

doi: 10.3969/j.issn.0490-6756.2019.05.026

黑龙江汉麻叶中化学成分研究与 大麻二酚(CBD)含量测定

次仁曲宗¹, 罗禹¹, 屈晓宇¹, 邓小宽¹, 王永立², 高平¹

(1 四川大学生命科学学院生物资源与生态环境教育部重点实验室, 成都 610065;
2. 黑龙江康源生物科技有限公司, 绥化 151600)

摘要: 研究黑龙江汉麻叶中相关化学成分, 建立大麻二酚(CBD)含量检测方法. 采用硅胶柱色谱、C18反相中压柱及半制备色谱对汉麻叶乙酸乙酯提取物进行分离纯化, 得到5个单体化合物, 经核磁NMR解析确定结构为: 大麻二酚(CBD)、大麻萜酚(CBG)、大麻酚(CBN)、 Δ^9 -四氢大麻酚酸(Δ^9 -THCA)、大麻色烯(CBC); 以石油醚-二氯甲烷(1:1)为展开剂, 采用碘和1%香草醛乙醇-硫酸(10:1)分别显色, 建立了CBD薄层色谱(TLC)检测方法; 以乙腈-0.05%磷酸溶液(80:20)为流动相, 选择CBD吸收峰较高的检测波长, 建立了CBD高效液相色谱(HPLC)检测方法; 该方法在3.125~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 线性关系良好($R^2=0.9997$), 平均回收率为103.69%, RSD 1.32% ($n=5$).

关键词: 汉麻叶; 分离纯化; 结构鉴定; 薄层鉴定; 高效液相色谱法

中图分类号: Q945 **文献标识码:** A **文章编号:** 0490-6756(2019)05-0957-06

Study on chemical constituents and determination of cannabidiol (CBD) in hemp leaves of Heilongjiang province

CIREN Qu-Zong¹, LUO Yu¹, QU Xiao-Yu¹, DENG Xiao-Kuan¹, WANG Yong-Li², GAO Ping¹

(1. Key Laboratory Bio-resources and Eco-environment of Ministry Education, College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610065, China; 2. Heilongjiang Kangyuan Biotechnology Co. Ltd, Suihua 151600, China)

Abstract: The purpose of this research is to study the chemical constituents in the leaves of Heilongjiang han hemp and establish a method for the determination of cannabidiol (CBD). The ethyl acetate extract of hemp leaf was separated and purified by silica gel column chromatography, C18 reverse phase medium-voltage column and semi preparative chromatography to obtain 5 monomer compounds. And the structure of these compounds was determined by nuclear magnetic (NMR) analysis. They were cannabidiol (CBD), cannabigerol (CBG), cannabinol (CBN), Δ^9 -Tetrahydrocannabinolic acid (Δ^9 -THCA) and cannabichromene (CBC). By using petroleum ether-dichloromethane (1:1) as the developing solvent, iodine and 1% Vanillin ethanol-sulfuric acid (10:1) were used to establish the TLC method for CBD respectively. High-performance liquid chromatography (HPLC) detection method for CBD was also established by using acetonitrile-0.05% phosphoric acid solution (80:20) as mobile phase and selecting the detection wavelength with high CBD absorption peak, which has a good linear relationship at 3.125~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($R^2=0.9997$), the average recovery rate is 103.69% and RSD is 1.32% ($n=5$).

Keywords: Hemp leaves; Isolation and purification; Structure identification; TLC; HPLC

收稿日期: 2019-05-17

基金项目: 四川大学横向合作项目(17H0745)

作者简介: 次仁曲宗(1993-), 女, 西藏吉隆县人, 硕士生, 主要研究领域为天然产物. E-mail: 2426189637@qq.com

通讯作者: 高平. E-mail: gaop@scu.edu.cn

1 引言

汉麻(*Cannabis sativa* L.)^[1]是桑科、大麻属、大麻种一年生草本植物。而汉麻叶中的主要活性成分酚类化合物,是近几年食品、药品和保健品领域中的研究热点^[2]。

