定量核磁共振波谱法测定国内工业大麻 Δ^9-THC 提取物中顺反异构体的含量

郭玉涵，郑　岩，徐云辉，周　靖，姚利娟，华茉莉 *

（中国医药工业研究总院上海医药工业研究院有限公司，先导物成药性研究全国重点实验室，上海 201203）

摘要：该文建立了定量核磁共振波谱（^{1}H qNMR）法测定工业大麻来源的 Δ^9-*trans*- 四氢大麻酚（**1**）和 Δ^9-*cis*- 四氢大麻酚（**2**）的含量，并进行了方法学考察。结果显示，**1** 和 **2** 浓度分别为 5.133×10^{-2} ～ 20.53 和 5.033×10^{-2} ～ 2.013 mg/mL 时与特征峰面积线性关系良好（r>0.999），精密度 RSD 分别为 0.97％和 1.83％。平均加样回收率分别为 96.89％和 97.88％，RSD 为 2.96％和 3.08％。定量限分别为 0.513 3 和 0.050 3 mg/mL。与 HPLC 和 LC-MS/MS 法相比较，^{1}H qNMR 法的灵敏度低 3 ～ 5 个数量级；并且，采用 ^{1}H qNMR 法和 HPLC 法的含量测定结果基本一致。说明该研究开发的 ^{1}H qNMR 法可用于 **1** 和 **2** 的快速鉴定和定量，为工业大麻中 Δ^9-THC 的质量控制及医药开发提供技术支持。

关键词：定量核磁共振波谱；工业大麻；Δ^9- 四氢大麻酚；立体异构体；(−)- 顺式 / 反式 -Δ^9- 四氢大麻酚

中图分类号：R917　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2025)02-0224-08

引用：郭玉涵，郑　岩，徐云辉，等．定量核磁共振波谱法测定国内工业大麻 Δ^9-THC 提取物中顺反异构体的含量［J］．中国医药工业杂志，2025, 56(2)：224-231．DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2025.02.011

Determination of *cis*- and *trans*-Isomers in Δ^9-THC Extracts of Domestic Hemp by Quantitative Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy

GUO Yuhan, ZHENG Yan, XU Yunhui, ZHOU Jing, YAO Lijuan, HUA Moli*

(*National Key Lab. of Lead Druggability Research, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Co., Ltd., China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203*)

ABSTRACT: A quantitative nuclear magnetic resonance spectroscopy (^{1}H qNMR) method was established for the determination of Δ^9-*trans*-tetrahydrocannabinol (**1**) and Δ^9-*cis*-tetrahydrocannabinol (**2**) from hemp, and the methodology was verified. The results showed that when the concentration of **1** and **2** were 5.133×10^{-2} − 20.53 and 5.033×10^{-2} − 2.013 mg/mL, respectively, a good linear relationship was observed between the concentration and the characteristic peak area (r>0.999). And the precision RSD was 0.97％ and 1.83％, respectively. The average recoveries were 96.89％ and 97.88％, with the RSDs of 2.96％ and 3.08％, respectively. The limits of quantitation were 0.513 3 and 0.050 3 mg/mL, respectively. The method was accurate and reliable. Compared with the HPLC and LC-MS/MS methods, the sensitivity of ^{1}H qNMR method was 3 − 5 orders of magnitude low. Meanwhile, the results of ^{1}H qNMR and HPLC were basically consistent. The results indicate that the ^{1}H qNMR method developed in this study can be used for rapid identification and quantification of **1** and **2**, which provides the technical support for quality control and pharmaceutical development of Δ^9-THC from hemp.

Key Words: quantitative nuclear magnetic resonance spectroscopy; hemp; Δ^9-tetrahydrocannabinol; stereoisomer; (−)-*cis/trans*-Δ^9-tetrahydrocannabinol

收稿日期：2024-02-26

作者简介：郭玉涵（1996—），女，硕士研究生，专业方向：天然药物成分研究。

通信作者：华茉莉（1972—），女，研究员，博士生导师，从事中药、天然药物的新药研究与开发。

E-mail：huamoli@sinopharm.com

大麻（*Cannabis sativa* L.）为桑科大麻属一年生草本植物[1]，世界各地均有分布[2]。四氢大麻酚（tetrahydrocannabinol，Δ^9-THC）是大麻的主要精神活性成分。国际上将大麻雌性植株花序和顶部嫩叶

