

Les chimiotypes du chanvre (*Cannabis sativa* L.) Intérêt pour un programme de sélection

Gilbert Fournier

► **To cite this version:**

Gilbert Fournier. Les chimiotypes du chanvre (*Cannabis sativa* L.) Intérêt pour un programme de sélection. Agronomie, EDP Sciences, 1981, 1 (8), pp.679-688. <hal-00884310>

HAL Id: hal-00884310

<https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00884310>

Submitted on 1 Jan 1981

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Les chimiotypes du chanvre (*Cannabis sativa* L.)

Intérêt pour un programme de sélection

Gilbert FOURNIER

Université de Paris XI. Faculté de Pharmacie. U.E.R. de Chimie thérapeutique, Laboratoire de Pharmacognosie (Pr. M. Paris), rue J.-B.-Clément, F 92290 Châtenay-Malabry.

RÉSUMÉ

Cannabis,
Cannabinoides,
Monoécie,
Chimiotypes,
Sélection.

L'adaptation du chanvre (*Cannabis sativa* L.) à différents milieux s'est, entre autres, accompagnée de modifications de la composition chimique. Les cannabinoïdes, substances d'origine terpénique, sont spécifiques du chanvre ; les plus importants sont le Δ^9 tétrahydrocannabinol (Δ^9 THC), responsable de l'activité psychotrope, et le cannabidiol (CBD). Selon leurs teneurs en cannabinoïdes, 3 types chimiques s'individualisent nettement :

Type « drogue » (Δ^9 THC > 1 p. 100 et CBD = 0) ; climat chaud ; origine : Mexique et Afrique du Sud par exemple.

Type « drogue intermédiaire » (Δ^9 THC > 0,25 p. 100 et CBD > 0,5 p. 100) ; climat chaud ; origine méditerranéenne : Maroc, Liban.

Type « fibre » (Δ^9 THC < 0,25 p. 100 et CBD > 0,5 p. 100) ; climat tempéré ; origine : France, U.R.S.S., Hongrie, etc..., cultures industrielles.

De plus, dans le type « fibre » on distingue 2 chimiotypes (I et II) qui se différencient notamment l'un de l'autre par leur teneur en Δ^9 THC (I : Δ^9 THC > 0,1 p. 100 ; II : Δ^9 THC < 0,05 p. 100).

Cette distinction chimiotypique, se retrouvant quel que soit le stade du développement de la plante, a permis de définir des opérations de sélection dont le but est l'obtention de variétés à teneur en Δ^9 THC la plus faible possible.

SUMMARY

Cannabis,
Cannabinoids,
Monoecy,
Chemotypes,
Selection.

Chemotypes of hemp (Cannabis sativa L.). Interest in a selection program

Adaptation of hemp (*Cannabis sativa* L.) to various conditions was accompanied by changes in its chemical composition. According to their cannabinoid content (Δ^9 tetrahydrocannabinol : Δ^9 THC, responsible for psychotropic activity, and cannabidiol : CBD) three types are to be distinguished :

« Drug » type (Δ^9 THC > 1 p. 100 and CBD = 0) ; warm climate ; origin : Mexico and South Africa for example.

« Intermediate drug » type (Δ^9 THC > 0,25 p. 100 and CBD > 0,5 p. 100) ; warm climate ; Mediterranean origin : Morocco, Lebanon.

« Fiber » type (Δ^9 THC < 0,25 p. 100 and CBD > 0,5 p. 100). Temperate climate ; origin : France, U.S.S.R., Hungary... Industrial cultivations.

Moreover two chemotypes (I and II) are to be distinguished in the « Fiber » type, differing especially on Δ^9 THC content (I : Δ^9 THC > 0,1 p. 100 ; II : Δ^9 THC < 0,05 p. 100).

Those typical chemotypes being observed whatever the age of the plant may be, they allow a program aiming the selection of varieties of the lowest Δ^9 THC content.

I. INTRODUCTION

Le chanvre, originaire d'Asie centrale (DE CANDOLLE, 1883), est l'une des plantes les plus anciennement connues. Il semble que la propagation de cette plante se soit faite, à partir de la région aralo-caspicienne, d'une part vers le sud, vers l'Inde notamment, et d'autre part vers l'est : pourtour de la Méditerranée puis Afrique et, de là, le continent américain.

La répartition géographique de cette plante est donc très large, le chanvre s'étant adapté à tous les milieux. Cette plasticité s'accompagne de variations dans le port général de

la plante ainsi que de modifications dans la composition chimique et dans l'activité pharmacologique. Cette notion d'adaptation écologique aboutit, aujourd'hui, à une grande diversification de l'espèce.

Il y a des millénaires que les fibres corticales de la tige et les graines oléagineuses sont utilisées. Les propriétés inébranlables de la résine ont également été recherchées depuis des temps immémoriaux.

Outre la notion d'adaptation écologique, il faut aussi mentionner la pression de sélection exercée à travers les âges par l'Homme pour améliorer les chanvres textiles (qui ont des teneurs en résine plus faibles) ou pour accroître,

dans certains cas, la teneur en résine, ce qui a été réalisé notamment au Moyen-Orient.

Le constituant responsable de l'activité inébrante est le tétrahydrocannabinol (THC). Celui-ci est présent en forte proportion dans le chanvre drogue mais ne se trouve qu'à l'état de traces dans le chanvre à fibres.

« Chacun s'accorde à admettre que le THC est une substance toxique et que la quantité de THC contenue dans le chanvre constitue la seule indication objective de son potentiel toxique et nocif... Aussi longtemps que l'on ne donnera pas une définition claire et nette du chanvre en termes de sa teneur en THC, toute étude sur la marijuana deviendra le signal d'un malentendu, ou, plus simplement un rapport ambigu » (NAHAS, 1976).

Nos ancêtres avaient, d'ailleurs, bien conscience de ces problèmes et, en particulier, de l'innocuité de ce qu'ils cultivaient puisqu'il y a eu jusqu'à 200 000 ha emblavés en chanvre au siècle dernier en France. Notre géographie en est d'ailleurs fortement empreinte : Cannebière, Chennevières, etc... Certes, les cordages de chanvre ne s'utilisent plus aujourd'hui ; les draps, les toiles inusables et les voiles si solides de jadis ne peuvent plus concurrencer les tissus synthétiques. Seule désormais, une branche de l'industrie papetière utilise les fibres de la tige dans la fabrication de papiers fins et résistants. Les exigences économiques sont responsables du déclin de la production qui ne représente plus que le vingtième de ce qu'elle était au siècle dernier.

Quoi qu'il en soit, la culture se fait encore aujourd'hui sur environ 10 000 ha. Or, depuis quelques années, périodiquement vers la fin de l'été, certains agriculteurs sont l'objet de poursuites judiciaires. Pourquoi ? Le chanvre cultivé industriellement en France en 1981 est-il différent de celui de 1900 ? Ou bien tout ceci est-il dû à de regrettables confusions ?

