

汉麻超高效液相色谱指纹图谱及 4 个成分含量测定研究*

李军^{1,2,3}, 刘晓丹¹, 孙立秋^{1,2,3}, 兰韬⁴, 王丹^{1,2,3**}, 赵明^{1,2,3}

(1. 齐齐哈尔大学化学与化学工程学院, 齐齐哈尔 161006; 2. 黑龙江省工业大麻加工技术创新中心, 齐齐哈尔 161006;

3. 国家市场监督管理总局技术创新中心(工业大麻), 齐齐哈尔 161006; 4. 中国标准化研究院, 北京 100191)

摘要 目的: 建立汉麻超高效液相色谱(UHPLC)指纹图谱及大麻二酚酸(CBDA)、大麻二酚(CBD)、四氢大麻酚(THC)、四氢大麻酚酸(THCA) 4 个成分含量同时测定的分析方法, 为汉麻的质量评价提供依据。**方法:** 采用 Phenomenex C₁₈ 色谱柱(150 mm × 4.6 mm, 2.6 μm), 流动相为乙腈-0.2% 磷酸水溶液, 流速为 1.0 mL · min⁻¹, 柱温为 35 °C, 检测波长为 220 nm, 进样量为 2 μL, 梯度洗脱; 使用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)》对大兴安岭地区和齐齐哈尔地区的 15 批汉麻进行指纹图谱分析, 采用聚类分析、主成分分析和正交偏最小二乘判别分析, 对汉麻 UHPLC 指纹图谱进行分析评价。**结果:** 建立了汉麻 UHPLC 指纹图谱, 标定了 26 个共有峰, 指认了其中 4 个色谱峰并进行了含量测定, 分别为 CBDA、CBD、THC、THCA, 其相似度均 > 0.950。其中, 大兴安岭地区样品聚为 I 类, 质量最好。表明不同产地汉麻样品有较大差异。26 个共有峰经对照品比对, 且由变量重要性投影可知, 4 个被指认成分均是导致汉麻差异的主要成分。**结论:** 该方法稳定可靠, 可用于汉麻的定性定量分析, 研究结果为汉麻的质量评价提供依据。**关键词:** 汉麻; 指纹图谱; 含量测定; 化学计量学; 聚类分析

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2025)03-0409-08

doi: 10.16155/j.0254-1793.2024-0299

Study on UHPLC fingerprint and simultaneous determination of 4 components of hemp*

LI Jun^{1,2,3}, LIU Xiao-dan¹, SUN Li-qiu^{1,2,3}, LAN Tao⁴, WANG Dan^{1,2,3**}, ZHAO ming^{1,2,3}

(1. Institute of Chemistry and Chemical Engineering, Qiqihar University, Qiqihar 161006, China; 2. Heilongjiang Industrial Hemp Processing Technology Innovation Center, Qiqihar 161006, China; 3. Technology Innovation Center of Industrial Hemp for State Market Regulation, Qiqihar 161006, China; 4. China National Institute of Standardization, Beijing 100191, China)

Abstract Objective: To establish the UHPLC fingerprint and quantitative analysis of CBDA, CBD, THC, and THCA for hemp, and provides a basis for the quantity control of hemp. **Methods:** UHPLC was launched on a Phenomenex C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 2.6 μm) with mobile phase of acetonitrile-0.2% phosphoric acid aqueous solution at a flow rate of 1.0 mL · min⁻¹, column temperature of 35 °C, detection wavelength of 220 nm, and an injection volume of 2 μL by gradient elution. 15 batches of hemp samples from Daxing'anling region and Qiqihar

* 黑龙江省省属高等学校基本科研业务非科研项目(145309316)

** 通信作者 Tel: 15946494901; E-mail: wd15214405606@163.com

第一作者 Tel: 13684524509; E-mail: 837534403@qq.com

were analyzed to establish the fingerprint. Cluster analysis, principal component analysis and orthogonal partial least squares discriminant analysis were adopted to assess of UHPLC fingerprint of hemp. **Results:** the UHPLC fingerprint of hemp was established, and 26 common peaks were selected the 26 common peaks were compared with the reference substance. The structures of four chromatographic peaks were identified and simultaneously analyzed for content determination. four chromatographic peaks were identified as CBDA, CBD, THC and THCA. The similarity of fingerprint of them was greater than 0.950. The samples from Daxing'anling were clustered into class I, with the best quality. The results show that hemp samples from different regions were quite different. The variable importance projection (VIP) showed that the four compounds to be tested were the main components leading to the difference of hemp. **Conclusion:** The established method is stable and reliable and can be used for qualitative and quantitative analysis of hemp. The findings of this study are expected to provide a scientific basis for quality control of hemp.

