

应用纪要

UPLC和APGC联合四极杆飞行时间质谱仪 对大麻品种进行靶向和非靶向筛查以及鉴别的 策略

Marian Twohig, Douglas M. Stevens, Steven Lai, Christopher J. Hudalla

Waters Corporation, ProVerde Laboratories



摘要

本应用纪要展示了大麻品种的化学分析工作流程。

优势

- 利用LC和GC分离、单一信息学工作流程以及HRMS系统进行大麻分析
- 通过同时收集精确质量数母离子和子离子数据，再结合化合物库，增加化合物鉴定的可信度
- Progenesis QI有助于解析大麻复杂多变的化学成分

简介

随着许多国家开始实行有关安全使用高质量大麻产品的官方计划，药用大麻和成人用大麻的使用量正在增加并逐步获得认可¹。大麻在治疗各种疾病（包括慢性疼痛和癫痫症）方面显示出有希望的治疗潜力²⁻⁴。不同大麻品种的化学成分可能具有很大差异⁴⁻⁸，了解不同品种间的化学成分差异以及这些差异与疗效和用户体验的相关性非常重要。全面的化学成分分析可以帮助品种鉴定，使用可定量标记区分各种植物化学成分，目的是将化学成分与药理作用关联起来⁹⁻¹³。目前已有研究尝试根据化学成分（包括植物大麻素和萜类化合物成分）对大麻品种进行分类¹⁰⁻²¹。化学成分（化学型）数据将与基因分型结合使用，以获得更完整的信息^{20,21}。这些特定成分被视为植物中的主要活性成分，因此会受到监测，据研究报道，它们可发挥协同作用，极大地影响大麻的有益效果¹⁵。

本研究中，我们将展示大麻品种化学分析的工作流程。采用超高效液相色谱(UPLC)和大气压气相色谱(APGC)，结合高分辨率飞行时间质谱仪(Tof-MS)，提取和分析了18个品种（包括工业大麻）的大麻花样品(n = 5)。这些技术的结合提供了更大的分析覆盖范围，可以帮助调查大麻和工业大麻等复杂样品的成分。大麻素和萜烯的内部参考数据库可为检出的化合物分配鉴定结果。这些数据库通过计算机模拟和实验数据生成。根据已知大麻素和萜烯的化学结构预测质谱信息，并由分析现有确证参比标准品（如果有）生成的实验数据提供支持。

参比数据库包括分子离子、碎片离子、同位素谱图的精确质量数信息，如果存在参比标准品，还有保留时间等其他色谱特性可用于鉴定组分。使用主成分分析 (PCA) 等多变量分析 (MVA) 来确定各种大麻品种之间化学成分的差异。

植物产生的化学成分的浓度取决于多种因素，包括光照、土壤、植物年龄、生长条件、收获时间等环境条件^{14,22}。应注意的是，该研究中不允许控制已知对植物化学成分产生重大影响的环境变量。

实验

条件

大麻素样品前处理

将16种化合物（表1）的真实大麻素标准溶液用乙腈混合制得储备液。大麻花是从包括工业大麻在内的 18 个不同品种中收集的，并分别均质化。称取均质化植物材料0.1 g，放入50 mL离心管中。添加体积为5 mL的乙腈，使用Geno Grinder处理样品2分钟(1000 rpm)。然后将样品在5000 rpm下离心5分钟。去除上清液并进一步按 1:10 稀释，为 UPLC-Tof-MS 分析做准备。

名称	分子量	化学式	CAS
Δ^9 -四氢大麻酚(D9-THC)	314.2246	$C_{21}H_{30}O_2$	1972-08-03
Δ^8 -四氢大麻酚(D8-THC)	314.2246	$C_{21}H_{30}O_2$	5957-75-5
Δ^9 -四氢大麻酚酸A (THCA)	358.2144	$C_{22}H_{30}O_4$	23978-85-0
大麻二酚(CBD)	314.2246	$C_{21}H_{30}O_2$	13956-29-1
大麻二酚酸(CBDA)	358.2144	$C_{22}H_{30}O_4$	1244-58-2
大麻萜酚(CBG)	316.2402	$C_{21}H_{32}O_2$	25654-31-3
大麻萜酚酸(CBGA)	360.2301	$C_{22}H_{32}O_4$	25555-57-1
大麻色原烯(CBC)	314.2246	$C_{21}H_{30}O_2$	20675-51-8
大麻色烯酸(CBCA)	358.2144	$C_{22}H_{30}O_4$	185505-15-1
四氢次大麻酚(THCV)	286.1933	$C_{19}H_{26}O_2$	31262-37-0
四氢次大麻酚酸(THCVA)	330.1831	$C_{20}H_{26}O_4$	39986-26-0
次大麻二酚(CBDV)	286.1933	$C_{19}H_{26}O_2$	24274-48-4
次大麻二酚酸(CBDVA)	330.1831	$C_{20}H_{26}O_4$	31932-13-5
大麻环酚(CBL)	314.2246	$C_{21}H_{30}O_2$	21366-63-2
大麻环酚酸(CBLA)	358.2144	$C_{22}H_{30}O_4$	40524-99-0
大麻酚(CBN)	310.1933	$C_{21}H_{26}O_2$	521-35-7

表1.研究中分析的目标大麻素的名称、分子量、元素组成、精确质量数和CAS编号。

萜烯样品前处理

使用含有23种萜烯的异丙醇溶液混标（表2）制备用于萜烯分析的储备液。将 0.1 g 均质化植物材料称重到 20 mL 闪烁瓶中。向瓶中加入5 mL乙酸乙酯。超声处理15分钟后，将所得大约4 mL提取物转移到4 mL琥珀色样品瓶中。将样品离心并转移一部分到 2 mL 自动进样器样品瓶中，用于 GC-MS 分析。此样品前处理步骤改编自近期研究，包括考察各种提取溶剂以及GC-MS方法验证²³。

名称	分子量	化学式	CAS
α -蒎烯	136.1252	C ₁₀ H ₁₆	80-56-8
樟脑萜	136.1252	C ₁₀ H ₁₆	79-92-5
(-)- β -蒎烯	136.1252	C ₁₀ H ₁₆	18172-67-3
β -月桂烯	136.1252	C ₁₀ H ₁₆	123-35-3
δ -3-蒎烯	136.1252	C ₁₀ H ₁₆	13466-78-9
α -萜品烯	136.1252	C ₁₀ H ₁₆	99-86-5
π -伞花烃	134.1096	C ₁₀ H ₁₄	99-87-6
δ -双戊烯	136.1252	C ₁₀ H ₁₆	5989-27-5
罗勒烯	136.1252	C ₁₀ H ₁₆	13877-91-3
γ -萜品烯	136.1252	C ₁₀ H ₁₆	99-85-4
萜品油烯	136.1252	C ₁₀ H ₁₆	586-62-9
芳樟醇	154.1358	C ₁₀ H ₁₈ O	78-70-6
(-)-异蒲勒醇	154.1358	C ₁₀ H ₁₈ O	89-79-2
香叶醇	154.1358	C ₁₀ H ₁₈ O	106-24-1
β -石竹烯	204.1878	C ₁₅ H ₂₄	87-44-5
α -蛇麻烯	204.1878	C ₁₅ H ₂₄	6753-98-6
橙花叔醇	223.2062	C ₁₅ H ₂₆ O	7212-44-4
(-)-愈创醇	223.2062	C ₁₅ H ₂₆ O	489-86-1
(-)- α -没药醇	223.2062	C ₁₅ H ₂₆ O	23089-26-1
(-)-石竹烯氧化物	221.1905	C ₁₅ H ₂₄ O	1139-30-6
桉油醇	154.1358	C ₁₀ H ₁₈ O	470-82-6