Il y a une trentaine d'années, PARIS & DU MERAC (1949), à la suite de travaux de GRIFFON *et al.* (1947), avaient étudié la teneur en résine et l'activité physiologique du chanvre cultivé dans la région parisienne. Ils en étaient arrivés à la conclusion que les chanvres indigènes étaient doués de propriétés stupéfiantes non négligeables. Plus récemment, CHAMBERON *et al.* (1972), après une étude du chanvre cultivé dans l'Isère, ont affirmé que celui-ci ne pouvait donner lieu à aucune toxicomanie.

Certes, ces conclusions semblent opposées, mais les analyses ont-elles été effectuées sur des échantillons comparables (même origine, même variété) ? Si oui, on pourrait imaginer que l'influence du milieu a pu jouer. Sinon, le facteur génétique est primordial.

Afin de clarifier ces problèmes, nous avons entrepris une étude du chanvre à fibres, *Cannabis sativa* L., cultivé industriellement en France (1).

II. GÉNÉRALITÉS

A. Caractéristiques botaniques et pratiques culturales

Le chanvre, *Cannabis sativa* L., est une Dicotylédone Apétale de l'ordre des Urticales ou Urticinées, famille des Cannabinacées ou Cannabinées. C'est une plante herbacée annuelle qui peut atteindre 5 m de haut.

Le chanvre commun est dioïque. Les pieds mâles sont grêles et élancés. Ils se dessèchent rapidement après la

pollinisation. Les pieds femelles sont en général plus ramifiés. Ce n'est toutefois que lors de la formation des inflorescences que l'on peut déterminer le sexe de la plante.

Aujourd'hui les cultures industrielles françaises ne sont établies qu'à partir de variétés monoïques. Sur la base d'une densité de 250 à 300 plantes au m², les tiges ont une longueur moyenne de 2 m et leur développement foliaire est réduit. Ces chanvres monoïques ont le port de plantes femelles ; ils présentent des fleurs mâles positionnées vers le milieu et le bas de l'inflorescence, tandis que les fleurs femelles sont très nettement prédominantes (90 à 95 p. 100). Il convient de souligner que les variétés monoïques offrent deux avantages agronomiques importants :

— production de graines sur toutes les tiges et presque autant que sur des pieds femelles dioïques ;

— toutes les plantes parviennent à maturité en même temps, ce qui est un avantage pour la récolte mécanique et pour l'homogénéité du matériau récolté.

Géographiquement la culture du chanvre est aujourd'hui limitée à une vingtaine de départements situés dans l'ouest, le centre et l'est de la France.

Jusqu'en 1967, la récolte s'est faite uniquement à maturité complète des graines (10-20 septembre). C'était un risque, principalement en année humide. Cette « culture battue » permet l'obtention des fibres et des graines ou chènevis.

Un deuxième type d'exploitation existe depuis 1967 ; il consiste à faucher fin floraison (20-30 août) ; huit jours après, on peut presser les tiges afin de confectionner des balles. A cette date, en effet, la plante atteint son maximum de développement et a fabriqué la quasi-totalité de sa matière sèche. C'est la culture en « non battue ». On n'obtient alors que les tiges et les fibres.

B. Législation

Jadis, en France, les problèmes législatifs se rapportaient beaucoup plus au rouissage qu'à la culture proprement dite du chanvre.

Aujourd'hui, la législation ne concerne plus que l'action stupéfiante et le côté illicite qui s'y rattache.

Le chanvre indien, stupéfiant placé sous contrôle international, fait aujourd'hui l'objet d'une mesure de prohibition générale depuis l'intervention du décret n° 53-241 du 27 mars 1953, repris aux articles R 5.166 et R 5.229 du Code de la Santé publique. Dans ces textes, la définition du chanvre se réfère uniquement aux sommités florifères et fructifères femelles du chanvre dit indien, particulièrement riche en résine.

Mais actuellement aucune définition précise et officielle ne permet de caractériser cette plante. La distinction d'un chanvre nocif ne peut être faite que par l'évaluation de sa teneur en Δ^9 THC, substance qui est présente aussi bien chez les pieds mâles que chez les pieds femelles.

Le manque de précision d'une part, la restriction d'autre part, des textes officiels introduisent donc souvent une confusion au niveau de la notion de chanvre indien.

Les articles précédents ont été complétés par l'arrêté du 25 novembre 1974 paru au Journal Officiel du 27 décembre 1974 : « Sont inscrits à la section II du tableau B des substances vénéneuses les produits suivants : tétrahydrocannabinols, leurs esters, éthers, sels ainsi que les sels des dérivés précités. »

Mais le chanvre sert également à des usages industriels et alimentaires en raison de la présence de fibres dans la tige et d'huile dans la graine. Ces utilisations, comme nous l'avons déjà évoqué, font appel à des plants riches en fibres et en huile et très pauvres en tétrahydrocannabinols.

(1) Ce travail constitue l'article principal d'une thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie soutenue à l'UER des Sciences pharmaceutiques de Châtenay-Malabry, le 1^{er} juin 1979.

Toutes ces considérations ont fait apparaître la nécessité de modifier les dispositions réglementaires existantes. L'harmonisation de notre législation avec celle de nos partenaires des Communautés économiques européennes, concernant la réglementation des substances vénéneuses est actuellement en cours.

Un autre aspect législatif concerne la protection réglementaire du mot « chanvre » en tant que plante textile ; en France, cette protection est assurée par un décret en date du 14 mars 1973, qui met en application les dispositions d'une directive des Communautés économiques européennes (Directive C.E.E. du 26 juillet 1971).

C. Emplois actuels du chanvre à fibres

1. Utilisation des fibres

8 à 10 000 ha produisent 50 000 à 70 000 t de tiges qui constituent une partie de la matière première destinée à la fabrication des papiers fins. Cette matière première est complétée par des chanvres défibrés importés des pays de l'Est, des étoupes de lin et aussi des bois de résineux.

Les papiers fabriqués à base de chanvre sont de qualité exceptionnelle, très résistants et très fins : c'est le cas du papier « bible », du « papier pour infusettes » et surtout du papier à cigarettes qui utilise à lui seul près de 95 p. 100 de la production nationale de chanvre (FOURNIER *et al.*, 1976). Le chanvre, comme le lin, présente l'avantage de ne pas donner de goût au papier à cigarettes et lui confère une très grande porosité. On peut évaluer à environ 12 000 t la quantité de fibres de chanvre entrant dans la composition de la pâte destinée à la production de papier à cigarettes ; 85 à 90 p. 100 de cette production nationale est exportée.

2. Utilisation des graines

Le chènevis peut fournir une huile siccative intéressante, mais il entre le plus souvent dans la composition de mélanges destinés à la nourriture des petits animaux de cage

et sert également comme appâts pour la pêche. La production de semences certifiées résulte de cultures spécifiquement établies à cet effet.