Keywords: hemp; fingerprint; content determination; chemometrics; cluster analysis

汉麻为桑科 (Moraceae) 大麻属 (*Cannabis*) 一年生草本植物,多雌雄异株^[1]。药用汉麻植株中四氢大麻酚 (THC) 含量低于 0.3%, 不具备提取 THC 或直接作为毒品吸食的价值^[2], 在我国各地均有分布, 但仅黑龙江、云南两省允许规模化种植^[3]。汉麻的药理作用研究历史悠久, 早在《神农本草经》中记载“麻蕒, 一名麻勃, 主治五劳七伤, 利五藏, 下血, 寒气, 久服通神明, 轻身”^[4]。汉麻含有大麻素、黄酮、萜、生物碱等多种成分。大麻素类成分在镇痛^[5]、抗肿瘤^[6]、神经保护^[7]、抗菌^[8]、抗炎^[9]等方面具有良好的药理活性, 因大麻二酚 (CBD) 对治疗神经系统和心血管等疾病等具有显著疗效, 所以国内外对于 CBD 的研究最为深入^[10]。

汉麻品种复杂多样且含有多种成分, 受地理及生长环境等因素的影响, 汉麻质量参差不齐。目前, 有通过重测序技术构建汉麻指纹图谱, 评价不同汉麻样品间的遗传多样性^[11]。通过 SDS-PAGE 电泳技术构建火麻仁蛋白指纹图谱, 用于分析抗氧化能力与植物栽培品种和环境的关系^[12], 而关于工业大麻 HPLC 指纹图谱的研究相对较少, 但有关于工业大麻化学成分检测方法非常丰富^[13-15], 这为工业大麻的质量控制和指纹图谱的建立提供了技术支持。因此, 为了探究不同产地汉麻质量差异, 客观评价汉麻整体质量, 本实验采用 UHPLC 方法, 建立 15 批不同地区汉麻的指纹图谱, 并应用聚类分析 (CA)、主成分分析 (PCA)、正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 等分析方法对大兴安岭地区和齐

齐哈尔地区汉麻样品进行统计分析。通过与照品比对, 对汉麻中的主要特征成分 CBDA、CBD、THC 和 THCA 进行含量测定。通过汉麻指纹图谱的建立及上述 4 个主成分的含量测定, 比较不同产地汉麻品质的差异, 为汉麻指纹图谱的建立及质量评价提供依据。

1 材料

1.1 仪器

Agilent 1290 型超高效液相色谱仪 (安捷伦公司), 色谱柱为 Phenomenex C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 2.6 μm) (飞诺美公司), ZA220R4 型电子天平 (万分之一) (上海赞维衡器有限公司), JP-060 型超声波清洗器 (深圳洁盟技术股份有限公司), 中草药粉碎机 FW177 (天津市泰斯特仪器有限公司), L530 台式低速离心机 (湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)。

1.2 试药

对照品 CBDA (批号 FE04301903)、CBD (批号 FE10071912)、 Δ^9 -THC (批号 FE02072001)、 Δ^9 -THCA (批号 FE01142103) 购于西格玛公司 (纯度 98%), 15 批样品, 其中黑龙江省大兴安岭地区 11 批 (C1、C2、C3、C4、C5、C6、C7、C8、C10、C11 和 C14), 齐齐哈尔市 4 批 (C9、C12、C13 和 C15), 采收后自然阴干经齐齐哈尔大学天然产物研究室张树军教授鉴定为汉麻 (hemp), 标本保存在齐齐哈尔大学天然产物研究室。乙腈、甲醇为色谱纯, 北京伊诺凯科技有限公司; 磷酸为分析纯, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 水为屈臣氏蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 Phenomenex C₁₈ 色谱柱 (150 mm × 4.6 mm, 2.6 μm), 流动相为乙腈 (A) - 0.2% 磷酸水溶液 (B), 梯度洗脱 (0~20 min, 13%A → 28%A; 20~26 min, 28%A → 45%A; 26~35 min, 45%A → 50%A; 35~45 min, 50%A; 45~70 min, 50%A → 70%A; 70~75 min, 70%A → 73%A, 75~85 min, 13%A), 流速为 1.0 mL · min⁻¹, 柱温为 35 °C, 检测波长为 220 nm, 进样量为 2 μL。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品储备液 将 CBD、THC 和 THCA 标准品溶液加甲醇分别稀释成制成对照品储备液, 对照品储备液浓度分别为 CBDA 1 000 μg · mL⁻¹、CBD 500 μg · mL⁻¹、THC 40 μg · mL⁻¹、THCA 100 μg · mL⁻¹。

2.2.2 供试品溶液 取 15 批汉麻样品粉末 (过 5 号筛) 约 1 g, 精密称定后分别置于具塞锥形瓶中, 加入甲醇 50 mL, 称定质量, 超声 (300 W, 40 kHz) 提取 30 min, 甲醇补足减失的量, 在 3 600 r · min⁻¹ 离心 5 min, 取上清液用 0.22 μm 滤膜过滤, 取续滤液, 即得。

2.3 UHPLC 指纹图谱建立

2.3.1 精密度试验 取 C1 样品, 按 “2.2.2” 项下方法制备供试品溶液, 在 “2.1” 项色谱条件下进样 6 次测定, 测得各共有峰相对峰面积 (relative common peak

area, RPA) 的 RSD < 2.2%, 相对保留时间 (relative retention time, RRT) 的 RSD < 0.22%, 结果表明该仪器精密度良好。

