gas chromatography (GC) ร่วมกับเครื่องตรวจวัดมวลโมเลกุล (MS detector) การใช้ supercritical fluid chromatography ร่วมกับ diode array detector (DAD) และเทคนิค direct analysis in real time ร่วมกับ MS spectrometry (DART-MS) สำหรับตรวจสอบพืชกระท่อมในเชิงคุณภาพ วิธีการเหล่านี้เป็นวิธีที่มีความไวสูง สามารถวิเคราะห์ได้ในระดับ µg จนถึง ng นอกจากวิธีโครมาโตกราฟีแล้ว ยังมีการวิเคราะห์สาร mitragynine ในพืชกระท่อมด้วยเทคนิค enzyme linked-immunosorbent assay (ELISA) ซึ่งสามารถวิเคราะห์ได้ในระดับ µg (Somsmorn, Pimpimol, and Niwat, 2011: 81-86)

2.1.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Christine et al. (Casey et al., 2015) ได้ศึกษาวิธีการตรวจสอบคุณภาพและการหาปริมาณ Kratom ในผลิตภัณฑ์ประเภทต่าง ๆ สกัดด้วยเมทานอลและทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC / MS และ LC-MS / MS จากผลการทดลองพบว่าเทคนิค: GC / MS, LC-MS / MS และ UPLC / PDA ข้อมูล UPLC / PDA มีค่าเฉลี่ย 1.041% (n = 21, 4.2%) และ LC-MS / MS1.140% (n = 14, 6.81%)

วราพงษ์ เสนะวีระกุล และคณะ (วราพงษ์ เสนะวีระกุล และคณะ, 2533) ได้ทำการทดลองการสกัดใบกระท่อมด้วย acetic acid ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อปริมาตร ปรับ pH ให้อยู่ ในช่วง9-10 ด้วยสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น สกัดซ้ำด้วย ethyl acetate เมื่อนำชั้นของ ethyl acetate มาวิเคราะห์เชิงคุณภาพด้วยเทคนิค gas chromatography ชนิด mass detector พบปริมาณสาร mitragynine ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ (วิเคราะห์พื้นที่ใต้กราฟ) นำน้ำต้มกระท่อม ทั้ง 12 ตัวอย่าง ด้วยการปรับ pH และสกัดด้วย ethyl acetate สามารถตรวจพบสาร mitragynine ได้ในทุกตัวอย่างที่ทดสอบ สำหรับเทคนิคทางโครมาโตกราฟี ที่เหมาะสมในการตรวจพิสูจน์สาร mitragynine คือ วิธีthin layer chromatography โดยใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ hexane : ethyl acetate ในสัดส่วน 6:4 และการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง gas chromatography ชนิด FID

detector ด้วยวิธีดัดแปลง สามารถใช้แทนการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง gas chromatography ชนิด mass detector ได้

Nathan Fuenffinger et al. (Fuenffinger et al., 2017) ได้มีการพัฒนาวิธีการ IMS เพื่อการตรวจหา mitragynine โดยใช้ IMS เท่ากับ 0.5 ng การทดลองได้ใช้วิธี IMS ในการวิเคราะห์ตัวอย่างจำนวน 15 ตัวอย่าง ผลจากการวิเคราะห์ของ IMS ถูกนำมาเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง chromatography - tandem mass spectrometry (LC-MS / MS) ของตัวอย่างเดียวกันพบ Mitragynine ใน 14 ตัวอย่างจาก 15 ตัวอย่าง โดยใช้ LC-MS / MS และ 13 จาก 15 ตัวอย่างที่ใช้ IMS ความแตกต่างระหว่างวิธีการสะท้อนให้เห็นว่าตัวอย่างหนึ่งมี mitragynine ที่ความเข้มข้นต่ำกว่าขีดจำกัด การตรวจหา IMS การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงประโยชน์ของ IMS ในการตรวจคัดกรองผลิตภัณฑ์ที่มี kratom รวมทั้งความเชื่อถือได้ทางวิทยาศาสตร์ของวิธีการคัดกรอง IMS ซึ่งแสดงให้เห็นโดยการเปรียบเทียบผลของ IMS กับผลการยืนยันที่ได้จากการใช้ LC-MS / MS

Mei Jin Lee et al. (Lee et al., 2018) ได้ทดลองวิธีการที่ใช้ solid phase extraction และ liquid chromatography-tandem mass spectrometry เพื่อหาปริมาณ mitragynine, 16-carboxy mitragynine และ 9-O-demethyl mitragynine ในตัวอย่างปัสสาวะของมนุษย์ โดยใช้ nalorphine เป็นมาตรฐาน วิธีการนี้มีความแม่นยำในการวิเคราะห์ ในช่วง 83.6-117.5% โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนน้อยกว่า 13% เปอร์เซ็นต์ recovery ของ mitragynine, 16-carboxy mitragynine และ 9-O-demethyl mitragynine อยู่ในช่วง 80.1-118.9% ขีดจำกัดล่างของการวัดปริมาณคือ 1ng/mL สำหรับ mitragynine, 2ng/mL สำหรับ 16-carboxy mitragynine และ 50ng/mL สำหรับ 9-O-demethyl mitragynine วิธีการที่พัฒนาขึ้นนี้มีความแม่นยำสูงโดยเมื่อทำการทดลองซ้ำก็คงยังได้เปอร์เซ็นต์ recovery ของ mitragynine , 16-carboxy mitragynine และ 9-O-demethyl mitragynine ที่คงตัวในปัสสาวะของมนุษย์

กิตติศักดิ์ เหมือนดาว และมูฮำหมัด นิยมเดชา (MUANDAO & Niyomdecha, 2022) ได้ทำการศึกษาสารออกฤทธิ์ mitragynine โดยใช้สามวิธีในการแยกไมทราไจนีนบริสุทธิ์ออกจากใบกระท่อมด้วยเทคนิค TLC การแยกไมทราไจนีนที่ได้มาตรฐานผ่านคอลัมน์โครมาโตกราฟีจากน้ำมันดิบ Kratom สกัด และแยกไมทราไจนีนด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแบบคอลัมน์ด่วนจาก ใบกระท่อมที่สกัดแล้วและจากใบกระท่อมที่ไม่ได้สกัด ผลการวิจัยพบว่า ในการหาระบบการชำระล้างไมทราไจนีนด้วยทินเลเยอร์ โครมาโตกราฟี (TLC) โดยใช้เฟสเคลื่อนที่เป็น Ethyl acetate: Hexane (7:3), 1.13% ของ mitragynine ถูกโดดเดี่ยว เทคนิคคอลัมน์โครมาโตกราฟียังแยกไมทราไจนีนบริสุทธิ์ที่ 38.55% นอกจากนี้ยังพบการแยก mitragynine อย่างรวดเร็วโดยใช้เทคนิคโครมาโตกราฟีแบบคอลัมน์ด่วน จากใบกระท่อมตากแห้งบดละเอียด โดยแยกไมทราไจนีน 7.60% การสกัด ของใบ

กระท่อมแห้งโดยวิธีมาตรฐานก่อนที่จะทำโครมาโตกราฟีแบบควิกคอลัมภ์ได้ แยก 36.00% ของไมทราไจนีนที่มีความบริสุทธิ์สูงเมื่อเปรียบเทียบข้อมูลของ ^{1}H-NMR และ ^{13}C-NMR ด้วยส่วนผสมมาตรฐาน วิธีนี้ให้วิธีการที่ประหยัดต้นทุนและใช้ตัวทำละลายเป็นหลัก แยกเวลาเพื่อให้ได้ไมทราไจนีนที่ได้มาตรฐานเพียงพอสำหรับการใช้ทางนิติเวช

2.2 พืชกัญชา

กัญชาเป็นยารักษาโรคที่มีมานานทั้งในตำรับยาจีน ตำรับยาอายุรเวช ตำรับยาไทย ในเภสัชตำรับของประเทศอังกฤษและประเทศอื่น ๆ ต่อมาได้ถูกกำหนดให้เป็นสารเสพติดให้โทษจึงเลิกใช้ แต่งานวิจัยจำนวนมากได้ชี้แนะประโยชน์ของสารสำคัญในกัญชาที่สามารถใช้เพื่อรักษาโรคได้ และสำหรับประเทศไทยนั้นมีอากาศที่เหมาะสม สามารถเป็นแหล่งเพาะปลูกของกัญชาได้ (2562: 1-26) อย่างไรก็ตามถ้าเสพใบกัญชามากเกินไป ก็จะทำให้ผลที่ตามมาอาจจะมีผลลัพธ์ตรงกันข้าม

ตารางที่ 3 ตารางเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียของพืชกัญชา

ข้อดีของพืชกัญชา	ข้อเสียของพืชกัญชา
- ใช้บรรเทาหอบหืด	- เสื่อมสมรรถภาพทางกาย
- การใช้กัญชาในการรักษาต้อหินได้ โรคต้อหินเกิดจากความดันลูกนัยน์ตาสูง	- ทำลายระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย
- บำบัดมะเร็ง กระตุ้นความอยากอาหาร ช่วยชะลอน้ำหนักลด ป้องกันการคลื่นไส้อาเจียนในผู้ป่วยที่รับเคมีบำบัดในผู้ป่วยโรคมะเร็ง	- ทำลายสมอง ผู้
	- ทำให้เกิดมะเร็งปอด
	- ทำร้ายทารกในครรภ์
	- ทำลายความรู้สึกทางเพศ
	- ทำลายสุขภาพจิต

ที่มา : นำข้อมูลจาก โรงพยาบาลปทุมธานี กลุ่มงานอาชีวเวชกรรม มาเรียบเรียง

2.2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ (Botany characteristics)

กัญชาเป็นชื่อพืชที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cannabis sativa* L. ในวงศ Cannabaceae เป็นพืชไม้ล้มลุก ใบรูปฝ่ามือ มีรอยหยักลึกเป็นแฉกแหลม 5-7 แฉก มีต้นกำเนิดอยู่ในแถบเอเชียกลาง (จักรกฤษณ์ สิงห์บุตร & ชยันต์ พิเชียรสุนทร, 2562) มีทั้งหมด 3 สายพันธุ์ ได้แก่ 1. สายพันธุ์ซาติวา (Cannabis sativa) 2. สายพันธุ์อินดิกา (Cannabis indica) และ 3. สายพันธุ์รูเดอราลิส (Cannabis ruderalis) ในส่วนของประเทศไทยเป็นถิ่นกำเนิดของกัญชา (Cannabis, Marijuana) ที่มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Cannabis sativa* L. subsp. indica อยู่ในวงศ์ Cannabidiaceae (ตระกูล Cannabaceae) (2565)

กัญชา (Cannabis) มีส่วนประกอบทางเคมีมากกว่า 500 ชนิด ในแต่ละสายพันธุ์จะพบสารเคมีและลักษณะทางกายภาพแตกต่างกันออกไป (2562: 1-49) ซึ่งสารสำคัญในกัญชาจะมีหลายชนิด แต่สารสำคัญที่มีการศึกษามากที่สุดคือ กลุ่มแคนนาบินอยด์ (cannabinoids) (2562: 1-26) โดยสารสำคัญทั้ง 2 ชนิด มีรายงานวิจัยอย่างแพร่หลาย ได้แก่ delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) และ cannabidiol (CBD) โดย delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) มีฤทธิ์ต่อจิตและประสาท ทำให้เกิดประสาทหลอน ความจำแย่ลง ส่วนสารสำคัญชนิดที่ 2 คือ cannabidiol (CBD) ซึ่งมีฤทธิ์ต่อจิตประสาทน้อยกว่า ซึ่งจะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ที่ใช้ทำลายยาอื่น ซึ่งสัดส่วนของสาร delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) และ cannabidiol (CBD) มีเกณฑ์ในการจำแนกสายพันธุ์กัญชาได้ ซึ่งปริมาณสารแคนนาบินอยด์ในกัญชา (2562: 7)

ภาพที่ 4 เปรียบเทียบลักษณะต้นของพืชกัญชาและพืชกัญชง

ที่มาของภาพ : JOMM YB [ออนไลน์], ค้นหาเมื่อ 12 กันยายน 2565 เข้าถึงได้จาก https://www.baanlaesuan.com/265226/garden-farm/farming-101/cannabis-plant

กัญชา (Marijuana) **กัญชง (Hemp)**

Cannabis sativa L.subsp. indica ***Cannabis sativa L.subsp. sativa***

ภาพที่ 5 ลักษณะใบของพืชกัญชาและพืชกัญชง

ที่มาของภาพ : ศูนย์วิทยาศาสตร์เพื่อการศึกษา [ออนไลน์], ค้นหาเมื่อ 12 กันยายน 2565 เข้าถึงได้จาก https://sciplanet.org/content/8707

ช่อดอกเพศผู้ **ช่อดอกเพศเมีย**

ภาพที่ 6 ลักษณะของช่อดอกพืชกัญชา

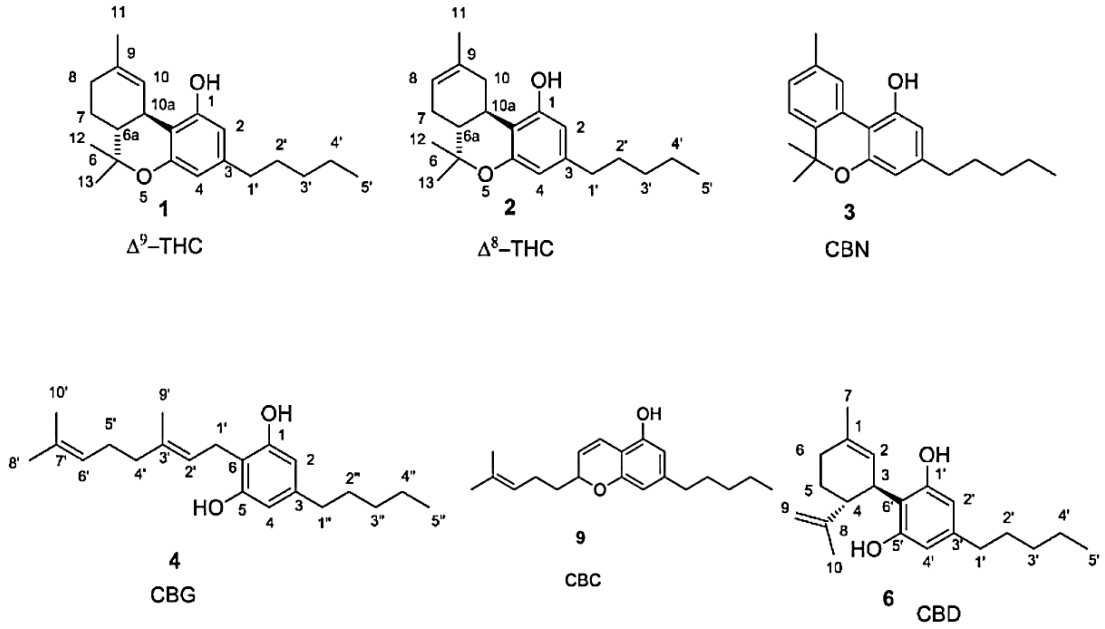
ที่มาของภาพ : ภาพถ่ายโดย ชยันต์ พิเชียรสุนทร

