

The mass spectrum taken of this peak was identical to that reported for TXB₂ (Me-TMS), 2 characteristic ions occurring at m/e 600 (molecular ion, M) and 256 (base peak)⁶. The Me-BuO-TMS derivative of the post-column extract produced a GC peak at C value 26.9. The mass spectrum taken had significant peaks at m/e 671 (M), 656 (M-15), 640 (M-31), 600 (M-71), 598 (M-73), 581 (M-90), 510 (M-90-71), 508 (M-90-73), 491 (M-2×90), 420 (M-2×90-71), 418 (M-2×90-73), 408, 328 (M-3×90-73), 301 (base peak) 216, 211 (301-90), 191, 173 and 142 (α chain). This mass spectrum is consistent with the Me-BuO-TMS derivative of TXB₂ (figure). It is very similar to the mass spectrum of the Me-BuO-TMS derivative of 6-oxo-PGF_{1 α} (C value 26.8, 2nd isomer)⁵, as the 2 compounds are isomers. The major differences are the lack of m/e peaks at 413, 229 and 199 and the addition of m/e peaks at 408, 301, 216, 211 and 142 in the mass spectrum of TXB₂ compared with 6-oxo-PGF_{1 α} (Me-BuO-TMS derivatives). The Me-MO-TMS derivative of the post-column extract produced a GC peak at C value 25.1, the expected value for this derivative of TXB₂⁷. The mass spectrum had a molecular ion at m/e 629, 42 mass units lower than the molecular ion of the Me-BuO-TMS derivative due to the differences in mass between a butyl and methyl group. Other peaks produced by fragments containing

the oxime group were also 42 mass units lower than similar peaks occurring in the spectrum of the Me-BuO-TMS derivative e.g. m/e 216 in the Me-MO-TMS derivative had moved to 174 in the Me-MO-TMS derivative. However, the base peak in the latter derivative was still at m/e 301, as expected, since this fragment does not contain the oxime group. The mass spectrum obtained was consistent with the Me-MO-TMS derivative of TXB₂. It was similar but not identical to the Me-MO-TMS derivative of 6-oxo-PGF_{1 α} (C value 25.3). No quantitation of the amounts of TXB₂ produced was attempted due to the lack of authentic TXB₂ for assay purposes. It is very unlikely that the TXB₂ was produced by the small quantity of blood trapped in the uterine tissue since TXB₂ production by guinea-pig whole blood is very low⁸, and the amounts produced by the residual blood alone would be below detection limits. Consequently, this study has shown that homogenates of guinea-pig uterine tissue produce TXB₂, in addition to PGF_{2 α} , PGE₂ and 6-oxo-PGF_{1 α} , when incubated in vitro.

7 W. Dawson, J. R. Boot, A. F. Cockerill, D. N. B. Mallen and J. Osborne, Nature 262, 699 (1976).

8 M. Hamberg, Biochim. biophys. Acta 431, 651 (1976).

Analyse d'une population de *Cannabis sativa* L. originaire du Mexique et cultivé en France¹

Analysis of a population of *Cannabis sativa* L. originating from Mexico and cultivated in France

S. Guerrero Dávalos, F. Boucher², G. Fournier et M. Paris

Laboratoire de Matière Médicale, Centre d'Etudes Pharmaceutiques, Université Paris-Sud,
F-92290 Chatenay-Malabry (France), et Laboratoire du Phytotron, CNRS, F-91190 Gif-sur-Yvette (France),
25 avril 1977

Summary. Cannabinoid content of a population of *Cannabis sativa* L. originating from Mexico and cultivated in France is studied. The statistical analysis of results shows how difficult it is to obtain homogenous and representative samples. This problem is correlated to genetic heterogeneity of seeds.

Au cours de nos travaux sur le *Cannabis sativa* L. nous avons été souvent confrontés au problème de l'hétérogénéité des échantillons représentatifs d'une population de Chanvre³.

Des cultures expérimentales sont réalisées aux Etats-Unis⁴, au Canada⁵ et en Tchécoslovaquie⁶ notamment; les analyses portent toujours sur un échantillon moyen établi à partir d'un mélange de plusieurs plantes.