（干重）中 Δ^9-THC 含量小于 0.3%的大麻称为工业大麻或汉麻[3]。我国云南省和黑龙江省已通过地方立法，允许在公安监管下培育、种植和加工工业大麻。

Δ^9-THC 为 C_{21} 萜烯酚骨架化合物[4]，理论上存在 4 种立体异构体（图 1）。2018 年，世界卫生组织报告[5]中明确指出大麻植物中仅存在（−）-*trans*-Δ^9-THC（dronabinol，**1**，俗称屈大麻酚）。然而，1977 年研究人员就已从大麻中分离鉴定了（−）-*cis*-Δ^9-THC（**2**）[6]；2021 年，研究[7]报道 *cis*-Δ^9-THC 确实存在于 THC 含量低的纤维型工业大麻中；部分样品中 *cis*/*trans*-Δ^9-THC 比例甚至高达 0.77，**2** 为主要的手性异构体。根据临床经验，顺反异构体的药物活性常有差异，如顺铂能抑制肿瘤，反式则无此活性[8]。药理学研究[9]已证实 Δ^9-THC 因激活大麻素 1 型受体（cannabinoid receptor 1，CB_1）具有一定的精神活性，也可作用于大麻素 2 型受体（cannabinoid receptor 1，CB_2）以及多种受体和离子通道，具有抗炎、镇痛、免疫等多重生物学效应。美国 FDA 已批准人工合成的 **1** 用于治疗化疗患者难以缓解的恶心、呕吐以及艾滋病患者的神经性厌食和消瘦症[10]。

定量核磁共振波谱（quantitative nuclear magnetic resonance，^{1}H qNMR）法在药物质量控制中应用广泛，包括组分定性鉴定、含量分析、杂质鉴定等[11]，且已被列入多国药典。如 USP 35 采用 ^{1}H qNMR 法对亚硝酸异戊酯制剂进行定量，2009 年 USP 32 采用 ^{1}H qNMR 法和阴离子高效液相色谱法鉴定肝素。相较于色谱方法，qNMR 法具有一定的优势：①其定量分析是基于不同化学环境的原子核共振吸收峰面积只与自身原子数有关的原理，无需引入校正因子，故不需要待测物对照品；②其波谱信号与化合物共振原子数呈正比，待测物的量值可被直接溯源到内标上，用于化合物的纯度定值更为准确、可靠。由于用于 Δ^9-THC 立体异构体研究的对照品来源极其受限，常规的色谱分析方法难以有效实现 Δ^9-THC 立体异构体的准确定性和定量分析。因此本研

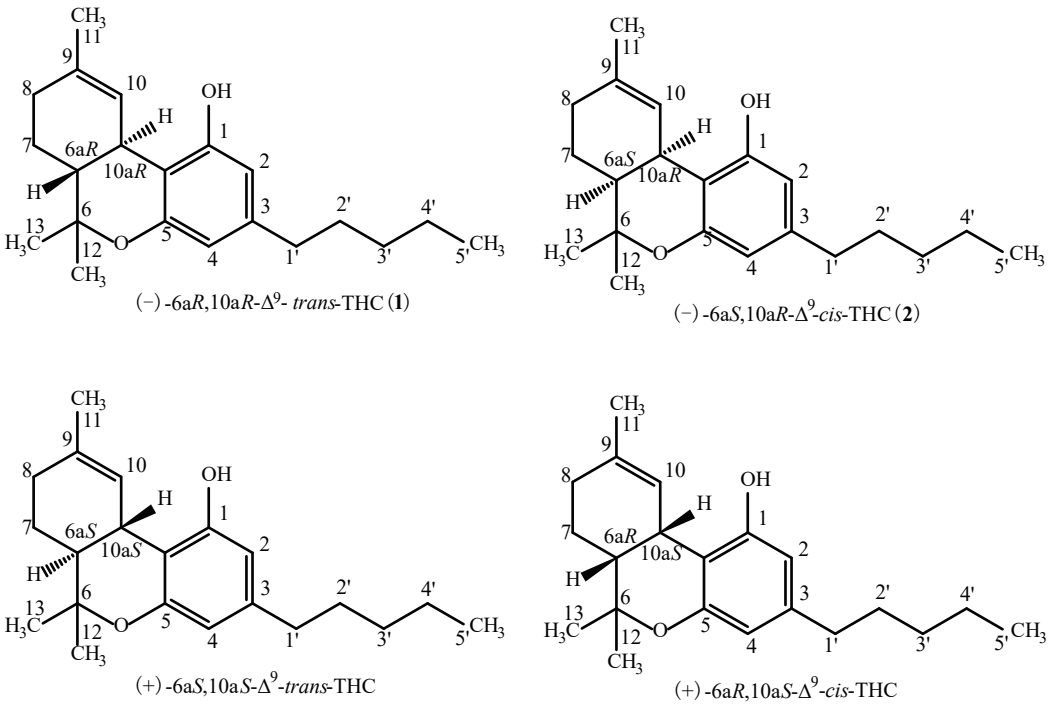


图 1 Δ^9-THC 的 4 种立体异构体的化学结构

Fig.1 Chemical Structures of Four Stereoisomers of Δ^9-THC

究基于相关研究[12—16]，开发了 *trans/cis*-Δ^9-THC 的 ^{1}H qNMR 定量检测方法。

本研究首次从云南省工业大麻花叶中分离、制备并鉴定了 Δ^9-THC 顺反异构体，并以 ^{1}H qNMR 法定量测定了云南省工业大麻来源的 Δ^9-THC 中 **1** 和 **2** 的含量。同时，对建立的 ^{1}H qNMR 法开展了方法学考察，结合 HPLC、LC-MS/MS 法对 ^{1}H qNMR 法进行了比较分析，以期为后续工业大麻来源的 Δ^9-THC 医药研究应用提供必需的技术支持。