国内外对汉麻的研究主要集中于大麻二酚(CBD)、大麻萜酚(CBG)、大麻色烯(CBC)及大麻酚酸类化合物的药理研究方面。Ligresti等^[3]对CBD、大麻二酚酸(CBDA)、 Δ^9 -四氢大麻酚酸(Δ^9 -THCA)、四氢大麻酚(THC)、大麻萜酚酸(CBGA)、CBC六种化合物的抗肿瘤活性进行了研究。其中,有研究表明CBD、 Δ^9 -THCA对肿瘤细胞的生长具有较好的抑制作用。马约内等^[4]发现大麻素类化合物CBG、四氢次大麻酚(THCV)可用于治疗神经性疼痛,且治疗效果优于CBD。郭蓉等^[5]发现汉麻植物中的主要成分THC、CBD在治疗抗肿瘤、神经系统保护、代谢和免疫调节等方面具有重要的研究价值。成亮等^[6]发现CBD及CBD类似物有治疗类风湿关节炎、抗失眠等功效。

汉麻叶为全植株中酚类化合物含量最高部位,已有文献报道此类化合物具有潜在的药理研究价值和应用价值^[7],其汉麻酚类物质的提取、分离纯化与含量检测应该成为研究重点^[8]。目前,对汉麻叶中非成瘾性成分(如CBG)的分离纯化方面研究报道极少。为使汉麻叶中相关成分得到充分的开发利用,对其进行分离纯化、结构鉴定的研究极为必要。

随着我国汉麻叶的发展与应用,汉麻叶药用价值不断提高,研究便捷实用、准确性高的大麻叶药用成分的检测方法极为需要。汉麻叶中的药效成分CBD在传统检测方法上存在检测时间长,检出效率低等^[9]缺点,而气相色谱法虽检测效率增高,但其实验成本高,操作繁琐^[10]。因此,急需建立一种快速、简便、精准的检测方法对CBD进行定性、定量分析。本研究对汉麻叶中大麻酚类化合物进行了分离与结构鉴定,建立了测定汉麻叶中CBD含量的薄层色谱法(TLC)和高效液相色谱法(HPLC),为汉麻叶中酚类物质的进一步研究和开发应用提供了理论依据和更便捷的检测手段。

2 材料与方法

2.1 材料

2.1.1 实验材料 汉麻叶(黑龙江康源生物科技有限公司)样品(Cannab-1~Cannab-16)产地黑龙

江青冈县。CBD和CBN标准品(上海睿铂赛生物科技有限公司)。

2.1.2 试剂 乙酸乙酯、石油醚、乙腈(色谱纯,成都科龙化工试剂厂);磷酸(分析纯,天津市美琳工贸有限公司);硅胶(60~80目,100~200目,成都科龙化工试剂厂);C18硅胶(10 μ m,日本富士化工)。

2.1.3 仪器 精密电子天平(JF1004,余姚市金诺天平仪器有限公司);手提式高速万能粉碎机(DFT-200,温岭市林大机械有限公司);电热鼓风干燥箱(101-O,上海阳光实验仪器有限公司);中压层析柱(直径5 cm,上海美厦生化科技发展有限公司);LC3000高效液相色谱仪(UV3000紫外检测器,P3000高压输液泵,北京创新通恒科技有限公司);C18色谱柱(250 mm \times 4.6 mm,5 μ m,Se-pax Sapphire);II-600 MH核磁共振(600)。

2.2 实验方法

2.2.1 大麻酚类化合物的提取、分离纯化制备 取汉麻叶1 kg,100 $^{\circ}$ C烘干至恒重后经粉碎机,过压浓缩得到浸膏约20 g。硅胶柱湿法装柱(石油醚),干法上样(浸膏:硅胶=1:20)。以石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱,并用乙酸乙酯冲柱,合并相似流分。对疑似目标物部位采用C18反相中压柱进行进一步纯化,以甲醇-水(70:30~80:20)进行洗脱。利用半制备色谱对C18反相中压柱分离的目标物部位进行分离纯化,流动相为甲醇-水(75:25~85:15)进行洗脱。