表2.研究中分析的目标大麻素和萜烯的名称、CAS编号和别名。

仪器和软件

在ACQUITY UPLC I-Class系统和Xevo G2-XS QToF质谱仪上进行LC分离。使用MassLynx软件进行数据采集和数据分析。使用Progenesis QI和EZinfo进行数据处理和MVA²⁴。

UPLC方法条件

色谱柱：	ACQUITY UPLC CSH苯己基柱*2.1 × 100 mm, 1.7 μm
溶剂A：	0.1%甲酸的水溶液
溶剂B：	0.1%甲酸的乙腈溶液
流速：	0.600 mL/min
柱温：	30 °C
进样体积：	1 μL

梯度

时间 (min)	%A	%B	曲线
0.0	45%	55%	–
6.0	40%	60%	6
9.0	20%	80%	6
10.0	1%	99%	6
13.0	1%	99%	6
13.1	45%	55%	1

*完成数据采集并进一步评价色谱特性之后，发现使用CORTECS C₁₈色谱柱（部件号：[186007096](#)）进行分离可为研究中使用的真实大麻素标准品提供出色的分离度³¹。

Xevo G2-XS QTof条件

采集模式：	MS ^E 灵敏度模式
开始质量数和结束质量数：	100-1200 Da
电离模式：	ESI+
毛细管电压：	3.5 kV
锥孔电压：	25 V
碰撞能量范围：	15-35 eV
脱溶剂气温度：	400 °C
离子源温度：	100 °C
脱溶剂气流速：	800 (L/h)
锥孔气流速：	50 (L/h)

APGC方法条件

GC：	配备7693A自动进样器的Agilent 7890B
色谱柱：	Restek Rxi-5MS, 20 m × 0.18 mm（内径） × 0.18 μm（膜厚）
载气：	氮气流速0.4 mL/min
进样：	1 μL，分流比20:1，温度275 °C，使用4 mm 内径带棉的直入口衬管
溶剂延迟：	4.0 min

GC柱温箱程序

速率 (°C/min)	温度 (°C)	保持时间 (min)
–	40	3.0
12	180	0.0
50	325	6.0
总运行时间 = 23.57 min		

Xevo G2-XS QTof条件

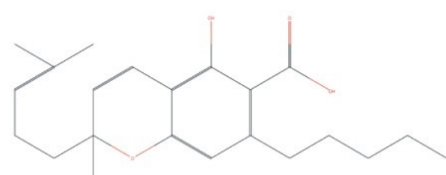
采集模式：	MS ^E 灵敏度模式
质量范围：	40-500 Da
电离模式：	APGC + 使用水的质子化模式
电晕针电流：	2.0 µA
锥孔电压：	20 V
锥孔气流速：	100 L/h氮气
尾吹气体流速：	400 L/h氮气
辅助气体流速：	150 L/h氮气
传输管路：	300 °C

离子源温度：150 °C

碰撞能量范围：10-40 eV

谱库生成

利用数据非依赖型采集模式（称为MS^E）通过单次进样采集母离子和子离子的精确质量数测量结果。当使用多个属性搜索科学库或数据库中的条目时，假阳性结果发生率显著降低，大幅增加了结果可信度。将分析现有确证标准品得到的处理后数据文件与相关的.mol结构文件相结合，创建目标化合物的自定义数据库。保留时间和精确质量数信息可以从Progenesis QI报告中获得（图1）。谱库中添加了没有可用参比标准品的化合物的其他结构，使大麻素及其相关化合物的总数超过120种。大麻素和萜烯化合物有许多异构体，此外，它们的结构特征通常都相似，因此包含特定信息（例如碎片离子和色谱保留时间）的数据库将有助于靶向和非靶向研究。可以通过ChemSpider（www.chemspider.com <<http://www.chemspider.com/>>，英国皇家化学学会）访问其他数据库。



CBC	
ID:	CBC
Formula:	C ₂₁ H ₃₀ O ₂
Neutral mass:	314.2246
CBC-A	
ID:	CBC-A
Formula:	C ₂₂ H ₃₀ O ₄
Neutral mass:	358.2144
CBD	
ID:	CBD
Formula:	C ₂₁ H ₃₀ O ₂
Neutral mass:	314.2246
CBD-A	
ID:	CBD-A
Formula:	C ₂₂ H ₃₀ O ₄
Neutral mass:	358.2144
CBDVA	
ID:	CBDVA
Formula:	C ₂₀ H ₂₆ O ₄
Neutral mass:	330.1831

碎片离子数据库

Export fragment database		
Select the compounds whose spectra you want		
☒ Compounds with accepted IDs ☐ All compounds		
☒ Compound	Accepted ID	Adducts
☒ 2.26_287.2016m/z	CBDV	M+H
☒ 3.06_287.2014m/z	THCV	M+H
☒ 3.67_315.2324m/z	CBD	M+H
☒ 3.78_330.1834n	CBDVA	M+H, M+
☒ 3.97_317.2478m/z	CBG	M+H
☒ 4.63_311.2008m/z	CBN	M+H
☒ 5.05_315.2327m/z	d9_THC	M+H
☒ 5.23_315.2326m/z	d8_THC	M+H
☒ 5.59_315.2325m/z	CBL	M+H
☒ 5.99_315.2323m/z	CBC	M+H
☒ 6.03_331.1907m/z	THCVA	M+H
☒ 6.30_358.2148n	CBDA	M+H, M+
☒ 7.25_361.2381m/z	CBGA	M+H
☒ 8.38_359.2220m/z	THCA	M+H
☒ 8.74_359.2219m/z	CBLA	M+H

其他特性

Export additional compound properties		
Select the compounds whose additional properties you want		
☒ Compound	Accepted ID	Retention Time
☒ 2.26_287.2016m/z	CBDV	2.26
☒ 3.06_287.2014m/z	THCV	3.06
☒ 3.67_315.2324m/z	CBD	3.67
☒ 3.78_330.1834n	CBDVA	3.78
☒ 3.97_317.2478m/z	CBG	3.97
☒ 4.63_311.2008m/z	CBN	4.63
☒ 5.05_315.2327m/z	d9_THC	5.05
☒ 5.23_315.2326m/z	d8_THC	5.23
☒ 5.59_315.2325m/z	CBL	5.59
☒ 5.99_315.2323m/z	CBC	5.99
☒ 6.03_331.1907m/z	THCVA	6.03
☒ 6.30_358.2148n	CBDA	6.30
☒ 7.25_361.2381m/z	CBGA	7.25
☒ 8.38_359.2220m/z	THCA	8.38
☒ 8.74_359.2219m/z	CBLA	8.74

