

【应用合集】 No. 23 | 使用SiliaSep Flash柱分离大麻素CBN和CBC

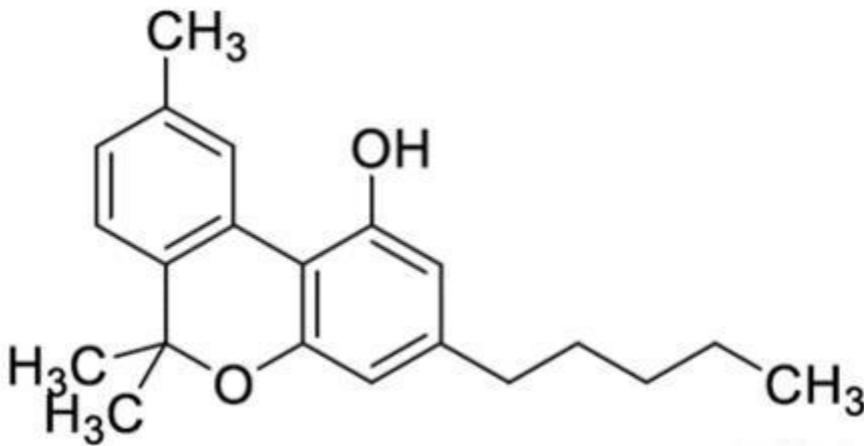
背景介绍

大麻酚(CBN)和大麻色原烯(CBC)是大麻植物中发现的众多大麻素中的两种。与大麻中被称为精神活性化学物质的四氢大麻酚(THC)不同，CBN和CBC是较为温和的药物，因为它们不具有精神兴奋活性。这一类的大麻素常被用于医用治疗。但为了食用的安全性，这些化合物必须经过严格的纯化过程分离出来。在过去的几年实验里，SiliCycle的SiliaSep Flash柱已经证明了在这方面分离的有效性。本应用案例将描述CBN和CBC的有效纯化方法。

CBN的分离

大麻酚(CBN)不存在于新鲜植物中，也不由它产生。它实际上是四氢大麻酚(THC)氧化的产物，其浓度随着暴露在光线和空气中的程度而增加。CBN也可以通过不同的化学合成和不同的原料生产。在本研究中，在甲苯(200 mL)中向CBD馏出物(10.30 g)中添加碘(量为2摩尔当量的CBD)。回流加热5.5 h，得到含17.4% CBN和5.8% Delta-8-THC的粗溶液。

图1: 大麻酚 (CBN) 的化学结构



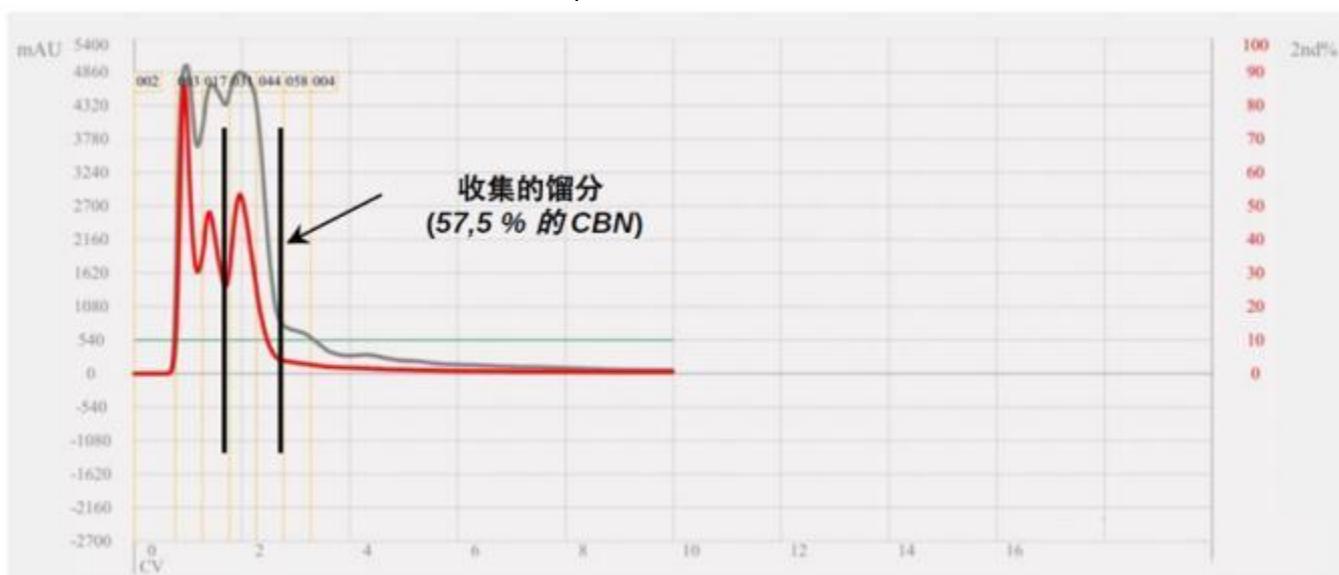
为了纯化粗产物，先使用SiliaSep纯硅胶Flash柱正相分离，再使用SiliaSep PREMIUM C18柱进行反相Flash色谱。色谱条件如表1和表2所示。