分离过程均以TLC法与HPLC法进行定性判断,收集纯度高达98%以上洗脱段,Bruker AV II-600 MH核磁共振(600)进行结构判断。

2.2.2 TLC法鉴别CBD 取汉麻叶粉末0.5 g,加甲醇10 mL,超声处理30 min,过滤,滤液蒸干,残渣加甲醇1 mL溶解,作为供试品溶液。另取CBD标准品,加甲醇制成每1 mL含1 mg的溶液,作为对照品溶液。吸取上述两种溶液各5 μ L,分别点于同一个硅胶G薄层板上,以二氯甲烷-石油醚(1:1)为展开剂,展开,晾干,碘缸显色或者以1%香草醛乙醇-硫酸(10:1)溶液为显色剂,100 $^{\circ}$ C烘箱中加热至斑点显色清晰。供试品色谱中在与对照品色谱相应的位置上。

2.2.3 供试品溶液的制备 取汉麻叶粉末(过40目筛)约0.5 g,精密称定,置具塞三角型瓶中,精密加入甲醇5 mL,具塞称重,密闭超声30 min后,用甲醇补足减失的重量,过滤,取1 mL滤液

定容至 25 mL 的容量瓶中,用 0.25 μm 微孔滤膜过滤待测。

2.2.4 对照品溶液的制备 精密称取 CBD 对照品,加甲醇稀释至刻度,配制成质量浓度均为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液。

2.2.5 CBD HPLC 检测方法的优化 取同一份对照品溶液(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$),分别在 190 nm、200 nm、210 nm、220 nm、230 nm、240 nm、250 nm、260 nm 测定大麻二酚峰面积值的 RSD 为 1.01%~1.05%。

3 结果与分析

3.1 汉麻叶酚类的物资提取、分离与结构鉴定

所分离得到的 5 个酚类化合物的结果如图 1 所示,波谱数据见下。

3.1.1 化合物 1 该化合物为白色针状,溶于乙酸乙酯、氯仿、乙醇、甲醇、石油醚、不溶于水,结合 TLC, HPLC 分析和文献报道鉴定为大麻二酚(Cannabidiol)。

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.31 (s, 1H), 6.27 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 6.14 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 3.20 (d, $J = 10.9$ Hz, 1H), 2.41 (s, 1H), 2.20–2.13 (m, 2H), 1.96–1.87 (m, 1H), 1.70 (s, 0H), 1.68 (s, 3H), 1.55 (s, 1H), 1.45–1.38 (m, 5H), 1.40 (s, 1H), 1.29 (d, $J = 3.4$ Hz, 2H), 1.02 (d, $J = 2.7$ Hz, 0H), 0.87 (t, $J = 6.9$ Hz, 4H). ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 154.71 (s, 3H), 154.20 (s, 4H), 142.80 (s, 3H), 134.34 (s, 4H), 123.74 (s, 6H), 110.00 (s, 6H), 109.03 (s, 3H), 107.56 (s, 6H), 77.28 (d, $J = 11.5$ Hz, 43H), 77.02 (s, 39H), 76.71 (s, 37H), 45.77 (s, 6H), 35.47 (s, 7H), 33.56 (s, 6H), 31.50 (s, 9H), 31.15 (s, 7H), 30.66 (s, 6H), 27.56 (s, 8H), 25.00 (s, 6H), 23.38 (s, 6H), 22.54 (s, 10H), 19.25 (s, 7H), 14.02 (s, 8H), -0.01 (s, 1H). 以上数据与文献[11]一致。

3.1.2 化合物 2 物质为花叶状结晶体。熔点 77 $^{\circ}\text{C}$,沸点 185 $^{\circ}\text{C}$ (6.67 Pa)。不溶于水,溶于乙醇、乙醚、苯和碱溶液。主要是以工业大麻花叶储存过程中,四氢大麻酚衍生物被空气氧化而产生的一种物质,MS: m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$: 311.437, HPLC 分析 C4 和 CBN 对照品的保留时间一致,两者混合检测,色谱出峰时间重合,判定化合物 2 为大麻

