

# 使用非靶向筛查和高分辨率质谱法表征 $\Delta^8$ -THC馏出物

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

Waters Corporation

## 摘要

$\Delta^8$ -四氢大麻酚( $\Delta^8$ -THC)的使用在美国引起了消费者安全问题。 $\Delta^9$ -四氢大麻酚( $\Delta^9$ -THC)是大麻植物中的主要致幻成分，它的异构体 $\Delta^8$ -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。含有 $\Delta^8$ -THC的产品是由工业大麻衍生大麻二酚(CBD)经化学转化为 $\Delta^8$ -THC制成的，《2018年美国农业法案》(2018 US Farm Bill)对大麻二酚进行了定义并将其合法化。由于尚无明确法规监管工业大麻衍生合成组分的使用，这为 $\Delta^8$ -THC创造了一个不断增长的市场。将CBD转化为 $\Delta^8$ -THC通常需要严苛的条件，会产生反应副产物。本研究介绍了使用非靶向筛查和高分辨率质谱(HRMS)表征 $\Delta^8$ -THC馏出物的工作流程。使用现有确证标准品生成大麻素数据库，包括精确质量数碎片以及保留时间等其他特性，并通过这些特性鉴定目标组分。通过UV法测得馏出物样品的纯度为79.0%~93.6%。在UV数据中检测到几个未知峰。UV谱图表明，馏出物中的未知成分与主要化合物 $\Delta^8$ -THC之间可能存在结构相似性。在HRMS分析期间，软件突出显示了 $m/z$  315.2318作为几种未知物的基峰，推测的元素组成为 $C_{21}H_{30}O_2$ 。碎片数据表明，这些成分与 $C_{21}$ 中性大麻素（包括 $\Delta^9$ -THC）具有相同的结构特征。在纯化的馏出物中也观察到一种氯化成分（推测的元素组成为 $C_{21}H_{31}ClO_2$ ）和许多 $\Delta^9$ -THC异构体的共有碎片离子。

## 优势

- 使用同时采集精确质量数母离子和子离子数据的分析解决方案，并结合化合物数据库增强对已知组分和新组分结果的信心，从而增强对化合物鉴定的信心
- 可使用结构解析工具（例如共有碎片离子搜索）鉴定结构相关组分

---

## 简介

$\Delta^8$ -THC在消费品中的使用迅速增加，在美国已成为一个备受关注的安全问题<sup>1-4</sup>。 $\Delta^9$ -THC是在大麻植物中引起兴奋效果的主要化合物，当含量超过0.3%（联邦《受控物质法案》(Controlled Substances Act)中对大麻的合法定义）时受到管制。 $\Delta^8$ -THC是 $\Delta^9$ -THC的双键异构体，同样能引起兴奋作用，在大麻植物中以痕量水平天然存在<sup>5-7</sup>。但最近有大量的 $\Delta^8$ -THC是由大麻衍生的CBD（<0.3%  $\Delta^9$ -THC，美国/加拿大）制成的，许多生产者根据《2018年农业改进法案》（通常称为《2018年农业法案》）认为CBD是合法的<sup>8</sup>。由于尚无明确法规监管工业大麻衍生合成组分的使用，这为 $\Delta^8$ -THC的生产和使用创造了一个不断增长的市场。由于有报告称多种不良反应与 $\Delta^8$ -THC直接相关， $\Delta^8$ -THC的使用增加导致CDA和FDA均发出警告<sup>3,4</sup>。CBD转化为 $\Delta^8$ -THC所需的条件可能导致产生多种反应副产物，需要表征这些副产物以进一步了解所产生成分的化学性质<sup>9-13</sup>。

本研究除了采用PDA检测外，还将使用由超高效液相色谱(UPLC)和高分辨率飞行时间质谱(ToF-MS)进行非靶向分析所得的数据来展示测定 $\Delta^8$ -THC馏出物中组分的工作流程。利用内部大麻素参考数据库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。质谱信息根据已知组分的化学结构进行预测，并由分析现有确证参比标准品生成的实验数据提供支持。数据库包括分子离子([M+H]<sup>+</sup>)、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。然后，使用其他软件工具（包括共有碎片离子搜索）评估来自剩余组分的数据。

---

## 实验

### 样品制备

将确证大麻素混标依次用乙腈稀释至浓度100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。用玻璃闪烁瓶称取馏出物样品，溶解，用乙腈稀释至浓度1  $\text{mg}/\text{mL}$ 以备进样。

### 方法条件

液相色谱系统：ACQUITY UPLC I-Class PLUS

检测：Xevo G3 QToF质谱仪

样品瓶:	玻璃自动进样器样品瓶(P/N: 186002802), 用聚乙烯盖密封(P/N: 186005826)
色谱柱:	CORTECS C <sub>18</sub> , 2.1 x 100 mm, 1.6 μm (P/N: 186007095)
柱温:	25 °C
样品温度:	8 °C
进样体积:	0.5 μL
流速:	0.560 mL/min
流动相A:	0.1%甲酸水溶液
流动相B:	0.1%甲酸的乙腈溶液