1　仪器与试药

AVANCE 600 MHz 型核磁共振波谱仪（德国 Bruker 公司）；Acquity™ 型 UPLC 仪串联 Xevo G2-XS 型 Q-TOF 质谱仪（质谱鉴定用，美国 Waters 公司）；UltiMate 3000 型制备高效液相色谱仪（对照品制备用，美国 Thermo Fisher Scientific 公司，配有二极管阵列检测器）；ExionLCTM AD 型高效液相色谱仪串联 AB Sciex Triple Quad™ 4500 型质谱仪（含量分析检测用，美国 AB Sciex 公司）。

工业大麻花叶提取物（云南翰谷生物科技有限公司，批号 20210720）；**1** 对照品（美国 Sigma-Aldrich 公司，规格 1 mg/mL，批号 FE08221804，溶剂为甲醇，用于色谱方法含量检测及方法学验证）；**1** 对照品（含量 >98%）和 **2** 对照品（含量 >98%），本实验室照“**2.1.1**”项下方法自制（用于 qNMR 法学验证）；1,2,4,5- 四氯 -3- 硝基苯（**3**，德国 Dr. Ehrenstorfer 公司，纯度 99.16%，批号 G1239386）；氘代甲醇 -d_4（中国 Adamas-beta 公司，纯度 99.8%，批号 P2539312）；甲醇、乙腈、二氯甲烷、石油醚、正己烷、磷酸均为分析纯，水为超纯水。

2　方法与结果

2.1　研究用 **2** 对照品的制备与结构鉴定

2.1.1　样品及对照品的制备

采用硅胶柱色谱对工业大麻花叶提取物进行分离。经石油醚和二氯甲烷（体积比分别为 10 ∶ 3、10 ∶ 4、10 ∶ 5）梯度洗脱后，得到组分 Fr.1 ～ Fr.3。组分 Fr.3 依次经过反相硅胶柱（洗脱剂依次为 60%乙腈水溶液和 70%乙腈水溶液）和葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 柱（洗脱剂为 80% 甲醇水溶液）分离后，得到含有 Δ^9-THC 的工业大麻浸膏（Fr.3-3-2），并将其作为天然来源 Δ^9-THC 样品。Fr.3-3-2 经制备型液相色谱仪处理后得到化合物 Ⅰ、Ⅱ，鉴定后作为实验室自制对照品。具体分离流程如图 2 所示。

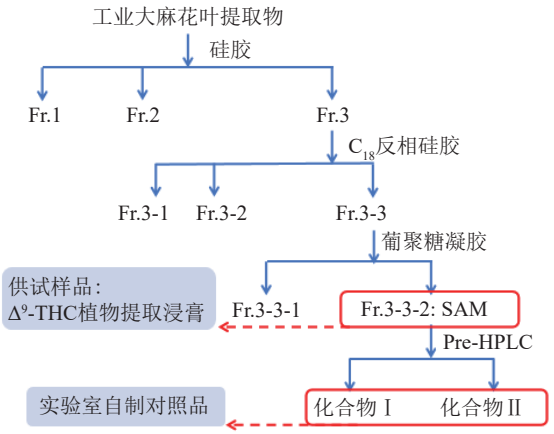


图 2　Δ^9-THC 的分离流程图

Fig.2　Separation Flow Chart of Δ^9-THC

2.1.2　化合物的结构鉴定

采用 UPLC-Q-TOF-MS 法对化合物 Ⅰ 和 Ⅱ 进行 ESI-MS 分析，条件如下。

色谱条件：色谱柱 Waters HSS T3 柱（2.1 mm×150 mm，1.8 μm）；流动相 A 为 0.1% 甲酸溶液，B 为乙腈，洗脱梯度（0—30 min，A 90%—78%；30—70 min，A 78%—40%；70—90 min，A 40%—10%；90—95 min，A 10%—5%；95—100 min，A 5%；100—102 min，A 5%—90%；102—108 min，A 90%）；检测波长 220 nm；流速 0.3 mL/min；进样量 2 μL。

质谱条件：离子源电喷雾离子源（ESI）；毛细管电压 3.5 kV；锥孔电压 40 V；氮气流速 500 L/h；质量轴校正采用亮氨酸 - 脑啡肽溶液在线校正，扫描范围 *m/z* 50 ～ 1 500；MS^E 模式下，低能量扫描时传输碰撞能量为 6 eV，高能量扫描时传输碰撞能量为 25 ～ 60 eV。