图1.CBCA以及碎片离子和其他化合物属性数据库的数据库条目示例。

结果与讨论

大麻素的UPLC-Tof/MS分析

使用16种真实大麻素标准品作为初始目标成分。图2所示的色谱分离可以鉴定混合物中的每种大麻素。

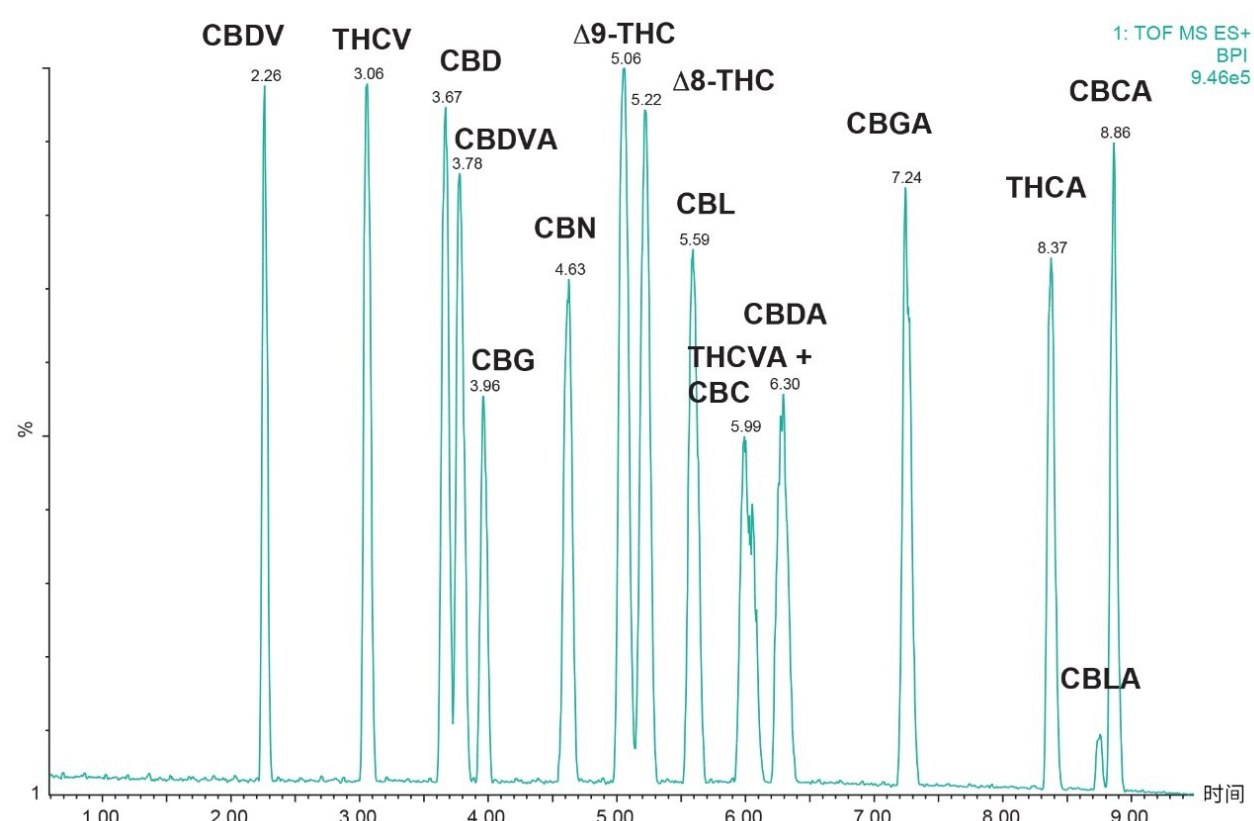


图2.研究中分析的16种真实大麻素混标的基峰强度色谱图（1 μ L进样）。

大麻品种的鉴别

主成分分析(PCA)可以概述萜烯和大麻素成分的信息，并汇总观察到的谱图²⁴。图3显示了使用UPLC-Tof-MS分析大麻品种（包括工业大麻）生成的PCA图。

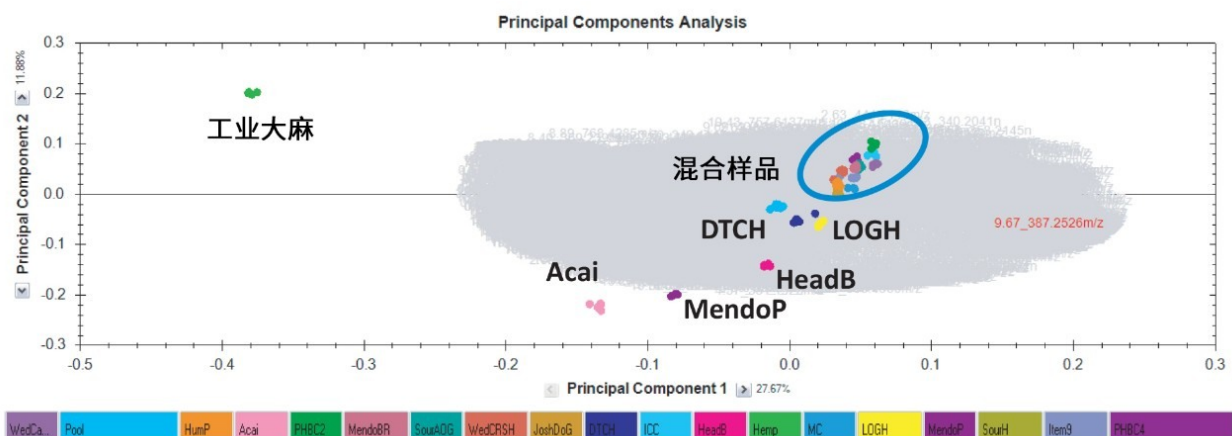


图3.UPLC-MS分析大麻品种（包括工业大麻）生成的PCA图。每个品种用不同的颜色表示。

在PCA数据中观察到图3中的一组品种（用蓝色椭圆突出显示）。其他几种变体被完全分离，表明它们不属于同一化学类型。观察到的主要区别出现在图左侧的工业大麻（CBD含量较高、 Δ^9 -THC含量较低的变体）与右侧的高 Δ^9 -THC品种（ Δ^9 -THC含量较高）之间。去除大麻组会导致图4中所示的模式，其中每个药物类型的栽培品种都清楚地区分。Mendo Purps、HumP和Acai品种是最独特的。

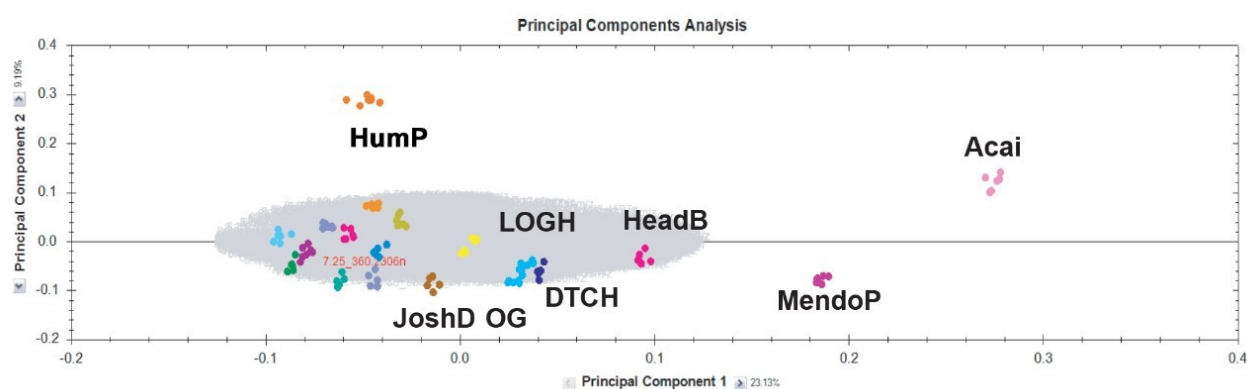


图4.UPLC-Tof-MS分析大麻品种（不包括工业大麻）生成的PCA图

CBG的鉴定和丰度特征

CBG是一种非精神性大麻素，具有潜在的治疗特性，一直备受药理学界的关注^{25,26}。我们已使用结构、其他特性和碎片离子数据库鉴定CBG，拟定的元素组成为 $C_{21}H_{32}O_2$ ， $[M+H]^+$ 317.2477。质量数误差、保留时间误差和同位素相似性也有利于增加鉴定结果可信度（图5）。