表1：第一步正相纯化的色谱条件

第一步正相纯化的色谱条件	
参数	数值
柱类型	SiliaSep Flash Cartridge, Silica, 330 g, 40 - 63 μm , 60 \AA
产品编号	FLH-R10030B-IS330
模式	等压法 含10%乙酸乙酯的己烷中 (10 CV)
流速	100 mL/min
检测	UV1: 254 nm UV2: 230 nm
上样	湿法上样, 2/1 (溶剂/粗溶液) 在含10%乙酸乙酯的己烷中

注：缩写CV=柱体积

图2：使用SiliaSep Silica Flash柱正相纯化步骤结果图



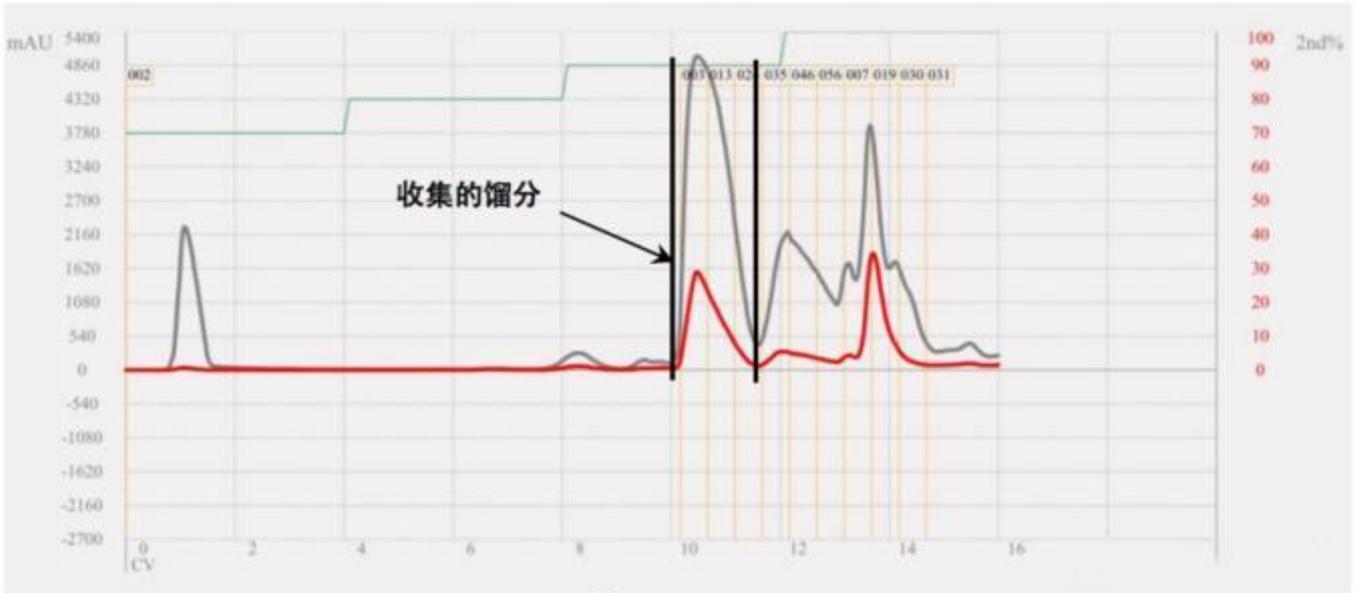
然后，将图2中确定的馏分重新分组，蒸发溶剂，得到含有57.5% CBN的2.76g产品。然后使用反相Flash色谱(第二纯化步骤)纯化该产品。

表2：第二步反相纯化的色谱条件

第二步反相纯化的色谱条件	
参数	数值
柱类型	SiliaSep PREMIUM Flash 柱 (球形), C18, 330 g, 25 μm , 90 \AA
产品编号	FLH-03295D-A-IS330
模式	梯度步骤 1- 含70% 甲醇的水溶液(4 CV) 2- 含80% 甲醇的水溶液(4 CV) 3- 含90% 甲醇的水溶液(4 CV) 4- 100% 甲醇溶液(4 CV)
流速	60 mL/min
检测	UV1: 254 nm UV2: 230 nm
进样	湿法上样, 2/1 (溶剂/粗溶液) 在DMSO中