化合物 Ⅰ 的结构鉴定：经 ESI-MS 分析，得到 *m/z* 315.279 7 $[M+H]^+$ 的准分子离子峰，提示化合物 Ⅰ 的相对分子质量为 315；^{1}H NMR 和 ^{13}C NMR 数据（表 1）与参考文献[14]的数据一致；HPLC 比对结果显示，其与 **1** 对照品的色谱峰位置一致，故鉴

定化合物Ⅰ为 Δ^9-*trans*-四氢大麻酚，后续用作 **1** 对照品。

化合物Ⅱ的结构鉴定：化合物Ⅱ的质谱裂解规律与 **1** 一致，正离子模式下得到得到准分子离子峰为 *m*/*z* 315.264 2[M+H]$^+$。

在 ^{1}H NMR、^{13}C NMR 谱图中，化合物Ⅱ显示出与化合物Ⅰ趋势一致的特征峰，如表 1 所示。二者的主要差异如图 3 所示，这是因为手性碳原子构型不同导致了质子所处的磁性环境发生改变。10-H 的化学位移 δ 由 **1** 中的 6.43 变为了化合物Ⅱ中的 6.31。相对于 **1**（10a-H，δ 3.15），**2** 中 10a-H 的位置向更低场移动至 3.50，且 **1** 的耦合常数为 11，化合物Ⅱ则未观察出 10a-H 和 6a-H 相互耦合导致的裂分。这是因为顺反构型导致的二面角变化，同时也是区分 Δ^9-THC 顺反构型的有力证据。另外，7-H 和 8-H 在 **1** 中为独立信号，在化合物Ⅱ中的化学位移向高场移动产生重叠。化合物Ⅱ的骨架结构和取代基位置通过关联性磁振频谱（correlation spectroscopy，^{1}H-^{1}H COSY）和异核单量子相干谱（heteronuclear single quantum coherence spectroscopy，HSQC）得以验证（图 4）。异核多键相关谱（heteronuclear multiple bond correlation spectroscopy，HMBC）显示的远程相关如图 5 所示。结合文献 [12] 数据，确认化合物Ⅱ为 **2**，后续用作 **2** 对照品。

2.2 ^{1}H qNMR 法的建立及与 HPLC、LC-MS/MS 法的比较研究

2.2.1 溶液配制

2.2.1.1 ^{1}H qNMR 法用溶液

内标溶液：精密称取 **3** 适量，用甲醇溶解并制成每 1 mL 含 **3** 约 1 mg 的内标溶液。

混合对照品贮备液：精密称取 **1**、**2** 对照品适量，加入甲醇溶解制成每 1 mL 含 **1** 和 **2** 约 20 和 2 mg 的混合对照品贮备液。

工作对照品溶液：根据不同化合物的定量限，将混合对照品贮备液用甲醇稀释成不同浓度梯度的系列工作溶液。精密量取工作溶液 1 mL 和内标溶液 1 mL，置同一 10 mL 圆底烧瓶中，旋转蒸发后用 CD_3OD 1 mL 复溶并转移至 5 mm 核磁管中，待测。

表 1 Δ^9-THC 顺反异构体的 NMR 鉴定结果（CD_3OD）

Tab.1 NMR Identification of Δ^9-THC *cis*/*trans*-Isomers (CD_3OD)

位置	Ⅱ		1	
	δ_H（H 数，多重性，*J*/Hz）	δ_C（类型）	δ_H（H 数，多重性，*J*/Hz）	δ_C（类型）
1	—	157.72（C-OH）	—	157.21（C-OH）
2	6.16（1H, d, 1.6）	108.60（CH）	6.16（1H, d, 1.6）	108.38（CH）
3	—	142.94（C）	—	143.33（C）
4	6.05（1H, d, 1.6）	109.52（CH）	6.07（1H, d, 1.6）	109.73（CH）
5	—	154.83（C）	—	155.78（C）
6	—	77.05（C）	—	77.87（C）
6a	1.70（1H, m）	41.51（CH）	1.60（1H, m）	47.44（CH）
7	1.88（1H, m），1.41（1H, m）	22.02（CH_2）	1.93（1H, m），1.41（1H, m）	26.28（CH_2）
8	1.96（2H, m）	30.62（CH_2）	2.14（2H, m）	32.26（CH_2）
9	—	133.84（C）	—	133.47（C）
10	6.31（1H, m）	124.23（CH）	6.43（1H, m）	126.14（CH）
10a	3.50（1H, m）	32.83（CH）	3.15（1H, m）	35.20（CH）
10b	—	110.84（C）	—	110.38（C）
11	1.65（3H, s）	23.87（CH_3）	1.65（3H, s）	23.60（CH_3）
12	1.34（3H, s）	26.32（CH_3）	1.37（3H, s）	28.00（CH_3）
13	1.22（3H, s）	25.39（CH_3）	1.04（3H, s）	19.44（CH_3）
1’	2.39（2H, t, 7.7）	36.57（CH_2）	2.40（2H, t, 7.6）	36.60（CH_2）
2’	1.55（2H, m）	32.07（CH_2）	1.56（2H, m）	32.07（CH_2）
3’	1.32（2H, m）	32.67（CH_2）	1.33（2H, m）	32.65（CH_2）
4’	1.28（2H, m）	23.60（CH_2）	1.33（2H, m）	23.56（CH_2）
5’	0.90（3H, t, 6.9）	14.41（CH_3）	0.90（3H, t, 6.9）	14.40（CH_3）