☆	Compound ID	Description	Adducts	Formula	Retention time	Score	Fragmentation score	Mass error (ppm)	Retention time error (mins)	Isotope similarity
★	CBG	CBG.mol	M+H	C ₂₃ H ₃₂ O ₂	3.97	F 71.4	F 90.1	0.66	-6.57e-003	96.45

CBG的丰度特征图说明了这种大麻素在样品中相对性质的相似性或差异（图6）。



在Compound Review（查看化合物）中，会将有关特征（m/z保留时间对）和已鉴定组分的信息制成表格。图7中显示了不同品种的最高和最低平均值（相对信号强度的平均值）、最大倍数变化以及汇总了观察结果变化的其他参数。ANOVA p（假阳性率，FPR）和q（错误发现率，FDR）测试用来衡量数据矩阵中每项特征的差异显著性²⁷。在Mendo Purps和Acai品种中分别测定出CBG的最高和最低平均值，倍数变化为6.15。

Find a compound

Filter compounds... **Filter is active**

Help

Compound	N	m/z	z	Retention time	Peak Width	Tag	Accepted ID	Identifications	Anova (p)	q Value	Max fold change	Highest mean	Lowest mean	Isotope distribution	Max Abundance	Min CV%	Description
6.28_359.2218m/z	<1	359.2218	1	6.28	0.34		CBD-A	4	< 1.1E-16	< 1.1E-16	216	Hemp	Acai		376097.2637	0.25	CBD-A
2.27_287.2012m/z	<1	287.2012	1	2.27	0.16		CBDV	7	< 1.1E-16	< 1.1E-16	Infinity	Hemp	WedCake		1463.6017	4.61	OC1C=C(CCC)C=C(C=C1)C
3.79_330.1835m/z	32	331.1908	1	3.79	0.20		CBDA	5	< 1.1E-16	< 1.1E-16	Infinity	Hemp	MendoBR		697.4288	7.50	CBDA
3.96_317.2480m/z	<1	317.2480	1	3.96	0.34		CBG	1	< 1.1E-16	< 1.1E-16	6.15	MendoP	Acai		25622.7685	1.59	CBG
7.25_361.2378m/z	<1	361.2378	1	7.25	0.33		CBGA	1	< 1.1E-16	< 1.1E-16	38.3	LOGH	Hemp		55364.0845	1.25	CBGA
4.62_311.2006m/z	<1	311.2006	1	4.62	0.21		CBN	4	< 1.1E-16	< 1.1E-16	114	Acai	ICC		20204.7942	2.23	CBN
5.06_315.2323m/z	<1	315.2323	1	5.06	0.65		d9-THC	7	< 1.1E-16	< 1.1E-16	5.81	Acai	Hemp		507733.9556	1.68	d9-THC

Compound 3.96_317.2480m/z:

Compound abundance

Possible identifications

3D Montage

Possible identifications: 1

Compound ID	Description	Adducts	Formula	Retention time	Score	Fragmentation score	Mass error (ppm)	Retention time error (mins)	Isotope similarity
★ CBG	CBG	M+H	C ₂₁ H ₃₂ O ₅	3.97	A 71.2	A 90.1	1.53	-6.57e-003	96.43

图7.Review compounds（查看化合物）提供了已鉴定大麻素和其他特征的数据概要。

对于扩展MVA，Progenesis QI可以将数据导出到EZinfo，在该平台上观察检测到的大麻素的载荷双标图（图8）。该图可以展示出观察结果之间的趋势和相似性。 Δ^9 -THC和THCV的标记朝左上象限。在使用UPLC/UV进行的效价实验中（数据未显示），主要发现左上象限的品种 Δ^9 -THC浓度较高，范围为重量的0.91-2.97%，而左下象限大多数品种的THCA含量较高。此外，大麻素标记THCVA、CBCA、CBGA和CBG也显示在该象限中，表明该象限的品种中，这些大麻素的表达更高。集中在图右侧的工业大麻组为大麻素CBD、CBDA和CBDV。CBN是 Δ^9 -THC的代谢物，在上象限中观察到，这表明该图中这一部分的栽培品种可能已经老化或受到导致其形成的储存条件影响¹³。