## 梯度表

时间 (min)	流速 (mL/min)	%A	%B	曲线
0.0	0.56	29	71	-
6.0	0.56	29	71	6
7.0	0.56	1.0	99	6
8.0	0.56	1.0	99	6
8.1	0.56	29	71	1

## 质谱条件

质谱系统:	Xevo G3 QToF质谱仪
-------	-----------------

电离模式:	ESI+
采集范围:	50–1200 Da, 0.1 s
毛细管电压:	1.0 kV
锥孔电压:	15 V
碰撞能量(CE):	低CE: 4 eV; 高CE: 15-45 eV梯度
脱溶剂气温度:	450 °C
离子源温度:	100 °C
脱溶剂气流速:	1000 (L/h)
锥孔气流速:	100 (L/h)
实时校正参比化合物:	亮氨酸脑啡肽, 200 ng/mL

## 数据管理

信息学软件: UNIFI™应用程序

利用数据非依赖型采集模式（称为MS<sup>E</sup>）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<sup>14</sup>。当使用多种属性（即保留时间、精确质量数、预期碎片离子）搜索化合物数据库中的条目时，假阳性结果发生率显著降低，大幅提高了鉴定的可信度。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。可以在软件中导入数据，再转换为数据库。在文献中发现的其他化合物结构（没有可用的参比标准品）也被添加到数据库中<sup>9-12</sup>。Δ<sup>8</sup>-THC的数据库条目如图1所示<sup>15</sup>。

Scientific Library

Home > Manage Library Items > Library Item Editor

Results

Search results (134 items fou...)

delta 8-THC [200121\_Cannabinoids]

Tools

Property Value

Item type Compound

Item description

IUPAC name

Formula C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>

Hill formula C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>

Average molar mass 314.4617

Monoisotopic mass 314.2246

Item tag

<sup>15</sup>C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>/  
c1=5-6-7-8-15-12-18(22)  
30.36.11.14(20.10.17(16))

Chemical structure: CC1=C(C)C=CC2=C1OC(=O)C=C2CCCC

Detection results

Add Edit Delete

Priority	Formula	Neutral Mass (Da)	Adduct	Charge	Fragmentation type	Expected m/z	Expected RT (min)	Ionization technique	Detail type	Expected CCS (Å <sup>2</sup> )	Observer
Detection result											
1		314.22458	+H	+1	None	315.23186	3.270	ESI+	MSe		
2					CID	193.12231	3.270	ESI+	MSe		
3					CID	259.16926	3.270	ESI+	MSe		
4					CID	135.11683	3.270	ESI+	MSe		
5					CID	123.04406	3.270	ESI+	MSe		
6					CID	93.06990	3.270	ESI+	MSe		