D. Composition chimique et aspect pharmacologique

Chez le chanvre, un grand nombre de catégories de constituants chimiques sont représentées : oses, itols, lipides, flavonoïdes, terpènes, hydrocarbures, phénols non cannabinoïdiques, alcaloïdes et autres molécules azotées... mais aussi les cannabinoïdes qui forment un groupe spécifique. Tout ceci traduit la *complexité* de la chimie du chanvre. De plus, à l'intérieur de la plupart des catégories chimiques, on observe une très grande *variabilité* dans la teneur des différents constituants, ce qui nous a conduit à ne réaliser que des *études pied par pied*.

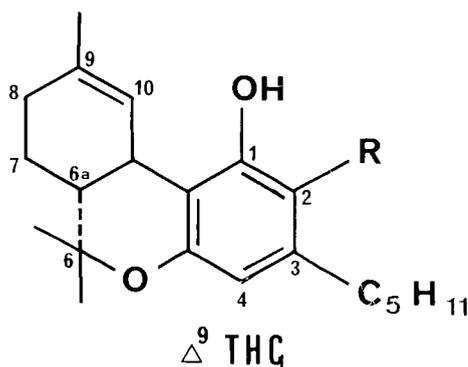
L'originalité du chanvre réside dans la présence des cannabinoïdes, constituants à 21 atomes de carbone auxquels on rattache leurs acides carboxyliques, leurs analogues et leurs produits de transformation (MECHOULAM, 1973). Parmi eux, le Δ^9 ou Δ^1 tétrahydrocannabinol (Δ^9 ou Δ^1 THC) est le principal responsable de l'activité psychotrope ; le cannabidiol (CBD) n'a pas d'effet psychodysléptique. Dans la plante fraîche, les cannabinoïdes sont présents sous forme acide (R = COOH) ; au cours de la conservation il se produit une décarboxylation (R = H).

Deux articles récents de mise au point concernent l'un, les constituants chimiques du *Cannabis* (TURNER *et al.*, 1980) et l'autre, l'activité biologique des tétrahydrocannabinols (KETTENES-VAN DEN BOSCH *et al.*, 1980).

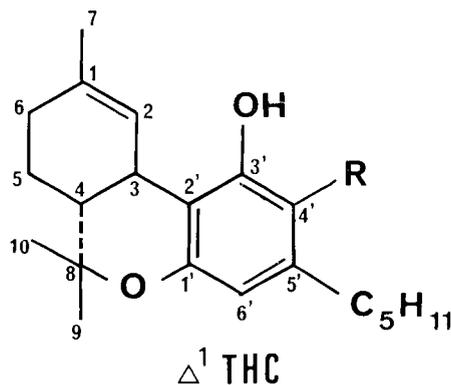
III. PARTIE EXPÉRIMENTALE

A. Etude des cannabinoïdes de divers types de chanvre

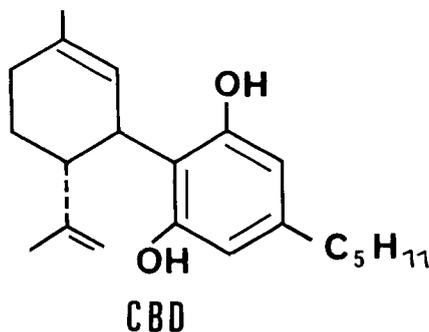
L'étude a pour but de comparer le contenu cannabinoïdique du chanvre à fibres cultivé industriellement en France, à celui de chanvres de différentes origines.



(GAONI et MECHOULAM, 1964)



(MECHOULAM, 1970)



(ADAMS *et al.*, 1940 — JACOB et TODD, 1940)

1. Matériel végétal

Les types étudiés sont des chanvres :

- dioïques spontanés au Mexique ou au Liban,
- monoïques cultivés en France.

Les graines sont semées en plein champ entre le 1^{er} et le 15 mai dans le département de la Sarthe : culture en lignes (3 pieds/m²).

Les récoltes sont effectuées début septembre ; cette époque coïncide avec le stade floraison-début fructification des chanvres monoïques. Pour les chanvres originaires du Mexique ou du Liban, la floraison débute seulement à cette date. Il convient d'ailleurs de préciser que, *sous nos climats*,

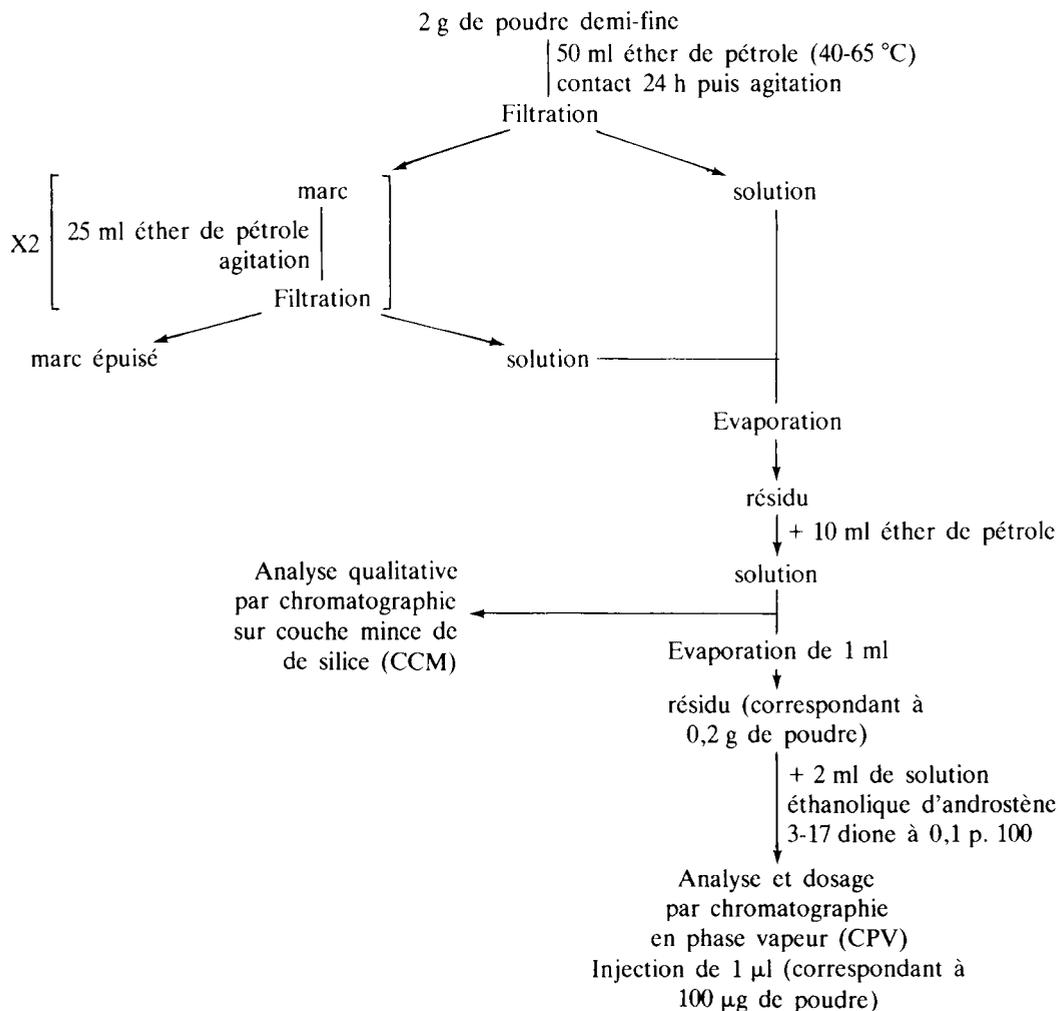
les graines du chanvre originaire du Mexique ne parviennent pas à maturité. Il en est d'ailleurs de même pour tous les chanvres provenant de régions à climat chaud.