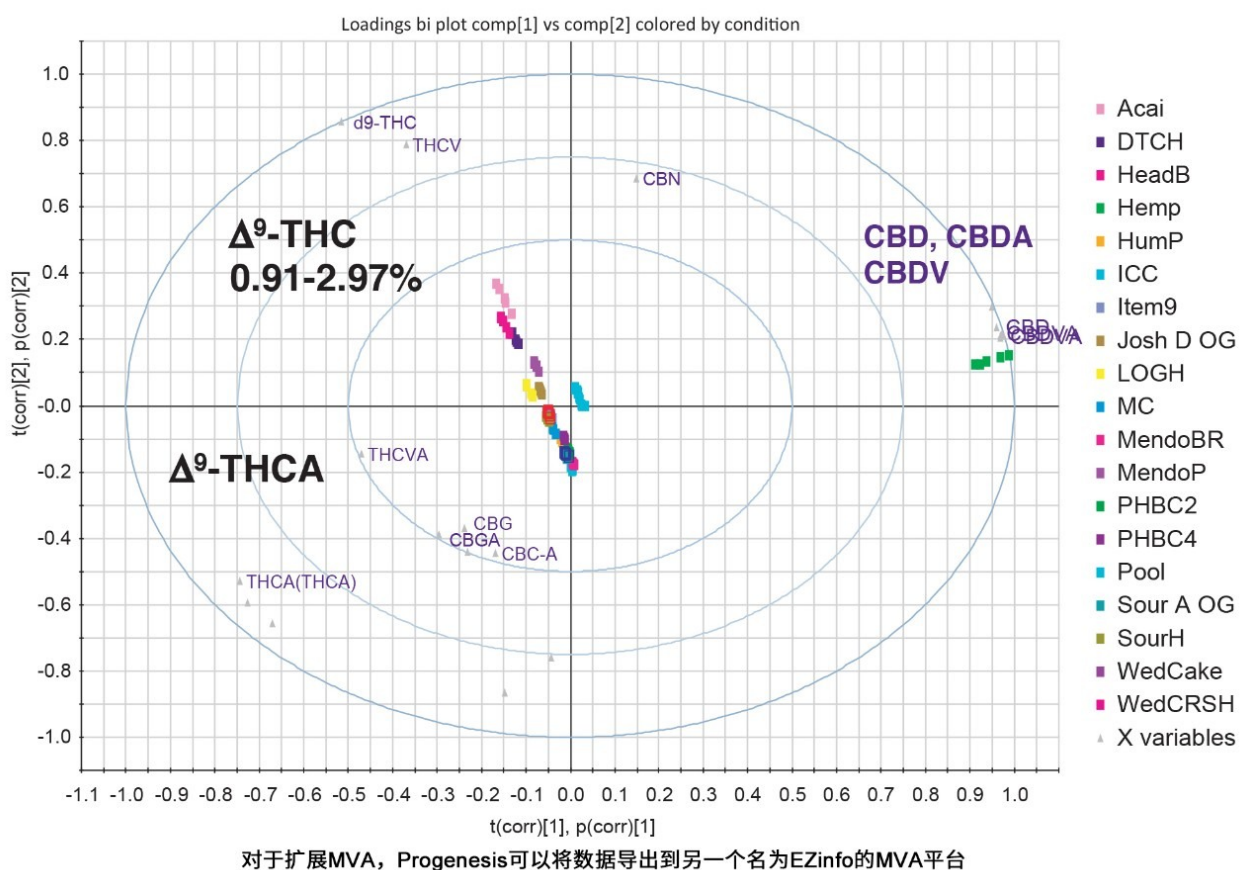


图8.显示已鉴定大麻素标记的载荷双标图。

载荷图(A)可用于解析得分图(B)中观察到的模式，得分图说明了品种之间的关系²⁴。在载荷图中可以观察到已鉴定大麻素CBGA、THCA和 Δ^9 -THC化学性质的最大差异。在右上象限中可以看到具有更高CBGA表达的品种。可以将重要的目标未知物标记重新导入Progenesis QI。在Josh D OG品种方向的左下象限中观察到未知组分9.20_374.2463n，在9.20分钟洗脱，中性质量数为374.2463（用红色椭圆突出显示）（图9A和B）。

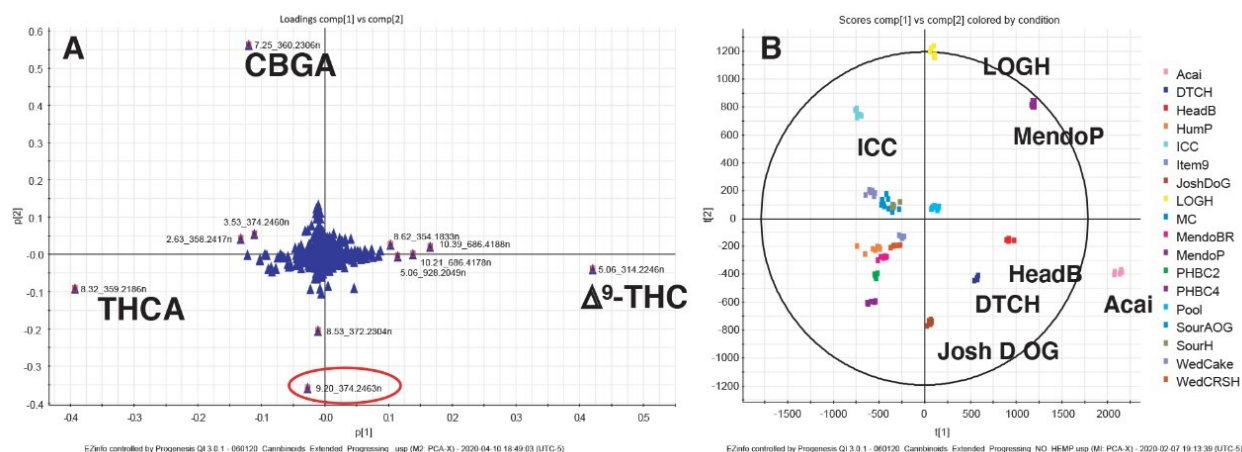


图9.载荷图(A)和得分图(B)中显示了从实验中去掉工业大麻后的数据趋势。

将该组分从EZinfo的载荷图中导入Progenesis Q1，以供进一步评价。当针对内部数据库搜索标记时，我们提出了元素组成为 $C_{23}H_{34}O_4$ 的4种化合物，并根据每个拟定的分数和理论碎片离子进行了排序（图10）。没有真实的标准化合物可用于进一步确认此鉴定。在单独的负离子ESI实验中，观察到该组分的三个主要精确质量数碎片离子（ m/z 329.2486, $C_{22}H_{33}O_2$ ； m/z 245.1547, $C_{16}H_{21}O_2$ ； m/z 191.1077, $C_{12}H_{15}O_2$ ）（数据未显示），并且可以与之前报告的具有相同元素组成的未命名大麻素匹配¹⁴。



图10.大麻素数据库中元素组成为 $C_{23}H_{34}O_4$ 的组分的搜索结果

该组分的丰度特征如图11所示。最大倍数变化为409，其中在JoshD OG品种中检测到的平均值最高，在

HumP品种中检测到的平均值最低。

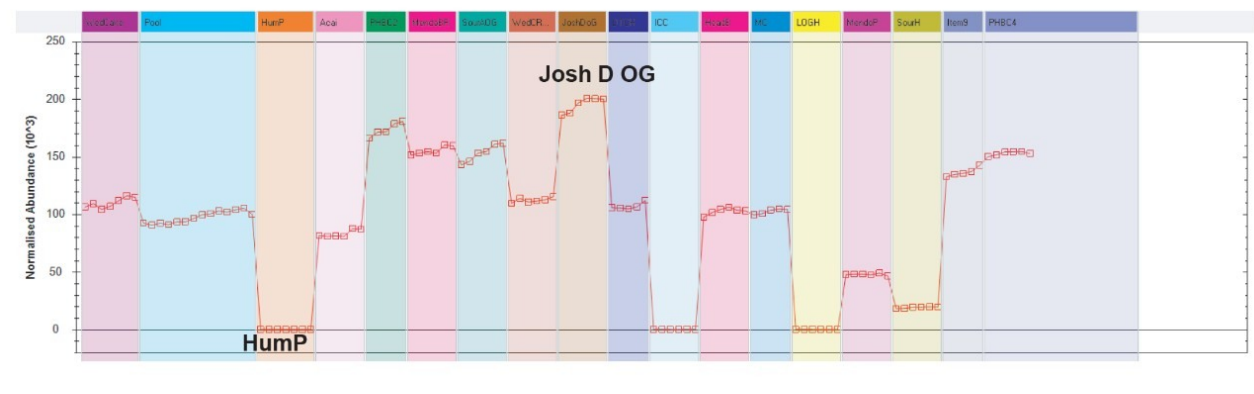


图11.显示未知组分9.20_374.2463n在测试样品中相对性质差异的丰度特征图。

载荷数据中突出显示的其他重要组分包括在8.62分钟洗脱的CBNA，中性质量数为354.1833n，随后使用确证标准品进行了确认。在8.53分钟洗脱的组分，其中性质量数为372.2304n，拟定的元素组成为 $C_{23}H_{32}O_4$ ，使用数据库条目初步鉴定为2-乙酰氧基大麻二色烯^{8,28}。这些建议是根据现有的数据库条目提出的。明确鉴定需要使用确证标准品验证或开展进一步研究，包括分离后进行NMR分析。

由于大麻品种的化学特征各不相同，因此可以在Progenesis QI软件中编制组分目标列表，用于随后的靶向鉴定和区分。

萜烯的APGC-Tof-MS分析

据报道，萜烯类化合物在参与许多生物学功能的同时，对大麻的特性和作用产生了重大影响^{15,29}。以前曾经尝试使用萜烯图谱对大麻品种进行化学分类鉴别^{13,15-21}。

萜烯分析使用了与表征大麻素差异相同的工作流程。我们开发出一种GC分离方法，可以从倍半萜中分离出单萜（图12）³⁰。我们使用确证萜烯标准品的分析信息来生成碎片离子和保留时间数据库，随后与结构数据库结合使用，增加鉴定结果可信度。