酚(cannabinol)。

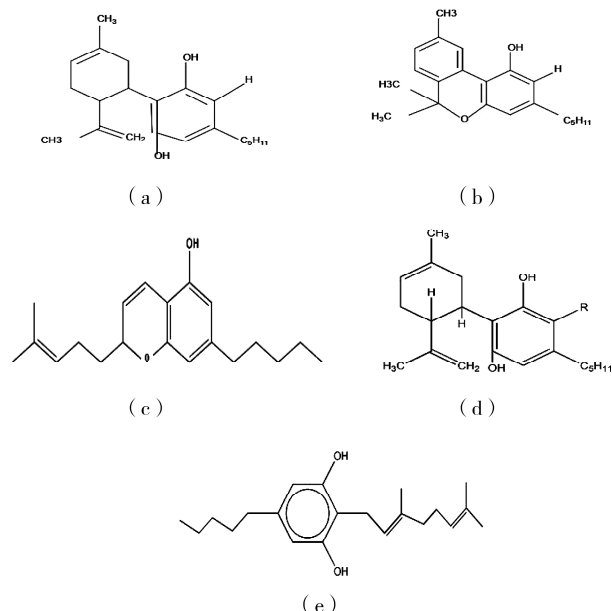


图 1 化合物结构式

a. 化合物 1; b. 化合物 2; c. 化合物 3; d. 化合物 4; e. 化合物 5

Fig. 1 Structural formula of compounds

a. compound 1; b. compound 2; c. compound 3; d. compound 4; e. compound 5

3.1.3 化合物 3 物质为红色油状,溶于家甲醇、乙醇、石油醚、乙酸乙酯、氯仿,不溶于水根据波谱数据鉴定为大麻色烯(Cannabichromene)。

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ 0.00 (s, 2H), 0.00 (t, $J = 7.0, 7.0$ Hz, 2H), 0.00 (s, 2H), 1.34–1.25 (m, 3H), 1.58–1.54 (m, 1H), 0.00 (s, 2H), 0.00 (s, 1H), 2.07–2.04 (m, 1H), 0.00 (dt, $J = 13.5, 7.0, 7.0$ Hz, 2H), 2.46–2.42 (m, 1H), 2.12–2.08 (m, 1H), 0.00 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 154.84 (s, 2H), 142.74 (s, 1H), 138.94 (s, 1H), 132.07 (s, 1H), 123.77 (s, 2H), 121.75 (s, 2H), 110.61 (s, 1H), 108.33 (s, 5H), 77.25 (s, 24H), 77.04 (s, 29H), 76.83 (s, 25H), 39.71 (s, 3H), 35.53 (s, 3H), 31.51 (s, 3H), 30.82 (s, 3H), 26.39 (s, 2H), 25.69 (s, 3H), 22.56 (s, 3H), 22.27 (s, 3H), 17.71 (s, 2H), 16.20 (s, 2H), 14.04 (s, 3H). 12 以上数据与 Kemal 等^[11]文献报道的数据一致。

3.1.4 化合物 4 该物质为淡黄色粉末状,溶于甲醇、乙醇、乙醚、氯仿、不溶于水,根据波谱数据鉴定为四氢大麻酚酸(11-nor-tetrahydrocannabinol-

9-carboxylic acid).

$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 12.22 (s, 5H), 7.28 (s, 6H), 6.42 (s, 5H), 6.42 (s, 5H), 6.33–6.25 (m, 7H), 6.30–6.26 (m, 6H), 3.25 (d, $J = 11.0$ Hz, 6H), 2.97 (ddd, $J = 13.5, 9.7, 5.9$ Hz, 6H), 2.81 (ddd, $J = 13.3, 9.6, 6.3$ Hz, 6H), 2.73 (s, 1H), 2.20 (d, $J = 6.0$ Hz, 13H), 1.96–1.95 (m, 2H), 2.00–1.88 (m, 6H), 1.77 (d, $J = 41.0$ Hz, 4H), 1.72 (s, 2H), 1.71 (s, 18H), 1.67 (dt, $J = 28.0, 13.1$ Hz, 29H), 1.60 (d, $J = 6.5$ Hz, 10H), 1.47 (s, 17H), 1.61–1.10 (m, 90H), 1.40–1.31 (m, 29H), 1.13 (s, 15H), 0.92 (dd, $J = 14.3, 7.4$ Hz, 20H), 1.01–0.47 (m, 23H), 0.03 (s, 10H).