图1.  $\Delta^8$ -THC的数据库条目示例，显示了母离子和碎片离子的预期 $m/z$ 、加合物和保留时间。

## 结果与讨论

### $\Delta^8$ -THC馏出物样品A的分析

图3A所示色谱图为使用PDA在228 nm处检测的8种大麻素异构体（图2）确证混标的分离结果。

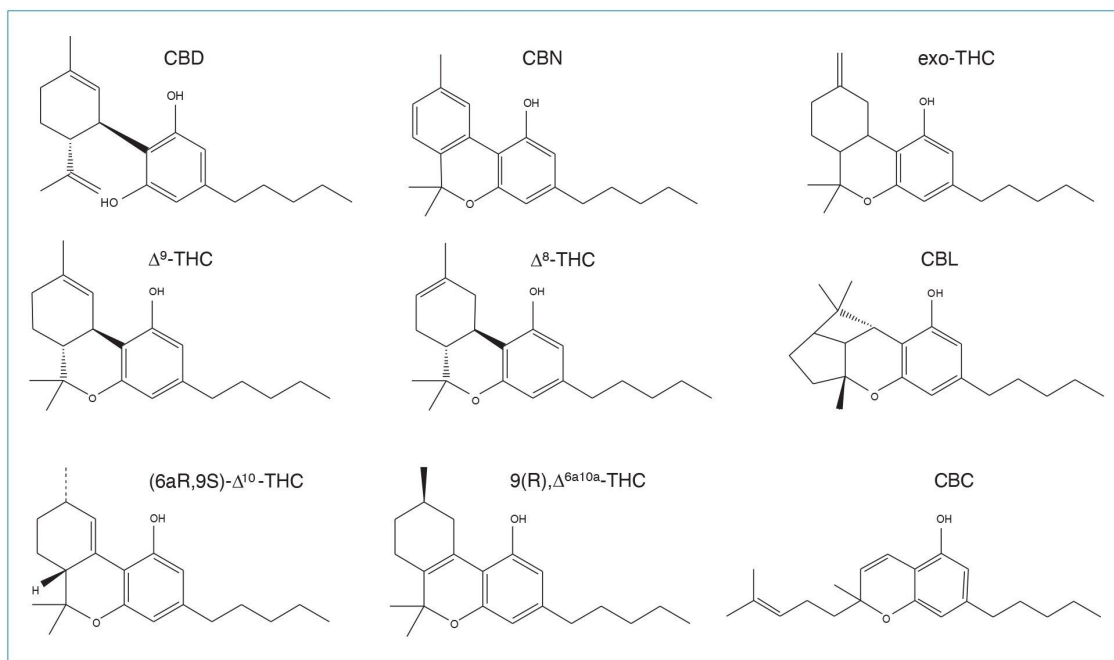


图2.研究期间使用或鉴定的大麻素结构

在PDA数据中，通过保留时间( $t_R$ )和谱图匹配在 $\Delta^8$ -THC馏出物样品中检出了 $\Delta^9$ -THC、exo-THC和 $\Delta^8$ -THC。在UV数据中检出几种未知组分，峰面积%值明显超过0.1%（图3A和3B）。使用HRMS数据对PDA中检出的未知组分进行的调查显示，基峰为315.2318  $m/z$ 的多种组分均在3.28分钟处 $\Delta^8$ -THC主峰前的区域中洗脱（图3B）。

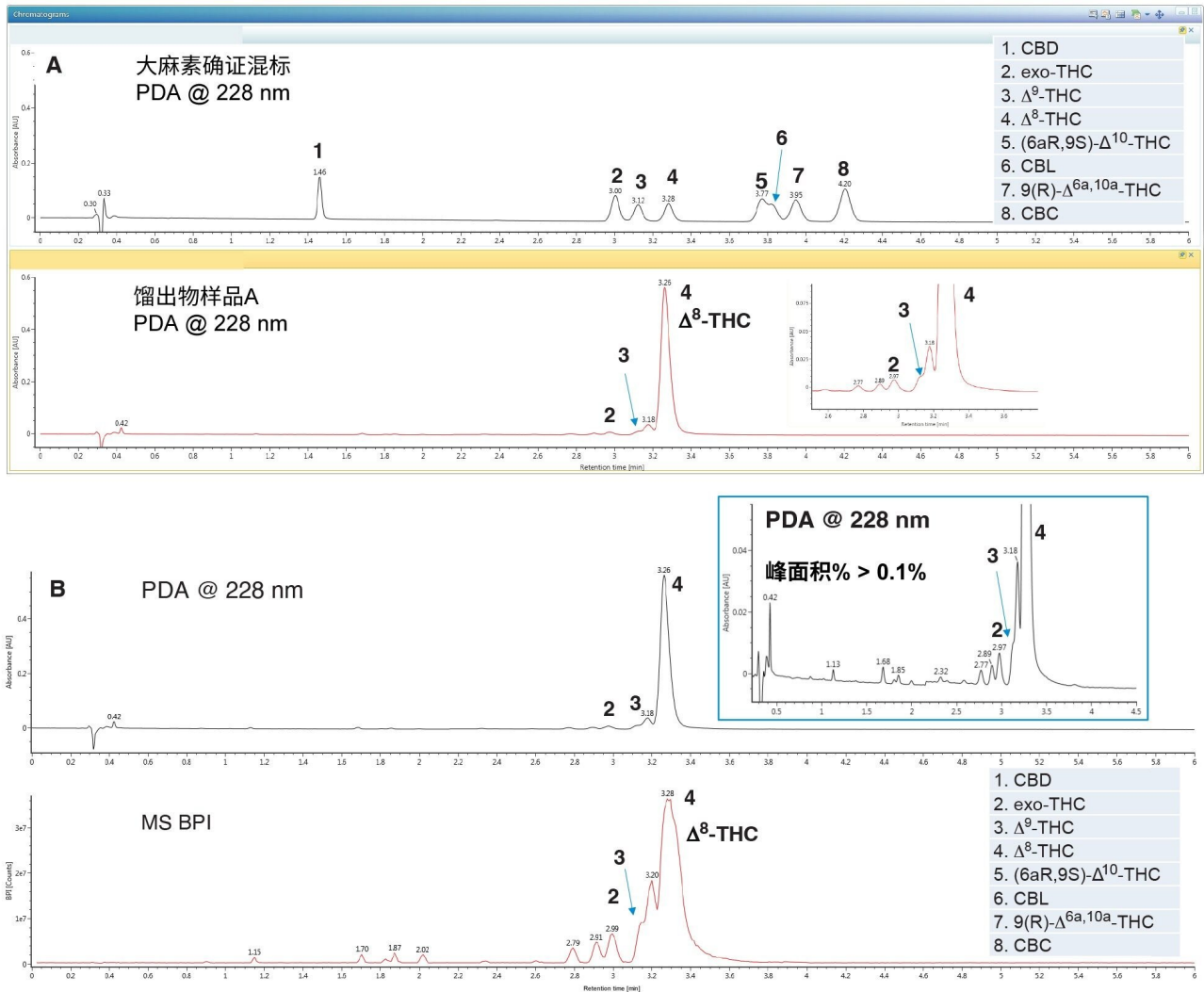


图3A.在228 nm波长下检测8种大麻素异构体确证混标（上图，100 mg/mL，0.5 mL）和 $\Delta^8$ -THC馏出物样品A（下图，1 mg/mL，0.5 mL）的PDA色谱图。可以根据 $t_R$ 鉴定出样品中的三种组分；

