

辅助 Δ -8 THC馏出物研究的色谱、检测和软件工具

Marian Twohig, Andrew J. Aubin, Christopher J. Hudalla

Waters Corporation, ProVerde Laboratories

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

摘要

扩大使用由汉麻来源的CBD生产的 Δ 8-四氢大麻酚(Δ^8 -THC)在美国(US)引起了安全问题。将CBD转化为 Δ^8 -THC会产生多种反应副产物，需要表征这些副产物以帮助理解所产生的化学成分及其对消费者安全的潜在风险。

以下研究内容介绍了如何使用配备光电二极管阵列(PDA)检测器、单四极杆质谱(MS)检测器的高效液相色谱仪(HPLC)，在Empower™色谱数据软件工具的支持下，通过分析 Δ^8 -THC馏出物来辅助样品研究。

根据保留时间和UV谱图，我们已鉴定出馏出物分析样品中存在的几种已知大麻素，例如 Δ^8 -THC和 Δ^9 -THC。但是，在UV数据中也检测到几个未知峰。UV谱图表明，馏出物中的未知成分与主要化合物 Δ^8 -THC之间可能存在结构相似性。在MS分析中，软件将 m/z 315突出显示为几种未知物的基峰。大麻素谱图库中使用的均是确证标准品。谱图和保留时间可以帮助鉴定目标组分，还可以通过谱图匹配突出潜在的结构相关未知物。

优势

- 利用PDA和MS检测提高大麻素检测的可信度

- PDA谱图库可提高化合物分配的可信度并有可能鉴定异构体
- 峰纯度分析有助于鉴定共洗脱组分
- 可通过母离子到子离子的源内碎裂提供额外的结构信息

简介

大麻合法化的扩大推动了大麻及其衍生产品消费机制的创新。由于各种摄入途径的安全性未知，大麻素的准确鉴定越来越重要。 Δ^9 -四氢大麻酚(Δ^9 -THC)是大麻植物中的主要致幻成分，它的异构体 Δ^8 -THC也同样具有致幻效果，并以微量水平天然存在于大麻植物中。消费品中的 Δ^8 -THC是由汉麻来源的大麻二酚(CBD)产生的，这是一种不具有致幻效果的大麻素。在对美国《农业改进法案》(即2018年的美国《农业法案》)相关规定的解释中，关于 Δ^8 -THC的合法性引发了诸多争议；许多人认为 Δ^8 -THC是合法的，这使得它在美国的销量稳步增长。由于对于汉麻来源的合成组分尚无明确法规监管其使用，因此 Δ^8 -THC的生产和使用成为一个不断增长的市场。由CBD转化成 Δ^8 -THC的合成反应会产生多种反应副产物，需要表征这些副产物以更好地理解所得成分的化学性质及其安全性特征¹⁻⁷。

最近，有报道称 Δ^8 -THC消费品存在产品标签不准确的问题，例如标签错误以及存在标签未提及的反应副产物，包括异构体⁴⁻⁶。已知可能存在几种立体化学结构不同的 Δ^9 -THC双键异构体，这可能会让分离难度大大增加。对于受管制的 Δ^9 -THC而言，这也可能干扰分析鉴定从而引起法律问题⁸。

以下研究内容介绍了如何使用配备PDA检测器、单四极杆MS检测器的HPLC，在Empower色谱数据软件工具的支持下，通过分析 Δ^8 -THC馏出物来辅助样品研究。

结果与讨论

图2所示色谱图为使用PDA在228 nm处检测的10种中性大麻素(图1)确证混标的分离结果。该混标含有 Δ^9 -THC的几种异构体，包括CBD、exo-THC、 Δ^8 -THC、CBL和CBC。