$^{13}\text{C NMR}$ (151 MHz, CDCl_3) δ 176.34 (s, 1H), 164.71 (s, 1H), 159.79 (s, 1H), 146.98 (s, 1H), 133.85 (s, 1H), 123.63 (s, 2H), 112.66 (s, 2H), 109.88 (s, 1H), 102.32 (s, 1H), 78.87 (s, 2H), 77.23 (s, 41H), 77.02 (s, 40H), 76.81 (s, 40H), 45.61 (s, 2H), 36.52 (s, 3H), 33.47 (s, 3H), 32.03 (s, 4H), 31.25 (d, $J = 8.4$ Hz, 6H), 27.39 (s, 3H), 25.00 (s, 3H), 23.34 (s, 3H), 22.52 (s, 4H), 19.52 (s, 3H), 14.07 (s, 4H), -0.00 (s, 1H).

以上数据与文献[13]报道一致。

3.1.5 化合物 5 物质为黄色粉末状, 溶于甲醇、乙醇、石油醚、氯仿, 不溶于水, 根据波谱数据鉴定为大麻萜酚(Cannabigerol)。

$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 6.24 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 5.27 (t, $J = 6.7$ Hz, 1H), 5.05 (t, $J = 6.7$ Hz, 1H), 3.39 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 2.48–2.42 (m, 1H), 2.10 (dd, $J = 14.6, 6.9$ Hz, 1H), 2.08–2.03 (m, 1H), 1.81 (s, 1H), 1.66 (d, $J = 13.3$ Hz, 2H), 1.59 (s, 2H), 1.58–1.54 (m, 1H), 1.35–1.24 (m, 3H), 0.88 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H). $^{13}\text{C NMR}$ (151 MHz, CDCl_3) δ 154.03 (s, 2H), 151.00 (s, 2H), 144.77 (s, 2H), 131.66 (s, 2H), 127.25 (s, 4H), 124.20 (s, 4H), 116.81 (s, 4H), 109.13 (s, 4H), 107.71 (s, 4H), 107.00 (s, 1H), 78.21 (s, 3H), 77.25 (s, 17H), 77.04 (s, 17H), 76.83 (s, 16H), 41.04 (s, 4H), 35.91 (s, 4H), 31.48 (s, 4H), 30.65 (s, 4H),

26.25 (s, 4H), 25.69 (s, 4H), 22.73 (s, 1H), 22.64 (d, $J = 25.3$ Hz, 7H), 17.63 (s, 3H), 14.03 (s, 4H). 以上数据文献[14]报道一致。

3.2 TLC 法鉴别 CBD

层析体系下硅胶 G 板的最佳检测效果, 供试品色谱中在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 说明供试品中存在 CBD, 结果见图 2。

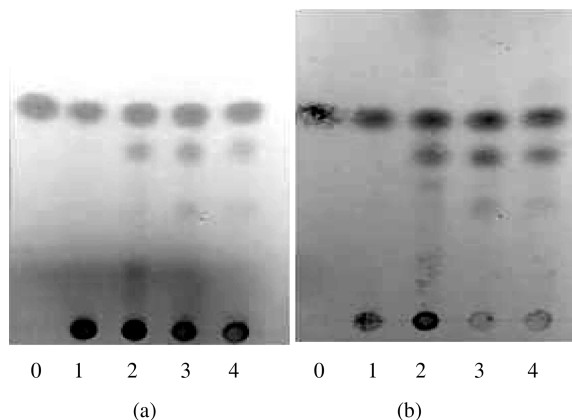


图 2 TLC 图谱

(a) 碘显色; (b) 1% 香草醛乙醇-硫酸(10:1)显色(0: CBD 对照品; 1: Cannab-13; 2: Cannab-14; 3: Cannab-15; 4: Cannab-16)