图3B.显示了UV基线放大视图的228 nm波长下的PDA色谱图（上图）和MS BPI（下图）。

利用内部大麻素参考数据库为馏出物样品中检出的化合物分配推断性鉴定结果。使用结构解析工具评估在PDA和质谱(MS)数据中查见的未知主要组分。

除了 $\Delta^9$ -THC、exo-THC和 $\Delta^8$ -THC外，还在馏出物样品中鉴定出CBN和CBD，可以使用MS数据库中的 $t_R$ 、母离子和碎片离子信息验证这两种组分（图4，表格）。自定义工作流程如图中左侧所示。工作流程项目可以按顺序排列，有助于数据审查。选择Identified Components（已鉴定组分）步骤，将自动显示组分概要表中软件鉴定的所有

数据库组分。组分概要表显示了与已鉴定分析物相关的信息，包括 $m/z$ 、质量数误差、保留时间和检测到的加合物。突出显示的 $\Delta^8$ -THC条目显示了母离子和碎片离子的提取离子流色谱图(XIC)、相关的质量数和UV谱图数据以及结构归属。

UNIFI软件中有一套工具，可以帮助鉴定并解析样品中存在而内部数据库中不有的组分。这些工具包括共有碎片离子、中性丢失和质量数亏损搜索。用户可以在组分概要表中自动标记检测到的具有共同结构特征的未知组分。使用共有碎片离子搜索时，用户可以在处理方法的搜索标准中输入已知碎片离子，以便自动搜索这些共同的结构特征。图5中标记了几种与 $\Delta^9$ -THC及其异构体具有共有碎片离子的组分（蓝色突出显示）。

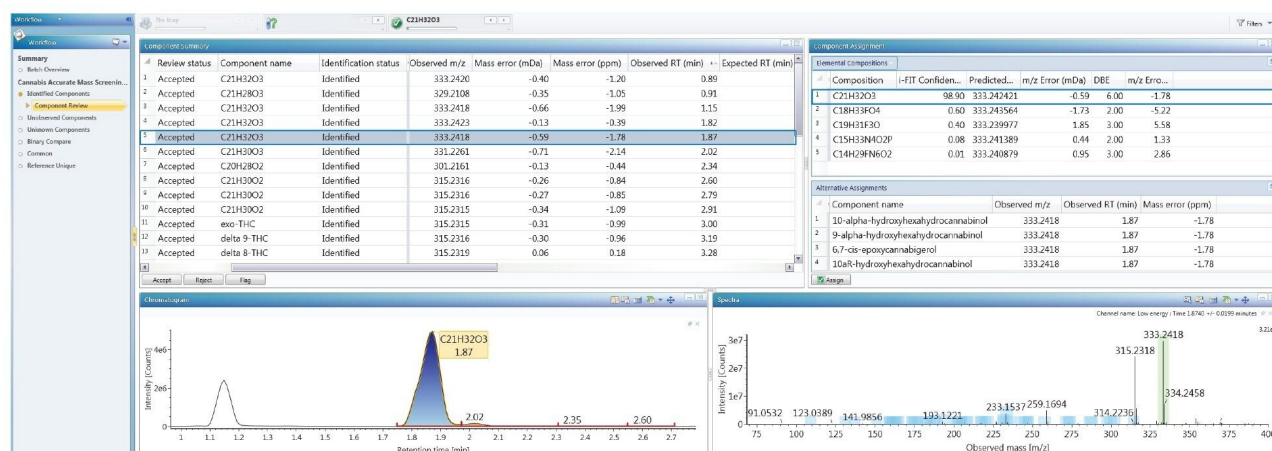


图5.软件标记了具有共有碎片离子的未知组分。右边的谱图窗口显示了2.79分钟处所选未知峰的低CE和高CE碎片离子谱图。

图6显示了在高强度下精确质量数为 $m/z$  315.2318的未知组分的高CE谱图。推测这些未知组分母离子的元素组成均为 $C_{21}H_{30}O_2$ （质量数误差为-0.3 mDa）。此外，将该谱图与 $\Delta^8$ -THC确证标准品的谱图比较时可观察到许多共有碎片离子，表明这些未知组分可能在结构上与标准品相关并且可能是异构体。异构体检测要求更高的色谱分离度，由此提出了一项分析挑战。