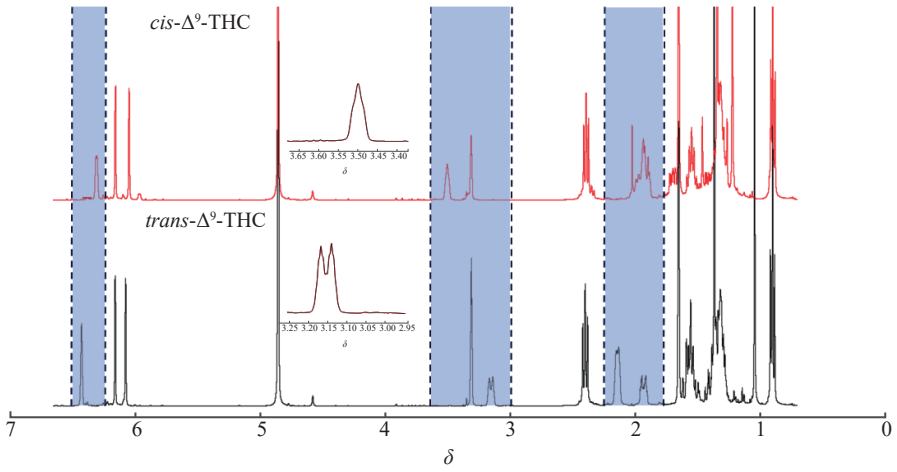


图 3　化合物 1 和 2 的 ^{1}H NMR 对比

Fig.3　^{1}H NMR Comparison of Compounds **1** and **2**

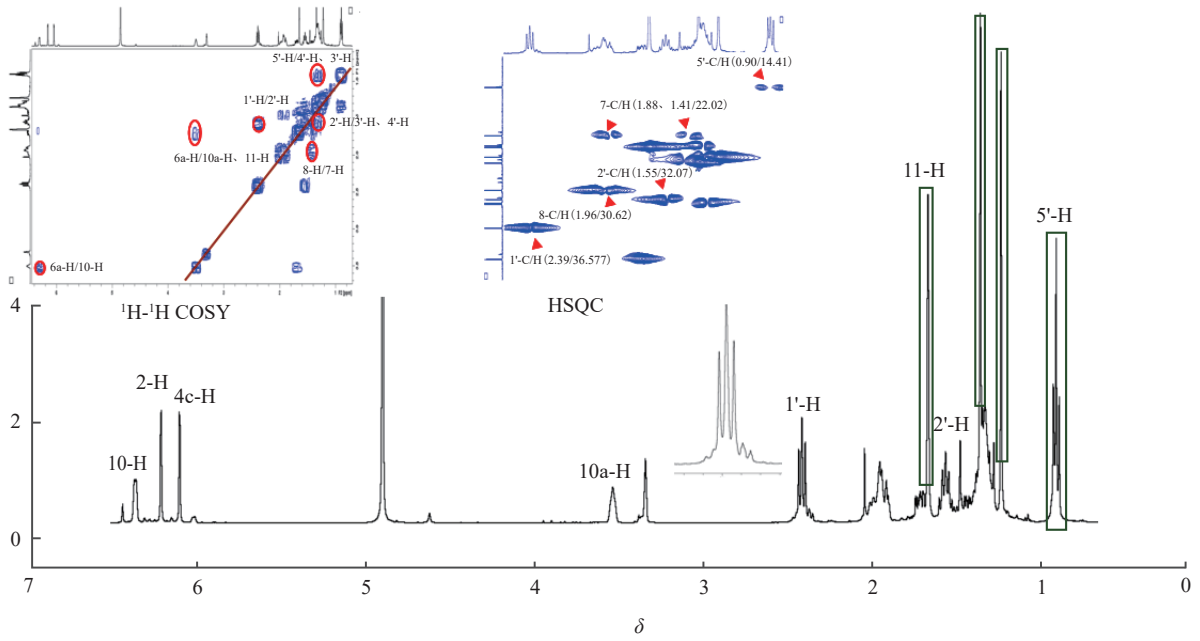


图 4　化合物 2 的 ^{1}H NMR 鉴定表征

Fig.4　Identification and Characterization of Compound **2** by ^{1}H NMR

供试品溶液：精密称取“**2.1.1**”项下所得的 Δ^9-THC 样品适量，加入甲醇溶解使得每 1 mL 含 **1** 和 **2** 约 1 mg 和 0.1 mg；精密量取上述溶液 1 mL 和内标溶液 1 mL，置同一 10 mL 圆底烧瓶中，旋转蒸发后用 CD_3OD 1 mL 复溶并转移至 5 mm 核磁管中，待测。