Il nous a paru intéressant d'effectuer une étude statistique de la variabilité d'une population de Chanvre, d'origine

géographique déterminée. Nos observations concernent les quatre lots de *Cannabis* originaire du Mexique⁷ et cultivé en plein champ, en France, à l'abri des fertilisations croisées. Le climat est tempéré et diffère des conditions d'environnement d'origine.

Matériel et méthodes. Les semis sont réalisés en pleine terre, à partir des graines contenues dans de la marihuana mexicaine en provenance des 3 localités:

Durango: lot 1A et 1B,
Michoacan: lot 2,
Oaxaca: lot 3.

Les sommités des plantes mâles et femelles sont prélevées individuellement, de façon standardisée⁸ au stade de la floraison et de la fructification c'est-à-dire environ 5 et 6 mois après la date du semis. La hauteur moyenne des

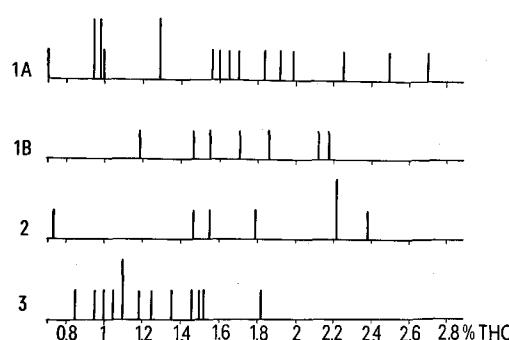


Fig. 1. Distribution du tétrahydrocannabinol chez les 4 lots de plantes mâles.

- 1 Remerciements. Les cultures ont été effectuées à l'Arboretum de Chèvreloup, France.
- 2 Laboratoire de Phytotron, Gif-sur-Yvette, France.
- 3 F. Boucher, M. Paris et L. Cosson, Phytochemistry 15, sous presse (1976).
- 4 C. E. Turner et C. Hadley, Archs Invest. Med. suppl. 1, 141 (1974).
- 5 E. Small, H. D. Beckslead et A. Chan, Econ. Bot. 29, 219 (1975).
- 6 L. Krejci, T. Hanus, O. Yoshida et J. Braendén, Acta univ. palackianae (1975).
- 7 S. Guerrero Dávalos, G. Fournier, F. Boucher et M. Paris, J. Pharm. Belg., sous presse (1976).

Teneurs en tétrahydrocannabinol des sommets mâles et femelles des différentes populations de *Cannabis sativa* L. originaire du Mexique (résultats exprimés en g pour 100 g de poids de matière sèche). Analyse statistique

Lots	1A	1B	2	3				
Sexe de la plante	Mâle	Femelle	Mâle	Femelle	Mâle	Femelle		
Teneurs en THC du <i>Cannabis</i> en provenance du Mexique	0,80		2,52		1,58		7,15*	
Teneurs moyennes en THC et erreur standard, du <i>Cannabis</i> originaire du Mexique et cultivé en France	1,54 ± 0,57	1,18 ± 0,29	1,73 ± 0,37	0,89 ± 0,20	1,78 ± 0,56	1,14 ± 0,26	1,24 ± 0,27	0,84 ± 0,29
Test t de Student **	—		++		+		+	

* Voir Guerrero Dávalos et al.⁷.

** Le signe — indique que la différence n'est pas significative. Les signes + et ++ montrent une différence significative ou hautement significative.

plantes est de 2,50 m. Après séchage à l'air libre, le matériel végétal est soumis à une extraction suivie d'une analyse dans les conditions déjà décrites⁸.

L'analyse qualitative des cannabinoïdes est réalisée par chromatographie sur couche mince (CCM) de silice et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM).

Le dosage du tétrahydrocannabinol (THC-C₅) est fait par CPG selon la méthode de l'étoile interne; l'intégration étant effectuée par un appareil Infotronics, modèle CRS-204.