เข้าถึงได้จาก https://www.growshopthailand.com

2.2.2 สารสำคัญของพืชกัญชา

ปัจจุบันสารสำคัญที่พบในกัญชาถูกพบมากกวา 500 ชนิด แบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม (2562: 1-26)

● สารแคนนาบินอยด์ (Cannabinoids) ที่มีรายงานการศึกษามากที่สุดพบมากกว่า 60 ชนิด คือ delta-9-tetrahydro-cannabinol (THC) และ cannabidiol (CBD) สภาพแวดล้อมมีผลต่อปริมาณสารสำคัญของกัญชา แต่สัดส่วนของ THC : CBD แตกต่างไปตามสายพันธุ์ของกัญชา สารสำคัญในกลุ่มแคนนาบินอยด์ที่มีการวิจัยมากที่สุดคือ THC ซึ่งออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท (psychoactive) และ CBD ที่ไม่มีผลต่อจิตประสาท (non-psychoactive) นอกจาก THC และ CBD แล้วยังมีสารอื่น ๆ ในกลุ่มนี้ที่ออกฤทธิ์ต่อจิตประสาท ได้แก่ delta-8-THC และ CBN ส่วนที่พบว่าไม่มีฤทธิ์ต่อจิตประสาท ได้แก่ CBC และ CBG เป็นต้น (2562: 1-26) (2562: 1-49) **(ภาพที่ 7)**



ภาพที่ 7 โครงสร้างของแคนนาบินอยด์จากพืชทั้งชนิดที่มีผลต่อจิตประสาท (Δ8 -THC, Δ9 -THC, CBN) และชนิดไม่มีผลต่อจิตประสาท (CBC, CBG และ CBD)

ที่มาของภาพ : เจ้าของร้าน [ออนไลน์], ค้นหาเมื่อ 12 กันยายน 2565

เข้าถึงได้จาก https://www.growshopthailand.com/b/9

● สารเทอร์ฟีน (Terpenes) หรือไอโซพรีนอยด์ (Isoprenoids) มีมากกว่า 200 ชนิด แต่ละสายพันธุ์จะมีปริมาณของสารกลุ่มนี้แตกต่างกันและขึ้นอยู่สภาพแวดล้อมที่ปลูก เช่น สายพันธุ์ indica จะมี beta-myrcene สูง สายพันธุ์ sativa จะมีรูปแบบชนิดของ terpenes แตกต่างไป (2562: 1-26) และเป็นสารประกอบหลักอีกประเภทหนึ่งในกัญชาที่เป็นสารประกอบอะโรมาติก ที่ทำให้กัญชาแต่ละสายพันธุ์มีกลิ่นและรสแตกต่างกัน ช่วยในการตรวจชนิดของสายพันธุ์ โดยจะใช้สุนัขดมกลิ่นตรวจจับกัญชาที่ลักลอบเข้ามา แต่สารกลุ่มนี้ ไม่ได้พบเฉพาะในกัญชาซึ่งสามารถพบได้ในพืชอื่น ๆ ด้วย (2562: 1-49)

● ฟลาโวนอยส์ (Flavonoids) เป็นกลุ่มสารที่ยังมีการศึกษาในกัญชาไม่มากนัก มีมากกว่า 29 ชนิด ซึ่งจะมีความสำคัญในการออกฤทธิ์ของกัญชาเพื่อให้เกิดฤทธิ์รวมกัน เรียกว่า “entourage effect” ซึ่งจะแตกต่างจากฤทธิ์ที่ได้จากสารเดี่ยว (2562: 1-26)

ขนมีต่อม สารแคนนาบินอยด์และสารเทอร์ปีน **(ภาพที่ 8)** ถูกผลิตขึ้นในต่อมเรซินของกัญชา ซึ่งเรียกว่าขนมีต่อม ขนนี้จะอยู่บนผิวของทุกส่วนของต้นกัญชาทั้งต้น จะอยู่หนาแน่นที่สุดในบริเวณช่อดอกของต้นกัญชาเพศเมีย สารแคนนาบินอยด์ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของกรดที่ยังไม่ทำงาน ซึ่งสารชนิดนี้มีฤทธิ์ทางยา เช่น THC/CBD จะถูกสร้างขึ้นก็ต่อเมื่อกัญชาได้รับความร้อนที่อุณหภูมิอย่างน้อย 180℃

ภาพที่ 8 ภาพขยายของขนมีต่อม ที่ประกอบด้วยสารแคนนาบินอยด์และสารเทอร์ปีน
ที่พบได้บนผิวของทุกส่วนทั่วต้นกัญชา
ที่มาของภาพ : MASAKI [ออนไลน์], ค้นหาเมื่อ 12 กันยายน 2565
จาก https://masakigarden.com

2.2.3 การศึกษาทางเภสัชวิทยา (Pharmacology)

ฤทธิ์ระงับปวด (analgesic effect) ของกัญชารูปแบบตาง ทำการทดสอบในผูปวยที่มีอาการปวดเรื้อรังจำนวน 2,454 คน ไดแก ปวดประสาท (neuropathic pain), ปวดจากมะเร็ง, อาการปวดเสนประสาทในผูปวยเบาหวาน (diabetic peripheral neuropathy),ปวดกลามเนื้อ (fibromyalgia), ปวดจากติดเชื้อ HIV, โรคปลอกประสาทเสื่อม (multiple sclerosis, MS), อาการอักเสบรูมาตอยด และอาการปวดจากเคมีบำบัด พบวากัญชามีฤทธิ์ในการบรรเทาอาการปวด (Whiting et al., 2015) ผลการทดสอบทางคลินิกกับผูมีอาการปวดจากโรคปลอกประสาทเสื่อมจำนวน 24 ราย โดยใช้ยา Dronabinol ทางปากขนาด 10 mg/day หรือผูปวยปวดประสาท ซึ่งไดรับยา THC/CBD (Sativex®) พบวาสามารถลดอาการปวดไดอยางมีนัยสำคัญ ชวยใหการนอนหลับดีขึ้นโดยไมตองเพิ่มขนาดยา ยาชนิดนี้ในปจจุบันอนุญาตใหใชไดในบางประเทศเทานั้น ไดแก แคนาดา สหราชอาณาจักร สวิตเซอรแลนด นอรเวย และตุรกี

นอกจากนี้ยังมีการทดสอบ THC ตอภาวะเบื่ออาหาร (anorexia) ในสัตวทดลอง พบวา THC ลดการสูญเสียน้ำหนักของหนูบนลอเลื่อน มีการเพิ่มปริมาณฮอรโมน leptin และลดระดับฮอรโมน corticosterone ในเลือดได (Scherma et al., 2017)

จากการศึกษา (Rice & Cameron, 2018) การใช CBD ขนาด 5 - 50 mg/kg/day ในผูปวยลมชัก (epilepsy) ที่เปนเด็ก 72 ราย และผูใหญ 60 ราย ทั้งหมด 48 สัปดาห พบวาสามารถลดความรุนแรงและความถี่ของอาการชักได โดยมีความแตกตางอยางมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) ภายในระยะเวลา 12 สัปดาห หลังจากนั้นผลคอนขางคงที่ ไมมีความแตกตางกันของผลการทดลองระหวางอาการในเด็กและผูใหญ และการทดสอบ CBD ในเด็กกลุมอาการออทิสติก (Autism spectrum disorder, ASD) จำนวน 60 ราย โดยทดสอบแบบปดทั้งสองดาน (double blind) เมื่อใช้ยา CBD (CBD:THC = 20:1) 10 mg/kg/day พบวายาดังกลาวชวยพัฒนาการสื่อสาร ลดความเครียด ความกังวล และพฤติกรรมกอกวน (disruptive behavior)

มีรายงานการวิจัยจากการควบคุม ECS การใชกัญชาในการรักษาโรคมะเร็ง ทำใหมีผลต่อฤทธิ์ตานมะเร็ง พบวาสาร THC CBD และอนุพันธแคนนาบินอยด เชน CBC หรือ CBG รวมถึงสารฟลาโวนอยด มีฤทธิ์ตานเซลลมะเร็งหลายชนิด เชน มะเร็งเตานม (breast cancer cells) มะเร็งตอมลูกหมาก (prostate cancer) มะเร็งตับ (hepatocarcinoma) มะเร็งปอด (lung cancer) มะเร็งเม็ดเลือดขาว (lypmphocyte leukemia cells) มะเร็งตับออน (pancreatic cells) และมะเร็งผิวหนัง (melanoma cells)

อยางไรก็ตามในปจจุบันยังไมมีองคการอาหารและยาของประเทศใดรวมทั้ง USFDA อนุญาตใหใชกัญชาหรือสารสำคัญจากกัญชาเพื่อทำการรักษามะเร็งได้

2.2.4 การศึกษาทางพิษวิทยา (Toxicology)

นอกจากฤทธิ์ในการรักษาความเจ็บปวยแลว กัญชาก็ยังมีสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ตอจิตประสาทอีกด้วย

รายงานการทดสอบพิษเฉียบพลัน จากสารสกัดหยาบกัญชา พบวาการใหสารสกัดในหนูแรทขนาดระหวาง 225–3,600 mg/kg พบการตายของหนูเกิดขึ้นระหวาง 36-72 ชั่วโมง อัตราการตายพบ THC เปนสองเทาของสารสกัดกัญชา มีอาการดังนี้ อุณหภูมิลดเฉียบพลัน (acute hypothermia) หายใจชา (bradypnea) น้ำหนักลดเฉียบพลัน (rapid weight loss) เซื่องซึม (inactivity) เดินเซ (ataxia) กลามเนื้อกระตุก (muscle tremors) และนอนราบกับพื้น (prostration)

รายงานการศึกษาโดยใหสาร THC ทางปาก ขนาด 50, 250, 400, 500 mg/kg/day และสารสกัดหยาบกัญชาขนาด 150, 750, 1,200, 1,500 mg/kg/day ในหนูแรทติดตอกันเปนระยะเวลา 119 พบการตายเกิดขึ้นภายใน 36-72 ชั่วโมง (Thompson GR., *et al*., 1973) การทดสอบพิษเรื้อรังทางคลินิกของ CBD ขนาด 10 mg/day นานติดตอกัน 21 วัน และในผูปวยลมชัก ได้รับขนาด 200-300 mg/day นานติดตอกัน 135 วัน ไมพบความเปนพิษหรืออาการความผิดปกติเกิดขึ้น (Machado Bergamaschi et al., 2011)

รายงานการศึกษาใชกัญชาในมนุษยเปนเวลานาน พบอาการที่เกิดความผิดปกติตอจิตประสาท ไดแก ซึมเศรา กังวล โรคจิต ไบโพลาร ขาดแรงใจ สวนการสูบกัญชา พบวามีผลตอระบบหายใจโดยตรง ไดแก ความหนาแนนปอดลดลง เนื้องอกที่ปอด ปอดอักเสบเรื้อรัง (Reece, 2009)

รายงานการศึกษารวบรวมขอมูลในประเทศ สหรัฐอเมริกา จากผูใชกัญชาสัปดาหละครั้งหรือนอยกวา จำนวน 1,913 คน พบวาปริมาณกัญชาที่ไดรับมีผลโดยตรงตอระบบหลอดเลือดหัวใจ อาการที่สำคัญ ไดแก ภาวะกลามเนื้อหัวใจตาย (myocardial infarction)(40) และหัวใจเตนผิดปกติ (cardiac arrhythmias) (Korantzopoulos et al., 2008) นอกจากนี้ยังพบวาการเสพกัญชาอยางหนักทำใหเกิดการสูญเสียมวลกระดูก (2009: n.p.)

ความเปนพิษอื่น ๆ เชน การทดสอบแนวโนมของ THC เปนระยะเวลา 2 ป ในการเกิดมะเร็งในหนูถีบจักรขนาด 0-500 mg/kg และหนูแรท 0-50 mg/kg พบวา THC ไมมีความสัมพันธอยางมีนัยสำคัญตอการเกิดมะเร็ง (carcinogenicity) หรือฤทธิ์กอกลายพันธุ (mutagenicity) (Sharma et al., 2012)

2.2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สมสรวย วัฒนศิริ (สมสรวย วัฒนศิริ, 2546) ได้ศึกษาตัวอย่างพืชสกุล Cannabis จาก 7 แหล่ง ได้ผ่านการวิธีทางเคมี คือ การเกิดปฏิกิริยาให้สีกับ Fast Blue B salt และ Thin Layer Chromatography และวิธีการทางการตรวจสารพันธุกรรมโดยอาศัยเครื่องหมายทางโมเลกุล จำนวน 2 ตำแหน่ง จากผลการตรวจพบว่า การเกิดปฏิกิริยาให้สีสามารถแยกตัวอย่างพืชประเภทเสพติด สีแดงถึงม่วงแดง หมายถึงประเภทกึ่งเสพติด การวิเคราะห์โดย Thin Layer Chromatography ด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน-ไดออกเซน-เมทานอล ในอัตราส่วน 70:20:10 ให้ผลในการแยกสารสำคัญได้ชัดเจน พืชประเภทสารเสพติดจะพบ สาร THC และ/หรือ CBN ในปริมาณมาก โดยไม่พบสาร CBD พืชประเภทเส้นใยจะพบสาร CBD ในปริมาณมาก พบ THC ในปริมาณที่น้อยมาก รวมทั้งพบแถบสีส้มที่มีค่า Rf ประมาณ 0.20 ส่วนในประเภทกึ่งเสพติดนั้นจะพบทั้งสาร THC และ CBD ในปริมาณที่เท่ากัน ผลการตรวจเครื่องหมายโมเลกุลจำนวน 2 ตำแหน่ง 1. Drug-type marker ซึ่งจำเพาะกับพืชสกุล Cannabis ประเภทเสพติด ให้ผลในการแยกประเภทได้ชัดเจน 2. 25 Cannabis sativa-specific marker ไม่สามารถใช้ในการแยกประเภทได้ แต่สามารถใช้ในการ ตรวจหาพืชสกุล Cannabis ได้