注：缩写CV=柱体积

图3：使用SiliaSep PREMIUM C18色谱柱反相第二次纯化

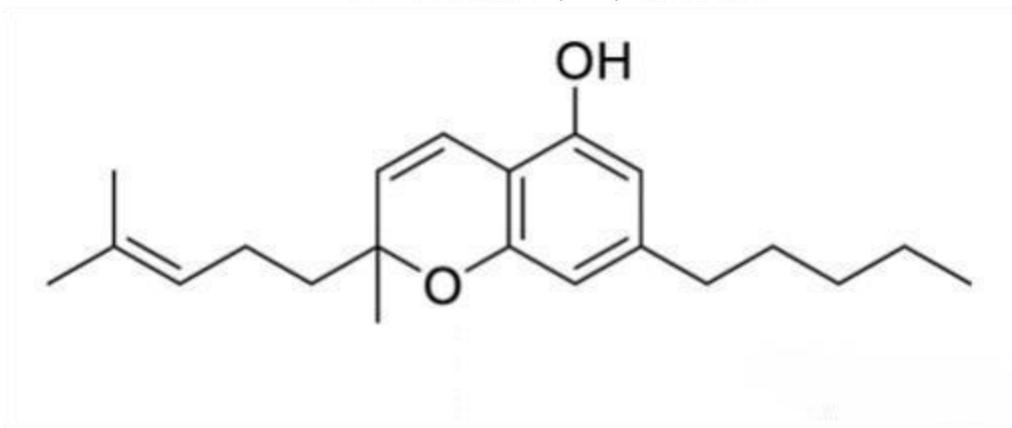


收集图3中确定的馏分并蒸发，得到1.30g的混合物。

CBC的分离

大麻色原烯（CBC）是存在于大麻植物中的四种主要大麻素之一。它是一种抗炎分子，有助于发挥大麻的止痛作用。

图4：大麻色原烯（CBC）的化学结构



纯化实验在粗乙醇提取物(4.56 g)上进行，该提取物使用己烷和水溶液(pH 11-12)进行液-液萃取，以减少酸形式的大麻素(特别是CBDA和THCA)的存在。提纯分两步进行。首先，使用SiliaSep Silica进行正相色谱，然后使用SiliaSep PREMIUM C18柱进行反相Flash色谱。色谱条件如表3和表4所示。

表3：第一次正相纯化步骤的色谱条件

第一步正相纯化的色谱条件	
参数	数值
柱类型	SiliaSep Flash Cartridge, Silica, 330 g, 40 - 63 μm , 60 \AA
产品编号	FLH-R10030B-IS330
模式	等压法
	含5% 乙酸乙酯的己烷溶液 (10 CV)
流速	80 mL/min
检测	UV1: 207 nm UV2: 231 nm
上样	湿法上样, 2/1 (溶剂/提取物)在含5% 乙酸乙酯的己烷溶液中