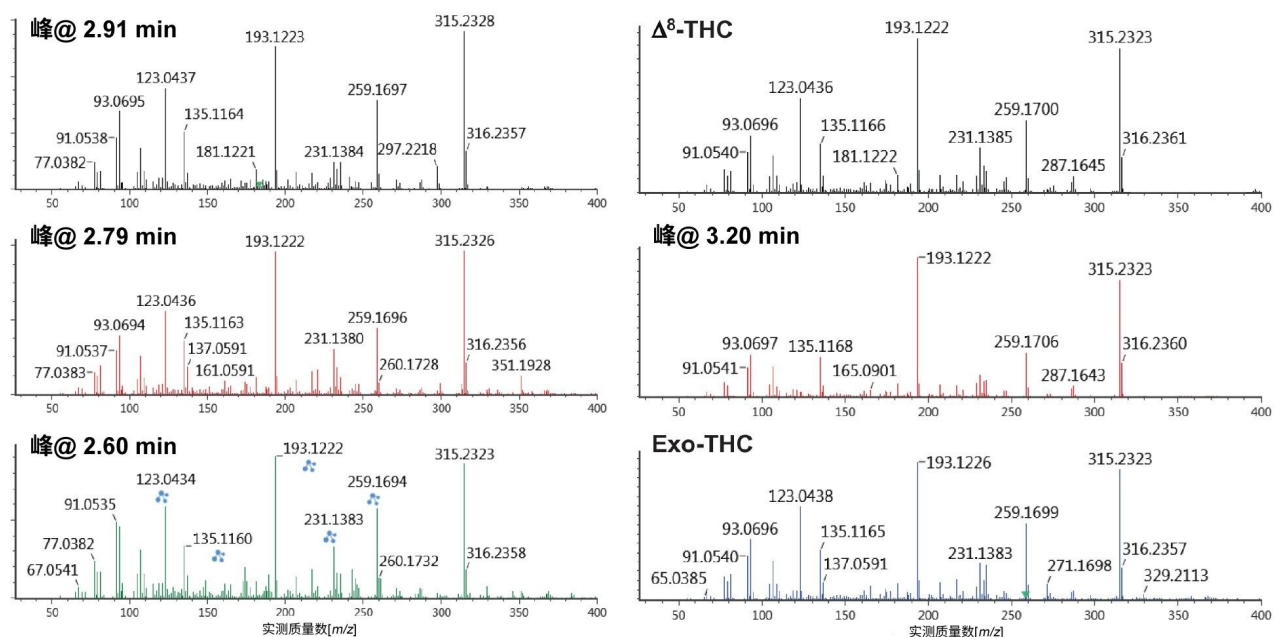


图6.精确质量数为 $m/z$  315.2318的高强度未知组分的高CE谱图。观察到的碎片离子可以与 $\Delta^8$ -THC、 $\Delta^9$ -THC和其他异构体确证标准品的碎片离子相匹配。

数据库中包括基于CBD转化产物的近期出版物中所报告组分的结构.mol文件，有助于初步分配馏出物样品中检出的未知组分<sup>9-12</sup>。在0.8和3.0分钟之间洗脱的几个其他高强度未知峰的推测元素组成可以与最近期刊文章中所报告组分的元素组成和碎片离子相匹配。数据库根据分析数据对每种组分提出了备选分配，但未提供确证标准品用于确认（图7）。

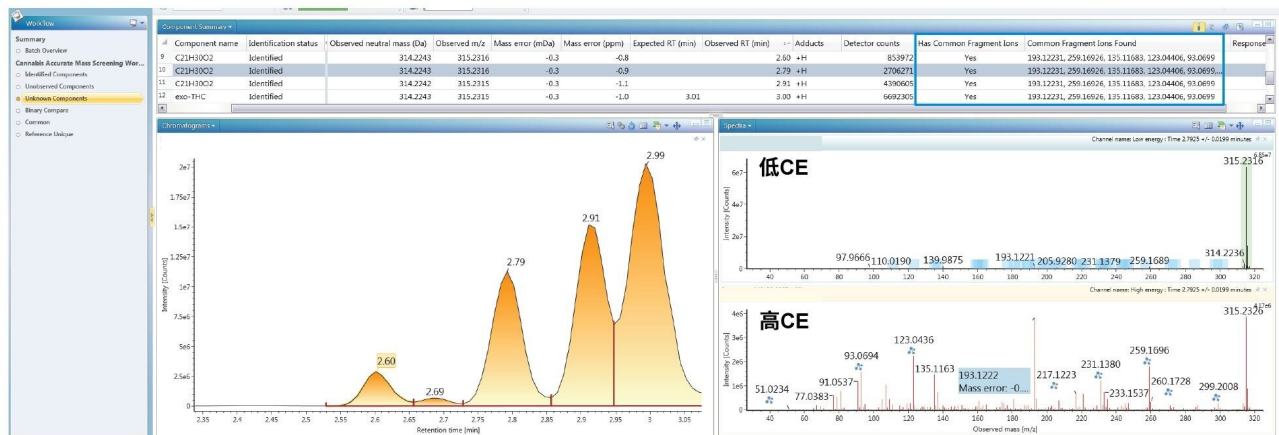


图7.数据库中鉴定的高强度组分概要（顶部表格），可能分配了初步元素组成。

## Δ8-THC馏出物样品B的分析

在馏出物样品B中，通过PDA检测在228 nm波长下鉴定出两种主要组分。馏出物样品中的主要组分经鉴定为Δ<sup>8</sup>-THC， $t_R$ 为3.27分钟，纯度79%。在PDA数据中还观察到一种组分， $t_R$ 为3.10分钟，峰面积%为19.4%（图8）。该未知组分的UV谱图与Δ<sup>8</sup>-THC相匹配，洗脱时间接近Δ<sup>9</sup>-THC确证标准品的 $t_R$ 。