2.2.1.2　溶液配制

对照品贮备液：精密量取 **1**、**2** 对照品适量，分别用甲醇溶解，制成每 1 mL 含 **1** 和 **2** 各约 0.1 和 0.02 mg 的 HPLC 对照品贮备液，和每 1 mL 含 **1** 和 **2** 均约 0.02 mg 的 LC-MS/MS 对照品贮备液。

工作对照品溶液：根据不同化合物的定量限，分别将 HPLC 和 LC-MS/MS 对照品贮备液用甲醇稀释成不同质量浓度的系列工作溶液。

供试品溶液：分别精密称取“**2.1.1**”项下所得的 Δ^9-THC 样品适量，加入甲醇溶解，制成每 1 mL 含 **1** 和 **2** 约 0.02 和 0.005 mg 的 HPLC 供试品溶液和

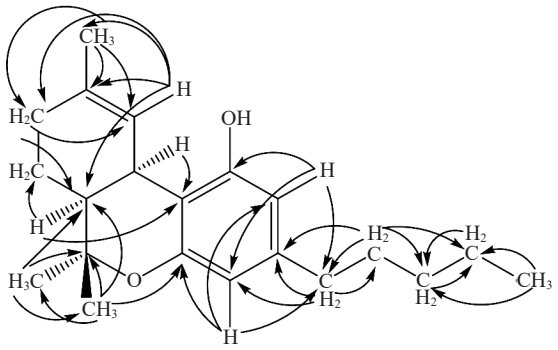


图 5　化合物 2 的 HMBC 远程 H-C 相关信号

Fig.5　HMBC Remote H-C-related Signal of Compound **2**

每 1 mL 含 **1** 和 **2** 约 0.001 mg 和 0.05 μg 的 LC-MS/MS 供试品溶液。

2.2.2　分析条件

2.2.2.1　^{1}H qNMR 法分析条件

采用 zg30 脉冲序列在 298 K 下获取 ^{1}H qNMR 谱。参数设置如下：谱宽 12 000 Hz；采样点数 6.4×10^{4}；采样时间 2.75 s；弛豫延迟时间 60 s；采样次数 16；空扫次数 2。

采集后的原始光谱使用 TopSpin 3.6.0 软件进行傅里叶变换、零填充和窗函数设置、相位和基线校正。溶剂 CD_3OD 作为化学位移基准（3.31×10^{-6}）；**3** 作为内标物，在 CD_3OD 中的化学位移为 8.15×10^{-6}。δ 6.43 和 6.31 分别被用于 **1** 和 **2** 的绝对定量。

2.2.2.2　HPLC 法定量分析条件

色谱柱 Agilent Poroshell 120 EC-C_{18} 柱（4.6 mm×250 mm，4 μm）；流动相 0.1%磷酸溶液和乙腈（体积比 30 ∶ 70），等度洗脱；检测波长 210 nm；流速 1.0 mL/min；柱温 25 ℃；进样量 10 μL；洗脱时间 50 min。

2.2.2.3　LC-MS/MS 法定量分析条件

色谱条件：色谱柱 ACQUITY CSH^{TM} C_{18} 柱（2.1 mm×150 mm，1.7 μm）；流动相 0.1%甲酸溶液和乙腈（体积比 30 ∶ 70），等度洗脱；检测波长 210 nm；流速 0.3 mL/min；柱温 40 ℃；进样量 3 μL；洗脱时间 15 min。

质谱条件：离子源　电喷雾电离源（electrospray ionization，ESI）；扫描模式　正离子模式，多反应监测（multiple reaction monitoring，MRM）模式；气帘气体压力 241.32 kPa，源喷射电压 5 500 V；源喷射温度 180 ℃；离子源气体 1（GS1）124.11 kPa；离子源气体 2（GS2）103.42 kPa。通过方法优化，**1** 和 **2** 均选择子离子 *m*/*z* 193 进行定量。

2.2.3　方法学考察

分别对 ^{1}H qNMR 以及其他色谱法进行方法学验证和比较研究。具体验证结果如表 2 所示。

2.2.3.1　线性试验

按“**2.2.2**”项下方法配制对照品溶液及对照品系列工作溶液，测定化合物 **1**、**2** 的线性范围。结果显示，3 种方法在各自的浓度范围内均呈现良好的线性关系（r>0.999），然而它们的线性范围表现出很大差距，呈互补的趋势。