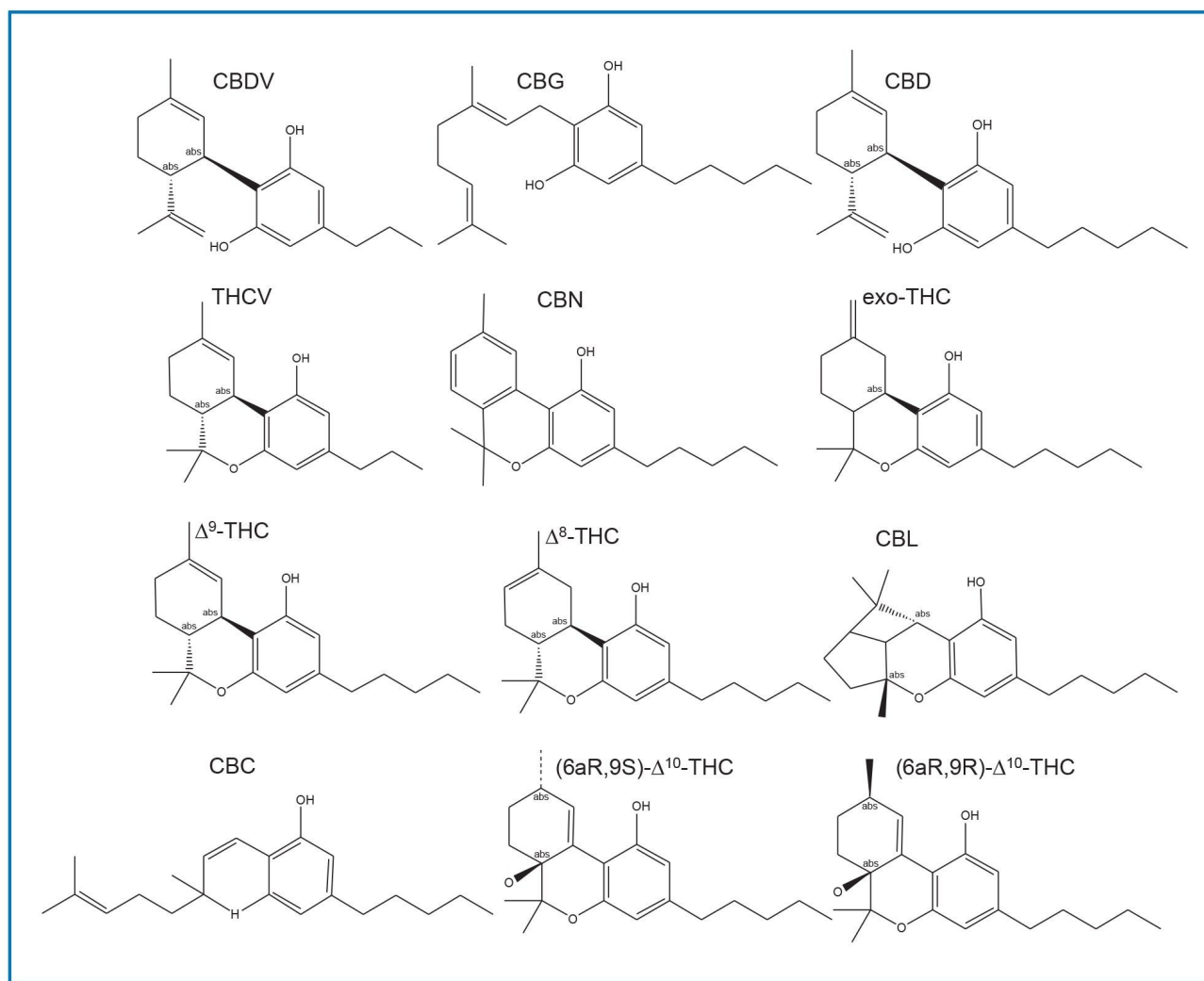


图1.研究中所用大麻素的结构

分析大麻馏出物样品后，根据Empower处理方法中记录的保留时间(t_R)鉴定出以下几种化合物：CBD、CBN、exo-THC、 Δ^9 -THC和 Δ^8 -THC。有两种组分在 Δ^8 -THC主峰之后洗脱，峰面积百分比值分别为2%和12%，已积分但未根据处理方法鉴定。