2. Méthodes expérimentales

L'analyse des cannabinoïdes est réalisée pied par pied sur un échantillon représentatif des différents types de chanvre.

La technique mise en œuvre est celle décrite par PARIS (1971) et consiste en une extraction à l'éther de pétrole sur le tiers supérieur de la plante amputée de la tige et des graines.

Les principales étapes de la préparation d'un extrait sont les suivantes :



Le dosage proprement dit est donc réalisé par chromatographie en phase vapeur (CPV) selon la technique du témoin interne (androstène 3-17 dione). On se reporte à une gamme d'étalonnage réalisée avec des solutions titrées de Δ^9 THC ou de CBD.

Appareillage

Chromatographe Girdel modèle 30, muni d'un détecteur à ionisation de flamme. Colonne de verre 2,5 m de long ; 1/8 de pouce (3,2 mm) de diamètre remplie de Varaport 80-100 Mesh imprégné à 3 p. 100 de OV 17.

Conditions opératoires :

Température du four : 240 °C.

Débit d'azote : 25 ml/mn.

Volume injecté : 1 µl.

Les temps de rétention sont calculés par rapport au CBD.

Dans les conditions de l'analyse, une décarboxylation des cannabinoïdes acides se fait extemporanément dans l'injecteur du chromatographe. Le dosage ne porte donc que sur l'évaluation des cannabinoïdes neutres.

3. Résultats

Ils sont exprimés en grammes de Δ^9 THC ou de CBD pour 100 g de matière sèche analysée.

Le tableau 1 rassemble les résultats moyens des dosages des cannabinoïdes (Δ^9 THC et CBD) de chanvres de diverses origines.

4. Discussion

Les teneurs en cannabinoïdes de chanvres originaires du Mexique, du Liban ou de France sont comparables à celles obtenues par FAIRBAIRN & LIEBMANN (1974), à partir de chanvres cultivés en Angleterre, et par HEMPHILL *et al.* (1980) à partir de chanvres cultivés aux Etats-Unis.

TABLEAU 1

Teneurs en cannabinoïdes (Δ^9 THC et CBD) de chanvres de diverses origines
Cannabinoid contents (Δ^9 THC and CBD) of hemp plants from different geographical origins

Origine géographique	Nombre de pieds analysés et sexe	p. 100 THC m \pm s (*)	p. 100 CBD m \pm s (*)
Mexique	12 ♂	0,91 \pm 0,35	0
	18 ♀	1,52 \pm 0,48	0
Liban	10 ♂	0,28 \pm 0,32	0,76 \pm 0,31
	10 ♀	0,40 \pm 0,53	0,69 \pm 0,32
France	50 monoïques à caractère ♀	0,14 \pm 0,16	0,79 \pm 0,31

(*) m \pm s = moyenne \pm écart-type.

La comparaison des résultats obtenus pour les pieds ♀ ou à caractère ♀ permet de distinguer 3 types de chanvres nettement différents les uns des autres :

— Type « *drogue* », à forte teneur en Δ^9 THC et sans CBD. Cette composition chimique est caractéristique du chanvre poussant en climat chaud : Mexique par exemple. De la même façon, on note l'absence de CBD dans le chanvre d'Afrique du Sud et la présence, en forte proportion, de Δ^9 THC et de Δ^9 THC-C₃ (homologue du Δ^9 THC, à chaîne latérale propylique, également doué de propriétés stupéfiantes) (BRAUT-BOUCHER, 1980).

— Type « *drogue intermédiaire* », où la teneur en Δ^9 THC est assez élevée avec, en plus, une forte proportion de CBD. On trouve ce profil cannabinoïdique chez des chanvres poussant également en climat chaud : régions méditerranéennes (Liban ou Maroc par exemple).

— Type « *fibres* », avec une faible teneur en Δ^9 THC et une teneur en CBD comparable à celle des chanvres du Liban. C'est le cas des chanvres des pays « tempérés » (France, Hongrie, URSS...) où on les cultive industriellement pour les fibres de leur tige.

Pour chacun des types qui ont été définis, la distinction est donc essentiellement fondée sur une adaptation aux

TABLEAU 2

Teneurs en cannabinoïdes (Δ^9 THC et CBD) du chanvre monoïque à fibres cultivé en France. Distinction des chimiotypes I et II
Cannabinoid contents (Δ^9 THC and CBD) of monoecious hemp cultivated in France.
Distinction between chemotypes I and II

Chimiotype	Nombre de pieds	Δ^9 THC m \pm s(*) (p. 100)	CBD m \pm s(*) (p. 100)	THC/CBD m \pm s(*)
I	11	0,38 \pm 0,10	0,59 \pm 0,23	0,71 \pm 0,28
II	39	0,04 \pm 0,03	0,87 \pm 0,35	0,05 \pm 0,02

(*) m \pm s = moyenne \pm écart-type.

conditions écologiques. Mais de plus, au cours des siècles, parallèlement à ce processus d'adaptation, l'Homme a sélectionné des variétés riches en résine ou bien a tenté d'augmenter les rendements et d'améliorer la qualité des fibres du chanvre textile. Toutefois, dans le chanvre monoïque à fibres cultivé en France, on distingue 2 populations morphologiquement semblables mais chimiquement très différentes, d'où la notion de chimiotypes (tabl. 2).

Cette distinction permet d'ailleurs de donner une explication à la valeur moyenne et à celle particulièrement élevée de l'écart-type qui figurent sur le tableau 1 pour les teneurs en Δ^9 THC du chanvre monoïque.

Ces résultats sont à rapprocher de ceux obtenus par SMALL (1979) qui étudia le contenu cannabinoïdique d'une population de chanvre dioïque cultivé au Canada. Cet auteur a défini 3 phénotypes en fonction des teneurs en Δ^9 THC et en CBD.