2.3.2 重复性试验 取 C1 样品 6 份, 按 “2.2.2” 项下方法制备供试品溶液, 在 “2.1” 项色谱条件下进样测定, 测得各共有峰 RPA 的 RSD < 2.1%, RRT 的 RSD < 0.14%, 结果表明该检测方法重复性良好。

2.3.3 稳定性试验 取 C1 样品, 按 “2.2.2” 项下方法制备供试品溶液, 室温下暗处放置 0、2、4、8、12、24 h, 在 “2.1” 项色谱条件下进样测定, 测得各共有峰 RPA 的 RSD < 2.6%, RRT 的 RSD < 0.13%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.4 指纹图谱的建立 取 15 批汉麻样品, 按 “2.2.2” 项下方法制备供试品溶液, 在 “2.1” 项色谱条件下进样测定得 UHPLC 图谱, 将 UHPLC 数据依次导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)》, 建立汉麻指纹图谱, 以 C1 为参照图谱, 设定时间窗宽度为 0.1 min, 通过 Mark 峰匹配与多点校正, 建立汉麻指纹图谱, 见图 1。15 批汉麻样品指纹图谱共有 26 个共有峰, 各共有峰相对保留时间的 RSD < 1.0%。通过与对照品保留时间相比, 指认了其中四个色谱峰分别为峰 16 (CBDA)、峰 17 (CBD)、峰 21 (Δ⁹-THC)、峰 24 (Δ⁹-THCA)。

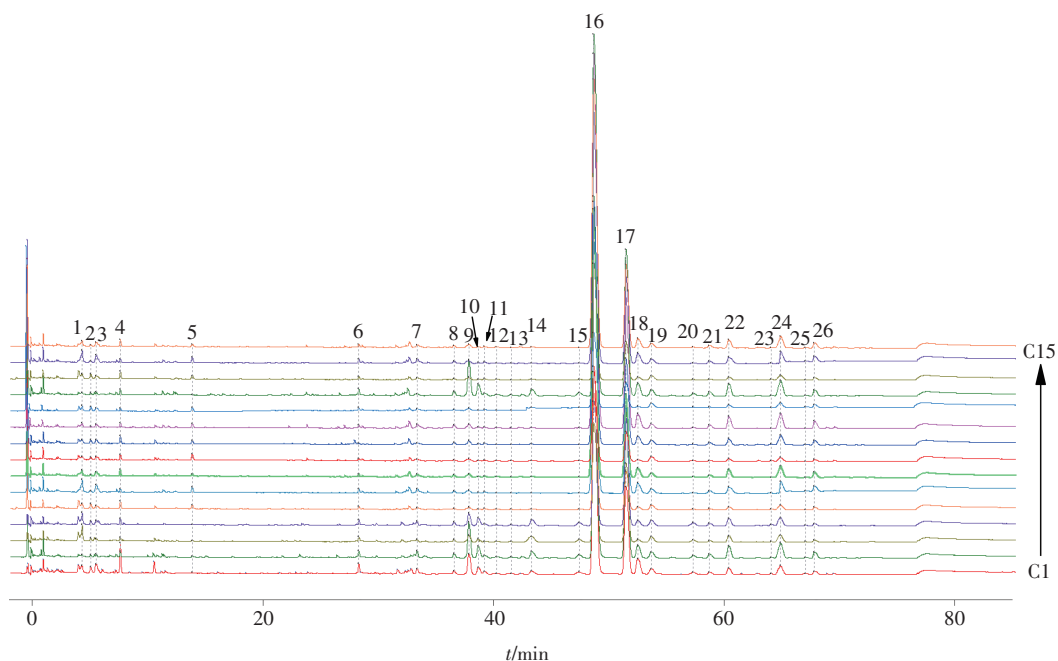


图 1 15 批汉麻 UHPLC 指纹图谱

Fig. 1 UHPLC fingerprint for 15 batches of hemp

2.3.5 相似度评价 以“2.3.4”项建立的汉麻指纹图谱 C1 的 UHPLC 谱图为参照,经多点校正和 Mark 峰匹配后计算相似度,各批样品 UHPLC 色谱图相似度在 0.951~0.999,表明 2 个地区汉麻样品化学成分组成基本相同,差异较小,建立的指纹图谱具有代表性,可用于汉麻质量评价。

2.4 化学计量学分析

2.4.1 聚类分析 以 15 批汉麻样品指纹图谱共有峰的峰面积为变量,使用 Origin 软件进行聚类分析 (CA)。使用 Z- 得分对数据进行标准化处理后,采用 Ward 聚类方法和欧氏距离进行 CA,结果见图 2。当分类距离为 10 时,C1、C2、C3、C4、C5 和 C6 聚为第 1 类,C7、C8、C10、C11、C14 聚为第 2 类,是大兴安岭地区汉麻样品;C9、C12、C13 和 C15 聚为第 3 类,是齐齐哈尔产大麻样品。说明不同产区汉麻样品差异相对较大,可通过指纹图谱辨别不同产区汉麻。