在PCA数据中，LOGH、HumP、ICC、Acai、工业大麻、Mendo P和SourAOG品种分别聚集成化学类型不同的组（图13）。可以使用载荷图解析不同组之间的差异（数据未显示）。

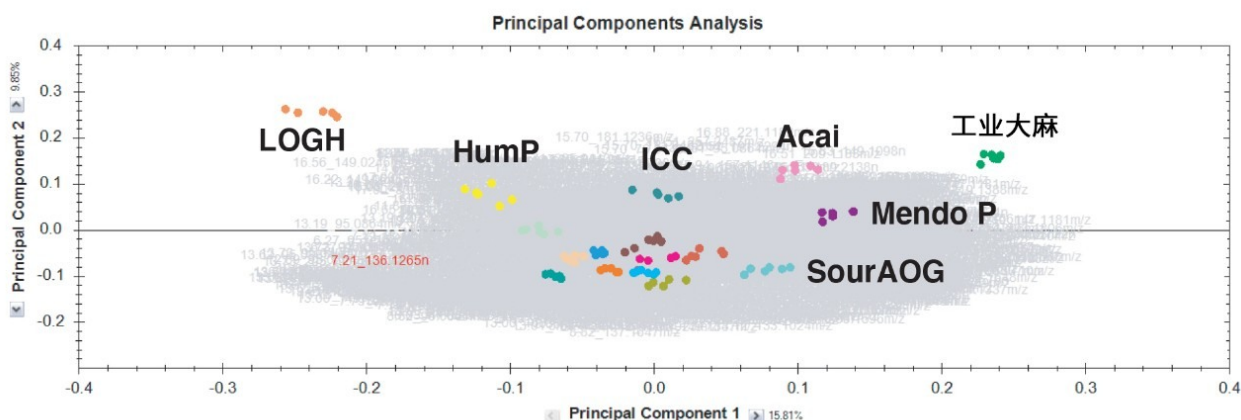


图13.大麻品种APGC-MS分析的PCA图。

Review Compounds（查看化合物）窗口中显示了通过库识别的目标萜烯的有关信息。 β -月桂烯在SourH品种中表达最高，在工业大麻中表达最低（图14）。

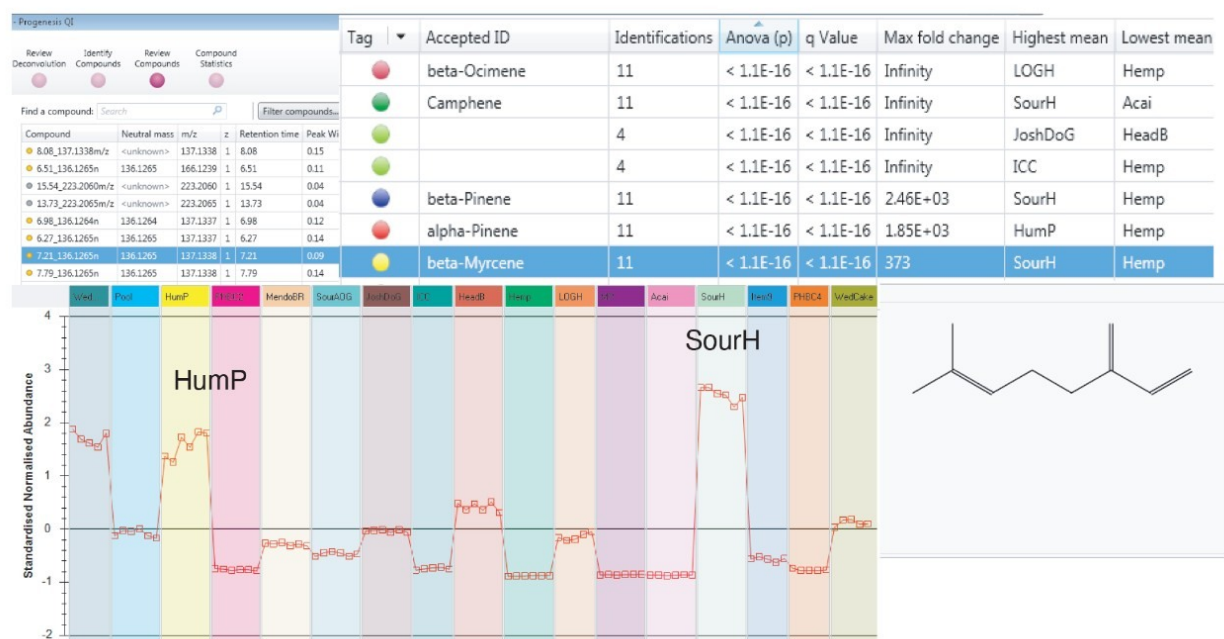


图14. Review compounds（查看化合物）提供了已鉴定萜烯和其他特征的数据概要。

相关性分析方法将样品按照共同特性分成不同的组，以便于评价提取的大麻样品中萜烯/大麻素丰度特征之间的关系。在HumP、HeadB、LOGH和SourH品种中可观察到 β -蒎烯、 β -月桂烯和 α -蒎烯的丰度特征之间的相关性（图15）。

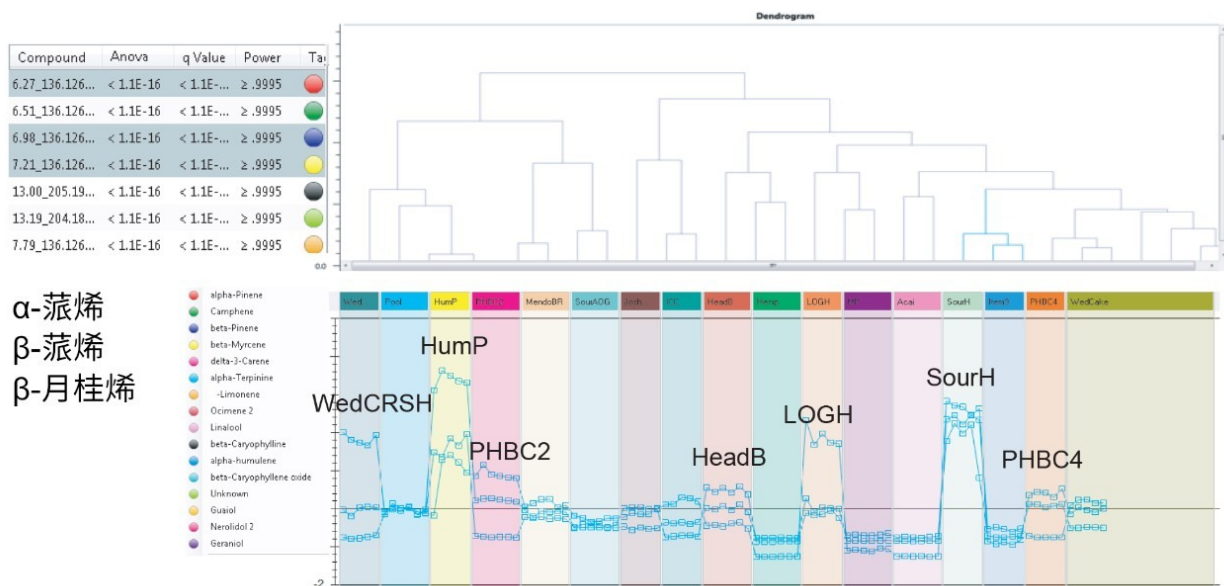


图15.相关性分析结果显示，大麻品种中β-蒎烯、β-月桂烯和α-蒎烯的标准化丰度特征有相似性。

载荷双标图显示，选定的萜烯标记与图右侧品种的相关性更强，该图右侧是工业大麻组图的对侧。LOGH、SourH和MendoBr品种与单萜、β-蒎烯、β-罗勒烯、α-萜品烯、γ-萜品烯、萜品油烯和d-3-萜烯的相关性更强（图16）。萜烯类化合物β-月桂烯、α-蒎烯和石竹烯氧化物在HumP品种有更高的表达。