Phénotypes	% Δ^9 THC	% CBD
I	> 0,3	< 0,5
II	> 0,3	> 0,5
III	< 0,3	

Les chimiotypes I et II, tels que nous les avons décrits, correspondent donc respectivement aux phénotypes II et III décrits par SMALL (1979). En moyenne, on trouve une teneur 10 fois plus élevée en Δ^9 THC chez les pieds correspondant au chimiotype I que chez ceux correspondant au chimiotype II. La valeur du rapport $\alpha = \Delta^9$ THC/CBD pour les chimiotypes I (0,71) et II (0,05) traduit encore mieux la différence chimique de ces 2 populations.

5. Conclusions

De cette étude des cannabinoïdes des chanvres de différentes origines, il ressort les faits suivants :

- teneur élevée en Δ^9 THC et absence de CBD dans le chanvre poussant en climat chaud (Mexique par exemple),
- teneur importante en Δ^9 THC des chanvres mâles originaires des pays à climat chaud (Mexique, Liban, etc...), ce qui révèle bien l'aspect trop restrictif des textes législatifs qui ne se réfèrent qu'aux sommités femelles,
- teneur moyenne faible en Δ^9 THC pour les chanvres monoïques français (climat tempéré) et plus particulièrement pour les chanvres appartenant au chimiotype II (Δ^9 THC = 0,04 p. 100).

Ces premiers résultats nous ont conduits à l'étude d'un beaucoup plus grand nombre de pieds de chanvres monoïques à fibres afin de pouvoir interpréter les résultats de manière statistique.

B. Etude des cannabinoïdes des chanvres monoïques

1. Matériel végétal

Cinq variétés de chanvres monoïques à fibres sont sélectionnées en France : « Fédora 19 » (F 19), « Fibrimon 24 » (F 24), « Féline 34 » (F 34), « Fibrimon 56 » (F 56), « Fédrina 74 » (F 74).

Ces 5 variétés se distinguent notamment les unes des autres par leur précocité (FOURNIER *et al.*, 1976).

Elles sont semées en plein champ au début du mois de mai, dans le département de la Sarthe, à raison de 250 pieds/m². Fin floraison-début fructification, 40 pieds sont prélevés dans chaque variété. Cette étude porte donc sur l'analyse de 200 pieds.

TABLEAU 3

Teneurs en cannabinoïdes (Δ^9 THC et CBD) des 5 variétés de chanvre monoïque à fibres. Chimiotypes I et II
Cannabinoid contents (Δ^9 THC and CBD) of 5 monoecious hemp varieties. Chemotypes I and II

Cannabinoïdes	Variété	Chimiotype I			Chimiotype II		
		n (*)	m (*)	s (*)	n (*)	m (*)	s (*)
Δ^9 THC	F 19	6	0,29	0,07	34	0,03	0,01
	F 24	7	0,34	0,16	33	0,02	0,01
	F 34	8	0,41	0,20	32	0,03	0,01
	F 56	10	0,29	0,11	30	0,03	0,01
	F 74	7	0,40	0,12	33	0,03	0,01
	Total		38	0,34	0,14	162	0,03
CBD	F 19	6	0,46	0,13	34	0,77	0,35
	F 24	7	0,41	0,20	33	0,66	0,23
	F 34	8	0,81	0,26	32	1,03	0,32
	F 56	10	0,69	0,20	30	0,86	0,29
	F 74	7	0,71	0,21	33	0,97	0,34
	Total		38	0,57	0,18	162	0,86

(*) n = nombre de pieds.
m = moyenne.
s = écart-type.

2. Résultats

Le tableau 3 rassemble les résultats moyens des dosages des cannabinoïdes (Δ^9 THC et CBD) des 5 variétés pour les chimiotypes I et II.

3. Discussion

Pour chaque variété, on reporte les teneurs en cannabinoïdes sur un graphique : Δ^9 THC = f (CBD) (fig. 1) ; on distingue, dans chaque cas, 2 ensembles de points qui se différencient nettement l'un de l'autre par leur teneur en Δ^9 THC qui est environ 10 fois moins élevée pour le chimiotype II que pour le chimiotype I. Les groupements

des points sur les différents graphiques permettent de penser qu'il existe entre les cannabinoïdes une relation linéaire du type :

$$\Delta^9 \text{ THC} = a(\text{CBD}) + b$$

où a est la pente de la droite (tabl. 4).

Le calcul des coefficients de corrélation (r) permet d'estimer la façon dont les points sont groupés de part et d'autre des droites de régression.

En appliquant le test t au coefficient de corrélation r ($t = r/\sqrt{1 - r^2} \sqrt{n - 2}$), on constate que, dans la majorité des cas, les liaisons sont positives et hautement significatives avec un risque inférieur à 1 p. 100.

TABLEAU 4

Relations entre les cannabinoïdes des 5 variétés de chanvre monoïque
Relationships between cannabinoids present in the 5 hemp varieties

Variété	Chimiotype	Nombre de pieds	Δ^9 THC = a(CBD) + b		Coefficient de corrélation r	Test t (*)
			a	b		
F 19	I	6	0,27	+ 0,17	0,30	0,6 (-)
	II	34	0,03	0	0,96	19,4 (+)
F 24	I	7	0,80	+ 0,01	0,99	15,7 (+)
	II	33	0,03	0	0,94	15,3 (+)
F 34	I	8	0,72	- 0,17	0,93	6,2 (+)
	II	32	0,03	0	0,76	6,4 (+)
F 56	I	10	0,50	- 0,05	0,71	2,8 (+)
	II	30	0,03	0	0,71	5,3 (+)
F 74	I	7	0,34	+ 0,15	0,35	0,8 (-)
	II	33	0,03	0	0,93	14,1 (+)

(*) (+) : liaison hautement significative.
(-) : liaison non significative.