在MS数据中，未知组分的基峰 $m/z$ 为351.2080（图9）。值得注意的是，观察到的同位素模式表明化学结构中含有氯元素。软件还标记了Δ<sup>9</sup>-THC及其异构体的共有碎片离子。未知组分的推测元素组成为C<sub>21</sub>H<sub>31</sub>ClO<sub>2</sub>（质量数误差为-0.49 mDa），iFit置信度为99.7%，表明实测同位素模式和理论同位素模式之间的一致性（图10）。

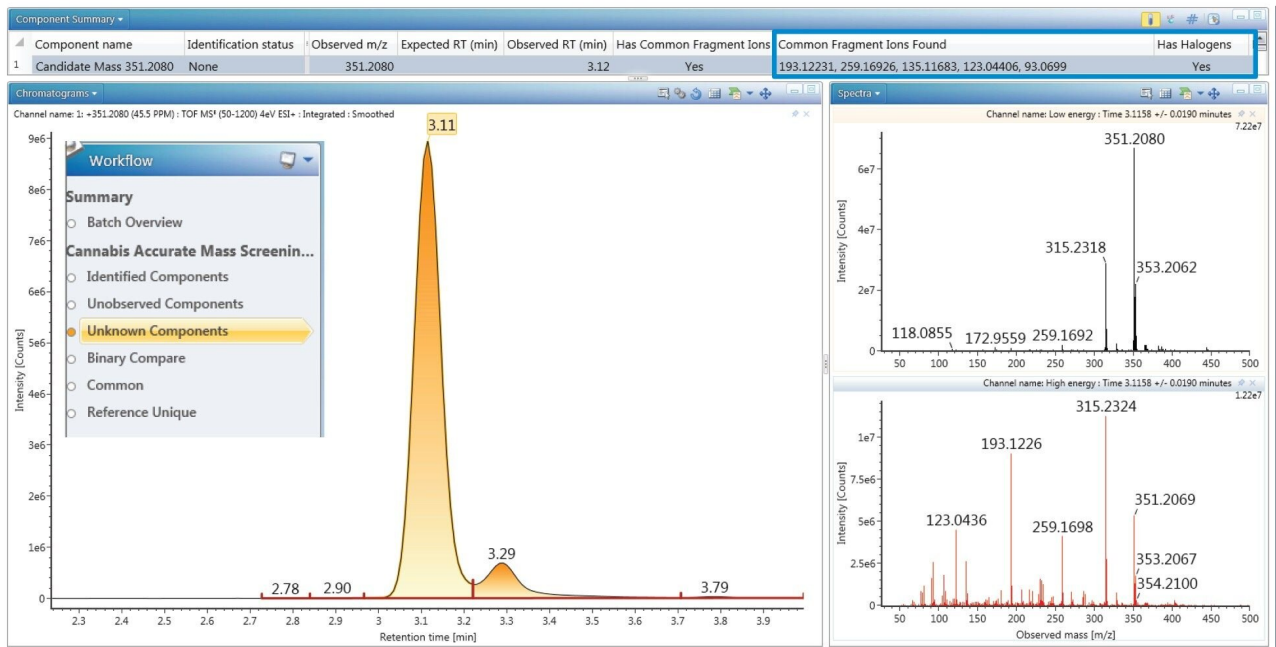


图9.  $t_R$  3.11分钟处的未知组分， $m/z$  351.2080（顶部表格），软件标记了共有碎片离子和卤素。左边是 $m/z$  351.2080的XIC。右边是高CE和低CE谱图。