Fig. 2 TLC profiles

(a) iodine color; (b) 1% vanillin-alcohol solution-sulfate (10:1) color (0: CBD CK; 1: Cannab-13; 2: Cannab-14; 3: Cannab-15; 4: Cannab-16)

硅胶板层析实验结果显示, 石油醚-二氯甲烷(1:1)下, R_F 值可以达到 0.4 以上, 斑点清晰, 没有拖尾现象. 由图 2(a)可知, 碘蒸气熏蒸法 CBD 显色清晰, 斑点呈黄色; 如图 2(b)所示, 香草醛乙醇-硫酸作用下 CBD 显色清晰, 斑点呈蓝色. 由此可知, 上述两种显色方法都可用在工业生产. 由于 1% 香草醛乙醇-硫酸(10:1)显色时间长, 且需加热, 显色过程中温度、时间控制不当, 则易使硅胶板黑化, 影响观察; 而碘蒸气熏蒸操作简便, 显色时间短, 故而选择碘蒸气熏蒸法显色。

3.3 CBD HPLC 检测方法的优化

由图 3 可知 CBD 在 210 nm 处吸收峰最高, 检测范围更广, 260 nm 处基本无吸收峰. 这表明 HPLC 法可使 CBD 与其它干扰物质有效分离, 吸收峰与化合物之间的对应关系良好, 提高 HPLC 法的适用范围, 即是改善峰面积与物质浓度之间的对应关系. 为降低 CBD 的摩尔吸收系数, 可选择其最大吸收波长 210 nm.

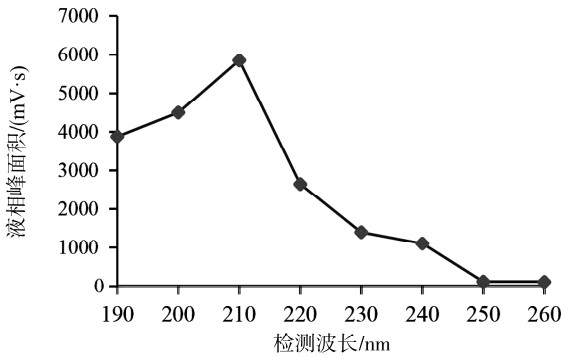


图3 不同波长CBD液相峰面积

Fig. 3 Different wavelength CBD HPLC peak area

最优色谱条件见下。色谱柱:柱温 30 °C、进样量 15 μL 、流速 1 mL/min;流动相:乙腈:0.05%磷酸溶液(80:20)等度洗脱。在此色谱条件下,大麻二酚、理论塔板数均不低于 10 000,分离度与拖尾因子均符合检测要求。

3.4 方法学考察

3.4.1 线性关系考察 将对照品溶液(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)分别稀释为 6.25、12.5、25、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$,取不同浓度对照品溶液 15 μL ,注入液相色谱仪,以峰面积值($\text{mV}\cdot\text{s}$)为纵坐标,质量浓度($\mu\text{g}/\text{mL}$)为横坐标进样线性回归,得到回归方程分别为: $y = 97.494x + 102.04$ ($R^2 = 0.9997$),结果表明 CBD 浓度 6.25~100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好,如图 4。

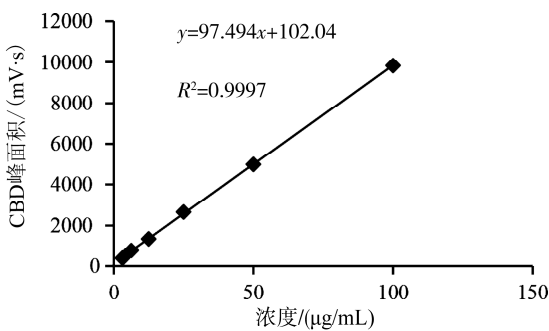


图4 CBD标准曲线

Fig. 4 Standard curve of CBD

3.4.2 精密度试验 精密吸取对照品溶液(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$),重复进样 5 次,测得峰面积值的 RSD 为 0.84%,结果表明仪器精密度良好。