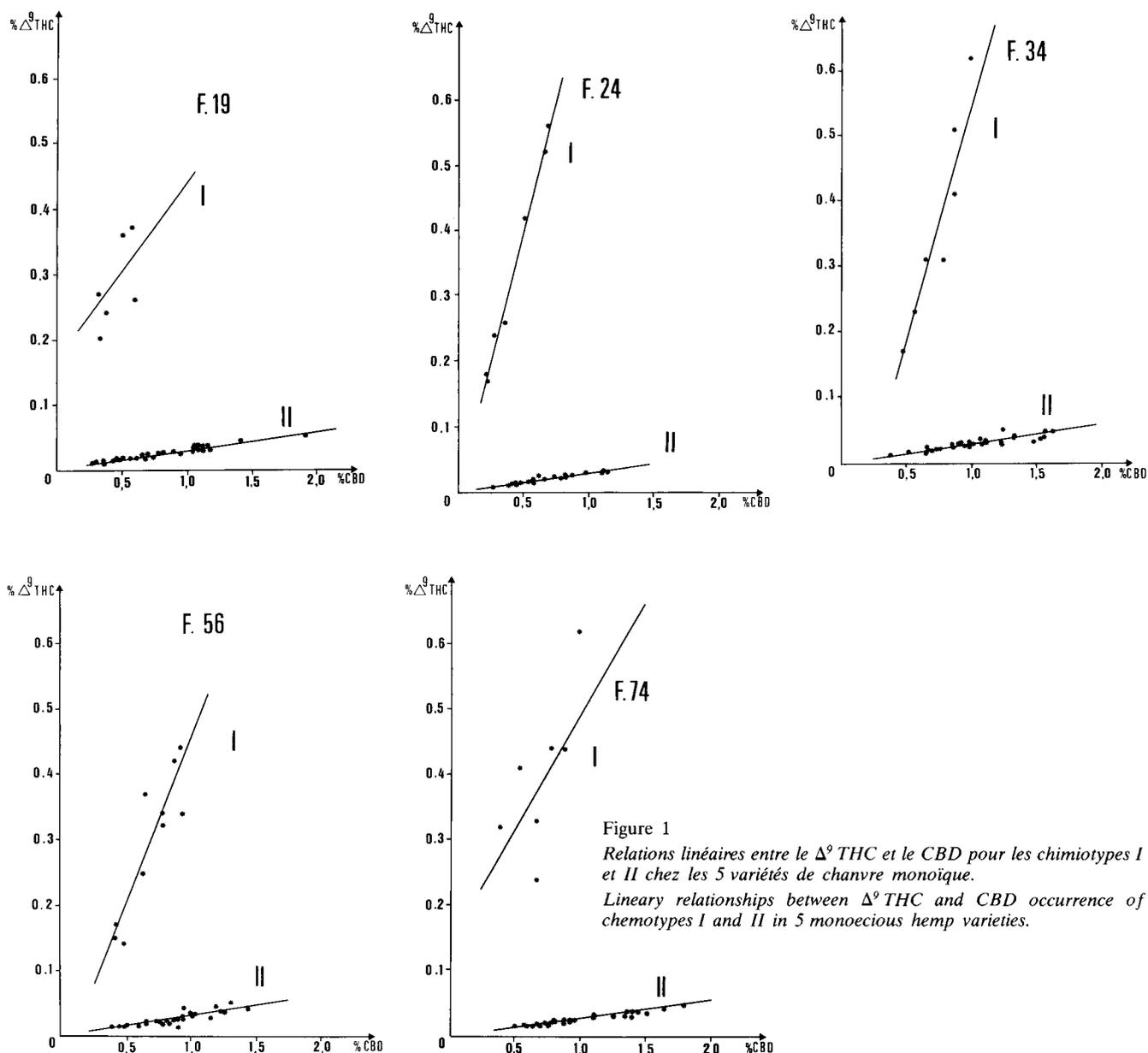


Figure 1
 Relations linéaires entre le Δ^9 THC et le CBD pour les chimiotypes I et II chez les 5 variétés de chanvre monoïque.
 Lineary relationships between Δ^9 THC and CBD occurrence of chemotypes I and II in 5 monoecious hemp varieties.

4. Conclusion

Cette étude approfondie des cannabinoïdes du chanvre monoïque à fibres a permis :

— De confirmer l'existence de 2 chimiotypes (I et II). Dans une population, la fréquence du chimiotype I varie de 15 à 25 p. 100 et, quelle que soit la variété, la teneur moyenne en Δ^9 THC de ce chimiotype est 10 fois plus élevée que celle du chimiotype II. Il faudra donc rester prudent dans l'interprétation d'analyses effectuées sur des échantillons moyens dits « représentatifs » d'une population car, selon la proportion respective de pieds correspondant aux 2 chimiotypes, les teneurs en Δ^9 THC peuvent être très variables.

— De constater l'existence de relations linéaires hautement significatives entre les principaux cannabinoïdes :

$$\Delta^9 \text{ THC} = a (\text{CBD}) + b.$$

Afin de compléter ce travail, il a été entrepris l'étude des cannabinoïdes en fonction de la croissance de la plante, quel que soit le chimiotype auquel elle appartient.

C. Etude des cannabinoïdes en fonction du stade végétatif de la plante

1. Matériel végétal

Dix prélèvements successifs sont effectués, à partir de juillet sur 30 pieds de la variété « Fibrimon 56 » cultivée en ligne (3 pieds/m²). Sur chaque pied on prélève, à un même point d'insertion, 5 feuilles, les 3, 10, 17, 24, 31 juillet ; 7, 14, 21, 28 août et 4 septembre. Ceci correspond aux principaux stades végétatifs suivants :

31 juillet	début floraison
7 août	floraison
14 août	pleine floraison
21 août	fin floraison
28 août	début fructification

2. Résultats

Les variations des teneurs en cannabinoïdes au cours du développement de la plante sont reportées sur la figure 2.

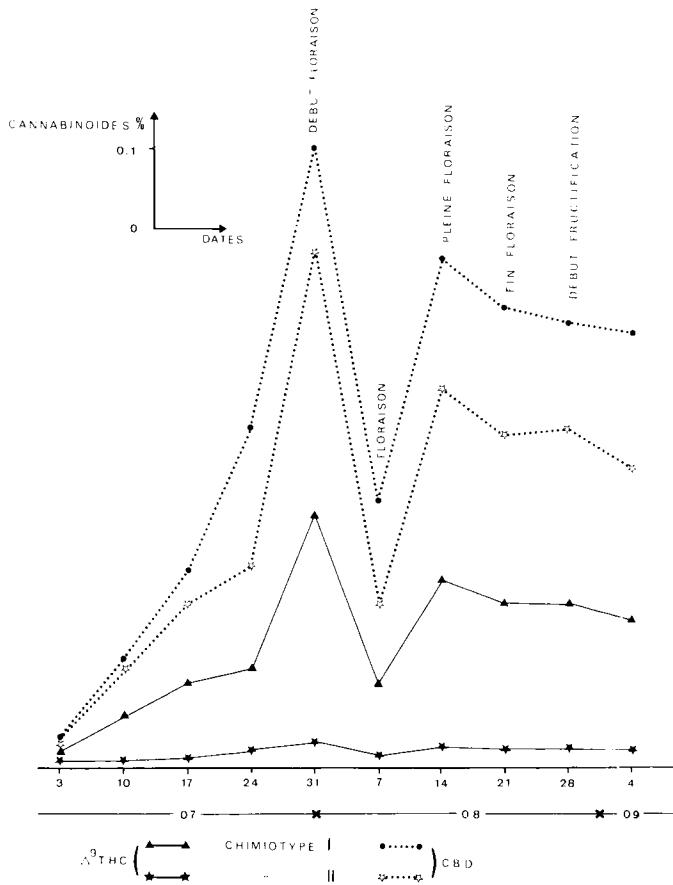


Figure 2
Variations des teneurs en cannabinoïdes au cours du développement du chanvre à fibres.
Variation of cannabinoid contents during ontogenesis of hemp.

3. Discussion

Quel que soit le chimiotype, les teneurs moyennes en cannabinoïdes passent par un maximum au début de la floraison (31 juillet). Puis, en une semaine, les teneurs chutent de 60 p. 100 pour remonter quelques jours plus tard de 50 p. 100.