注：缩写CV = 柱体积

图5：使用SiliaSep Silica正相第一个纯化步骤

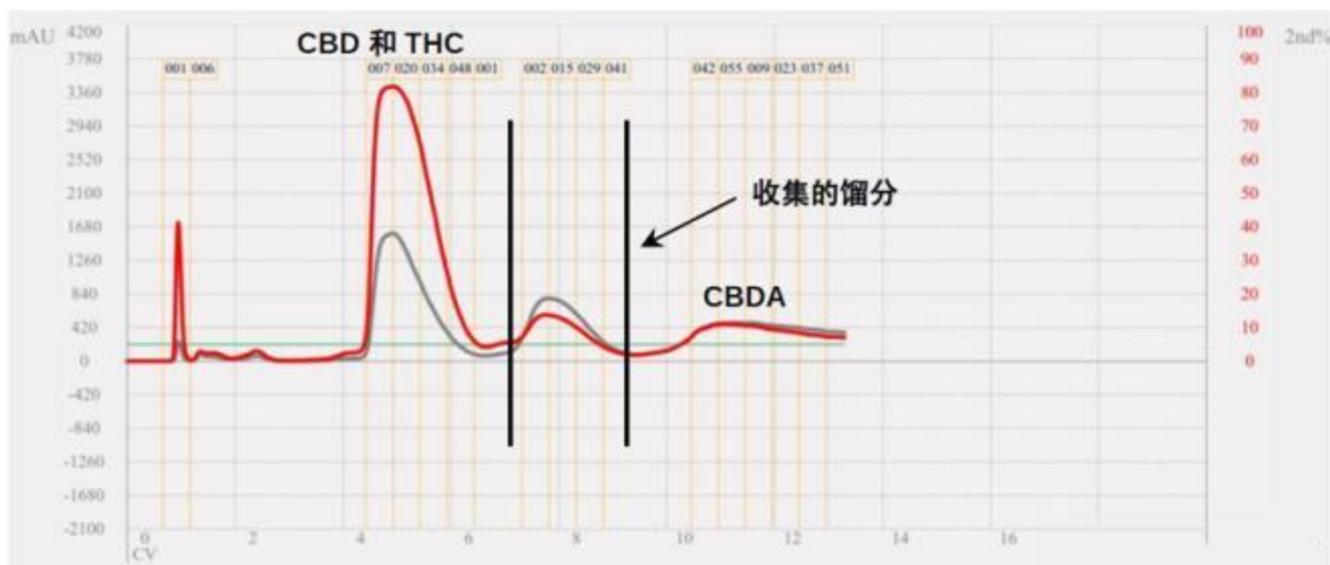


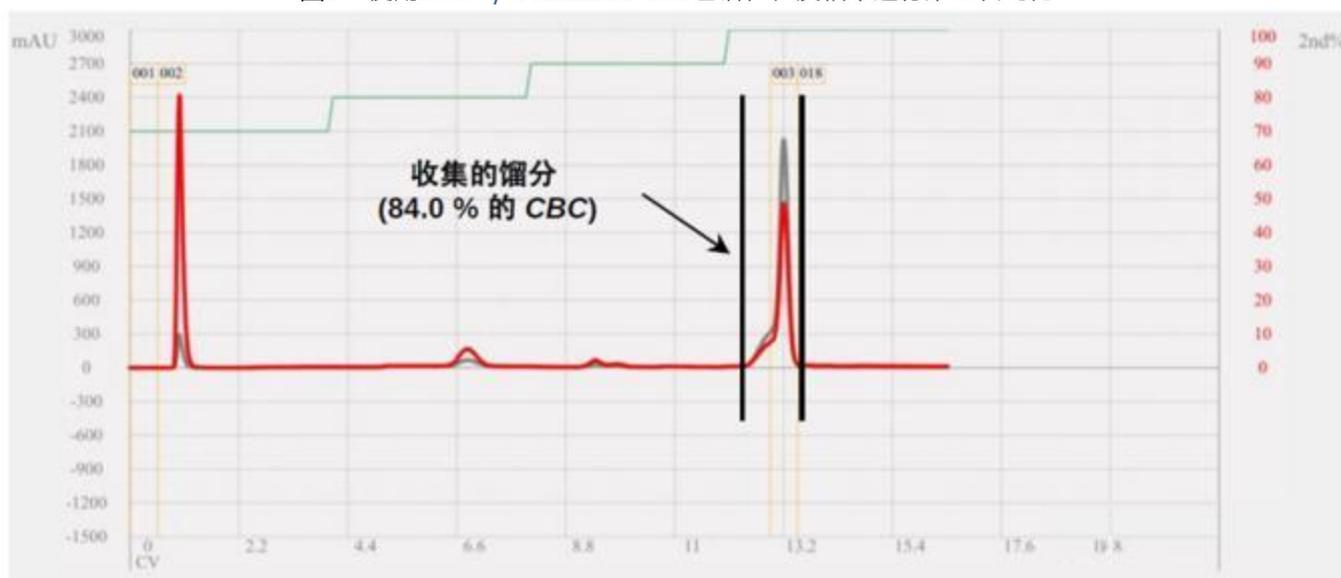
图5所示的馏分已重新整合，溶剂已蒸发。然后用反相Flash色谱法纯化0.25 g该提取物(第二步纯化步骤)。

表4: 第二步反相纯化的色谱条件

第二步反相纯化的色谱条件	
参数	数值
柱类型	SiliaSep PREMIUM Flash 柱 (球形), C18, 330 g, 25 μm, 90 Å
产品编号	FLH-03295D-A-IS330
模式	梯度步骤 1- 含70 % 甲醇的水溶液(4 CV) 2- 含80 % 甲醇的水溶液(4 CV) 3- 含90 % 甲醇的水溶液(4 CV) 4- 100 % 甲醇溶液(6 CV)
流速	60 mL/min
检测	UV1: 207 nm UV2: 231 nm
上样	湿法上样, 2/1 (溶剂/提取物)在DMSO中

注：缩写CV = 柱体积

图6: 使用SiliaSep PREMIUM C18色谱柱在反相中进行第二次纯化



收集图6中确定的馏分，得到0.11g含有84.0 %CBC的混合物。

总结

CBN和CBC通过正相Flash色谱和反相Flash被成功分离出来。SiliaSep Silica和SiliaSep PREMIUM C18色谱柱证明了它们在这方面纯化的效率。