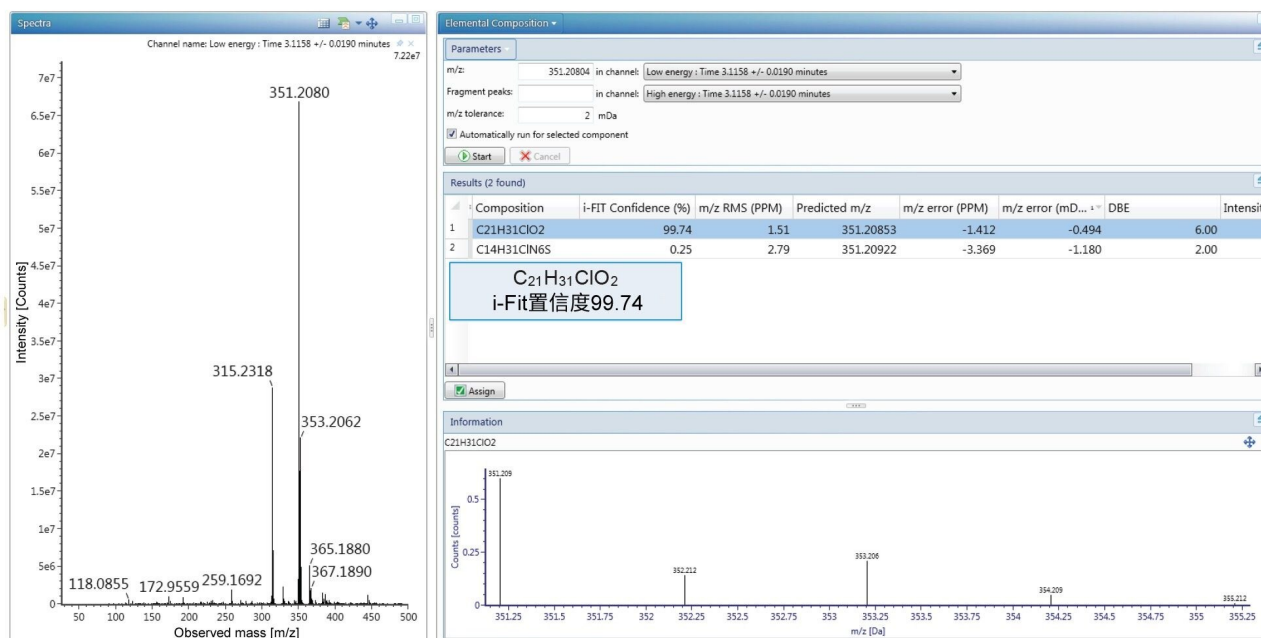
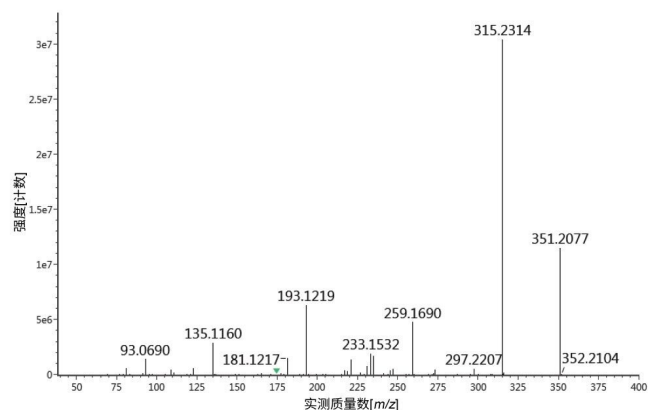


图10.  $m/z$  351.2080的未知组分的推测元素组成为 $C_{21}H_{31}ClO_2$  (质量数误差为 $-0.49 mDa$ )。

使用1 Da四极杆窗口进行了确证性靶向串联质谱(MS/MS)实验，确保碎片离子不是同位素，并且源自 $m/z$  351 (图11A)。此外，还使用了第二个四极杆分辨率设置以通过Cl-37 (图11B)。两次MS/MS实验均证实，在最初的高CE碎片离子分析中观察到的碎片离子相同 (图9)。

MS/MS 351.20四极杆分辨率A



MS/MS 351.20四极杆分辨率B

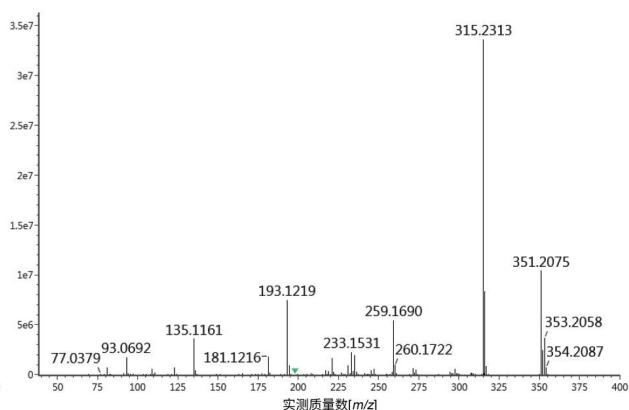


图11.  $m/z$  351.2080的靶向MS/MS，具有两个四极杆分辨率设置。

这些数据表明未知物为单氯化结构，与 $\Delta^9$ -THC异构体结构相似。之前曾报告过CBD和 $\Delta^9$ -THC的单卤化和双卤化衍生物，尽管观察到的 $m/z$ 和推测元素组成不支持检测单氯化CBD或 $\Delta^9$ -THC（元素组成为 $C_{21}H_{29}ClO_2$ ）<sup>16-18</sup>。

## 结论

使用化合物数据库鉴定出几种已知的大麻素，该化合物库基于多种特征，包括 $t_R$ 、母离子质量数、碎片离子和同位素模式，对化合物分配有很大的帮助。

使用非靶向筛查方法在馏出物样品中检出具有明显的 $m/z$  315.2318峰，推测的元素组成为 $C_{21}H_{30}O_2$ 的几种未知组分。包括共有碎片离子在内的分析结果表明它们是 $\Delta^9$ -THC的潜在结构异构体。