Les courbes des variations des teneurs moyennes en Δ^9 THC et en CBD, pour les chimiotypes I et II, suivent des tracés sensiblement parallèles.

Après la pleine floraison, les teneurs moyennes en cannabinoïdes se stabilisent aux 2/3 de la valeur du maximum enregistré au début de la floraison.

Pour chacun des 30 pieds, quel que soit le chimiotype, la relation : Δ^9 THC = a (CBD) + b, établie avec les valeurs des cannabinoïdes des 10 prélèvements, est hautement significative (avec un risque inférieur à 1 p. 100).

Ces résultats prouvent que les teneurs en Δ^9 THC et en CBD varient, en fonction du développement de la plante, sur cette droite de régression linéaire et de façon parallèle.

Les calculs des droites de régression linéaire donnent pour le :

— Chimiotype I :

$$\begin{aligned}\Delta^9 \text{ THC} &= 0,48 (\text{CBD}). \\ r &= 0,99. \\ t &= 14,04.\end{aligned}$$

— Chimiotype II :

$$\begin{aligned}\Delta^9 \text{ THC} &= 0,04 (\text{CBD}). \\ r &= 0,99. \\ t &= 32,25.\end{aligned}$$

4. Conclusion

La distinction des chimiotypes est donc réalisable dès le début de la végétation. En effet, pour des teneurs en CBD voisines, les teneurs en Δ^9 THC sont très différentes dès les premiers prélèvements. Le classement en chimiotypes I ou II peut donc se faire avec certitude au début du mois de juillet (FOURNIER & PARIS, 1980).

Contrairement aux résultats obtenus par TURNER *et al.* (1979), il ne semble donc pas que le chimiotype d'un pied de chanvre puisse changer au cours de sa végétation. De plus, les travaux de RASMUSSEN & HERWEIJER (1975) ont permis de mettre en évidence des cannabinoïdes dans les feuilles cotylédonaire, donc peu après la germination.

Les résultats auxquels nous sommes parvenus sont à rapprocher des travaux de LATTA & EATON (1975) et de GORSHKOVA & LEBEDEV (1971).

Les premiers, étudiant les variations des teneurs des principaux cannabinoïdes en fonction de la croissance des chanvres cultivés aux Etats-Unis, enregistrèrent 2 maxima dans les teneurs en Δ^9 THC, lors du début de la floraison et après la pleine floraison, ainsi qu'un maximum pour les teneurs en CBD une semaine avant la floraison. Les seconds, s'intéressant aux caractéristiques physiologiques et biochimiques des chanvres dioïque et monoïque cultivés en Union soviétique, montrèrent que la biosynthèse des acides nucléiques est très intense jusqu'à la floraison, chute brutalement et augmente de nouveau juste avant la formation des fruits. Il semble donc que biosynthèse protéique, développement de la plante et accumulation de métabolites secondaires, comme les cannabinoïdes, soient liés.

D. Conséquences pour l'amélioration variétale du chanvre

Les observations précédentes mettent en évidence l'importance du génotype et la variabilité génétique de l'espèce pour les teneurs en cannabinoïdes.

Ceci conduit à envisager favorablement des opérations de sélection qui auraient pour but l'élimination du chimiotype I dont les teneurs en Δ^9 THC, bien que relativement faibles, sont, comme nous l'avons montré, 10 fois plus fortes que celles du chimiotype II, quel que soit le stade de développement.

Le rapport = $\frac{\Delta^9 \text{ THC}}{\text{CBD}}$ est également très différent selon le chimiotype. En moyenne, pour le chimiotype I : # 0,50 ; chimiotype II : # 0,04.

Sans avoir recours au dosage proprement dit par CPV (technique longue et onéreuse principalement lorsque l'on s'adresse à de très nombreux échantillons), la chromatographie sur couche mince (CCM) de silice permet de repérer efficacement et rapidement le chimiotype d'un chanvre.

Analyse par chromatographie sur couche mince (CCM) de silice

L'extrait éthéro-pétrolique de chanvre est préparé selon la technique décrite précédemment (voir partie expérimentale).

Chez le chanvre jeune, les cannabinoïdes (Δ^9 THC et CBD) sont principalement sous forme acide (A Δ^9 THC et A CBD). Par CCM de silice (kieselgel G.), les meilleures séparations de ces cannabinoïdes acides sont obtenues avec le mélange éluant hexane-dioxane (4-1 V/V) (fig. 3).

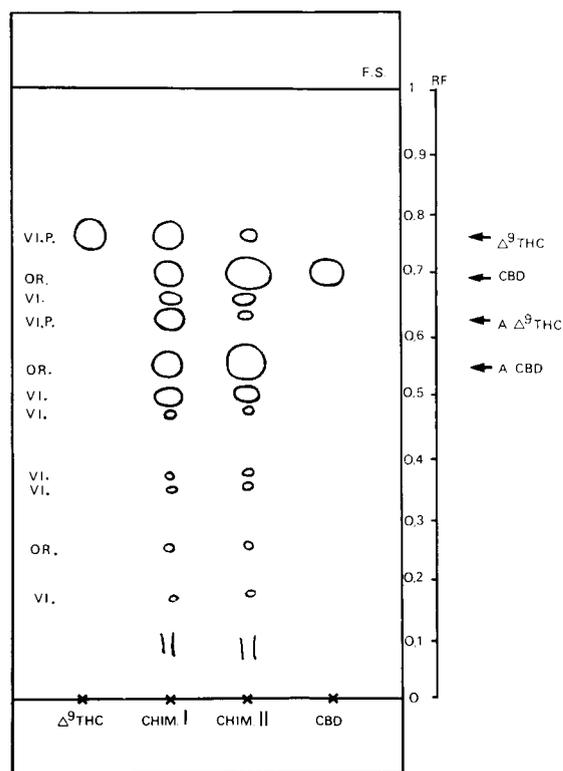


Figure 3

CCM comparée d'extraits éthéro-pétroliques de chanvres à fibres : Chimiotypes I et II.

Support : Kieselgel G.

Solvant : Hexane-Dioxanne (4 - 1 v/v).

Révélateur : Solution à 0,06 p. 100 de bleu solide B dans la soude N.

(*) A Δ^9 THC : acide Δ^9 tétrahydrocannabinolique.

(**) A CBD : acide cannabidiolique.

OR. = orange ; VI. = violet ; VI. P. = violet pourpre.

Comparative TLC of petroleum ether extracts of hemp : Chemotypes I et II.

La révélation se fait par pulvérisation d'une solution à 0,06 p. 100 de bleu solide B dans la soude N ; ainsi les cannabinoïdes se colorent en orangé, en violet ou en violet pourpre. Le chromatogramme d'un extrait de chanvre du chimiotype I présente des taches violet pourpre correspondant au Δ^9 THC (Rf = 0,75) et à l'A Δ^9 THC (Rf = 0,63)

beaucoup plus intenses que celles observées avec un échantillon du chimiotype II.