มัลลิกา จินดาซิงห์ และสุทธิรักษ์ ผลเจริญ (มัลลิกา จินดาซิงห์ & สุทธิรักษ์ ผลเจริญ , 2565) ได้ศึกษาวิธีการวิเคราะหสารเสพติด tetrahydrocannabinol (THC) ในกัญชงพันธุตางกัน โดยเทคนิคกาซโครมาโทกราฟ/แมสสเปคโทรเมตรี(GC/MS) กัญชงพันธุที่มีปริมาณสาร THC มากที่สุด คือ พันธุปางตองมี มีคาเทากับ 2.73% THC รองลงมาคือพันธุสองแคว, พบพระ, แมตะละ, หวยหอย, หวยแลง, ปางอุง และปางแกมีคาเทากับ 2.50, 1.94, 1.94, 1.03, 1.57, 1.03 และ 0.6% THC ตามลำดับ สวนพันธุ ที่มีปริมาณ THC นอยที่สุด คือ พันธุเวียดนาม มีคาเทากับ 0.3% THC นอกจากนั้นยังพบสารอื่นๆ ในกลุม cannabinoids ที่สำคัญ ไดแก cannabichromene (CBC), cannabidiol (CBD) และ cannabinol (CBN) ซึ่งมีปริมาณสารที่ แตกตางกัน โดย CBD มีคาอยูในชวง 9.58 – 39.71% ของพื้นที่ใตพีค, CBC มีคาอยูในชวง 1.06– 2.86% ของพื้นที่ใตพีคและ CBN มีคาอยูในชวง 1.29 – 5.15% ของพื้นที่ใตพีค ตามลำดับ และยังพบสาร Δ 8 -THC ในสาร THC ซึ่งแยกไดโดยแมสสเปค โทรเมตรี ผลการศึกษานี้สามารถยืนยันไดวาวิธีการวิเคราะหดวย GC-MS เปนวิธีที่รวดเร็วและไมยุงยากสำหรับตรวจหา ปริมาณของสาร THC และปริมาณของสารกลุม cannabinoids ในกัญชงในกัญชงพันธุตางกัน

ปภานัน สร้อยสุวรรณ และคณะ (ปภานัน สร้อยสุวรรณ, 2556) ได้ศึกษาการพัฒนาการตรวจวัดสารแคนนาบินอยด์ในพืชกัญชาด้วยน้ำยาให้สีฟาสต์เรดบีซอลต ตัวทำละลายที่ใช้ เมทานอล เอทานอล เฮกเซน และไดเอทิลอีเทอร์ จากนั้นนำมารัน mobile phase เฮกเซนต่อไดเอทิลอีเทอร์ อัตราส่วน 100 : 0, 80 : 20, 70 : 30, 50 : 50, 30 : 70 และ 0 : 100 ย้อมสีด้วย พบว่า เอทานอล เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่จะใช้ในการสกัด ด้วยระบบเฮกเซน ต่อ ไดเอทิลอีเทอร์ อัตราส่วน 70 : 30 ซึ่งเมื่อย้อมสีด้วยฟาสต์เรดบีซอลต์ พบว่าสารเตตระไฮโดรแคนนาบินอลจะเป็นสีส้มเหลือง ในขณะที่ สารแคนนาบิไดออล

Céline Burnier, PierreEsseiva, ChristopheRoussel (Burnier et al., 2019) ได้ศึกษาการหาปริมาณของ THC ในพืชกัญชา โดยวิธี fast-HPLC-DAD วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ได้ศึกษาวิธีโครมาโตกราฟีของเหลวความดันสูงแบบเร็ว (Fast-HPLC-DAD) ทำให้สารสำคัญในพืชกัญชาได้อย่างมีประสิทธิภาพ น้อยกว่า 5 นาที นอกจากนี้ยังเป็นทางเลือกที่น่าสนใจในราคาประหยัดสำหรับ Ultra High Pressure Liquid Chromatography (UPLC) สำหรับการวิเคราะห์ตามปกติในนิติวิทยาศาสตร์

ธนวัฒน ทองจีน และคณะ (ธนวัฒน ทองจีน และคณะ, 2564) ได้ศึกษาวิธีการพัฒนาวิธีวิเคราะหปริมาณแคนนาบินอยดในใบกัญชาดวยวิธี Ultra High Performance Liquid Chromatography สกัดตัวอยางใบกัญชาใน ethanol ดวยวิธี reflux กรองและนำสารสกัดมาระเหยแหง จากนั้นละลายกลับและปรับปริมาตรดวย methanol แลวนำมาวิเคราะหดวยเครื่อง UHPLC ผลการทดสอบความใชไดของวิธี วิเคราะหดังกลาว พบวา calibration curve ของ CBD, CBN และ THC

สุมิตา นิยมเดชา และมูฮำหมัด นิยมเดช (สุมิตา นิยมเดชา, 2022) ได้ทำการศึกษาการทดสอบการแยกสารสำคัญในกัญชา สกัดด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน (Hexane) ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) เอทธิล อะซีเตท (Ethyl acetate) เอทานอล (Ethanol) เมทานอล (Methanol) และน้ำ อย่างละปริมาตร 200 มิลลิลิตร โดยชั่งผงกัญชาแห้งบดละเอียด 20 g ทำการสกัดประมาณ 24 ชม. พบว่า ในการแยกสารบริสุทธิ์พบว่าในตัวทำละลาย Hexane, Dichloromethane, Ethyl acetate และ Methanol พบสารบริสุทธิ์ที่มีปริมาณเยอะที่สุดในทุก fraction คือสาร CBN และในตัวทำละลาย Ethanol พบสารบริสุทธิ์ของ CBD แต่พบในปริมาณน้อย

2.3 กรอบแนวคิดการวิจัย

- กรอบแนวคิดการวิจัยในพืชกระท่อม

ตัวแปรต้น

1. ทดลองหาวิธีการแยกสารไมทราไจนีน

ตัวแปรตาม

1. สารมาตราฐานไมทราไจนีน

- กรอบแนวคิดการวิจัยในพืชกัญชา

ตัวแปรต้น

1. รูปแบบของพืชกัญชาที่ใช้
2. ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดพืชกัญชา
3. เปรียบเทียบวิธีการสกัดสาระสำคัญในพืชกัญชา
4. ทดลองหาวิธีการสกัดสารสกัดหยาบ สกัดและแยกตัวสาระสำคัญในพืชกระท่อม

ตัวแปรตาม

1. วิธีการสกัดสาร THC, CBD และ CBN จากส่วนต่าง ๆ ของต้นกัญชา
2. สารมาตรฐาน THC, CBD และ CBN

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1. ตัวอย่างพืชกระท่อมและกัญชา

3.1.1 พืชกระท่อม ควบคุมการทดลองโดยการใช้พืชกระท่อมจากแหล่งเดียวกัน โดยที่ขนาดของใบ ความแก่ของใบและสีของใบ ต้องมีความใกล้เคียงกัน โดยใช้ใบกระท่อมสด จำนวน 5 kg ที่ทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 °C จนน้ำหนักแห้งคงที่

3.1.2 พืชกัญชา 1. แบบแห้ง และ 2. แบบสด

3.1.3 พืชกัญชาแบบอัดแท่ง**สำเร็จรูป**

3.2 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

3.2.1 อุปกรณ์

- อุปกรณ์พื้นฐานในห้องปฏิบัติการเคมี
- Filter paper No.1
- Thin-layer chromatography
- ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR และ F-TIR
- เครื่อง vacuum pump
- เครื่อง rotary evaporator
- หลอด capillary tube
- เครื่อง soxhlet extraction
- ผ้าขาวบาง

3.2.2 สารเคมี

- พืชกระท่อมสด
- พืชกัญชาอัดแท่ง
- พืชกัญชาแห้ง
- พืชกัญชาสด
- Acetic acid
- Ammonia
- Ethyl acetate ($CH_3COOC_2H_5$)

- Silica gel 60, 0, 06 mm
- Silica gel (Kieselgel 60g Art. 7731)
- Hexane (C_6H_{14})
- Dichloromethane
- Ethanol

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมสารสกัดหยาบ (crude extract) จากใบพืชกระท่อม

นำใบกระท่อมอบที่อุณหภูมิ 50°C นำมาปั่นให้ละเอียด ชั่งใบกระท่อมบด 100 g และเติมกรดอะซิติกเอซิด 50% (Acetic Acid) ปริมาณ 1000 mL (Acetic Acid 500 mL, น้ำกลั่น 500 mL) ทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที ทำการปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 9-10 โดยสารละลายแอมโมเนีย (25% ammonia solution) จากนั้นเติมเอทิลอะซิเตท (Ethyl Acetate) ปริมาณ 1000 mL ทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที แล้วนำไปกรองด้วยเครื่องแว๊คคั่มปั๊ม (vacuum pump) และแยกชั้นด้วยการแยกเก็บสารละลายส่วนใสที่อยู่ชั้นบนของเอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) ใส่ไว้ในขวดก้นกลม (Round bottom flasks) นำส่วนที่เก็บไประเหยเอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) ด้วยเครื่อง rotary evaporator ให้พอแห้ง คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ yield **(ภาพที่ 9)**

ภาพที่ 9 ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดหยาบ (crude extract) จากใบพืชกระท่อม

3.3.2 การแยกสารบริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคควิกคอลัมน์โครมาโตกราฟี (quick column chromatography)

เตรียมเครื่องแว๊คคั่มปั๊ม (vacuum pump) โดยใช้เทคนิคควิกคอลัมน์โครมาโตกราฟี (quick column chromatography) วางกระดาษกรอง (whatman) เบอร์ 1 จำนวน 2 แผ่น ลงบน buchner funnel ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 cm ค่อย ๆ หยด hexane ลงบนกระดาษกรองให้ทั่วแผ่น จากนั้นบรรจุ silica gel (Kieselgel 60g Art. 7731) ลงไปใน buchner funnel แพ็คสูง 2 cm กดให้แน่น วางกระดาษกรอง (whatman) เบอร์ 1 จำนวน 1 แผ่น ลงบนผิวหน้าของ silica gel (Kieselgel 60g Art. 7731) เทผงกระท่อมที่ผ่านการระเหยลงบนกระดาษกรอง แล้วเกลี่ยให้ทั่ว

บรรจุ Silica gel 60, 0, 06 mm ให้พอปิดทับผิวหน้าของผงกระท่อม วางกระดาษกรอง (whatman) เบอร์ 1 จำนวน 2 แผ่น

นำตัวทำละลาย 400 mL ที่เตรียมไว้ค่อย ๆ เทลงไปใน buchner funnel รอจนตัวทำละลายซึมลงใน silica gel จนหมด แล้วทำการเชื่อมต่อกับปั๊ม เพื่อการดูดสารละลายออกจาก silica gel สารละลายที่ได้จะไหลลงในภาชนะรองรับ รอจนกระทั่งไม่มีสารไหลลงมาแล้ว จึงทำการถอดการเชื่อมต่อกับปั๊มออก โดยจะถูกแบ่งเป็น fractions หลังจากนั้นจึงค่อย ๆ เพิ่มขั้วของตัวทำละลายไปเรื่อย ๆ นำสารที่ได้เทออกจากภาชนะรองรับ ไปเก็บไว้ในขวดก้นกลม คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ yield **(ภาพที่ 10)**

ภาพที่ 10 การแยกสารบริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคควิกคอลัมน์โครมาโตกราฟี (quick column chromatography)

นำ crude extract ที่ได้มาทำการแยกด้วยเทคนิค Quick column chromatography โดยการใช้ตัวทำละลายในแต่ละครั้ง ดังนี้ **(ตารางที่ 4)**

ตารางที่ 4 ปริมาณใบกระท่อมที่ใช้ในการสกัดในแต่ละครั้งและสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัด

	ครั้งที่ 1 **ตัวทำละลาย 200 mL**	**ครั้งที่ 2** **ตัวทำละลาย 400 mL**
f_1	H = 200 mL	H = 400 mL
f_2	H = 160 mL D = 40 mL	H = 360 mL D = 40 mL
f_3	H = 100 mL D = 100 mL	H = 200 mL D = 200 mL
f_4	D = 200 mL	D = 400 mL
f_5	D = 100 mL E = 100 mL	D = 390 mL E = 10 mL
f_6	E = 200 mL	D = 380 mL E = 20 mL
f_7	E = 100 mL Et = 100 mL	D = 370 mL E = 30 mL

* H = Hexane
* D = Dichloromethane
* E = Ethyl Acetate
* Et = Ethanol

ครั้งที่ 2 การทดลองนี้ทำการเพิ่มขั้วตัวทำละลายไปเรื่อย ๆ จนกว่าจะเห็นการแยกชั้นของสารชัดเจน

3.3.3 วิธีการแยกสารไมทราไจนีนให้บริสุทธิ์มากที่สุด

นำสารที่ได้ในแต่ละส่วนไประเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 70-75°C จนสารระเหยหมด ทำซ้ำจนได้ปริมาณในแต่ละส่วนที่มีปริมาณเพียงพอต่อการทดลอง จากนั้นนำมาสพอท (spot) ลงบนแผ่นเพลต TLC (Thin-layer chromatography) โดยควบคุมอัตราการสพอท (spot) เท่า ๆ กันอย่างสม่ำเสมอ โดยใช้หลอดแคพิลารี่ (Capillary tube) ในการสพอท (spot) ใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ (Mobile phase) ethyl acetate และ hexane ในอัตราส่วน 1 : 1 แล้วปิดฝา จับเวลา 1 นาที **(ภาพที่ 11)**

ภาพที่ 11 ใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ (Mobile phase) เพื่อหาตำแหน่งของสาร
ethyl acetate และ hexane ในอัตราส่วน 1 : 1

เมื่อครบแล้วนำไปส่องภายใต้แสงยูวี (Ultraviolet) ที่ช่วงความยาวคลื่น 254 nm เพื่อดูว่าแต่ละ fractions มี fractions ไหนที่แยกเป็นสารบริสุทธิ์มากที่สุด

3.3.4 การเตรียมสารสกัดหยาบ (crude extract) จากใบพืชกัญชาสด

นำส่วนดอกและใบของพืชกัญชา มาสับให้ละเอียด จากนั้นชั่งส่วนดอกและใบ 27.45g และ20 g ตามลำดับ นำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 400 mL **(ภาพที่ 12)** จากนั้นทำการกรองสารสกัด และนำสารสกัดที่ได้ ไปทำการระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator เมื่อแห้งแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ yield **(ภาพที่ 13)**

ภาพที่ 12 ส่วนดอกและใบของพืชกัญชาสด
สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ในปริมาณ 400 mL

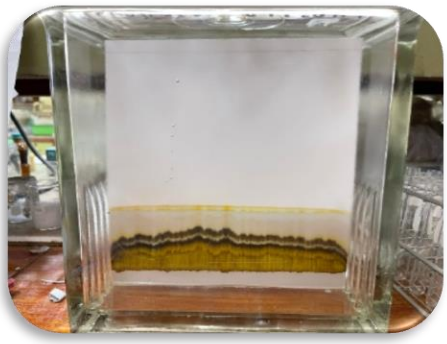
ภาพที่ 13 นำสารสกัดที่ได้ทำการระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator

3.3.5 วิธีการแยกสารแคนนาบินอยด์

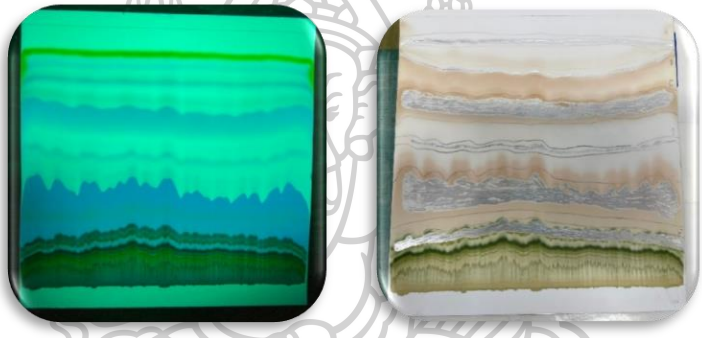
นำสารสกัดที่ได้ดูดออกมาจากขวดไวแอลให้พอประมาณ นำไปชั่งน้ำหนัก (ชั่งน้ำหนักขวดก่อนและหลัง) จากนั้นนำไประเหยให้แห้ง แล้วจึงนำไปทำการสพอท (spot)

นำสารสกัดที่ได้มาสพอท (spot) ลงบนแผ่นเพลต TLC (Thin-layer chromatography) โดยควบคุมอัตราการสพอท (spot) เท่า ๆ กันอย่างสม่ำเสมอ โดยใช้หลอดแคพิลารี่ (Capillary tube) ในการสพอท (spot) **(ภาพที่ 14)** ใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ (Mobile phase) คือ n-hexane : Dichloromethane (1 : 1) ตามลำดับ แล้วปิดฝา จับเวลา 1 นาที **(ภาพที่ 15)** เมื่อครบแล้วนำไปส่องภายใต้แสงยูวี (Ultraviolet) ที่ช่วงความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ใช้ดินสอวงกลมหาตำแหน่งสารที่แยกได้ นำมาทำการขูดตำแหน่งแถบของสารสำคัญ **(ภาพที่ 16)**

ภาพที่ 14 สพอทสารตัวอย่างลงบนแผ่นเพลต TLC (Thin-layer chromatography)



ภาพที่ 15 ใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ (Mobile phase) เพื่อหาตำแหน่งของสาร
n-hexane : Dichloromethane ในอัตราส่วน 1 : 1



ภาพที่ 16 ส่องภายใต้แสงยูวี (Ultraviolet) ที่ช่วงความยาวคลื่น 254 nm
และนำมาทำการขูดตำแหน่งแถบของสารสำคัญ ตามลำดับ

นำสารแต่ละแถบที่ขูดออกมากรองและชะล้างด้วยตัวทำละลาย Methanol จากนั้นนำสารที่ได้จากการกรองไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator (จดน้ำหนักขวดก่อนและหลังระเหย)

3.3.6 การเตรียมสารสกัดหยาบ (crude extract) จากใบพืชกัญชาแห้ง

นำส่วนดอกและใบของพืชกัญชากัญชาอบที่อุณหภูมิ 50°C นำมาปั่นให้พอละเอียด จากนั้นชั่งส่วนดอกและใบ 27.45 g และ20 g ตามลำดับ นำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 400 mL **(ภาพที่ 17)** หลังจากนั้นทำการกรองสารสกัด และนำสารสกัดที่ได้ ไปทำการระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator เมื่อแห้งแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ yield **(ภาพที่ 18)**

ภาพที่ 17 ส่วนดอกและใบของพืชกัญชา
สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ในปริมาณ 400 mL

ภาพที่ 18 นำสารสกัดที่ได้ทำการระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator

3.3.7 การเตรียมสารสกัดหยาบ (crude extract) จากใบพืชกัญชาอัดแท่ง

นำตัวอย่างกัญชาอัดแท่งมาบดหยาบ ๆ นำไปชั่ง 100 g จากนั้นนำไปห่อด้วยผ้าขาวบางมัดให้แน่น จากนั้นนำไปใส่ในเครื่อง soxhlet extraction **(ภาพที่ 19)** เติมตัวทำละลาย Ethanol 800 mL **(ภาพที่ 20)** สกัดด้วยอุณหภูมิที่ 55 – 60 °C สกัดไปเรื่อย ๆ จนกว่าตัวทำละลายจะมีสีใส

ภาพที่ 19 นำตัวอย่างกัญชาอัดแท่งมาห่อด้วยผ้าขาวบางมัดให้แน่น
จากนั้นนำไปใส่ในเครื่อง soxhlet extraction

ภาพที่ 20 เติมตัวทำละลาย Ethanol 800 mL

จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ ไปทำการระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator เมื่อแห้งแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ yield

ภาพที่ 21 นำสารสกัดที่ได้ ไปทำการระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator

3.3.8 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR

นำสารที่สกัดได้ ละลายใน $CDCl_3$ นำไปวิเคราะห์ด้วย NMR โดยสำหรับ ^{1}H-NMR ทำการ Run ที่ chemical shift 0-9 ppm และ ^{13}C- NMR (75 MHz Bruker spectrometer) ทำการ Run ที่ chemical shift 0-200 ppm

นำ spectrum ที่ได้จากการทดลองมาเทียบเท่ากับ spectrum มาตราฐาน

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 ปริมาณสารสกัดหยาบ (Crude extract) จากพืชกระท่อมแห้ง

จากการศึกษาการสกัดใบกระท่อมด้วยการประยุกต์จากวิธีของ Yubin โดยสกัดด้วยกรดอะซิติก 50% (50% Acetic acid) ปริมาณ 1000 mL (Acetic acid 500 mL, น้ำกลั่น 500 mL) ทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที ทำการปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 9-10 โดยสารละลายแอมโมเนีย (25% ammonia solution) จากนั้นเติมเอทิลอะซิเตท (Ethyl acetate) ปริมาณ 1000 mL ทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที

ตารางที่ 5 สารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดพืชกระท่อมแห้ง

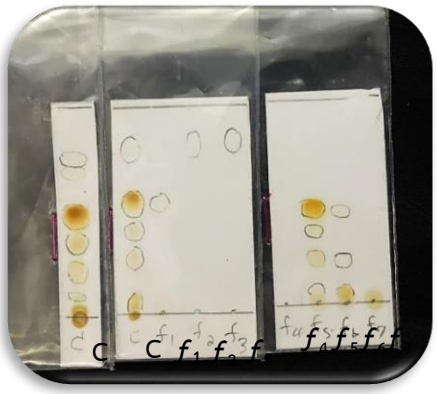
น้ำหนักใบกระท่อม (g)	**น้ำหนักสารสกัดหยาบ (g)**	**ร้อยละผลผลิต ของสารที่สกัดได้ (% Yield)**
100	3.84	3.84

4.2 ผลการแยกสารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค quick column chromatography

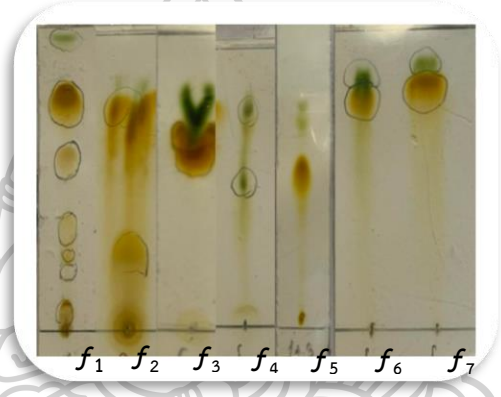
ผลการตรวจสอบการแยกเพื่อหาสารบริสุทธิ์จากพืชกระท่อมแห้งด้วยวิธี TLC plate จากการศึกษานำสารสกัดหยาบที่เตรียมด้วยการประยุกต์จากวิธีของ Yubin มาแยกสารไมทราไจนีนด้วยเทคนิค TLC โดยใช้ Mobile phase คือ Ethyl acetate : n-Hexane (1:1) ทำให้เกิดแถบ (Band) ของสารไมทราไจนีนและบนแผ่น TLC

ตารางที่ 6 การใช้สารสกัดหยดลงบนแผ่น TLC ในแต่ละครั้ง

ครั้งที่	**Crude extract (g)**	**ผลที่ได้**
1	1	ไม่สามารถแยกได้
2	2	สามารถแยกได้



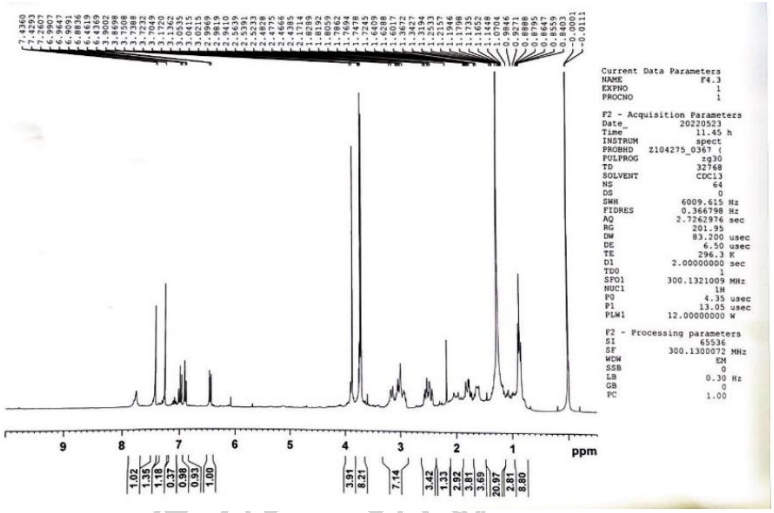
ภาพที่ 22 ครั้งที่ 1 โครมาโทแกรมของสารสกัดหยาบเมื่อทำการแยกหาไมทราไจนีนด้วยเทคนิค TLC



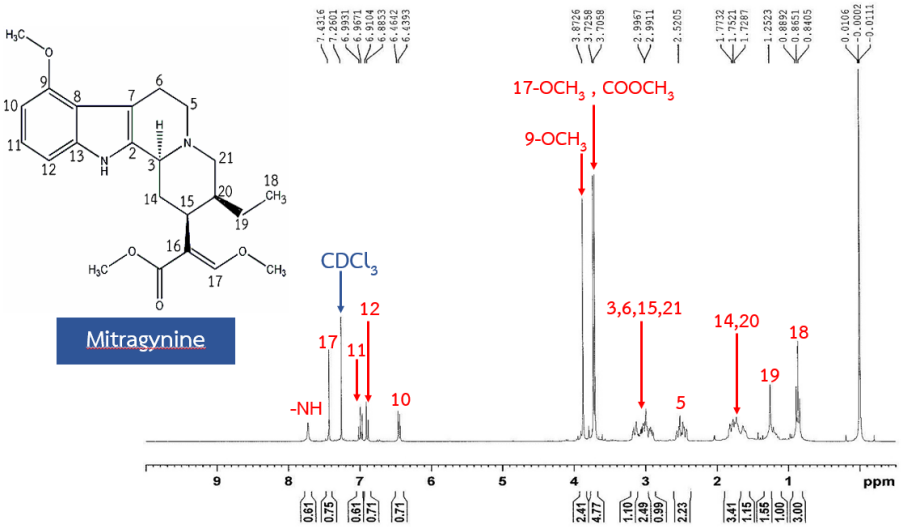
ภาพที่ 23 ครั้งที่ 2 โครมาโทแกรมของสารสกัดหยาบเมื่อทำการแยกหาไมทราไจนีนด้วยเทคนิค TLC

จากการนำ crude extract มาทำการแยกเพื่อให้ได้สารไมทราไจนีนที่บริสุทธิ์ พบว่าการเตรียมตัวทำละลายที่เหมาะสมส่งผลต่อการแยกสารไมทราไจนีนให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค Quick column chromatography ได้สารบริสุทธิ์ไมทราไจนีน fraction ที่ 7

4.3 ผลการตรวจสอบและวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR ของพืชกระท่อมแห้ง



ภาพที่ 24 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกระท่อมแห้ง ที่แยกได้ เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน



ภาพที่ 25 แสดง ^{1}H-NMR spectrum มาตรฐานของไมทราไจนีน (Abdul et al. 2012: 11431)

4.4 ปริมาณสารสกัดหยาบ (Crude extract) จากพืชกัญชาสด

จากการศึกษานำส่วนดอกและใบของพืชกัญชา มาสับให้ละเอียด จากนั้นชั่งส่วนดอกและใบ 27.45 g และ20 g ตามลำดับ นำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 400 mL จากนั้นทำการกรองสารสกัด และนำสารสกัดที่ได้ ไปทำการระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator เมื่อแห้งแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ yield **(ตารางที่ 7)**

ตารางที่ 7 ปริมาณชิ้นส่วนของพืชกัญชาสดที่ใช้ในการสกัดและสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัด

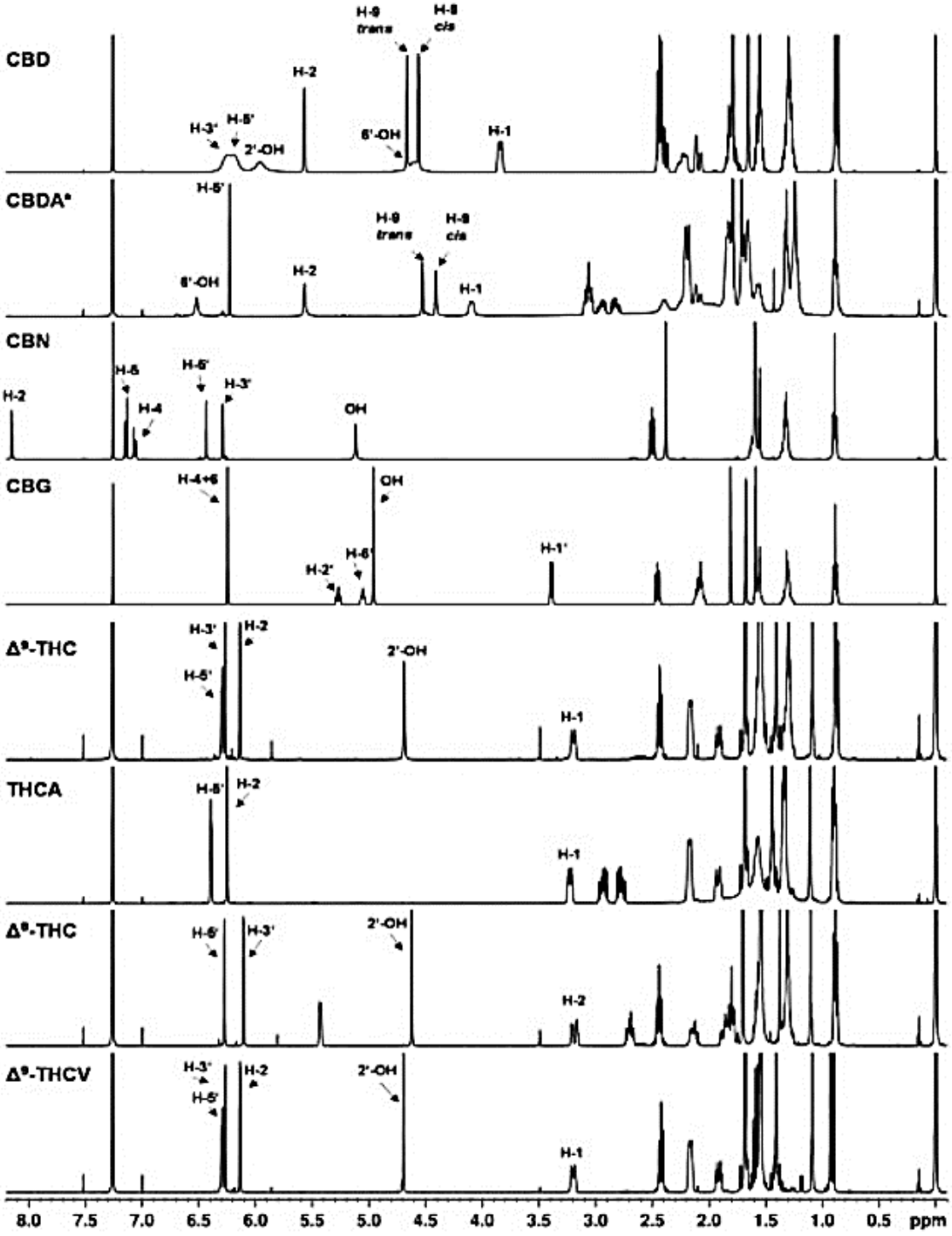
ชิ้นส่วน	น้ำหนักพืชกัญชา (g)	น้ำหนักสารสกัดหยาบ (g)	ร้อยละผลผลิต ของสารที่สกัดได้ (% Yield)
ดอก	27.45	1.65	6.010
ใบ	20	1.05	5.25

4.5 ผลการตรวจสอบสารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง (Thin Layer Chromatography; TLC)

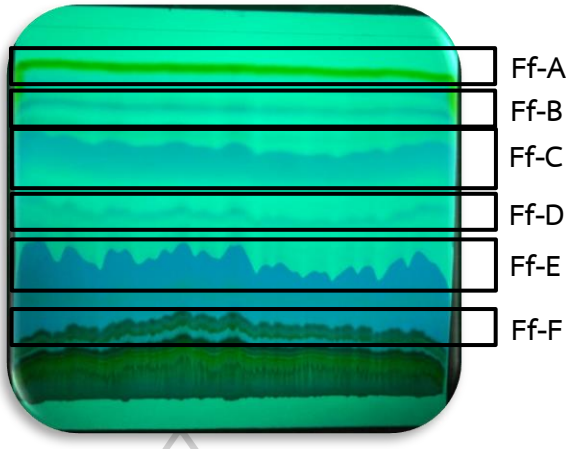
จากการศึกษาโดยนำสารที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมาทำการตรวจสอบสารสำคัญด้วยเทคนิค TLC โดยใช้ Mobile phase คือ n-hexane : Dichloromethane (1 : 1) ทำให้เกิดแถบ (Band) **(ภาพที่ 27) (ภาพที่ 28)** ใช้ดินสอวงกลมหาตำแหน่งสารที่แยกได้ นำมาทำการขูดตำแหน่งแถบในการหาสารสำคัญ

ตารางที่ 8 ปริมาณในการหยดสารจากสารสกัดหยาบทั้งหมดของพืชกัญชาสด

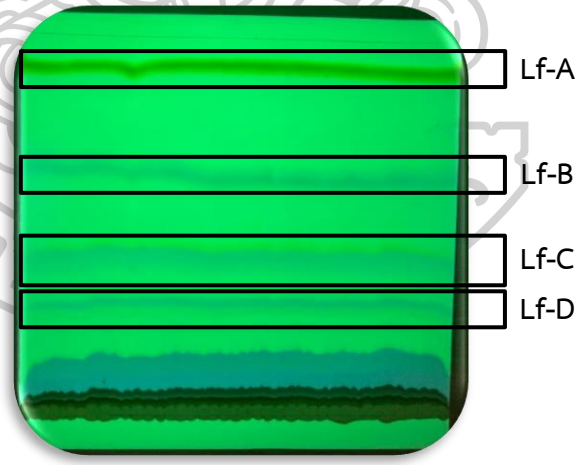
ชิ้นส่วน	ปริมาณในการหยดสาร (g)
ดอก	0.07
ใบ	0.08



ภาพที่ 26 แสดง ^{1}H-NMR spectrum มาตรฐานของกัญชา (Barthlott et al. 2021: 10)



ภาพที่ 27 โครมาโทแกรมของสารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดส่วนดอก (Ff)
เมื่อทำการแยกหาสารสำคัญด้วยเทคนิค TLC
(Ff-A = พืชกัญชาสดส่วนดอกแถบ A, Ff-B = พืชกัญชาสดส่วนดอกแถบ B
Ff-C = พืชกัญชาสดส่วนดอกแถบ C, Ff-D = พืชกัญชาสดส่วนดอกแถบ D
Ff-E = พืชกัญชาสดส่วนดอกแถบ E, Ff-F = พืชกัญชาสดส่วนดอกแถบ F)



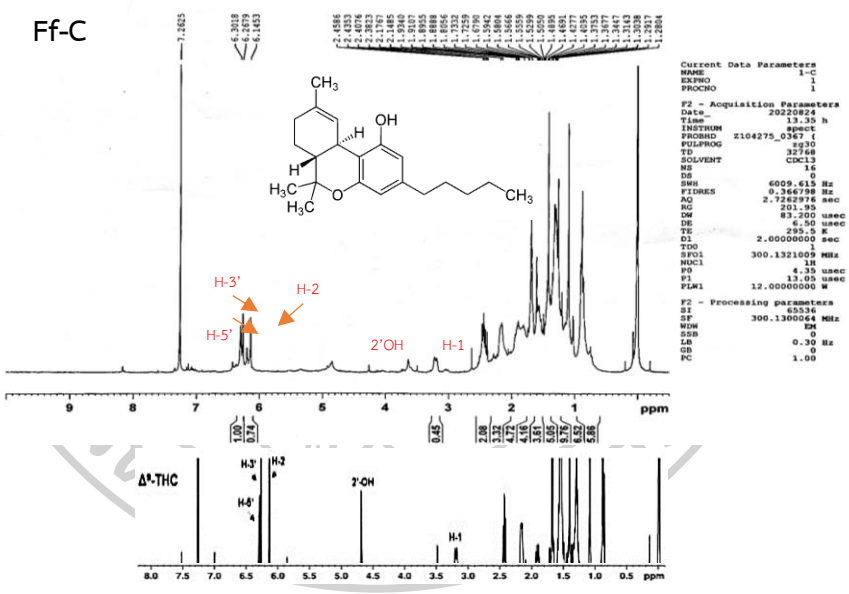
ภาพที่ 28 โครมาโทแกรมของสารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดส่วนใบ (Lf)
เมื่อทำการแยกหาสารสำคัญด้วยเทคนิค TLC
(Lf-A = พืชกัญชาสดส่วนใบแถบ A, Lf-B = พืชกัญชาสดส่วนใบแถบ B,
Lf-C = พืชกัญชาสดส่วนใบแถบ C, Lf-D = พืชกัญชาสดส่วนใบแถบ D)

นำสารแต่ละแบรนด์ที่ขูดออกมาชะล้างด้วยตัวทำละลาย Methanol แล้วจึงกรอง จากนั้นนำสารที่ได้จากการกรองไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator

4.6 ผลการตรวจสอบและวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR ของพืชกัญชาสด

จากการนำสารที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล มาทำการแยกเพื่อหาสารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค TLC plate และนำสารที่คาดว่าจะเป็นสารสำคัญในกัญชา มาพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR พบว่ามีแถบที่เป็นสารสำคัญคือ Δ^{9}-THC **(ภาพที่ 31)** ส่วนแถบที่เหลือไม่พบส่วนที่เป็นสารสำคัญในกัญชา เมื่อเทียบกับพีค ^{1}H-NMR spectrum ของกัญชา **(ภาพที่ 29) (ภาพที่ 30) (ภาพที่ 32) (ภาพที่ 33) (ภาพที่ 34) (ภาพที่ 35) (ภาพที่ 36) (ภาพที่ 37) (ภาพที่ 38)**

4.6.1 Spectrum กัญชาสดส่วนดอก



ภาพที่ 29 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดส่วนดอกแถบ C (Ff-C) ที่แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าตรงกับสาร Δ^{9}-THC

4.7 ปริมาณสารสกัดหยาบ (Crude extract) จากพืชกัญชาแห้ง

จากการศึกษานำส่วนดอกและใบของพืชกัญชาอบที่อุณหภูมิ 50°C นำมาปั่นให้พอละเอียด จากนั้นชั่งส่วนดอกและใบ 27.45 g และ20 g ตามลำดับ นำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 400 mL จากนั้นทำการกรองสารสกัด และนำสารสกัดที่ได้ ไปทำการระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator เมื่อแห้งแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ yield **(ตารางที่ 9)**

ตารางที่ 9 ปริมาณชิ้นส่วนของพืชกัญชาแห้งที่ใช้ในการสกัดและสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัด

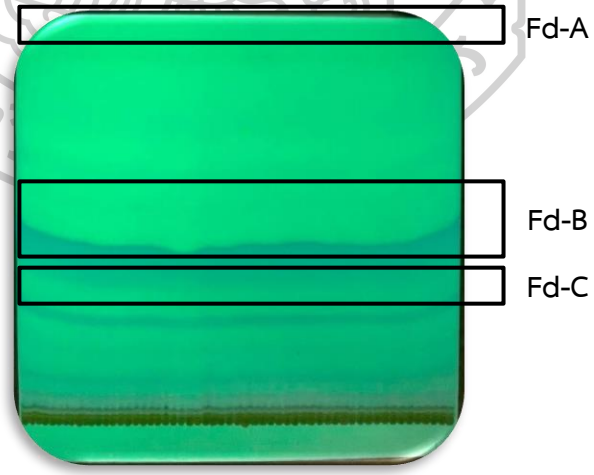
ชิ้นส่วน	น้ำหนักใบกัญชา (g)	น้ำหนักสารสกัดหยาบ (g)	ร้อยละผลผลิต ของสารที่สกัดได้ (% Yield)
ดอก	27.45	2.28	8.306
ใบ	20	1.7	8.5

4.8 ผลการตรวจสอบสารสกัดหยาบจากพืชกัญชาแห้งด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง (Thin Layer Chromatography; TLC)

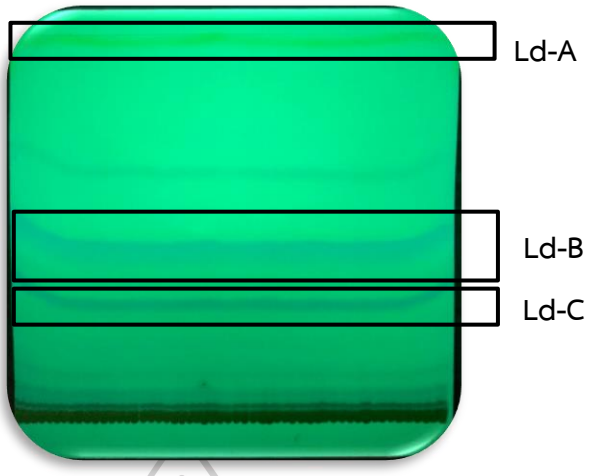
จากการศึกษาโดยนำสารที่สกัดด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิดมาทำการตรวจสอบสารสำคัญด้วยเทคนิค TLC โดยใช้ Mobile phase คือ n-hexane : Dichloromethane (1 : 1) ทำให้เกิดแถบ (Band) **(ภาพที่ 39) (ภาพที่ 40)** ใช้ดินสอวงกลมหาตำแหน่งสารที่แยกได้ นำมาทำการขูดตำแหน่งแถบในการหาสารสำคัญ

ตารางที่ 10 ปริมาณในการหยดสารจากสารสกัดหยาบทั้งหมดของพืชกัญชาแห้ง

ชิ้นส่วน	ปริมาณในการหยดสาร (g)
ดอก	0.101
ใบ	0.041



ภาพที่ 30 โครมาโทแกรมของสารสกัดหยาบจากพืชกัญชาแห้งส่วนของดอก (Fd)
เมื่อทำการแยกหาสารสำคัญด้วยเทคนิค TLC
(Fd-A = พืชกัญชาแห้งส่วนดอกแถบ A, Fd-B = พืชกัญชาแห้งส่วนดอกแถบ B
Fd-C = พืชกัญชาแห้งส่วนดอกแถบ C)



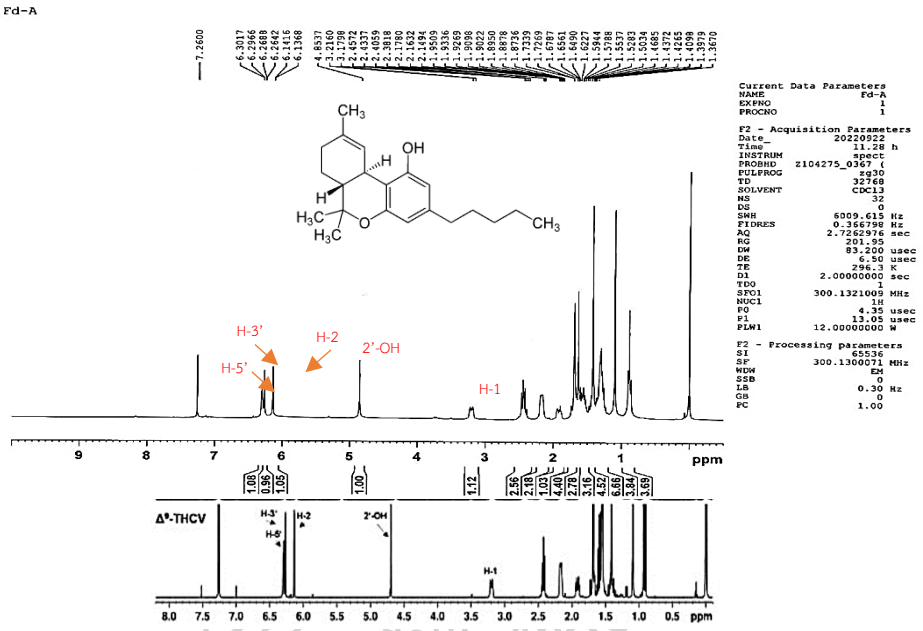
ภาพที่ 31 โครมาโทแกรมของสารสกัดหยาบจากพืชกัญชาแห้งส่วนของใบ (Ld)
เมื่อทำการแยกหาสารสำคัญด้วยเทคนิค TLC
(Ld-A = พืชกัญชาแห้งส่วนใบแถบ A, Ld-B = พืชกัญชาแห้งส่วนใบแถบ B
Ld-C = พืชกัญชาแห้งส่วนใบแถบ C)