2.2.3.2　检测限和定量限

取“**2.2.1.2**”项下的对照品系列工作溶液逐级稀释，分别以定量峰信噪比为 10 和 3 时的化合物的质量浓度作为 HPLC 和 LC-MS/MS 法的 LOQ 和 LOD。^{1}H qNMR 法中，为了对原料中比例悬殊的 2 个物质进行准确定量，拟采用 *S*/*N* 大于 15 时的质量浓度作为 **2** 的 LOD。此时，**1** 对应质量浓度的 *S*/*N* 大于 100，满足定量要求。因此，0.5 和 0.05 mg/mL 被确定为 **1** 和 **2** 的 LOD。结果显示，^{1}H qNMR 法的 LOQ 和 LOD 比色谱定量方法高 3 ～ 4 个数量级。这取决于方法本身的检测原理以及采集和处理参数的设置。本研究采用了最常用的 zg30 脉冲序列和默认参数。

2.2.3.3　精密度试验

按“**2.2.1**”所述方法分别平行制备 6 份供试品溶液进行测定。分别计算 6 次测试得到的 **1** 和 **2** 含量的 RSD。结果显示，^{1}H qNMR 和 HPLC 法展现出良好的重复性，而 LC-MS/MS 法则因为微量样品的质量浓度和仪器本身的偏差导致了较大的变异系数。

2.2.3.4　加样回收率试验

取“**2.2.3.3**”项下精密度试验溶液，分别按不同加样水平（50%、100%、150%）加入 **1** 和 **2** 对照品，各水平平行配制 3 份，进行测定，计算加样回收率。结果显示，^{1}H qNMR 和 HPLC 法的回收率和 RSD 均符合要求。LC-MS/MS 法回收率结果符合

表 2　^{1}H qNMR 光谱和常用色谱定量方法的验证结果

Tab.2　Validation Results of ^{1}H qNMR Spectroscopy and Commonly Used Chromatographic Quantification Methods

验证项目	^{1}H qNMR		HPLC		LC-MS/MS	
	2	**1**	**2**	**1**	**2**	
线性范围 /（mg·mL^{-1}）	5.133×10^{-2} ～ 20.53	5.033×10^{-2} ～ 2.013	0.1 ～ 0.001	1.777×10^{-2} ～ 1.777×10^{-4}	2.0×10^{-5} ～ 4.0×10^{-3}	1.792×10^{-5} ～ 3.584×10^{-3}
标准曲线曲线	y=0.831 7c+0.097 1	y=0.908 2c+0.010 1	y=466.56c+0.213 8	y=488.45c+0.055 5	y=968.39c+178.62	y=842.8c+27 373
r	0.999 8	0.999 1	0.999 9	0.999 3	0.999 9	0.999 9
LOQ/（mg·mL^{-1}）	0.513 3	0.050 3	1.0×10^{-4}	8.962×10^{-5}	2.5×10^{-6}	4.481×10^{-6}
LOD/（mg·mL^{-1}）	0.010 27	0.016 78	5.0×10^{-5}	7.170×10^{-5}	1.0×10^{-6}	8.962×10^{-7}
精密度试验样品质量浓度 /（mg·mL^{-1}）	1.151	0.111 5	0.02	5.691×10^{-3}	5.593×10^{-4}	3.658×10^{-5}
精密度 RSD/%（n=6）	0.97	1.83	1.84	0.85	6.15	7.90
准确度试验	1.726	0.167 2	0.03	5.377×10^{-3}	1.5×10^{-3}	9.375×10^{-5}
样品质量浓度 /（mg·mL^{-1}）	1.151	0.1 115	0.02	3.584×10^{-3}	1.0×10^{-3}	6.250×10^{-5}
	0.575 4	0.055 7	0.01	1.792×10^{-3}	5.0×10^{-4}	3.125×10^{-5}
平均回收率 /%	96.89	97.88	96.03	97.49	100.35	96.28
回收率 RSD/%（n=9）	2.96	3.08	1.95	0.82	5.95	11.25

要求但 RSD 偏差较大。

2.2.4　样品测定

按“**2.2.1**”项下配制供试品溶液，用“**2.2.2**”项下 ^{1}H qNMR 和 HPLC 法进行含量测定，结果如表 3 所示。^{1}H qNMR 和 HPLC 法的含量测量结果基本一致，**1** 和 **2** 测量结果的 RSD（n=3）分别为 0.32% 和 3.74%。考虑到 ^{1}H qNMR 法相对较低的灵敏度、仪器的固有偏差以及样品制备带来的误差等不可避免因素，这样的偏移是可接受的。本方法中信噪比大于 15 能够满足定量需求，也可提高样品浓度以及通过优化方法参数进行方法优化。