经鉴定，主要成分为 Δ^8 -THC (t_R 5.351分钟)，计算的峰面积百分比为66% (图3)。

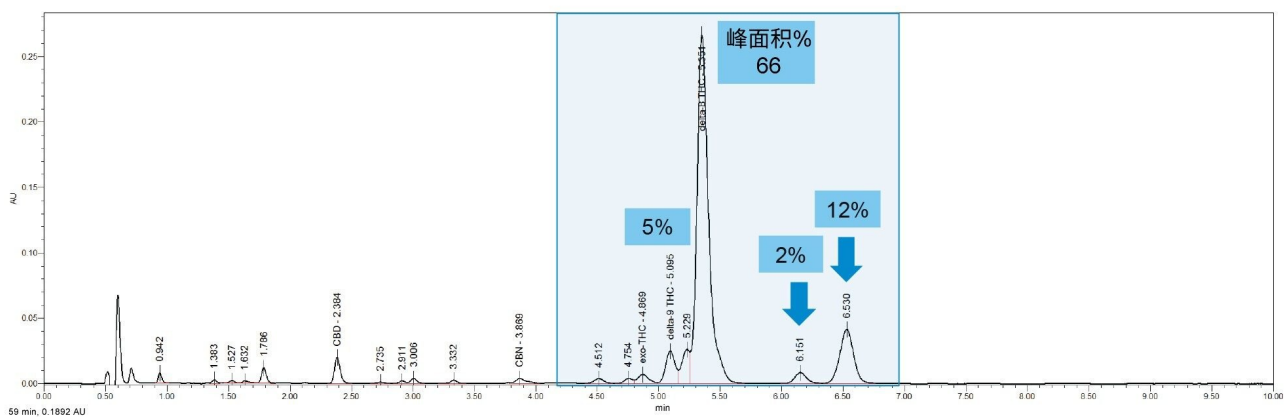


图3.分析馏出物样品 (1 $\mu\text{g/mL}$, 5 μL) 得到的UV色谱图(228 nm)

在4.4~5.3分钟之间的色谱图区域 (t_R 5.351分钟处 Δ^8 -THC峰之前的峰)，未知组分峰的UV和MS谱图数据显示与已鉴定组分的峰非常相似。在每个已鉴定组分 (exo-THC、 Δ^9 -THC和 Δ^8 -THC) 中均观察到质子化离子 $[M+H]^+$ m/z 315。每个未知组分峰在 t_R 4.512分钟、4.754分钟和5.229分钟处的基峰也是 m/z 315 (图4)。这些数据表明，这些组分可能具有结构相关性，并且可能是异构体。

尽管基峰也为 m/z 315，但在 Δ^8 -THC主峰之后， t_R 6.151分钟和6.530分钟洗脱的两种组分的UV谱图与图4中描述的六种组分明显不同 (图5)。

可以使用Empower谱图指数图在单个视图中比较所有积分峰的UV谱图 (图6)。如图6所示，最后洗脱的两个组分与前六个组分的谱图之间存在明显差异。

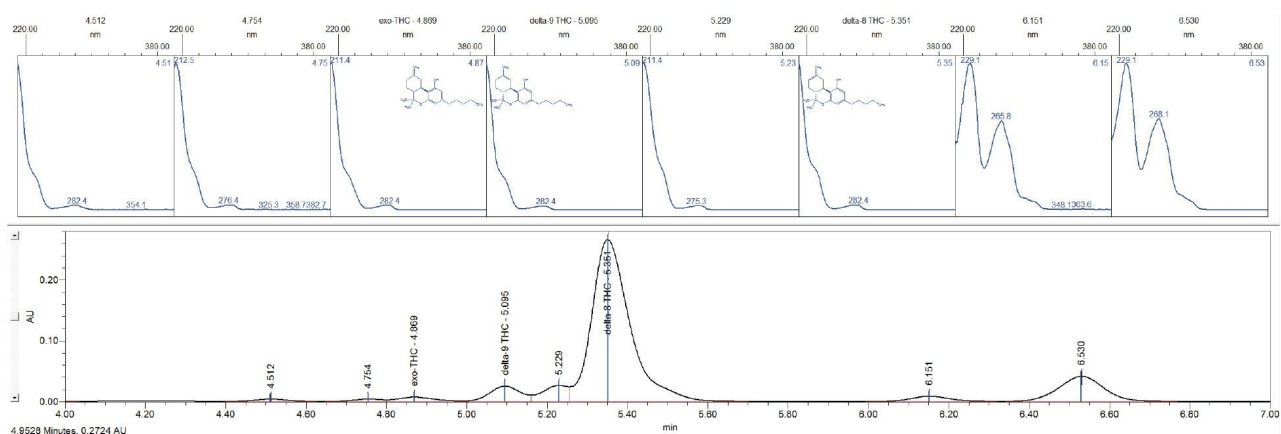


图6. 在4.0~7.0分钟之间洗脱的已鉴定和未鉴定组分的PDA谱图指数图对比

可利用Empower谱库搜索功能匹配未知峰的谱图与谱库中存储的PDA或质谱数据。首先采集确证标准品的谱图，并保存在谱库中。大麻素PDA谱库的编制使用了酸性和中性组分的可用确证标准品。谱库中记录了PDA谱图和保留时间。用户可以通过处理方法手动或自动搜索谱库。