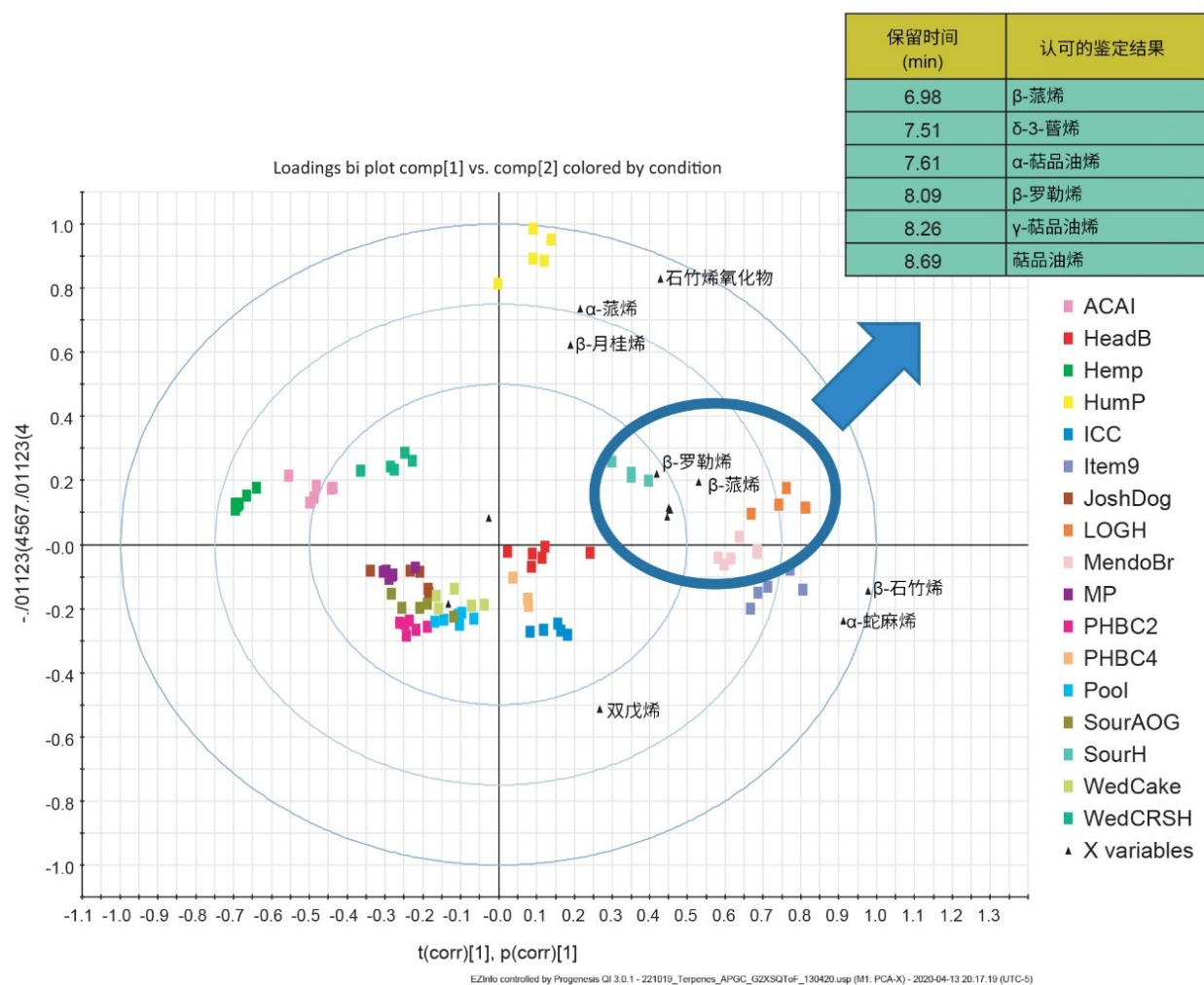


图16.显示选定蒎烯标记的载荷双标图。

大麻素和蒎烯的特征相关性可以通过解析UPLC-Tof/MS和APGC-Tof/MS的载荷数据来确定。可以从Progenesis QI导出数据，以供进一步处理。

结论

利用UPLC-Tof/MS和APGC-Tof/MS分析结合Progenesis QI PCA数据处理可以轻松识别品种间的差异。工业大麻品种的典型特征为，CBD及其相关代谢物含量高， Δ^9 -THC含量低。在PCA中观察到具有更高 Δ^9 -THC表达的品种。将数据导出到EZ Info后，可以进行扩展MVA，分析结果可用于解析和说明在不同品种中观察到的化学差异。大麻素和蒎烯丰度概况和层次聚类树状图提供了跨品种趋势的清晰可视化。可以使用MVA突出显示

重要的未知成分，并将其发送到 Progenesis QI 以供进一步询问。

自定义数据库对于鉴定品种分析中检测到的大麻素和萜烯有很大的帮助。该数据库由化合物结构、精确质量数以及其他特性（例如保留时间和碎片离子）组成，这些特性基于现有确证标准品创建。组分鉴定基于多种属性（包括保留时间、精确质量数母离子和碎片离子谱图以及同位素分布），增加了分配结果的可信度。其他大麻素和萜烯结构文件也可以添加到数据库中，方便筛选大量分析物。我们使用该谱库成功鉴定了有保留时间和碎片离子谱图记录的13种大麻素，而对于更多大麻素的鉴定，尽管无法获得确证标准品以供进一步确认，但我们已根据结构数据库筛选和理论碎片离子初步判定了这些大麻素的归属。谱库生成和标准化色谱分离将改善大麻基质化学多样性的表征。

这些工具能够在受控的分析条件下分析大规模样品组，尽可能减少测量技术变化带来的影响，同时还能够评估多种条件，例如可能对大麻素和萜烯的表达量产生微小影响的生长环境或收获技术变化。

参考资料

1. SV Bhat, BA Nagasampagi, M Sivakumar.Chemistry of Natural Products.2005, ISBN 3-540-40669-7.
2. H Koltai, P Poulin, D Namdar.Promoting Cannabis Products to Pharmaceutical Drugs. European J. Pharm.Sci. 2019, 132, 118–120.
3. AA Izzo, F Borrelli, R Capasso, V Di Marzo, R Mechoulam.Non-Psychotropic Plant Cannabinoids: New Therapeutic Opportunities from an Ancient Herb.Trends in Pharmaco.Sci. 2009, 30, (10), 515–527.
4. CM Andre, JF Hausman, G Guerriero.Cannabis sativa: The Plant of the Thousand and One Molecules.Front.in Plant Sci.2016, 7(19).
5. MA ElSohly, D Slade.Chemical Constituents of Marijuana: The Complex Mixture of Natural Cannabinoids.Life Sciences. 2005, 78, 539–548.
6. R Brenneisen.Chemistry and Analysis of Phytocannabinoids and Other Cannabis Constituents. Marijuana and the Cannabinoids, 2007, 17–49.doi:10.1007/978-1-59259-947-9_2.
7. C Citti, P Linciano, F Russo, L Luongo, M Iannotta, S Maione, A Lagana, AL Capriotti, F Forni, MA Vandelli, G Gigli, G Cannazza.A Novel Phytocannabinoid Isolated from Cannabis sativa L.with an in vivo Cannabimimetic Activity Higher than Δ^9 -tetrahydrocannabinol: Δ^9 -tetrahydrocannabiphorol. Scientific Reports.2019, 9:20335.