นำสารแต่ละแถบที่ขูดออกมาชะล้างด้วยตัวทำละลาย Methanol แล้วจึงกรอง จากนั้นนำสารที่ได้จากการกรองไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator

4.9 ผลการตรวจสอบและวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR ของพืชกัญชาแห้ง

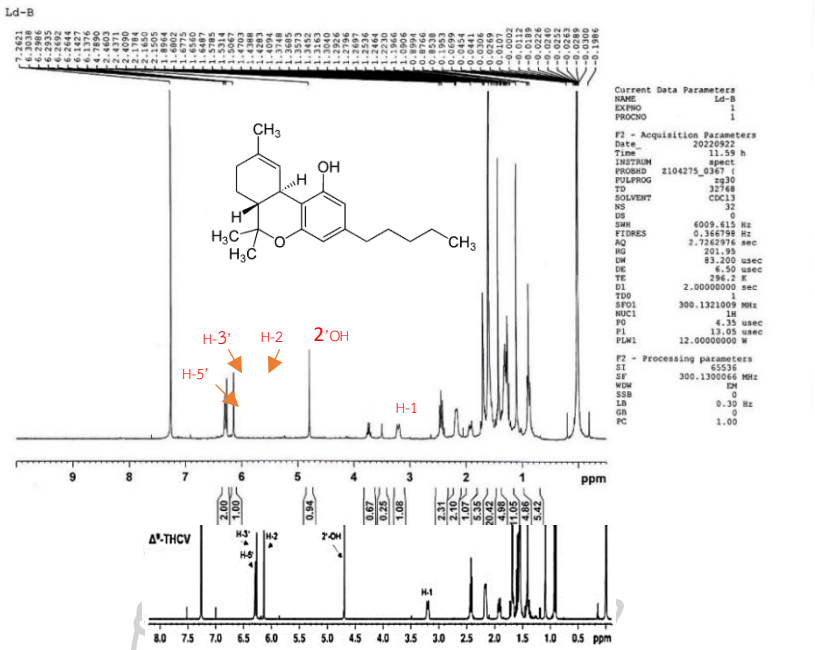
จากการศึกษาโดยนำสารที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล มาทำการแยกเพื่อหาสารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค TLC plate และนำสารที่คาดว่าจะเป็นสารสำคัญในกัญชา มาพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR พบว่ามีแถบที่เป็นสารสำคัญคือ Δ^{9}-THC **(ภาพที่ 41) (ภาพที่ 45)** ส่วนแถบที่เหลือไม่พบส่วนที่เป็นสารสำคัญในกัญชา เมื่อเทียบกับพีค ^{1}H-NMR spectrum ของกัญชา **(ภาพที่ 42) (ภาพที่ 43) (ภาพที่ 44) (ภาพที่ 46)**

4.9.1 Spectrum กัญชาแห้งส่วนดอก



ภาพที่ 32 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาแห้งส่วนดอกแถบ A (Fd-A)) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าตรงกับสาร Δ^{9}-THC

4.9.2 Spectrum กัญชาแห้งส่วนใบ



ภาพที่ 33 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาแห้งส่วนใบแถบ B (Ld-B) ที่แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าตรงกับสาร Δ^{9}-THC

4.10 ปริมาณสารสกัดหยาบ (Crude extract) จากพืชกัญชาอัดแท่ง

จากการศึกษาโดยนำตัวอย่างกัญชาอัดแท่งมาบดหยาบ ๆ นำไปชั่ง 100g จากนั้นนำไปห่อด้วยผ้าขาวบางมัดให้แน่น จากนั้นนำไปใส่ในเครื่อง soxhlet extraction สกัดด้วยตัวทำละลาย Ethanol ด้วยอุณหภูมิที่ 55 - 60°C สกัดไปเรื่อย ๆ จนกว่าตัวทำละลายจะมีสีใส นำสารสกัดมากรอง จากนั้นทำการระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator เมื่อแห้งแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ yield **(ตารางที่ 11)**

ตารางที่ **11** ปริมาณชิ้นส่วนของพืชกัญชาอัดแท่งที่ใช้ในการสกัดและสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัด

กัญชาอัดแท่ง	น้ำหนักใบกัญชา (g)	น้ำหนักสารสกัดหยาบ (g)	ร้อยละผลผลิต ของสารที่สกัดได้ (% Yield)
กัญชาอัดแท่ง	100	8.86	8.86

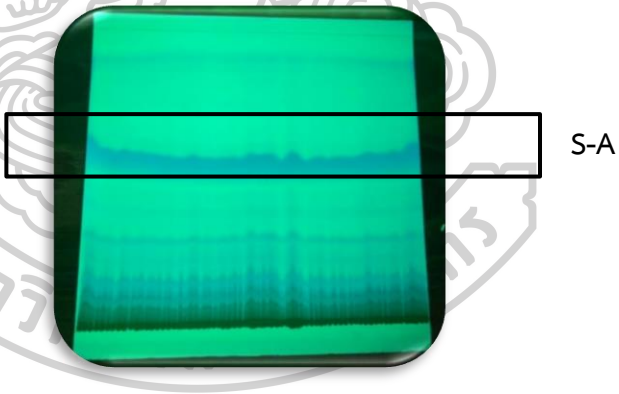
4.11 ผลการตรวจสอบสารสกัดหยาบจากพืชกัญชาอัดแท่งด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง (Thin Layer Chromatography; TLC)

จากการศึกษาโดยนำสารที่สกัดด้วยตัวทำละลายมาทำการตรวจสอบสารสำคัญ ด้วยเทคนิค TLC โดยใช้ Mobile phase คือ n-hexane : Dichloromethane (1 : 1) ทำให้เกิดแถบ (Band) **(ภาพที่ 47)** ใช้ดินสอวงกลมหาตำแหน่งสารที่แยกได้ นำมาทำการขูดตำแหน่งแถบในการหาสาระสำคัญ

จากการศึกษาของสุมิตาและมูฮำหมัด (สุมิตา นิยมเดชาและมูฮำหมัด นิยมเดชา 2022: 42) ได้ทำการศึกษาการทดสอบสารสกัดหยาบจากกัญชาด้วยตัวทำละลายเอทานอล พบว่ามีสารบริสุทธิ์คือสาร CBN ร้อยละผลผลิตของสารที่ได้ 36 %yield

ตารางที่ 12 ปริมาณในการหยดสารจากสารสกัดหยาบทั้งหมดของพืชกัญชาอัดแท่ง

	ปริมาณในการหยดสาร (g)
กัญชาอัดแท่ง	0.07



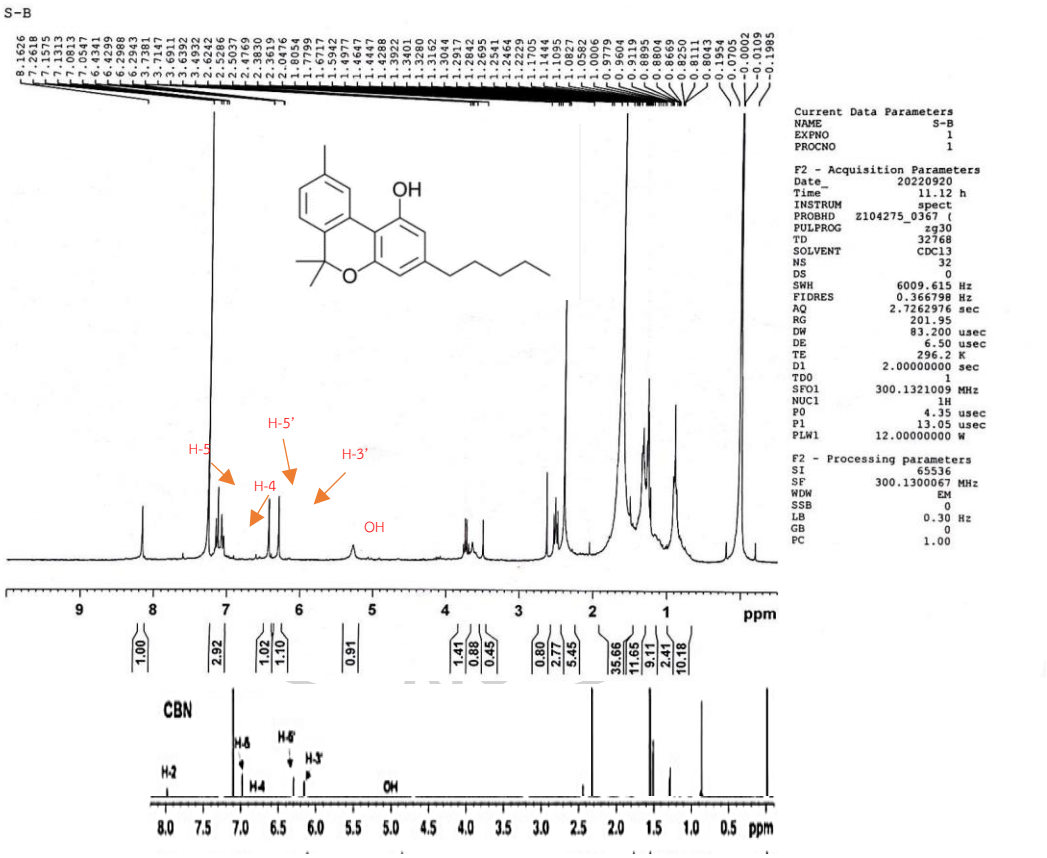
ภาพที่ 34 โครมาโทแกรมของสารสกัดหยาบจากพืชกัญชาอัดแท่ง (S)
เมื่อทำการแยกหาสารสำคัญด้วยเทคนิค TLC
(S-A = พืชกัญชาอัดแท่งแถบ A)

นำสารแต่ละแถบที่ขูดออกมาชะล้างด้วยตัวทำละลาย Ethanol แล้วจึงกรอง จากนั้นนำสารที่ได้จากการกรองไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator

4.12 ผลการตรวจสอบและวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR ของพืชกัญชาอัดแท่ง

จากการศึกษาโดยนำสารที่สกัดด้วยตัวทำละลาย (Crude products) เอทานอล มาทำการแยกเพื่อหาสารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค TLC plate และนำสารที่คาดว่าจะเป็นสารสำคัญในกัญชา มาพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR พบว่ามีแถบที่เป็นสารสำคัญคือ CBN เมื่อเทียบกับพีค ^{1}H-NMR spectrum ของกัญชา **(ภาพที่ 48)**

4.12.1 Spectrum กัญชาอัดแท่ง



ภาพที่ 35 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาอัดแท่งแถบ A (S-A) ที่แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าตรงกับสาร CBN

บทที่ 5

สรุปและอภิปรายผล

- พืชกระท่อมแห้ง

จากการทดสอบพืชกระท่อมแห้งนำมาทำการสกัดสารสกัดหยาบและแยกด้วยเทคนิค quick column chromatography เพื่อให้ได้สารไมทราไจนีนบริสุทธิ์ พบว่า ครั้งที่ 2 fractionที่ 7 แยกสารไมทราไจนีนได้บริสุทธิ์มากที่สุด ด้วยระบบ ethyl acetate : hexane และนำมาพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR พบว่า ตรงกับพีค ^{1}H-NMR spectrum มาตรฐานของพืชกระท่อม

- พืชกัญชาสด

จากการทดสอบโดยการนำส่วนดอกและใบของพืชกัญชา มาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล นำมาทำการแยกเพื่อให้ได้สารสำคัญในกัญชาด้วยเทคนิค TLC จากนั้นนำมาพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR พบว่าพืชกัญชาสดส่วนดอกแถบ C (Ff-C) มีแถบที่เป็นสารสำคัญคือ Δ^{9}-THC เมื่อเทียบกับพีค ^{1}H-NMR spectrum มาตรฐานของกัญชา (Barthlott et al., 2021)

- พืชกัญชาแห้ง

จากการทดสอบโดยการนำส่วนดอกและใบของพืชกัญชา มาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล นำมาทำการแยกเพื่อให้ได้สารสำคัญในกัญชาด้วยเทคนิค TLC จากนั้นนำมาพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR พบว่าพืชกัญชาแห้งส่วนดอกแถบ A (Fd-A) และ พืชกัญชาแห้งส่วนใบแถบ B (Ld-B) มีแถบที่เป็นสารสำคัญคือ Δ^{9}-THC เมื่อเทียบกับพีค ^{1}H-NMR spectrum มาตรฐานของกัญชา (Barthlott et al., 2021)

- พืชกัญชาอัดแท่ง

จากการทดสอบโดยการนำพืชกัญชาอัดแท่งมาสกัดเอทานอลด้วยวิธี soxhlet extraction นำมาทำการแยกเพื่อให้ได้สารสำคัญในกัญชาด้วยเทคนิค TLC จากนั้นนำมาพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR พบว่าพืชกัญชาอัดแท่งแถบ A (S-A) มีแถบที่เป็นสารสำคัญคือ CBN เมื่อเทียบกับพีค ^{1}H-NMR spectrum มาตราฐานของกัญชา (Barthlott et al., 2021)

จากการศึกษาของ กิตติศักดิ์ เหมือนดาว (กิตติศักดิ์ เหมือนดาว, 2564) ได้ทำการศึกษาการสกัดใบกระท่อมแห้งด้วยวิธีมาตรฐานและแยกสารไมทราไจนีนด้วยเทคนิค quick column chromatography ทำการตรวจสอบด้วย วิธี thin layer chromatography (TLC) พบว่า สามารถแยกสารที่บริสุทธิ์ ใน fractions ที่ 13-17 hexane : dichloromethane ในอัตราส่วนที่เหมาะสม

จากการศึกษาของ สุมิตา นิยมเดชา (สุมิตา นิยมเดชา, 2022) ได้ทำการศึกษาวิธีการแยกสารสำคัญในกัญชาเพื่องานทางนิติวิทยาศาสตร์สกัดด้วยเฮกเซน (Hexane) ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) เอทธิล อะซีเตท (Ethyl acetate) เอทานอล (Ethanol) เมทานอล (Methanol) และน้ำ พบว่า Ethanol พบสารบริสุทธิ์ของ CBN

ข้อเสนอแนะ

จากผลการวิจัย ผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะดังนี้

1. พืชกระท่อม ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องของวิธีการการแยกเพื่อให้ได้สารไมทราไจนีนให้บริสุทธิ์มากที่สุด ควรจะทำการแยกด้วยตัวทำละลายตัวอื่นหรือวิธีอื่น ๆ และอยากให้มีการทดลองจากพืชกระท่อมสด

2. พืชกัญชา ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องของวิธีการแยกและการใช้ตัวทำละลายตัวอื่นเพื่อให้ได้สารสำคัญในกัญชาเพิ่มเติมจากสารสำคัญดังกล่าวในงานวิจัย และอยากให้มีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องของพืชกัญชาส่วนลำต้นและราก

ดังนั้นควรนำพืชกระท่อมและพืชกัญชาไปใช้อย่างถูกต้อง ถูกวิธี และถูกกฎหมาย เพื่อไม่เป็นอันตรายต่อการใช้กัญชาเกินขนาดที่ทางกฎหมายกำหนดไว้

ซึ่งในงานวิจัยนี้อาจเป็นแนวทางให้ผู้ที่เกี่ยวข้องในการทำงานวิจัยเรื่องพืชกระท่อมและพืชกัญชาหรืออาจเป็นจุดเริ่มต้นที่ทำให้มีผู้สนใจมากขึ้นไม่มากก็น้อย ดังนั้นงานวิจัยนี้จะต้องมีการพัฒนาและต่อยอดต่อไป

รายการอ้างอิง

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.