2.4.2 主成分分析 为客观反映 15 批汉麻样品产区间的差异性,以 15 批汉麻样品指纹图谱的共有峰峰面积为变量,将数据结果导入 SIMCA 14.1 软件进行主成分分析 (PCA)。将汉麻样品峰面积归一化处理

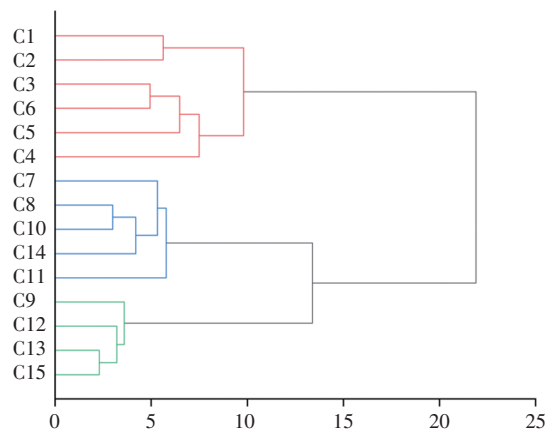


图 2 15 批汉麻聚类树状图
Fig. 2 Dendrogram of 15 batches of Hemp

后,采用 PCA 模型自动拟合为 PCA 得分图,见图 3。由图 3 可知,汉麻样品可明显分为 3 类:C1、C2、C3、C4、C5 和 C6 聚为第 1 类,C7、C8、C10、C11、C14 聚为第 2 类,是大兴安岭地区汉麻样品;C9、C12、C13 和 C15 聚为第 3 类,是齐齐哈尔产大麻样品。PCA 结果与 CA 结果一致,由 PCA 得分图的分离程度可知,不同产区的汉麻指纹图谱之间存在一定差异,可根据 PCA 得分图辨识两地汉麻产区。

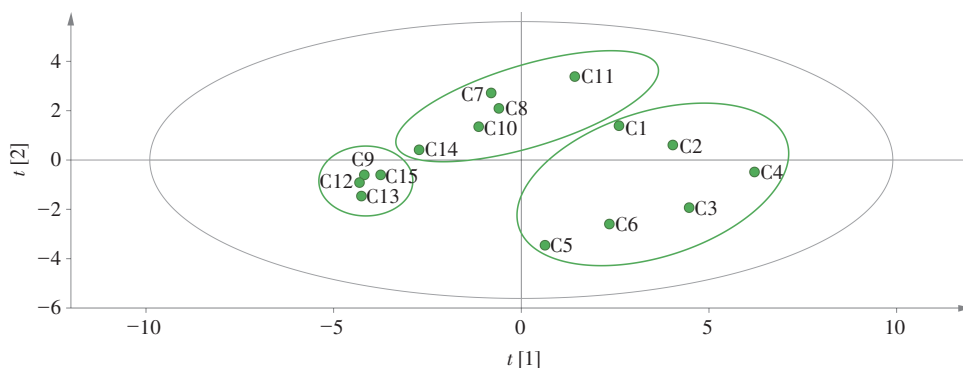


图 3 15 批汉麻 PCA 得分图
Fig. 3 PCA score plot of 15 batches of hemp

2.4.3 正交偏最小二乘判别分析 正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 可用于寻找样品间差异的变量。因此进一步分析不同产地汉麻样品之间的差异,以 15 批汉麻指纹图谱的 26 个共有峰峰面积为变量,将数据导入 SIMCA 14.1 软件进行 OPLS-DA,见图 4。C9、C12、C13 和 C15 为齐齐哈尔产区汉麻,其余为大兴安岭产区汉麻。由此可见,不同地区汉麻样品具有一定差异,为进一步确认对样品分类贡献度较大的成分,通过变量重要性投影 (VIP) > 1 筛选出导致汉

麻差异的标志性成分, VIP 是一种在多变量统计分析中常用的方法,用于评估不同自变量对因变量的贡献程度, VIP 越大,表明该化合物对组间差异的贡献越大。标记出 19 个贡献较大的成分,依次为 16、24、17、14、10、21、18、20、22、15、19、11、7、13、5、8、2、6 和 12 号色谱峰,结果见图 5。经对照品比对指出色谱峰 16、17、21 和 24 分别为 CBDA、CBD、THC 和 THCA,并对这 4 个指标成分进行了含量测定,由此证明,这 4 个成分的含量会影响汉麻的质量差异。