8. MM Radwan, MA ElSohly, D Slade, SA Ahmed, IA Khan, SA Ross, Biologically Active Cannabinoids from High Potency Cannabis sativa. *J. Nat. Prod.* 2009, 906-911.
9. C Citti, D Braghiroli, MA Vandelli, G Cannazza. Pharmaceutical and Biomedical Analysis of Cannabinoids: A Critical Review. *J. Pharm. Biomed. Sci.* 2018, 147, 565-579.
10. MM Lewis, Y Yang, E Wasilewski, HA Clarke, LP Kotra. Chemical Profiling of Medical Cannabis Extracts. *ACS Omega*. 2017, 2, 6091-6103.
11. JT Fishedick, A Hazekamp, T Erkelens, YH Choi, R Verpoorte. Metabolic Fingerprinting of Cannabis sativa L., Cannabinoids and Terpenoids for Chemotaxonomic and Drug Standardization Purpose. *Phytochemistry*. 2010, 71, 2058-2073.
12. A Hazekamp, JT Fishedick. Cannabis – From Cultivar to Chemovar. *Drug Test. Analysis*. 2012, DOI 10.1002/dta.407.
13. A Hazekamp, K Tejkalova, S Papadimitriou. Cannabis: From Cultivar to Chemovar II-A metabolomics Approach to Cannabis Classification. *Cannabis and Cannabinoid Research*. 2016, 1.1, 202–215.
14. P Berman, K Futoran, GM Lewitus, D Mukha, M Benami, T Shlomi, D Meiri. A New ESI-LC/MS Approach for Comprehensive Metabolic Profiling of Phytocannabinoids in Cannabis. *Scientific Reports*. 2018, 8:14280.
15. EB Russo. Taming THC: Potential Cannabis Synergy and Phytocannabinoid-Terpenoid Entourage Effects. *British Journal of Pharmacology*. 2011, 163, 1344-1364.
16. MM Delgado-Povedano, C Sanchez-Carnerero, F Priego-Capote. Untargeted Characterisation of Extracts from Cannabis sativa L., Cultivars by Gas and Liquid Chromatography Coupled to Mass Spectrometry in High Resolution Mode. *Talanta*. 2020, 208, 120384.
17. S Elzinga, J Fishedick, R Podkolinski, JC Raber. Cannabinoids and Terpenes as Chemotaxonomic Markers in Cannabis. *Nat. Prod. Chem. Res.* 2015, 3(4).
18. KW Hillig, A Chemotaxonomic Analysis of Terpenoid Variation in Cannabis. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2004, 875-891.
19. JT Fishedick. Identification of Terpenoid Chemotypes Among High (-)-trans- Δ^9 -tetrahydrocannabinol-Producing Cannabis sativa L. Cultivars. *Cannabis and Cannabinoid Research*. 2017, 2.1, 34–47.

20. C Orser, S Johnson, MD Speck, A Hilyard, Ini Afia. Terpenoid Chemoprofiles Distinguish Drug-Type Cannabis sativa L. cultivars in Nevada. Nat. Prod. Chem. Res. 2018, 6(304).
21. J Booth, J Bohlman. Terpenes in Cannabis sativa – From Plant Genome to Humans. Plant Science: An International Journal of Experimental Plant Biology. 2019 Vol: 284, Page: 67–72.
22. G Magagnini, G Grassi, S Kotiranta. The Effect of Light Spectrum on the Morphology and Cannabinoid Content of Cannabis sativa L., Med Cannabis Cannabinoids. 2018, 1:19–27.
23. EA Ibrahim, Wang M, MM Radwan, AS Wanas, CG Majumdar, B Avula, YH Wang, IA. Khan, S Chandra, H Lata, GM. Hadad, RA Abdel Salam, AK. Ibrahim, SA Ahmed, MA. ElSohly. Analysis of Terpenes in Cannabis sativa L. Using GC-MS: Method Development, Validation, and Application. Planta Med. 2019, 85, 431-438.
24. L Eriksson, E Johansson, N Kettaneh-Wold, J Tyrgg, C Wikstrom, S Wold. 2006, Multi- and Megavariate Data Analysis: Part 1 Basic Principles and Applications (2nd ed).
25. G Navarro, K Varani, I Reyes-Resina, et al. Cannabigerol Action at Cannabinoid CB1 and CB2 Receptors and at CB1-CB2 Heteroreceptor Complexes. Front Pharmacol. 2018, 9:632. doi:10.3389/s41370-018-0094-1.
26. Da Cheng Hao, Xiao-Jie Gu, Pei Gen Xiao. 2015, Medicinal Plants: Chemistry, Biology and Omics. Phytochemical and Biological Research of Cannabis Pharmaceutical Resources Chapter 11. 431–464. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100085-4.00011-6> <<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100085-4.00011-6>> .
27. JD Storey, R Tibshirani, Statistical Significance of Genome Wide Studies. Statistical Significance for Genomewide Studies. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003; 100(16):9440–9445. doi:10.1073/ pnas.1530509100.
28. MA ElSohly, MM Radwan, W Gul, S Chandra, A Galal. Phytochemistry of Cannabis sativa L: In Phytocannabinoids: Unraveling the Complex Chemistry and Pharmacology of Cannabis sativa. A. Douglas Kinghorn, Heinz Falk, Simon Gibbons, Jun'ichi Kobayashi. (Eds). Springer International Publishing: Cham, Switzerland. 2017, 103, 1-36.
29. M Cho, I So, JN Chun, JH Jeon, The Antitumor Effects of Geraniol: Modulation of Cancer Hallmark Pathways (Review). International Journal of Oncology. 2016, 48(5), 1772–1782. <https://doi.org/10.3892/ijo.2016.3427> <<https://doi.org/10.3892/ijo.2016.3427>> .
30. D Stevens, CJ Hudalla, M Twohig, K Organtini. Terpenes in Hemp and Cannabis Determined Using

EI GC-MS/MS.Waters Application Note 720006781EN <

<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2020/terpenes-in-hemp-and-cannabis-determined-using-ei-gc-ms-ms.html>> .

31. K Van Tran, M Twohig, CJ Hudalla.使用超高效液相色谱(UPLC)结合PDA和质谱检测分析大麻植物材料和食用产品中的大麻素.沃特世应用纪要 720007199ZH <

<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2021/analysis-of-cannabinoids-in-cannabis-plant-materials-and-edible-products-using-ultraperformance-liquid-chromatography-uplc-with-pda-and-mass-detection.html>> .

特色产品

ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统 <<https://www.waters.com/134613317>>

Xevo G2-XS QToF四极杆飞行时间质谱仪 <<https://www.waters.com/134798222>>

沃特世大气压气相色谱(APGC) <<https://www.waters.com/10100362>>

MassLynx MS软件 <<https://www.waters.com/513662>>

Progenesis QI <<https://www.waters.com/134790652>>

720006882ZH, 2021年6月