Boyer, E. W., Babu, K. M., Adkins, J. E., McCurdy, C. R., & Halpern, J. H. (2008). Self‐treatment of opioid withdrawal using kratom (Mitragynia speciosa korth). *Addiction*, 103(6), 1048-1050.

Burnier, C., Esseiva, P., & Roussel, C. (2019). Quantification of THC in Cannabis plants by fast-HPLC-DAD: A promising method for routine analyses. *Talanta*, 192, 135-141.

Casey, C. R., Conley, T., Heise, A., Thomas, T., & Ayres, P. R. (2015). Quantitative and Qualitative Analysis of Mitragynine in Kratom (Mitragyna Speciosa) by GC-MS, LC-MS/MS and UPLC-PDA. *Journal of Regulatory Science*, 3(2), 1-14.

Fuenffinger, N., Ritchie, M., Ruth, A., & Gryniewicz-Ruzicka, C. (2017). Evaluation of ion mobility spectrometry for the detection of mitragynine in kratom products. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 134, 282-286.

Grewal, K. (1932). The effect of mitragynine on man. *British Journal of Medical Psychology*, 12(1), 41-58.

Korantzopoulos, P., Liu, T., Papaioannides, D., Li, G., & Goudevenos, J. (2008). Atrial fibrillation and marijuana smoking. *International journal of clinical practice*, 62(2), 308-313.

Lee, M. J., Ramanathan, S., Mansor, S. M., Yeong, K. Y., & Tan, S. C. (2018). Method validation in quantitative analysis of phase I and phase II metabolites of mitragynine in human urine using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical biochemistry*, 543, 146-161.

List, T. P. (2013). *A working list of all plant species*. http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-2696480

Machado Bergamaschi, M., Helena Costa Queiroz, R., Waldo Zuardi, A., & Crippa, A. S. (2011). Safety and side effects of cannabidiol, a Cannabis sativa constituent. *Current drug safety*, 6(4), 237-249.

MUANDAO, K., & Niyomdecha, M. (2022). *LEAVES FOR THE USE AS A STANDARD SUBSTANCE AND THE POLICE'S UNDERSTANDING OF AND ATTITUDE TOWARDS THE REMOVAL OF KRATOM FROM THE LIST IN THE FIFTH CATEGORY OF NARCOTICS* Silpakorn University].

Neerman, M. F., Frost, R. E., & Deking, J. (2013). A drug fatality involving Kratom. *Journal of forensic sciences*, 58, S278-S279.

Reece, A. S. (2009). Severe multisystem dysfunction in a case of high level exposure to smoked cannabis. *Case Reports*, 2009, bcr0820080798.

Rice, J., & Cameron, M. (2018). Cannabinoids for treatment of MS symptoms: state of the evidence. *Current neurology and neuroscience reports*, 18(8), 1-10.

Scherma, M., Satta, V., Collu, R., Boi, M. F., Usai, P., Fratta, W., & Fadda, P. (2017). Cannabinoid CB1/CB2 receptor agonists attenuate hyperactivity and body weight loss in a rat model of activity-based anorexia. *British journal of pharmacology*, 174(16), 2682-2695.

Sharma, P., Murthy, P., & Bharath, M. S. (2012). Chemistry, metabolism, and toxicology of cannabis: clinical implications. *Iranian journal of psychiatry*, 7(4), 149.

Sukrong, S., Zhu, S., Ruangrungsi, N., Phadungcharoen, T., Palanuvej, C., & Komatsu, K. (2007). Molecular analysis of the genus Mitragyna existing in Thailand based on rDNA ITS sequences and its application to identify a narcotic species: Mitragyna speciosa. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 30(7), 1284-1288.

Tsuchiya, S., Miyashita, S., Yamamoto, M., Horie, S., Sakai, S.-I., Aimi, N., Takayama, H., & Watanabe, K. (2002). Effect of mitragynine, derived from Thai folk medicine, on gastric acid secretion through opioid receptor in anesthetized rats. *European journal of pharmacology*, 443(1-3), 185-188.

Tungtananuwat, W., & Lawanprasert, S. (2010). Fatal 4x100; home-made kratom juice cocktail. *Journal of Health Research*, 24(1), 43-47.

Whiting, P. F., Wolff, R. F., Deshpande, S., Di Nisio, M., Duffy, S., Hernandez, A. V., Keurentjes, J. C., Lang, S., Misso, K., & Ryder, S. (2015). Cannabinoids for medical use: a systematic review and meta-analysis. *Jama*, 313(24), 2456-2473.

Woodbridge, M. (2562). ข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับกัญชาทางการแพทย์ หนังสือแนะนำการใช้กัญชาเพื่อ

บำบัดรักษาโรค.

กิตติศักดิ์ เหมือนดาว. (2564). การทดสอบทางพฤษเคมีของพืชกระท่อมและการแยกไมทราไจนีนจากใบกระท่อมเพื่อใช้เป็นสารมาตรฐาน และการศึกษาความเข้าใจและทัศนะของเจ้าหน้าที่ตำรวจต่อการถอดพืชกระท่อมออกจากบัญชียาเสพติดประเภทที่ 5 มหาวิทยาลัยศิลปากร].

จักรกฤษณ์ สิงห์บุตร, & ชยันต์ พิเชียรสุนทร. (2562). ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับพืชกัญชา. In ราชบัณฑิตประเภทวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ สาขาวิชาเภสัชศาสตร์ สำนักวิทยาศาสตร์ ราชบัณฑิตยสภา.

จุไรทิพย์ หวังสิน. (2551). พืชกระท่อม (*Kratom)*. https://ccpe.pharmacycouncil.org

ชลธิชา เปรมปรีดิ์. (2560). การสังเคราะห์และการศึกษาสมบัติทางชีวภาพของไอโซควิโนลีนอัลคาลอยด์อะพอร์ฟีนอัลคาลอยด์ ออกโซอะพอร์ฟีนอัลคาลอยด์ และอัลคาลอยด์ที่เกี่ยวข้อง มหาวิทยาลัยศิลปากร].

ฐานเศรษฐกิจดิจิทัล. (2565). “กัญชาเสรี” ได้ไม่คุ้มเสีย เพราะอะไร อันตรายอย่างไร ต้องแก้ไขยังไง. https://www.thansettakij.com/general-news/529419

ธนวัฒน ทองจีน และคณะ. (2564). การพัฒนาวิธีวิเคราะหปริมาณแคนนาบินอยด ในใบกัญชาดวยวิธี Ultra High Performance Liquid Chromatography. วารสารกรมวิทยาศาสตรการแพทย์, 63(3), 505-523.

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

ปภานัน สร้อยสุวรรณ. (2556). การพัฒนาการตรวจวัดสารแคนนาบินอยด์ในพืช กัญชาด้วยน้ำยาให้สีฟาสต์เรดบีซอลต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่].

ประชาชาติธุรกิจ. (2565). กัญชามีกี่สายพันธุ์ ออกฤทธิ์แตกต่างกันหรือไม่ มีสรรพคุณอะไรบ้าง. https://www.prachachat.net/general/news-951556

มัลลิกา จินดาชิงห์, & สุทธิรักษ์ ผลเจริญ. (2565). การระบุชนิดของสารกลุ่ม Cannabinoids และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของกัญชงและกัญชา โดยโมเลกุลเครื่องหมายเอสเอสอาร์. วารสารผลิตกรรมการเกษตร, 4(2), 80-91.

ราชกิจจานุเบกษา. (2565). ระบุชื่อยาเสพติดให้โทษในประเภท 5 พ.ศ.2565.

วราพงษ์ เสนะวีระกุล และคณะ. (2533). การตรวจพิสูจน์ *Mitragynine* เชิงคุณภาพในน้ำต้มกระท่อมด้วยเทคนิคทางโครมาโตกราฟ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย]. กรุงเทพฯ.

สมนึก บุญสุภา. (2564). เรื่องน่ารู้เกี่ยวกับ พืชกระท่อม มหาวิทยาลัยมหิดล].

สมสรวย วัฒนศิริ. (2546). การตรวจหาและแยกประเภทของกัญชาในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล].

สาวิตรี อัษณางค์กรชัย และคณะ. (2020). บทสรุปของพืชกระท่อม. ลีโอ ดีไซน์ แอนด์ พริ้นท์.

สุมิตา นิยมเดชา, ม. น. (2022). การทดสอบสารพฤกษเคมี และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของกัญชา มหาวิทยาลัยศิลปากร].

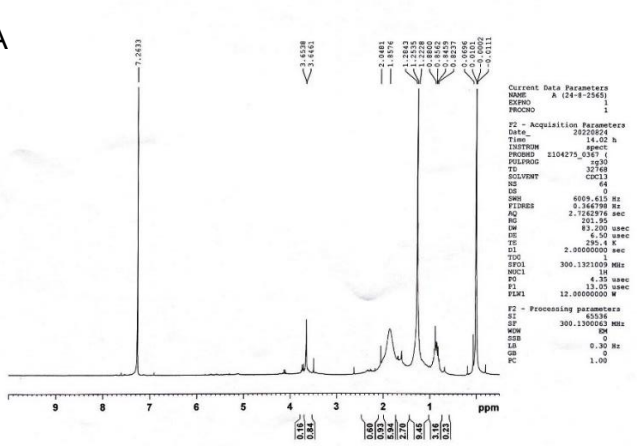
สุวรรณา อรุณพงค์ไพศาล. (2562). การใช้สารสกัดกัญชาสำหรับผู้ป่วยที่มีปัญหาสุขภาพจิต. กรมการแพทย์, 44(1), 7-9.

ภาคผนวก

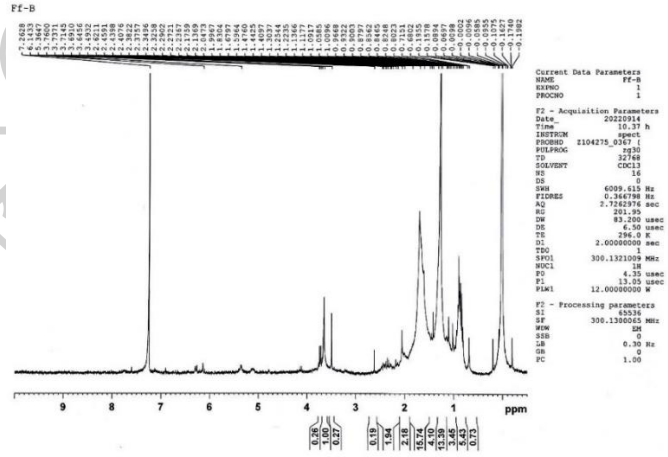
เมื่อนำไปรัน ^{1}H-NMR พบว่า สารสกัดจากกัญชาสดส่วนดอก กัญชาสดส่วนใบ กัญชาแห้งส่วนดอก และกัญชาสดส่วนใบ ที่แยกได้ เมื่อเทียบกับพีค ^{1}H-NMR spectrum มาตราฐาน พบว่าไม่ตรงกับสารใดเลย

4.6.1 Spectrum กัญชาสดส่วนดอก

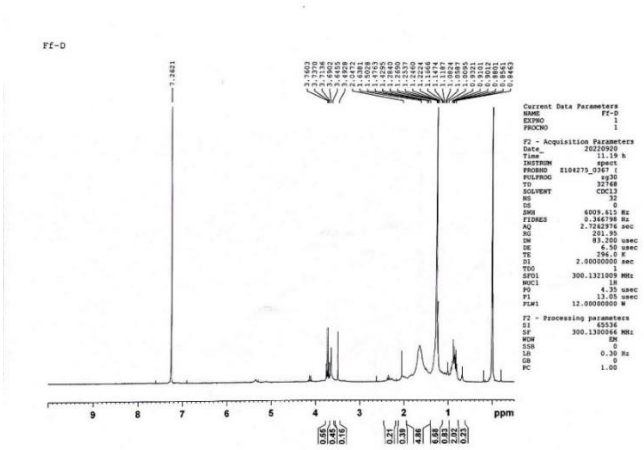
Ff-A



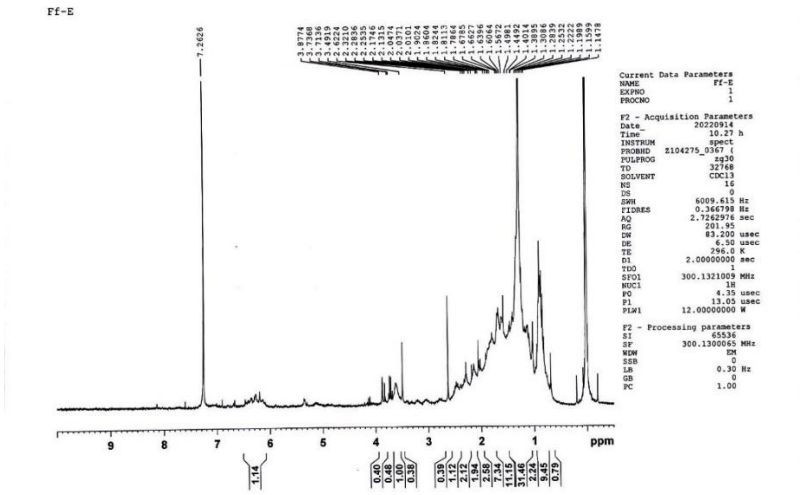
ภาพที่ 36 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดส่วนดอกแถบ A (Ff-A) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าไม่ตรงกับสารใด