当在处理方法中将保留时间窗口设置为5%用于搜索大麻素谱库时，谱库为 t_R 6.151分钟和6.530分钟的每个未知组分提供了一个匹配结果。

谱库匹配结果表明，6.151分钟处未知组分的最佳匹配是(6aR,9S)- Δ^{10} -THC（在图7中高亮）。使用Empower中的谱图对比算法，观察到匹配1角度小于匹配1阈值⁹⁻¹³。匹配角度越小，匹配越好。在结果窗口中，PDA三重图显示了未知组分的谱图以及可能的最佳谱图匹配，还显示了它们之间的差异（图7下图）。我们可以通过叠加谱图以突出显示任何谱图差异，从而更好地对这些谱图进行目视检查。图8显示了6.151分钟处未知组分的叠加谱图和库谱图，二者高度匹配。

通过谱库搜索发现，与6.530分钟处未知物最接近的匹配是(6aR,9R)- Δ^{10} -THC。但是，在本例中，匹配1角度大于匹配1阈值。此外，还有一个纯度标志需要进一步调查。

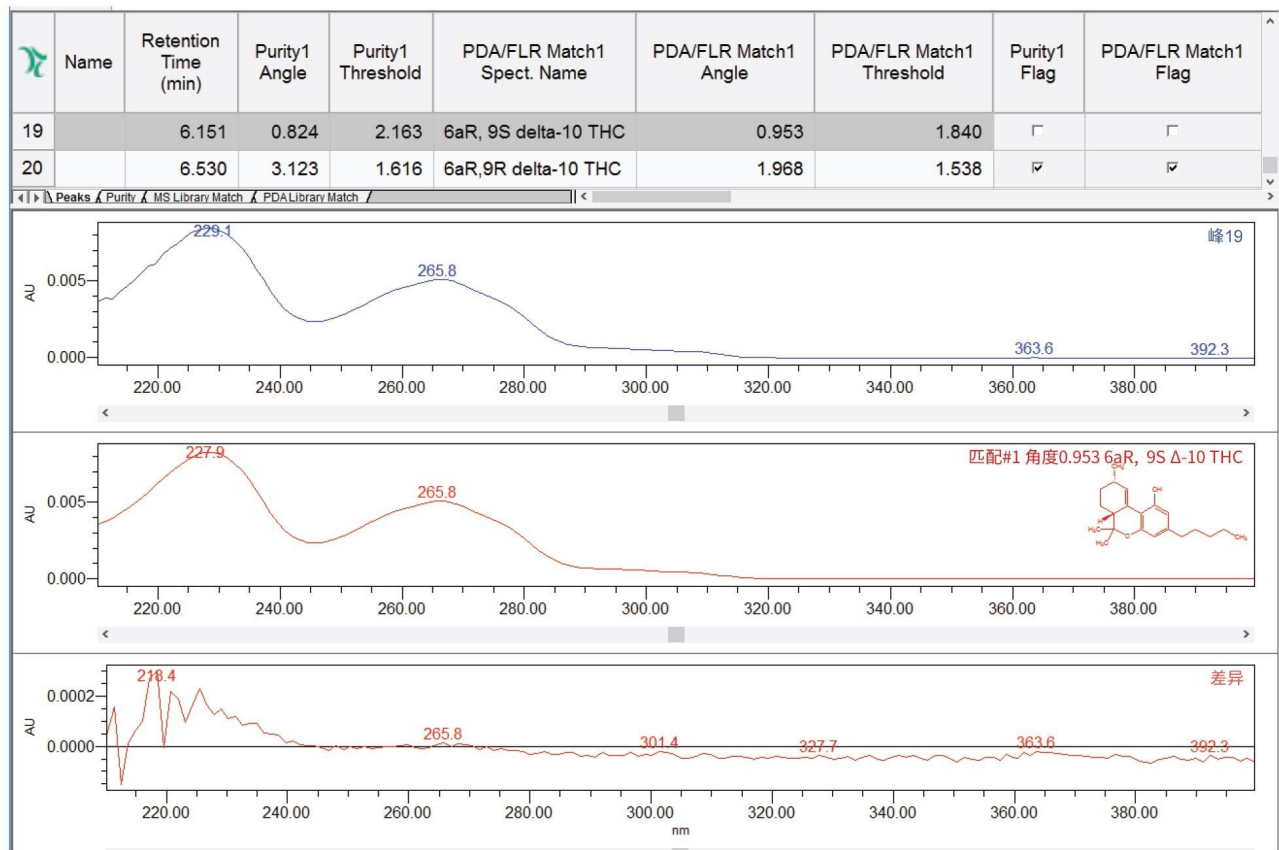


图7. PDA三重图显示了 t_R 6.151分钟和6.530分钟处未知物的谱库匹配结果。还显示了所选未知物的谱图、库推测谱图以及二者之间的对比差异。

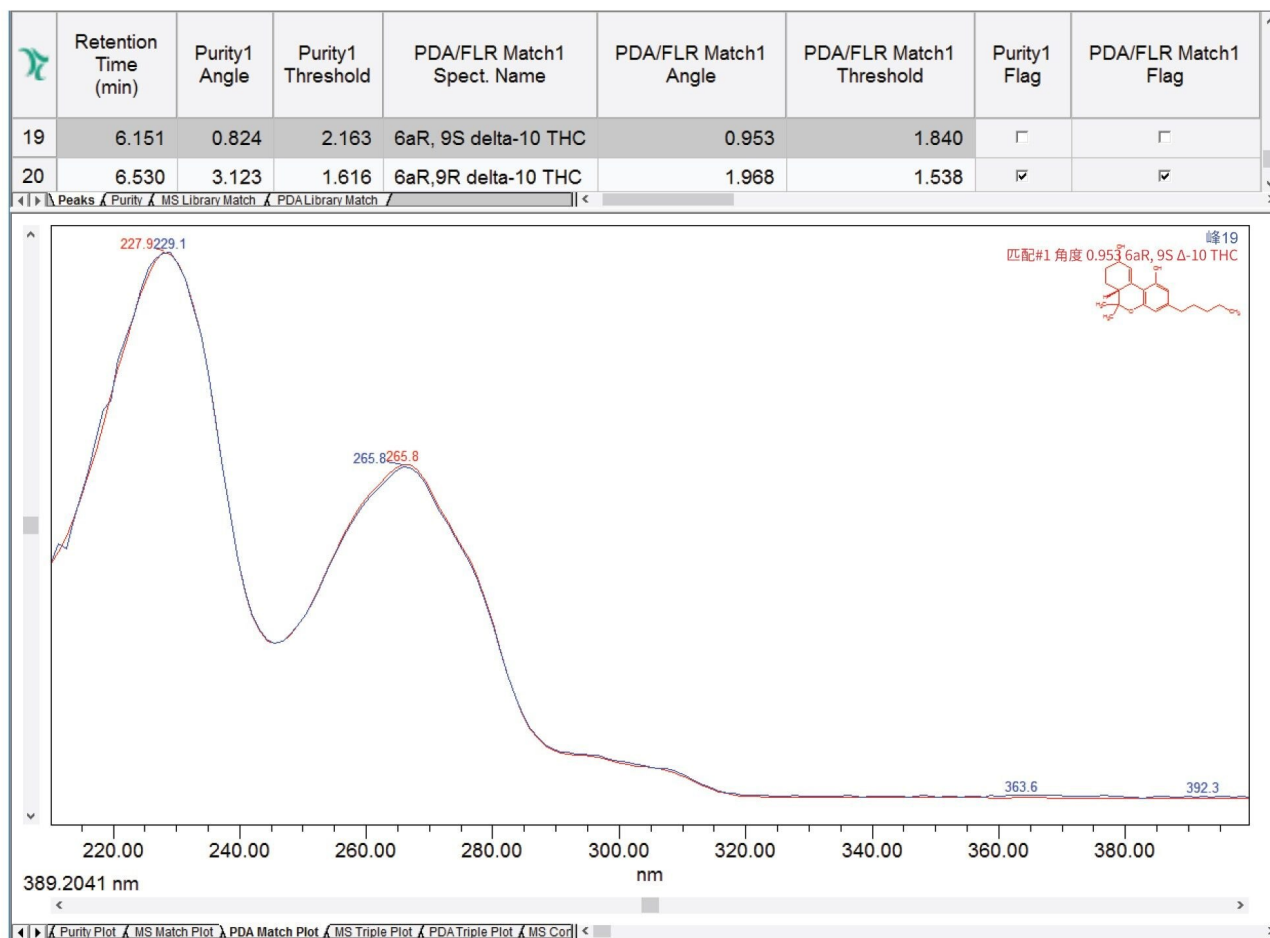


图8.PDA匹配图显示 t_R 6.151分钟处未知物的叠加谱图和最接近的谱库匹配结果。

峰纯度

纯度图可用于评估共洗脱组分¹⁴⁻¹⁵。本研究评估了积分峰上的每个谱图。在纯度图（图9）中，纯度1角度大于纯度1阈值，表明存在杂质。用字母M注释的垂直线表示峰中纯度角/纯度阈值之比最大值的点。在本例中为峰的前沿。

(6aR,9S)- Δ^{10} -THC和(6aR,9R)- Δ^{10} -THC的确证标准品与馏出物样品中的未知成分的 t_R 和UV谱图对比显示出密切的相似性，进一步提高了鉴定结果的可信度。