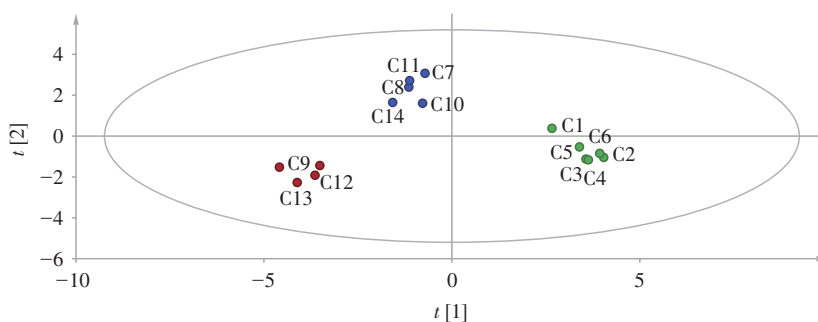


图 4 15 批汉麻 OPLC-DA 得分图

Fig. 4 OPLS-DA score plot of 15 batches of hemp

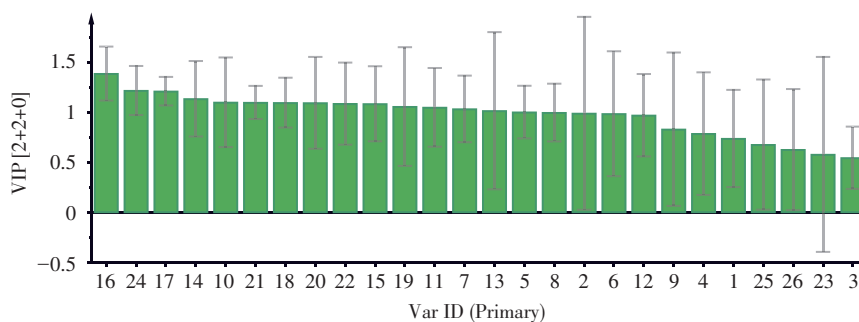


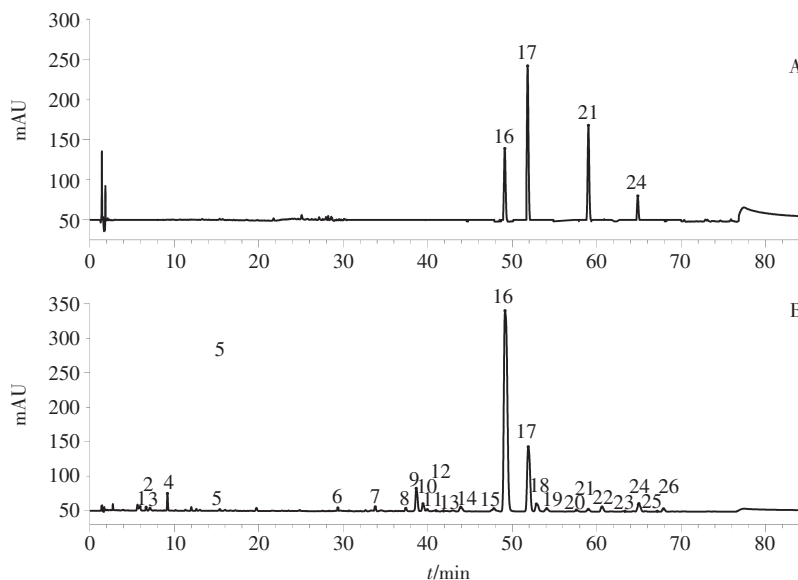
图 5 15 批汉麻 VIP 得分图

Fig. 5 VIP score plot of 15 batches of hemp

2.5 多成分含量测定

2.5.1 指标成分的指认 取 C1 样品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液。分别取“2.2.1”项下制备的对照品储备液适量,均匀混合后,制成混合对照

品溶液,在“2.1”项色谱条件下进样测定,结果见图 6。发现各色谱峰均具有良好的分离度和峰的对称性,并且与对照品一一对应,表示该方法适合汉麻检测。



16. CBDA 17. CBD 21. THC 24. THCA

图 6 混合对照品 (A) 与汉麻 (B) UHPLC 色谱图

Fig. 6 UHPLC chromatograms of mixed reference substances (A) and hemp (B)

2.5.2 线性关系、定量限及检测限 取各对照品储备液,加甲醇逐级稀释至 CBDA (1~1 000) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; CBD (1~500) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; Δ^9 -THC (0.1~40) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; Δ^9 -THCA (0.1~100) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的系列 5 个浓度溶液,在“2.1”项色谱条件下进样测定。以对照品质量浓度为横坐标 X,峰

面积为纵坐标 Y,使用 Excel 软件绘制标准曲线,得到各指标成分回归方程。将最低浓度的对照品溶液继续逐级稀释,在“2.1”项色谱条件下进样测定,按信噪比 (S/N)=10 计算定量限,按信噪比 (S/N)=3 计算检测限,结果见表 1,可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表 1 汉麻中各成分线性关系