由228 nm波长下的UV信号得出，峰面积%的范围为0.13%~4.9%。UNIFI通过结构解析工具包帮助鉴定数据库中不存在的未知组分，这些工具包括共有碎片离子、中性丢失和质量数亏损搜索。这些搜索功能可轻松筛选出结构相似的组分。

在馏出物样品B中检出PDA谱图峰面积%为19.4%的未知组分，推测的元素组成为 $C_{21}H_{31}ClO_2$ ，碎片离子数据表明该组分与 $\Delta^9$ -THC及其异构体结构相似。馏出物B的纯度低于80%。

使用非靶向筛查方法在馏出物中检出多种未知组分。未知组分的发现和表征对于进一步了解复杂化学成分并确保

消费品安全非常重要。

使用UPLC-QToF-MS分析馏出物样品能够深入了解元素组成和其他结构信息，有助于更深入地了解未鉴定组分和已知组分之间的结构关系。

---

## 参考资料

1. Erickson BE.(2021). “Delta-8-THC craze concerns chemists.” C&EnNews.99(31).  
<https://cen.acs.org/biological-chemistry/natural-products/Delta-8-THC-craze-concerns/99/i31> <  
<https://cen.acs.org/biological-chemistry/natural-products/Delta-8-THC-craze-concerns/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. Increases in Availability of Cannabis Products Containing Delta-8 THC and Reported Cases of Adverse Events.<https://emergency.cdc.gov/han/2021/han00451.asp> <  
<https://emergency.cdc.gov/han/2021/han00451.asp>> [accessed on August 9th, 2022].
4. 5 Things to Know about Delta-8 Tetrahydrocannabinol – Delta-8 THC.  
<https://www.fda.gov/consumers/consumer-updates/5-things-know-about-delta-8-tetrahydrocannabinol-delta-8-thc> <<https://www.fda.gov/consumers/consumer-updates/5-things-know-about-delta-8-tetrahydrocannabinol-delta-8-thc>> [accessed on August 9th, 2022].
5. Adams, R. (1942). "Marihuana: Harvey Lecture, February 19, 1942." *Bulletin of the NY Academy of Medicine*, 18(11): 705-730.
6. Tagen, M. and L. E. Klumpers (2022). "Review of delta-8-tetrahydrocannabinol ( $\Delta^8$ -THC): Comparative pharmacology with  $\Delta^9$ -THC." *British Journal of Pharmacology* n/a(n/a).
7. Babalonis, S., et al.(2021). " $\Delta^8$ -THC: Legal Status, Widespread Availability, and Safety Concerns." *Cannabis and Cannabinoid Research* 6(5): 362–365.
8. Agriculture Improvement Act of 2018 <<https://www.congress.gov/bill/115th-congress/house-bill/2>>

H.R.2, 115th Cong. (2017–2018).

9. Golombek, P., *et al.* (2020). "Conversion of Cannabidiol (CBD) into Psychotropic Cannabinoids Including Tetrahydrocannabinol (THC): A Controversy in the Scientific Literature." *Toxics* 8(2).
10. 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.
11. Watanabe, K., *et al.* (2007). "Conversion of cannabidiol to  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol and related cannabinoids in artificial gastric juice, and their pharmacological effects in mice." *Forensic Toxicology*, 25(1): 16–21.
12. Meehan-Atrash, J. and I. Rahman (2022). "Novel  $\Delta^8$ -Tetrahydrocannabinol Vaporizers Contain Unlabeled Adulterants, Unintended Byproducts of Chemical Synthesis, and Heavy Metals." *Chemical Research in Toxicology* 35(1): 73–76.
13. Webster GRB, Sarna, LP, Mechoulam. US Patent Application Publication. Pub.Np.:  
<https://patentimages.storage.googleapis.com/ed/9f/1b/58e43cc4792306/US20040143126A1.pdf>.
14. An overview of the principles of MS<sup>E</sup>, the engine that drives MS performance. Waters White Paper, 720004036EN <<https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720004036en.pdf>> .
15. ElSohly MA, Radwan MM, Gul W, Chandra S, Galal A. 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.
16. Usami, N., *et al.* (1998). "Synthesis and Pharmacological Activities in Mice of Halogenated delta -9 Tetrahydrocannabinol Derivatives." *CHEMICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN* 46(9): 1462–1467.
17. Usami, N., *et al.* (1999). "Synthesis and Pharmacological Evaluation in Mice of Halogenated Cannabidiol Derivatives." *CHEMICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN* 47(11): 1641–1645.
18. Morales, P., *et al.* (2017). "An Overview on Medicinal Chemistry of Synthetic and Natural Derivatives of Cannabidiol." *Frontiers in Pharmacology* 8.

---

## 特色产品

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

[Xevo G3 QToF </nextgen/cn/zh/products/mass-spectrometry-systems/xevo-g3-qtof.html>](https://www.waters.com/nextgen/cn/zh/products/mass-spectrometry-systems/xevo-g3-qtof.html)

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

[UNIFI科学信息系统 <https://www.waters.com/134801648>](https://www.waters.com/134801648)

720007720ZH, 2022年10月

© 2023 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](#)