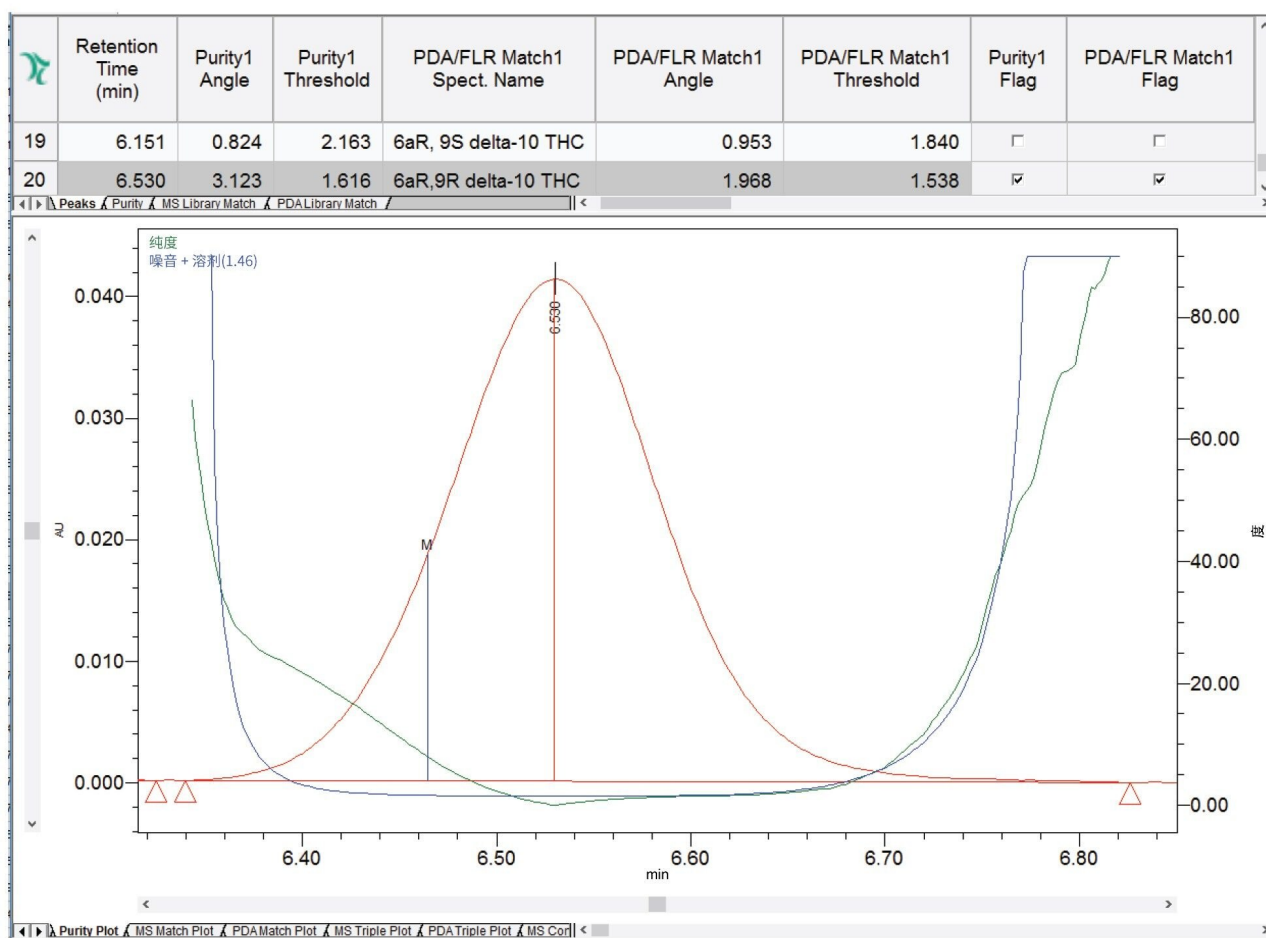


图9. t_R 6.530分钟处未知物的纯度图

源内碎裂

MS数据进一步提高了组分鉴定的可信度。母离子和子离子数据经常一起使用，以进一步提高未知物鉴定的可信度。使用单四极杆质谱仪的源内碎裂实验可以提供额外的结构信息。然而，与串联质谱仪不同，这种碎裂模式是非特异性的，如果发生化合物共洗脱，可能会得到包含多个组分的结果。

该方法可以配置为在两个不同的锥孔电压下使用两个MS扫描功能通道同时采集数据：低值(15 V)和高值(45 V)。由于离子加速并与气态物质（包括脱溶剂气和溶剂蒸气）碰撞，高锥孔电压功能通道会导致碎裂。

在使用低锥孔电压实验分析馏出物样品期间，观察到峰的母离子 $[M+H]^+$ m/z 315被鉴定为(6aR,9R)- Δ^{10} -THC。在高锥孔电压实验中，观察到几种 m/z 符合典型 Δ^9 -THC及其异构体的子离子，包括 m/z 259、193、135和123。在高

锥孔电压实验中，将(6aR,9R)- Δ^{10} -THC的确证标准品与 t_R 6.530分钟处的样品峰比较发现，二者的碎片离子谱图有很好的 consistency (图10)。

结论

- 在4.0~7.0分钟之间，观察到馏出物样品中有几个基峰为 m/z 315的未鉴定组分洗脱。HPLC-PDA-MS数据表明它们可能是 Δ^9 -THC的结构异构体。
- 我们使用基于PDA谱图匹配来分配化合物的大麻素PDA谱库，对未知组分进行了初步鉴定。
- 纯度图可用于评估峰纯度，表明存在共洗脱组分。
- 我们使用(6aR,9S)- Δ^{10} -THC和(6aR,9R)- Δ^{10} -THC确证标准品确认了基于 t_R 、母离子和子离子的鉴定结果。
- 在馏出物样品中检测到多种未知组分。我们有必要对具有未知生物活性或毒理学数据的组分进行表征，这对于增进理解和确保消费者安全至关重要。

参考资料

1. Erickson, BE.(2021).C&En News.99(31)."Delta-8-THC Craze Concerns Chemists - cen.acs.org."30 Aug. 2021, <https://cen.acs.org/biological-chemistry/natural-products/Delta-8-THC-craze-concerns-chemists/99/i31> <<https://cen.acs.org/biological-chemistry/natural-products/Delta-8-THC-craze-concerns-chemists/99/i31>> .
2. Hudalla, C. (2021). "We Believe in Unicorns (and Delta-8)" .The Cannabis Scientist. <https://thecannabisscientist.com/testing-processing/we-believe-in-unicorns-and-delta-8> <<https://thecannabisscientist.com/testing-processing/we-believe-in-unicorns-and-delta-8>> .
3. Webster, GRB., Sarna, LP., Mechoulam, R. US Patent Application Publication.Pub. <https://patents.google.com/patent/US20040143126A1/en> <<https://patents.google.com/patent/US20040143126A1/en>> .