Tab.1 Linear relationships of various constituents in Hemp

| 成分 (component) | 回归方程 (regression equation) | <i>r</i> | 线性范围 (linear range) ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) | LOQ/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) | LOD/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) |
|--|-------------------------------|----------|---|--|--|
| 大麻二酚酸 (cannabidiolic acid) | $Y=45.976X+20.964$ | 0.999 9 | 1~1 000 | 0.044 | 0.088 |
| 大麻二酚 (cannabidio) | $Y=42.972X+2.851$ | 0.999 0 | 1~500 | 0.166 | 0.259 |
| 四氢大麻酚 (tetrahydrocannabinol) | $Y=58.795X+3.429$ | 0.999 9 | 0.1~40 | 0.010 | 0.027 |
| Δ^9 -四氢大麻酚酸 A (Δ^9 -tetrahydrocannabinolic acid A) | $Y=75.735X+5.794$ | 0.999 4 | 0.1~100 | 0.016 | 0.042 |

2.5.3 精密度实验 取 C1 样品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下进样测定 6 次,测得汉麻 CBDA、CBD、THC、THCA 峰面积的 RSD 分别为 0.11%、0.12%、1.4%、0.60%,表明仪器精密度良好。

2.5.4 重复性试验 取 C1 样品,按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下进样测定,记录峰面积,测得汉麻中 CBDA、CBD、THC、THCA 的平均含量分别为 45.7841、23.9652、0.0650、0.1972 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。RSD 分别为 0.10%、0.24%、0.69% 和 0.14%,表明方法的重复性良好。

2.5.5 稳定性试验 取 C1 样品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别于 0、2、4、8、12、24 h 在“2.1”项色谱条件下进样测定,测得汉麻中 4 个指标成分的峰面积 RSD 分别为 0.14%、0.64%、2.4% 和 0.60%,表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.5.6 加样回收率试验 精密称取 C9 汉麻样品约 0.1 g 6 份,按表 2 中加标量加入对照品,按“2.2.2”项下方法平行制备供试品溶液。在“2.1”项色谱条件下进样测定,记录峰面积,计算各成分回收率,结果见表 2,表明该方法准确性良好。

2.5.7 样品含量测定 取 15 批样品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下进行测定,计算含量,结果见表 3。

3 讨论

3.1 供试品溶液制备考察

本文考察了甲醇体积分数为 80%、90%、100% 作为提取溶剂时对汉麻色谱图的影响,结果表明甲醇

作为提取溶剂时,汉麻色谱图中色谱峰数量相对较多且峰面积最大,故选择甲醇为汉麻样品提取溶剂;考察了超声和加热回流 2 种提取方法,结果表明超声提取效果较好;考察了料液比为 1:40、1:50 和 1:60 的提取效果,结果发现料液比 1:50 提取效果最好;另外,考察了提取时间分别为 20、30、40 min 的提取效果,结果表明,30 min 即可充分提取汉麻主要成分,故选择超声提取时间为 30 min。

3.2 色谱条件考察

通过紫外吸收光谱全波长扫描,发现检测波长为 220 nm 时,汉麻样品有最大吸收,且在 220 nm 时汉麻样品色谱图出峰数目较多,基线平稳,故选择 220 nm 作为 UHPLC 检测波长。同时对色谱柱进行优化,比较 COSMOSIL (100 mm \times 2.1 mm, 2.6 μm) 和 Phenomenex C₁₈ (150 mm \times 4.6 mm, 2.6 μm) 2 种色谱柱,结果 Phenomenex C₁₈ 色谱柱达到分离要求;考察乙腈-0.1% 甲酸水、乙腈-0.1% 磷酸水、乙腈-0.2% 磷酸水 3 个不同的流动相体系,结果发现,乙腈-0.2% 磷酸水体系分离效果最好。

3.3 指纹图谱和含量测定分析

本研究发现,15 批汉麻 UHPLC 指纹图谱之间的相似度较高,通过对其中 4 个主成分进行定量测定,发现 15 批汉麻中 CBDA (17.241 1~46.527 5 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)、CBD (4.929 3~29.741 0 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) 是含量相对较高的 2 个成分,对汉麻的相关报道以及本研究的结果表明,CBDA 和 CBD 是汉麻重要的差异性成分。THC (0.016 5~0.075 5 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)、THCA (0.072~0.202 6 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) 符合国家法律标准,在国家允许种植范围内。CA、