3.4.3 稳定性 取同一份对照品溶液(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$),分别在 1 h、4 h、8 h、12 h、24 h、48 h,测得面积值的 RSD 为 1.41%,表明 48 h 内稳定性较好。

3.4.4 重复性实验 使用批次相同的汉麻叶药材

平行制备 5 份供试品溶液,测定各样品溶液的峰面积,测得 RSD 为 1.30%,结果表明重复性良好。

3.4.5 加样回收实验 取含量已知的 5 份汉麻药材,按照 0.5 mL 样品中加入 0.5 mL 大麻二酚对照溶液,计算加样回收试验结果如表 1 所示,据此得到加样回收率平均水平在 103.36%,RSD 值是 1.32%(小于 3%),表明该过程采用的方法可行性良好,符合检测需要。

表1 CBD加样回收率试验结果

Tab. 1 Sample recovery rate result of CBD

样品含量/ μg	CBD加入量/ μg	测得含量/ μg	回收率/%	RSD/%
15	50	68	104.61	
14	50	65	101.56	
15	50	68	104.61	1.32
15	50	68	104.61	
15	50	68	103.07	

3.4.6 不同品种中 CBD 含量的测定 取不同批次品种的汉麻叶,测定 CBD 含量,平行测定三次,测定结果如表 2 所示。

表2 16种批次品种的含量测定结果($n=3$)Tab. 2 Result of content determination of 16 batches of samples ($n=3$)

样品号	样品名称	CBD/%
1	Cannab-1	0.007 \pm 0.10
2	Cannab-2	0.010 \pm 0.08
3	Cannab-3	0.015 \pm 0.04
4	Cannab-4	0.015 \pm 0.06
5	Cannab-5	0.021 \pm 0.08
6	Cannab-6	0.028 \pm 0.11
7	Cannab-7	0.040 \pm 0.12
8	Cannab-8	0.049 \pm 0.03
9	Cannab-9	0.049 \pm 0.10
10	Cannab-10	0.052 \pm 0.05
11	Cannab-11	0.052 \pm 0.04
12	Cannab-12	0.069 \pm 0.11
13	Cannab-13	0.460 \pm 0.02
14	Cannab-14	0.790 \pm 0.02
15	Cannab-15	1.320 \pm 0.15
16	Cannab-16	1.480 \pm 0.13

不同批次的汉麻叶中 CBD 含量差异较大,13~16 样品的 CBD 含量 0.5% 以上,有利于 CBD 的工业放大级的分离纯化,其余有部分品种 CBD% 含量低与 0.05%,提取分离难度大,耗时耗材耗试剂,此类大麻原料对于工业化的 CBD 提取价值

不大. 本次检测有助于指导汉麻合理的育种及资源的合理分配利用.

4 结 论

酚类物质是汉麻叶相关药效关键物质, 具有很好的药理活性^[15-16]. 其中 CBD 是最具有代表性的重要成分, 具有抗炎、杀菌、镇痛、抗焦虑、抗神经疾病、抗氧化、改善儿童学习记忆、神经保护等药理活性. 本研究中, 汉麻叶样品通过一系列柱层析和结晶, 分离出共 5 个化合物. 鉴定为: CBD、CBN、 Δ^9 -THCA、CBC 和 CBG.

本研究建立了 CBD 的 TLC 色谱法, 操作简便快捷, 可同时检测多个样品. 优化了 CBD 的 HPLC 色谱法, 确定了 CBD 最大紫外吸收波长和最佳检测条件. 在此条件下, 对汉麻叶进行检测, 各峰分离度好, 完全达到基线分离. 方法学考查结果中, CBD 的($R^2=0.9997$), 精密度试验, 重复性试验 RSD 均在 1.05% 以内, 回收率范围为 101.5%~104.6%. 该方法检测速度快, 灵敏度高, 可以检测低含量汉麻叶中的 CBD 成分, 具有较高的准确性.