La CCM, technique rapide et qui se prête bien à des analyses en série, peut donc être mise en œuvre pour des expériences de sélections de chanvres à fibres dont le but est l'élimination des pieds correspondant au chimiotype I.

Ces travaux de sélection de types de chanvres présentant une faible teneur en Δ^9 THC viennent de commencer ; les premiers résultats obtenus sont très prometteurs.

C'est sans doute la première fois dans le monde qu'une telle action est entreprise car, jusqu'à présent, les chanvres ont été sélectionnés soit pour leur teneur en fibres soit pour une teneur élevée en résine.

IV. CONCLUSIONS

Les nombreuses analyses de cannabinoïdes qui ont été effectuées ont permis de mieux connaître la chimie du chanvre et notamment des types monoïques cultivés en France. Il semble qu'aucune autre étude aussi approfondie n'ait, jusqu'alors, été entreprise dans ce domaine sur cette espèce.

La mise en évidence de deux chimiotypes chez le chanvre monoïque à fibres a permis de définir :

- l'existence d'une variabilité génétique,
- une technique de sélection permettant d'espérer l'obtention d'un « cultivar » dépourvu de Δ^9 THC.

Actuellement, un taux limite de 0,5 p. 100 de Δ^9 THC est admis officieusement pour le chanvre à fibres ; dans la présente étude qui a porté sur l'analyse de près de 1 000 pieds, environ 80 p. 100 (chimiotype II) ont une teneur en Δ^9 THC inférieure à 0,1 p. 100 (moyenne 0,04 p. 100).

Un programme d'amélioration pourrait avoir pour objectif l'obtention de près de 100 p. 100 de pieds correspondant au chimiotype II (le plus faible en Δ^9 THC) avec un abaissement de la teneur moyenne de ces pieds en Δ^9 THC (m < 0,04 p. 100).

REMERCIEMENTS

L'auteur remercie M. J. P. MATHIEU et la FÉDÉRATION NATIONALE DES PRODUCTEURS DE CHANVRE (F.N.P.C.) pour leur précieuse collaboration.

Reçu le 20 janvier 1981

Accepté le 8 mai 1981

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Adams R., Hunt M., Clark J., 1940. Structure of cannabidiol, a product isolated from the marijuana extract of Minnesota wild Hemp. *J. am. chem. Soc.*, **62**, 196-200.

Braut-Boucher F., 1980. Effet des conditions écophysiological sur la croissance, le développement et le contenu en cannabinoïdes des clones correspondant aux deux types chimiques du *Cannabis sativa* L. originaire d'Afrique du Sud. *Physiol. vég.*, **18**, 207-221.

Chambon P., Netien G., Chambon-Mougenot R., 1972. Problèmes posés par la culture locale du chanvre. Dosage des principaux constituants de la résine de chanvre. *Bull. Trav. Soc. Pharm. Lyon*, **16**, 47-52.

De Candolle A., 1883. *Origine des plantes cultivées*. Germer Baillière, Ed., Paris, 117-119.

Fairbairn J. W., Liebmann J. A., 1974. The cannabinoid content of *Cannabis sativa* L. grown in England. *J. Pharm. Pharmacol.*, **26**, 413-419.

Fournier G., 1979. *Le chanvre à fibres : Cannabis sativa L., Cannabinacées. Etude chimique : cannabinoïdes, huile essentielle et acides gras. Mise en évidence de types chimiques*. Thèse Doc. Etat, Université Paris XI, 363 p.

Fournier G., Paris M., 1980. Détermination de chimiotypes à partir des cannabinoïdes chez le chanvre à fibres monoïque (*Cannabis sativa* L.). Possibilités de sélection. *Physiol. vég.*, **18**, 349-356.

Fournier G., Paris M. R., Paris R. R., 1976. Aperçu de la production de chanvre en France. *C.R. Acad. Agric. Fr.*, **62**, 1262-1270.

Gaoni Y., Mechoulam R., 1964. Isolation, structure and partial synthesis of an active constituent of hashish. *J. am. chem. Soc.*, **86**, 1646-1647.

Gorshkova L. M., Lebedev S. I., 1971. Physiological and biochemical characteristics of dioecious and monoecious hemp. *Fiziol. Biokhim. kul't. Rast.*, **3**, 195-201.

Griffon H., Paris R., Le Breton R., Janvier M., 1947. Sur le trafic actuel relatif au chanvre, *Cannabis sativa* L. Identification et activité physiologique. *Ann. pharm. fr.*, **5**, 605-618.

Hemphill J. K., Turner J. C., Mahlberg P. G., 1980. Cannabinoid content of individual plant organs from different geographical strains of *Cannabis sativa* L. *J. Nat. Prod.*, **43**, 112-122.

- Jacob A., Todd A. R.**, 1940. Isolation of cannabidiol from Egyptian hashish. Observation on the structure of cannabinol. *J. am. chem. Soc.*, 649-653.
- Kettenes-Van Den Bosch J. J., Salemink C. A., Van Nardwijk J., Khan I.**, 1980. Biological activity of the tetrahydrocannabinols. *J. Ethnopharmacol.*, 2, 197-231.
- Latta R. P., Eaton B. J.**, 1975. Seasonal fluctuations in cannabinoid content of Kansas marihuana. *Econ. Bot.*, 29, 153-163.
- Mechoulam R.**, 1970. Marihuana Chemistry. *Science*, 168, 1159-1166.
- Mechoulam R.**, 1973. *Marijuana, chemistry, pharmacology, metabolism and clinical effects*. Acad. Press, Ed., New York and London, 409 p.
- Nahas G. G.**, 1976. *Hashish, Cannabis, marijuana. Le Chanvre trompeur*. P.U.F., Ed., Paris, 434 p.
- Paris M.**, 1971. Quelques aspects de la recherche en France sur le *Cannabis* : culture, extraction, analyse. Communication présentée au 31^e Congrès international des Sciences pharmaceutiques. Washington, 7-12 Décembre.
- Paris R., Du Merac M. L.**, 1949. Teneur en résine et activité physiologique du chanvre cultivé dans la région parisienne. *Ann. pharm. fr.*, 7, 47-51.
- Rasmussen K. E., Herweijer J. J.**, 1975. Examination of the cannabinoids in young *Cannabis* plant. *Pharm. Weekblad*, 110, 91-94.
- Small E.**, 1979. *The species problem in Cannabis Science and Semantics*. Corpus, Ed., Toronto, vol. 1, 218 p. et vol. 2, 154 p.
- Turner C. E., Elsohly M. A., Boeren E. G.**, 1980. Constituents of *Cannabis sativa* L. XVII : A review of the natural constituents *J. Nat. Prod.*, 43, 169-234.
- Turner C. E., Elsohly M. A., Cheng P. C., Lewis G.**, 1979. Constituents of *Cannabis sativa* L. ; XIV : intrinsic problems in classifying *Cannabis* based on a single cannabinoid analysis. *J. Nat. Prod.*, 42, 317-319.