表 2 各成分加样回收率试验结果

Tab.2 Results of recovery tests for various constituents

| 成分 (component) | 样品量 (sample weight)/g | 样品中含量 (original amount)/mg | 加入量 (added)/mg | 测定量 (measured)/mg | 回收率 (recovery)/% | 平均回收率 (average recovery)/% | RSD/% |
|--|--------------------------|-------------------------------|-------------------|----------------------|---------------------|-------------------------------|-------|
| 大麻二酚酸 (cannabidiolic acid) | 0.100 2 | 2.297 4 | 2.000 0 | 4.293 9 | 99.9 | 99.8 | 0.17 |
| | 0.101 4 | 2.298 2 | 2.000 0 | 4.292 2 | 99.8 | | |
| | 0.101 1 | 2.297 1 | 2.000 0 | 4.276 4 | 99.5 | | |
| | 0.101 6 | 2.298 3 | 2.000 0 | 4.296 5 | 99.9 | | |
| | 0.100 4 | 2.298 1 | 2.000 0 | 4.296 0 | 99.9 | | |
| | 0.102 2 | 2.298 8 | 2.000 0 | 4.295 4 | 99.9 | | |
| 大麻二酚 (cannabidio) | 0.100 2 | 0.643 3 | 0.500 0 | 1.141 3 | 99.8 | 99.9 | 0.14 |
| | 0.101 4 | 0.647 7 | 0.500 0 | 1.149 7 | 100.2 | | |
| | 0.101 1 | 0.642 9 | 0.500 0 | 1.140 3 | 99.8 | | |
| | 0.101 6 | 0.649 5 | 0.500 0 | 1.147 9 | 99.9 | | |
| | 0.100 4 | 0.645 0 | 0.500 0 | 1.143 2 | 99.8 | | |
| | 0.102 2 | 0.642 0 | 0.500 0 | 1.141 1 | 99.9 | | |
| 四氢大麻酚 (tetrahydro- cannabinol) | 0.100 2 | 0.001 2 | 0.001 0 | 0.002 1 | 95.5 | 98.5 | 4.5 |
| | 0.101 4 | 0.001 3 | 0.001 0 | 0.002 2 | 95.7 | | |
| | 0.101 1 | 0.001 2 | 0.001 0 | 0.002 4 | 109.1 | | |
| | 0.101 6 | 0.001 3 | 0.001 0 | 0.002 4 | 104.4 | | |
| | 0.100 4 | 0.001 2 | 0.001 0 | 0.002 0 | 90.9 | | |
| | 0.102 2 | 0.001 3 | 0.001 0 | 0.002 2 | 95.7 | | |
| 四氢大麻酚酸 A (tetrahydro- cannabinolic acid A) | 0.100 2 | 0.007 4 | 0.005 0 | 0.012 1 | 97.6 | 99.8 | 2.1 |
| | 0.101 4 | 0.007 5 | 0.005 0 | 0.012 4 | 99.2 | | |
| | 0.101 1 | 0.007 4 | 0.005 0 | 0.012 7 | 102.4 | | |
| | 0.101 6 | 0.007 2 | 0.005 0 | 0.012 1 | 99.2 | | |
| | 0.100 4 | 0.007 5 | 0.005 0 | 0.012 3 | 98.4 | | |
| | 0.102 2 | 0.007 2 | 0.005 0 | 0.012 5 | 102.5 | | |

表 3 各成分含量测定结果

Tab.3 Results of content determination of various constituents

| 编号 (No.) | 含量(已干燥品计)[content (calculated by drying product)]/(mg·g ⁻¹) | | | |
|-------------|---|----------------------|---------------------------------|---|
| | 大麻二酚酸 (cannabidiolic acid) | 大麻二酚 (cannabidio) | 四氢大麻酚 (tetrahydrocannabinol) | Δ ⁹ -四氢大麻酚酸 A (Δ ⁹ -tetrahydrocannabinolic acid A) |
| C1 | 45.785 2 | 23.962 2 | 0.067 0 | 0.198 6 |
| C2 | 46.527 5 | 20.531 0 | 0.037 4 | 0.144 5 |
| C3 | 41.256 0 | 26.409 2 | 0.069 8 | 0.150 3 |
| C4 | 44.419 0 | 23.373 2 | 0.075 5 | 0.202 6 |
| C5 | 32.889 2 | 18.174 3 | 0.025 5 | 0.126 0 |
| C6 | 33.254 2 | 24.832 4 | 0.045 7 | 0.140 4 |
| C7 | 45.689 6 | 19.961 8 | 0.050 5 | 0.182 1 |
| C8 | 40.996 8 | 19.238 6 | 0.046 3 | 0.177 5 |
| C9 | 22.988 6 | 6.449 5 | 0.012 4 | 0.072 0 |
| C10 | 44.264 3 | 20.002 1 | 0.043 3 | 0.158 2 |
| C11 | 44.847 4 | 29.741 0 | 0.065 5 | 0.209 8 |
| C12 | 18.992 3 | 5.297 2 | 0.018 5 | 0.074 1 |
| C13 | 17.241 1 | 4.929 3 | 0.016 5 | 0.174 5 |
| C14 | 40.751 0 | 15.755 4 | 0.035 9 | 0.137 4 |
| C15 | 30.537 2 | 8.475 1 | 0.020 6 | 0.087 1 |

PCA 与 OPLS-DA 3 种分析方法均可将汉麻样品分为 3 类, C9、C12、C13 和 C15 为齐齐哈尔产区汉麻, 其余为大兴安岭产区汉麻, 结果一致。通过 VIP 分析, 色谱峰 9、10、14、15、16、17、18、19、20、21、22、24 是影响汉麻成分差异的指标成分, 因此本文选择 16、17、21、24 号色谱峰进行定量测定是合理的。结果发现, 大兴安岭地区汉麻样品中 CBDA、CBD 含量高于齐齐哈尔产汉麻, 可能与地区气候、土壤条件有关。汉麻指纹图谱与化学模式识别法相结合, 不仅可有效评价汉麻品质, 诠释影响汉麻质量差异的主要因素, 还可有效辨识不同产区汉麻。