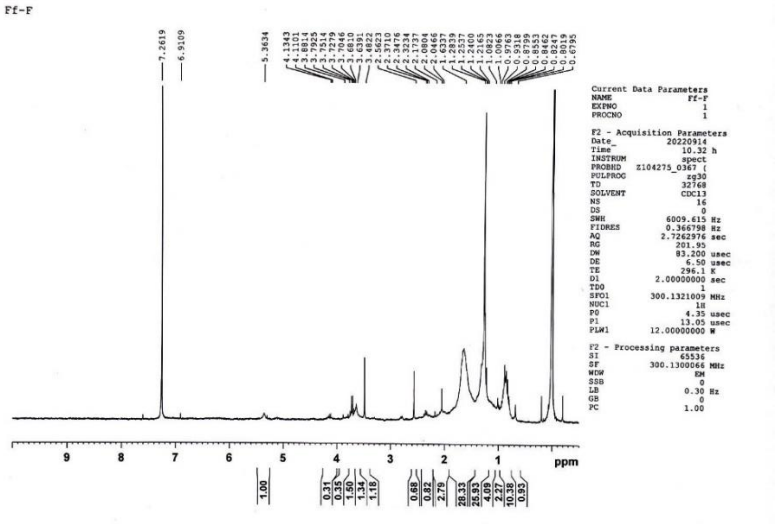
ภาพที่ 37 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดส่วนดอกแถบ B (Ff-B) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าไม่ตรงกับสารใด



ภาพที่ 38 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดส่วนดอกแถบ D (Ff-D) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าไม่ตรงกับสารใด

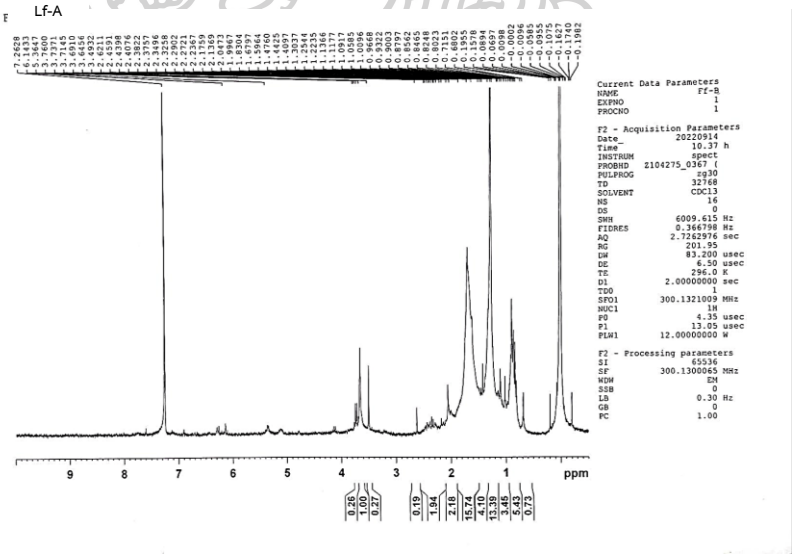


ภาพที่ 39 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดส่วนดอกแถบ E (Ff-E) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าไม่ตรงกับสารใด

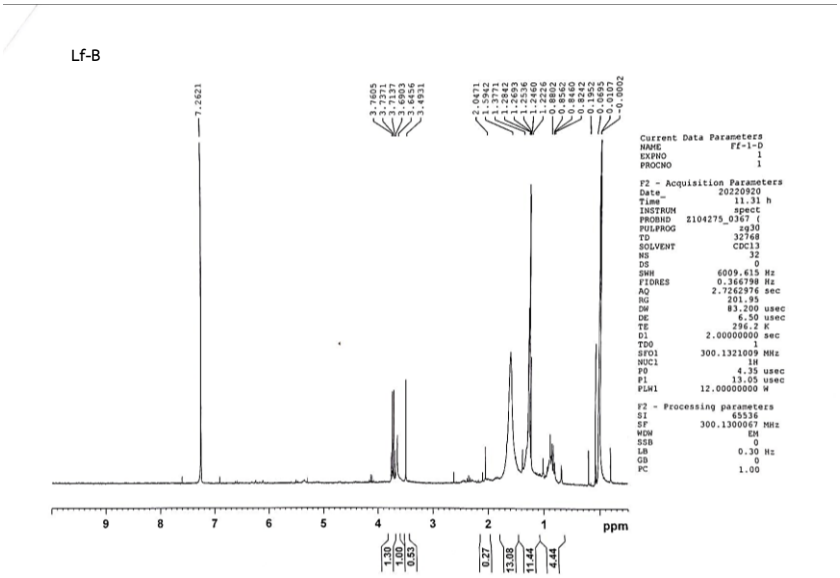


ภาพที่ 40 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดส่วนดอกแถบ F (Ff-F) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าไม่ตรงกับสารใด

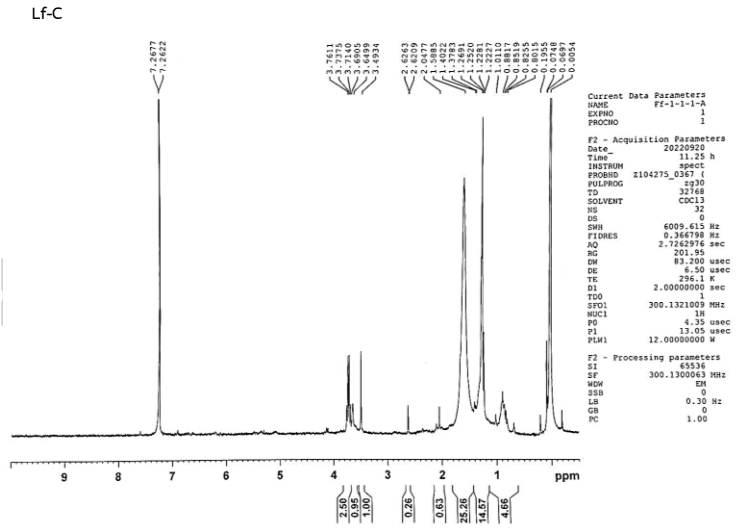
2. Spectrum กัญชาสดส่วนใบ



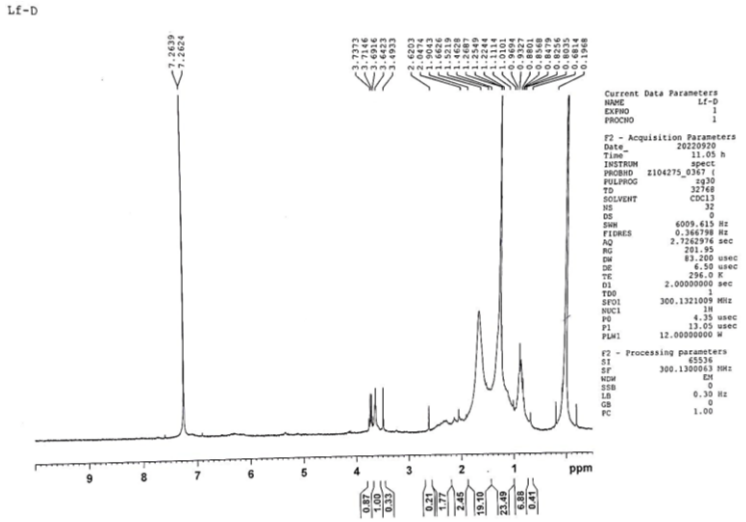
ภาพที่ 41 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดส่วนใบแถบ A (Lf-A) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าไม่ตรงกับสารใด



ภาพที่ 42 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดส่วนใบแถบ B (Lf-B) แยกได้ เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าไม่ตรงกับสารใด

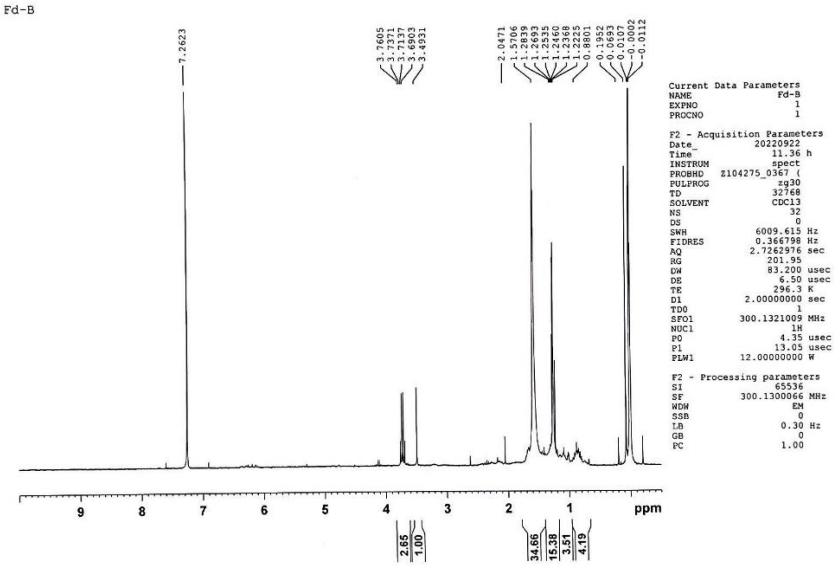


ภาพที่ 43 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดส่วนใบแถบ C (Lf-C) แยกได้ เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าไม่ตรงกับสารใด

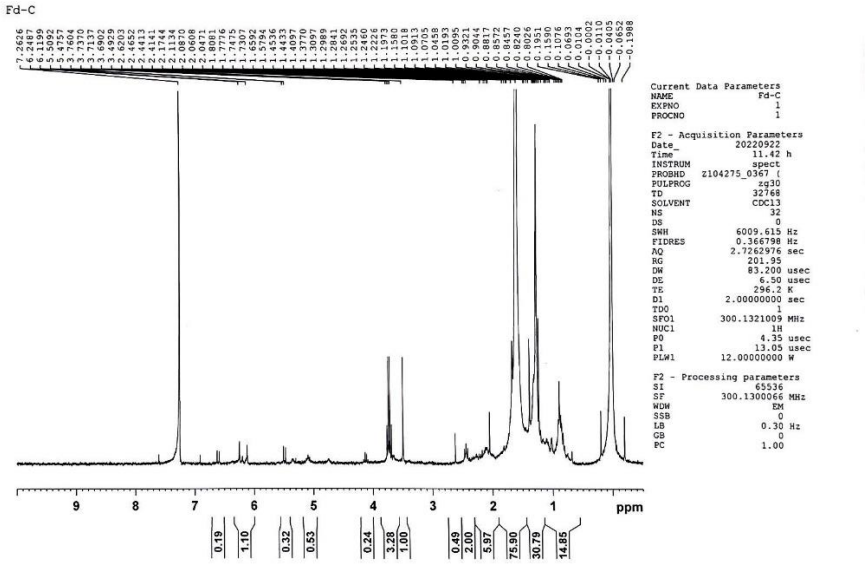


ภาพที่ 44 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาสดส่วนใบแถบ D (Lf-D) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าไม่ตรงกับสารใด

4.9.1 Spectrum กัญชาแห้งส่วนดอก

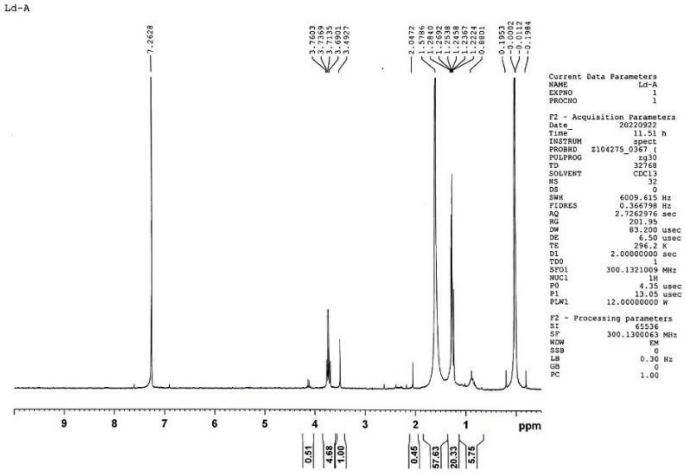


ภาพที่ 45 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาแห้งส่วนดอกแถบ B (Fd-B) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott, I., et al., 2021) พบว่าไม่ตรงกับสารใด

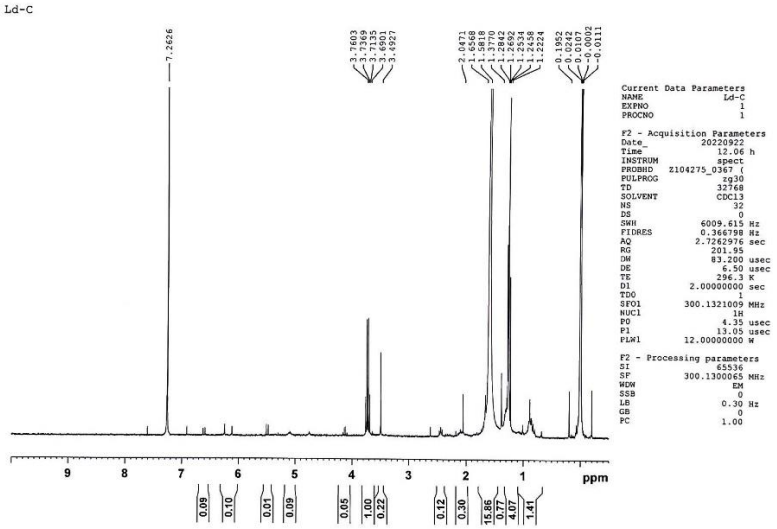


ภาพที่ 46 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาแห้งส่วนดอกแถบ C (Fd-C) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าไม่ตรงกับสารใด

4.9.2 Spectrum กัญชาแห้งส่วนใบ



ภาพที่ 47 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาแห้งส่วนใบแถบ A (Ld-A) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าไม่ตรงกับสารใด



ภาพที่ 48 แสดง ^{1}H-NMR spectrum สารสกัดหยาบจากพืชกัญชาแห้งส่วนใบแถบ C (Ld-C) แยกได้เทียบกับ spectrum ^{1}H-NMR มาตรฐาน (Barthlott et al. 2021: 10) พบว่าไม่ตรงกับสารใด

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาว จิราภรณ์ รสสุคนท์
วัน เดือน ปี เกิด	28 กุมภาพันธ์ 2538
สถานที่เกิด	ระนอง
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2557 สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต อำเภอเมือง จังหวัดภูเก็ต พ.ศ. 2562 ศึกษาต่อระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขานิติวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม
ที่อยู่ปัจจุบัน	399/19 ม.1 หมู่บ้านรัตนาคาร ถ.เพชรเกษม อ.เมือง จ.ระนอง 85000

มหาวิทยาลัยศิลปากร