表 3　样品检测结果（n=3）

Tab.3　Test Results of the Samples（n=3）

分析方法	含量 /%	
	1	**2**
^{1}H qNMR	72.33	5.03
HPLC	72.10	4.84
$\bar{x}\pm s$	72.22±1.57	4.94±0.64

3　讨论

我国法律根据 THC 含量来限制大麻及相关制品，但是检测结果仅包含 **1**，在一定程度上模糊了 **2** 的法律边界。生物体内的手性环境使 **2** 与 **1** 存在显著的药理活性差异。现有研究[7,13—14]显示，**2** 是一种比 **1** 更低效的大麻素受体部分激动剂，且在动物行为学试验中表现出更低的毒性。当前，亟待对 **2** 的活性开展进一步研究以明确 **2** 的法律地位并为日后工业大麻植物来源 Δ^9-THC 开发利用提供参考和依据。

本研究建立了一种用于工业大麻 Δ^9-THC 提取物中顺反异构体的 ^{1}H qNMR 定量检测方法，并进行了方法学验证。选择了化学位移相近，分别为 6.43 和 6.31 的特征峰作为 **1** 和 **2** 的定量峰，由于样品中 **1** 和 **2** 的比例悬殊，核磁图谱并未出现信号未完全分离的现象，但在以后的检测中，仍需考虑样品组成变化可能导致的图谱异常。与传统的色谱方法相比，虽然 ^{1}H qNMR 法的灵敏度较低，但其无需分离媒介，不存在吸附效应等因素导致的分析误差，也不需复杂的样品制备，不仅节省了样品处理时间，还消除了制备和稀释过程带来的样品组成变化和损失。综上所述，相较于传统色谱方法，^{1}H qNMR 法是一种更为简单、快速、经济环保的定量分析手段。

参考文献：

[1]　中国科学院中国植物志编辑委员会．中国植物志［M］．北京： 科学出版社 , 1998: 223.

[2]　国家中药学管理局《中华本草》编委会．中华本草［M］．上海： 上海科学技术出版社 , 1998: 15.

[3]　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**(8): 1112-1114.

[4]　RADWAN M M, CHANDRA S, GUL S, *et al*．Cannabinoids,

phenolics, terpenes and alkaloids of cannabis［J］. *Molecules*, 2021, **26**(9): 2774-2808.

［5］ WHO Expert Committee on Drug Dependence: fortieth report. WHO technical report series 1013［EB/OL］.（2018-04-15)［2024-02-26］. https://www. who. int/publications/i/item/9789241210225.

［6］ MARTIN R, KEMPFERT K D. Δ^{1}-3,4-*cis*-Tetrahydrocannabinol in cannabis sativa［J］. *Phytochemistry*, 1977, **16**: 1088-1089.

［7］ SCHAFROTH M A, MAZZOCCANTI G, INES R M, *et al*. Δ^{9}-*cis*-Tetrahydrocannabinol: natural occurrence, chirality, and pharmacology［J］. *J Nat Prod*, 2021, **84**(9): 2502-2510.

［8］ ARIS S M, FARRELL N P. ChemInform abstract: towards antitumor active *trans*-platinum compounds［J］. *ChemInform*, 2009, **40**(28): 1293-1302.

［9］ PERTWEE R G. Handbook of cannabis: phytocannabinoids and the immune system［M］. New York: Oxford University Press, 2014: 261-272.

［10］ FDA. Drug approvals and databases: orange book［EB/OL］.［2023-11-13］. https://www. accessdata. fda. gov/scripts/cder/ob/search_product. cfm.

［11］ PAULI G F, GODECKE T, JAKI B U, *et al*. Quantitative ^{1}H NMR. Development and potential of an analytical method: an update［J］. *Nat Prod*, 2012, **75**(4): 834-851.

［12］ OHTSUKI T, FRIESEN J B, CHEN S N, *et al*. Selective preparation and high dynamic-range analysis of cannabinoids in “CBD oil” and other cannabis sativa preparations［J］. *J Nat Prod*, 2022, **85**(3): 634-646.

［13］ YAGEN B, MECHOULAM R. Stereospecific cyclizations and isomerizations of cannabichromene and related cannabinoids［J］. *Tetrahedron Lett*, 1969, **10**(60): 5353-5356.

［14］ EDERY H, YONA G, ZVI B Z, *et al*. Structural requirements for cannabinoid activity［J］. *Ann N Y Acad Sci*, 1971, **191**(1): 40-53.

［15］ 朱敏航 , 周　靖 , 徐云辉 , 等 . HPLC 法测定国内工业大麻花叶原料中四氢大麻酚、大麻二酚和大麻二酚酸的含量［J］. 中国医药工业杂志 , 2022, **53**(1): 95-100.

［16］ 孙　静 , 周　靖 , 罗嘉嘉 , 等 . GC-MS 和 UPLC-Q-TOF-MS 法测定工业大麻花叶中的化学成分［J］. 中国医药工业杂志 , 2022, **53**(10): 1465-1481.