通过多种化学计量学分析方法, 对不同产地汉麻进行质量评价, 发现不同产地汉麻具有差异。通过对 4 个主成分进行含量测定, 发现不同产地样品主成分含量有较大差别。综上所述, 本实验建立汉麻 UHPLC 指纹图谱, 并对 4 个大麻素类化合物含量进行了测定, 该方法重复性好, 专属性强, 可为汉麻的质量评价和开发利用提供一定的依据。

参考文献

- [1] 杨柳秀, 李超然, 高雯. 大麻化学成分及其种属差异研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45 (15): 3556
YANG LX, LI CR, GAO W. Phytochemistry of *Cannabis sativa* and its variation in different types [J]. China J Chin Mater Med, 2020, 45 (15): 3556
- [2] 李秋实, 孟莹, 陈士林. 药用大麻种质资源分类与研究策略 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44 (20): 4309
LI QS, MENG Y, CHENG SL. A new *Cannabis* germplasm classification and research strategies of non-psychoactive medicinal cannabis [J]. China J Chin Mater Med, 2019, 44 (20): 4309
- [3] 王德明, 张晓青, 朱士强, 等. 工业大麻应用及种植技术装备发展现状 [J]. 农业工程, 2023, 13 (9): 20
WANG DM, ZHANG XQ, ZHU SQ, et al. Development status of industrial hemp application and planting technology and equipment [J]. Agric Eng, 2023, 13 (9): 20
- [4] 孙星衍, 孙冯冀. 神农本草经 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982
SUN XY, SUN FJ. Shennong Bencao Jing [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1982
- [5] EBERSBACH P, STEHLE F, KAYSER O, et al. Chemical fingerprinting of single glandular trichomes of *Cannabis sativa* by Coherent anti-Stokes Raman scattering (CARS) microscopy [J]. BMC Plant Biol, 2018, 18 (1): 275
- [6] COHEN J, WEI Z, PHANG J, et al. Cannabinoids as an emerging therapy for posttraumatic stress disorder and substance use disorders [J]. J Clin Neurophysiol, 2020, 37 (1): 28
- [7] LI J, WANG G, QIN Y, et al. Neuroprotective constituents from the aerial parts of *Cannabis sativa* L. subsp. *sativa* [J]. RSC Adv, 2020, 10 (53): 32043
- [8] KHAN I, JAVAID A. Antifungal activity of leaf extract of *Cannabis sativa* against *Aspergillus flavipes* [J]. Pak J Weed Sci Res, 2020, 26 (4): 447
- [9] LIU C, MA H, SLITT AL, et al. Inhibitory effect of cannabidiol on the activation of NLRP3 inflammasome is associated with its modulation of the P2X7 receptor in human monocytes [J]. J Nat Prod, 2020, 83 (6): 2025
- [10] HUESTIS MA, SOLIMINI R, PICHNI S, et al. Cannabidiol adverse effects and toxicity [J]. Curr Neuropharmacol, 2019, 17 (10): 974
- [11] 陈珊宇, 孟思洁, 田燕, 等. 30 份工业大麻种质资源的遗传多样性分析及指纹图谱构建 [J]. 分子植物育种, 2023, 21 (24): 8151
CHEN SY, MENG SJ, TIAN Y, et al. Genetic diversity analysis and fingerprint construction of 30 industrial hemp germplasm resources [J]. Mol Plant Breed, 2023, 21 (24): 8151
- [12] CATTANEO C, GIVONETTI A, CAVALETTO M. Protein mass fingerprinting and antioxidant power of hemp seeds in relation to plant cultivar and environment [J]. Plants, 2023, 12 (4): 782
- [13] 李俊, 米要磊, 王思嘉, 等. 基于 UPLC-QQQ-MS/MS 的工业大麻中 6 种大麻素类成分定量研究 [J]. 中草药, 2022, 53 (4): 1163
LI J, MI YL, WANG SJ, et al. Quantitative study on six cannabinoids in industrial hemp based on UPLC-QQQ-MS/MS [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53 (4): 1163
- [14] 周静莹. 工业大麻药材质量标准研究 [D]. 昆明: 昆明医科大学, 2021
ZHOU JY. Research on quality standards of industrial hemp medicinal materials [D]. Kunming: Kunming Medical University, 2021
- [15] 王丹, 秦世丽, 赵英楠, 等. 超高效液相色谱法同时测定面膜中 12 种大麻素的含量 [J]. 分析实验室, 2023, 42 (2): 217
WANG D, QIN SL, ZHAO YN, et al. Simultaneous determination of 12 cannabinoids in facial masks by UPLC [J]. Chin J Anal Lab, 2023, 42 (2): 217

(本文于 2024 年 5 月 8 日收到)