4. Golombek, P., *et al.* (2020). "Conversion of Cannabidiol (CBD) into Psychotropic Cannabinoids Including Tetrahydrocannabinol (THC): A Controversy in the Scientific Literature." *Toxics* 8(2).
 5. Kiselak, T. D., *et al.* (2020). "Synthetic Route Sourcing of Illicit At Home Cannabidiol (CBD) Isomerization to Psychoactive Cannabinoids Using Ion Mobility-Coupled-LC-MS/MS." *Forensic Sci Int* 308: 110173.
 6. Meehan-Atrash, J., and I. Rahman (2022). "Novel Δ 8-Tetrahydrocannabinol Vaporizers Contain Unlabeled Adulterants, Unintended Byproducts of Chemical Synthesis, and Heavy Metals." *Chemical Research in Toxicology* 35(1): 73–76.
 7. Watanabe, K., *et al.* (2007). "Conversion of Cannabidiol to Δ 9-Tetrahydrocannabinol and Related Cannabinoids in artificial gastric juice, and their pharmacological effects in mice." *Forensic Toxicology* 25(1): 16–21.
 8. Helander, A., *et al.* (2022). "Analytical and medico-legal problems linked to the presence of delta-8-tetrahydrocannabinol (delta-8-THC): Results from urine drug testing in Sweden." *Drug Testing and Analysis* 14(2): 371–376.
 9. Gorenstein, MV., Li, JB., Van Antwerp, J., Chapman, D., Detecting Coeluting Impurities by Spectral Comparison. <https://www.waters.com/webassets/other/SpectralContrastAlgorithm.PDF> <
<https://www.waters.com/webassets/other/SpectralContrastAlgorithm.PDF>> .
 10. Lander, N., [Get Empowered: Creating, Searching, and Restoring UV Libraries | Tip #144, Creating a UV Library - Waters](https://blog.waters.com/get-empowered-creating-searching-and-restoring-uv-libraries-tip-144-creating-a-uv-library) <<https://blog.waters.com/get-empowered-creating-searching-and-restoring-uv-libraries-tip-144-creating-a-uv-library>> .
 11. Lander, N., [Get Empowered: Creating, Searching, and Restoring UV Libraries | Tip #145, Manually Searching a UV Library - Waters](https://blog.waters.com/get-empowered-creating-searching-and-restoring-uv-libraries-tip-145-manually-searching-a-uv-library) <<https://blog.waters.com/get-empowered-creating-searching-and-restoring-uv-libraries-tip-145-manually-searching-a-uv-library>> .
 12. Lander, N., [Get Empowered: Creating, Searching, and Restoring UV Libraries | Tip #146, Performing an Automated Search in a UV Library - Waters](https://blog.waters.com/get-empowered-creating-searching-and-restoring-uv-libraries-tip-146-performing-an-automated-search-in-a-uv-library) <<https://blog.waters.com/get-empowered-creating-searching-and-restoring-uv-libraries-tip-146-performing-an-automated-search-in-a-uv-library>> .
 13. Lander, N., [Get Empowered: Creating, Searching, and Restoring UV Libraries | Tip #147, Back up and Restore PDA Libraries - Waters](https://blog.waters.com/get-empowered-creating-searching-and-restore-pda-libraries) <[https://blog.waters.com/get-empowered-creating-searching-and-](https://blog.waters.com/get-empowered-creating-searching-and-restore-pda-libraries)
-

[restoring-uv-libraries-tip-147-back-up-and-restore-pda-libraries](#)> .

14. Lander, N., [Get Empowered: Tip #251 | Peak Purity - Waters](https://blog.waters.com/empower-251-peak-purity?preview_id=11242) <https://blog.waters.com/empower-251-peak-purity?preview_id=11242> .

15. Lander, N., [The Math Behind Peak Purity Calculations | Waters Blog](https://blog.waters.com/empower-252-peak-purity?preview_id=11295) <https://blog.waters.com/empower-252-peak-purity?preview_id=11295> .

特色产品

[ACQUITY UPLC PDA检测器](https://www.waters.com/514225) <<https://www.waters.com/514225>>

[ACQUITY QDa质谱检测器](https://www.waters.com/134761404) <<https://www.waters.com/134761404>>

[Empower色谱数据系统](https://www.waters.com/10190669) <<https://www.waters.com/10190669>>

720007692ZH, 2022年8月

© 2022 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie](#) [设置](#)

沪 ICP 备06003546号-2

京公网安备 31011502007476号