Résultats expérimentaux et discussion. Sur le plan qualitatif, les informations fournies par la CCM et la CPG-SM sont les suivantes: a) les composés majeurs sont le tétrahydrocannabinol et son précurseur l'acide tétrahydrocannabinolique. b) Ont été également identifiés, en moindre quantité, le cannabichromène, le cannabigérol et le cannabinol ainsi que les homologues propylque et méthylé du THC, à l'état de traces.

Il convient de souligner l'absence du cannabidiol chez toutes les plantes analysées, comme cela a été signalé pour le *Cannabis* originaire d'Afrique du Sud⁹.

En ce qui concerne l'analyse quantitative des plantes, pour chacun des lots, est dosé un nombre variable de plantes, fonction des pourcentages de germination des graines et de l'importance relative des pieds mâles et des pieds femelles dans chaque échantillon. Les résultats des dosages sont réunis au tableau, illustré par les figures 1 et 2.

La distribution des cannabinoïdes chez les plantes révèle l'hétérogénéité des individus à l'intérieur des échantillons. Cette hétérogénéité est constamment plus importante pour les plantes mâles que pour les plantes femelles.

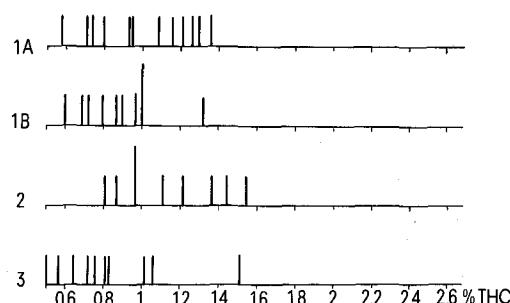


Fig. 2. Distribution du tétrahydrocannabinol chez les 4 lots de plantes femelles.

Dans le but de tester l'homogénéité des 4 échantillons représentatifs de la population du Chanvre du Mexique nous avons procédé à l'analyse de la variance selon R.A. Fisher.

Chez les plantes mâles nous n'avons pas trouvé de différence réelle entre les 4 échantillons, par contre des différences significatives ont été enregistrées pour les plantes femelles.

Pour les 4 lots considérés, les teneurs moyennes en THC sont plus élevées chez les plantes mâles que chez les plantes femelles correspondantes. Afin de savoir si les différences de teneurs entre pieds mâles et pieds femelles étaient significatives, nous avons fait appel au test t de Student, applicable dans le cas des petits échantillons. Les résultats indiquent que ces différences sont significatives excepté pour le lot 1A. L'application systématique du test t à la comparaison des moyennes des 4 échantillons montre que les lots 1B et 2 ne présentent pas de différences significatives de leurs teneurs en THC, ce qui n'est pas le cas des lots 2 et 3 comparés.

En outre les différences les plus significatives sont enregistrées avec les plantes femelles. Enfin, si l'on compare les teneurs en THC de la marihuana en provenance du Mexique, avec celles des plantes de première génération cultivées en France, on note: une très forte baisse du THC pour le lot 3 puisque nous trouvons respectivement 7,15% et 0,84%; cette baisse est moins sensible pour les échantillons 1B et 2; pour 1A les teneurs en THC se sont maintenues sous notre climat.

Ce travail montre la difficulté d'obtention d'un matériel végétal homogène se prêtant à des études comparatives. Nous l'attribuons à l'hétérogénéité génétique des graines déjà rencontrée lors de l'étude du Chanvre originaire d'Afrique du Sud³ c'est ce qui peut expliquer les différences de teneurs entre la marihuana mexicaine et les plantes cultivées en France. Seule, une analyse des plantes prises individuellement permet de mettre en évidence cette hétérogénéité.

Il s'ensuit qu'il faut être très prudent lors de l'interprétation des résultats relatifs à la physiologie et à l'analyse quantitative du Chanvre.

L'étude approfondie de l'influence des facteurs extrinsèques sur la chimie du *Cannabis* implique la sélection d'un matériel dont on aura établi au préalable les caractères d'homogénéité. C'est pour répondre à ces impératifs que nous expérimentons sur des clones dans des conditions phytotroniques.

8 F. Boucher, Mémoire du D. E. A. de Physiologie Végétale. Paris 1976.

9 C. E. Turner et C. Hadley, J. Pharm. Sci. 62, 251 (1973).