参考文献:

- [1] 陈琦君, 朱波, 陈为升, 等. 分散固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法同时测定尿中的四氢大麻酚和四氢大麻酸[J]. 中国卫生检验杂志, 2016(11): 1535.
- [2] 王建新. 化妆品天然成分原料介绍(VI)[J]. 日用化学品科学, 2018(12): 52.
- [3] Ligresti A, Moriello S, Starowicz K, et al. Antitumor activity of plant cannabinoids with emphasis on the effect of cannabidiol on human breast carcinoma[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2006, 318: 1375.
- [4] 马约内, 罗西, 盖伊, 等. 用于治疗神经性疼痛的大麻素类化合物: CN201280024106. 4 [P]. 2014-01-22.
- [5] 郭蓉, 陈璇, 郭鸿彦. 四氢大麻酚和大麻二酚的药理研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2017(08): 189.
- [6] 卢延旭, 董鹏, 崔晓光, 等. 工业大麻与毒品大麻的区别及其可利用价值[J]. 中国药理学通报, 2007, 23: 1112.
- [7] 翟晚枫, 张春水, 高利生. 高效液相色谱外标工作曲线法测定大麻树脂中四氢大麻酚含量的不确定度评定[J]. 化学分析计量, 2012, 21: 8.
- [8] 高宝昌, 孙宇峰, 张旭, 等. 工业大麻叶中大麻二酚含量分析研究[J]. 黑龙江科学, 2018(1): 61.
- [9] 艾斯凯尔·艾尔肯, 孙力扬, 谢辉, 等. 气相色谱-质谱联用(GC-MS)法检测人体血液、尿液中大麻及其主要代谢物的含量[J]. 新疆医科大学学报, 2016, 39: 1020.
- [10] Choi Y H, Hazekamp A, Peltenburg-Looman A M G, et al. NMR assignments of the major cannabinoids and cannabiflavonoids isolated from flowers of *Cannabis sativa* [J]. Phytochem Anal, 2004, 15: 345.
- [11] Kemal M, Khalil S K W, Rao N G S, et al. Isolation and identification of a cannabinoid-like compound from *Amorpha* species [J]. J Nat Prod, 1979, 42: 463.
- [12] Marjolein S, Georgios A, Jve E, et al. Development of a cannabinoid-based photoaffinity probe to determine the $\delta 8/9$ -tetrahydrocannabinol protein interaction landscape in neuroblastoma cells [J]. 2018, 3: 136.
- [13] Wang G, Zhu L, Zhao Y, et al. A natural product from *Cannabis sativa* subsp. *sativa* inhibits homeodomain-interacting protein kinase 2 (HIPK2), attenuating MPP (+)-induced apoptosis in human neuroblastoma SH-SY5Y cells [J]. Bioorg Chem, 2017, 72: 64.
- [14] Teare L, Zajicek J. The use of cannabinoids in multiple sclerosis [J]. Expert Opin Investig Drugs, 2005, 14: 859.
- [15] Hayakawa K, Mishima K, Abe K, et al. Cannabidiol prevents infarction via the non-CB1 cannabinoid receptor mechanism [J]. Neuroreport, 2004, 15: 2381.
- [16] Hayakawa K, Mishima K, Abe K, et al. Cannabidiol prevents infarction via the non-CB1 cannabinoid receptor mechanism [J]. Neuroreport, 2004, 15: 2381.

引用本文格式:

中文: 次仁曲宗, 罗禹, 屈晓宇, 等. 黑龙江汉麻叶中化学成分研究与大麻二酚(CBD)含量测定 [J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2019, 56: 957.

英文: Ciren Q Z, Luo Y, Qu X Y, et al. Study on chemical constituents and determination of cannabidiol (CBD) in hemp leaves of heilongjiang province [J]. J Sichuan Univ: Nat Sci Ed, 2019, 56: 957.