

应用纪要

## 在法医毒理学分析中使用UPLC-MS/MS测定毛发中的羧基- $\Delta$ -9-四氢大麻酚(cTHC)

Massimo Gottardi, Francisco Ferron, Robert Lee, Andrea Gardumi, Simone Donzelli, Michelle Wood

Comedical, Waters Corporation



仅适用于法医毒理学应用。

---

## 摘要

本应用简报介绍了一种用于分析毛发中cTHC的稳定UPLC-MS/MS方法，使得常规分析能够满足国际毛发分析协会(Society of Hair Testing, SoHT)指导原则推荐的确认cut-off浓度<sup>1</sup>。

### 优势

用于测定毛发中cTHC的高稳定性、高灵敏度UPLC-MS/MS方法。

---

## 简介

### 背景

过去十年来，在法医毒理学检测中，将毛发作为生物基质的应用越来越广泛。与血液和尿液等传统基质相比，毛发的检测窗口更宽，此外，如果进行分段分析，还能按时间顺序提供数月甚至数年的药物暴露历史。已知人的头发每月生长1 cm左右。药物可通过多种机制进入毛发，包括在毛囊处的供血过程中被动扩散到正在生长的毛发基质中，从汗液或皮脂扩散到毛干中，或者通过外部污染（如烟雾或被污染的手）进入毛发。

毛发采集是一种非侵入性技术，采样过程不涉及类似于尿样采集的隐私和掺假问题，而与血样采集相比，毛发采集不需要由经过医学培训的人员执行。此外，毛发样品易于储存。

大麻是世界上使用最为广泛的管制物质，长期使用可产生依赖性。大麻素是最常检出的违禁药物之一，因此大麻素的分析对于法医检测而言极其重要。 $\Delta$ -9-四氢大麻酚(THC)是大麻植株中存在的主要精神活性成分，可产生一系列代谢物，其中就包括11-去甲-9-羧基- $\Delta$ 9-四氢大麻酚(cTHC)。

为了区分实际摄入大麻与被动暴露于环境中的大麻烟雾，SoHT要求通过测定内源性代谢物cTHC来确认毛发样品中THC的阳性鉴定结果。然而，分析这种代谢物的难度极大，因为其浓度通常低至pg/mg水平，并且可用样品量往往很有限，因此需要高灵敏度的分析技术。

---

## 结果与讨论

从志愿者身上采集对照毛发样品，用二氯甲烷、甲醇和二乙醚进行连续去污处理，然后剪成1~2 mm的小段。

剪碎的毛发在使用前储存于4°C下。M3试剂由Comedical（意大利特伦托）提供。

<http://www.comedical.biz/> <<http://www.comedical.biz/>>

称取对照毛发样品(20 mg)加入带有密封盖的离心管中，并加入浓度为0~10 pg/mg的cTHC。加入内标(80 pg cTHC-d3)以及M3试剂。将样品置于100°C的培养箱中温育60 min，冷却后将整个样品上样到OASIS PRIME HLB 30 mg/小柱（部件号186008055 <[http://www.waters.com/waters/partDetail.htm?partNumber=186008055&locale=en\\_US](http://www.waters.com/waters/partDetail.htm?partNumber=186008055&locale=en_US)>）上。依次使用乙腈溶液和正己烷清洗样品。用乙腈/甲醇(9:1 v/v)洗脱cTHC，挥干溶剂后，将样品复溶于甲醇溶液中，然后转移至Waters全回收样品瓶中。

ACQUITY UPLC I-Class (FTN)系统配备30 µL进样针，可进样15 µL样品；在BEH C<sub>18</sub>色谱柱上使用pH 9.5的氟化铵和甲醇梯度分离cTHC。使用Xevo TQ-S micro质谱仪对cTHC的两个MRM通道进行监测，即 $m/z$  343 > 191（定量离子）和 $m/z$  343 > 245（定性离子）。使用通道  $m/z$  346 > 194对内标(cTHC-d3)进行监测。

对照（空白）毛发萃取物与加标毛发萃取物的对比如图1所示。图中显示了两个样品经平滑处理和积分后的定量离子MRM谱图。加标样品的浓度为0.2 pg/mg，与SoHT推荐的cut-off浓度值一致。0.2 pg/mg cTHC加标毛发样品定量离子和定性离子MRM通道的信噪比（峰到峰）计算结果如图2所示。我们还考察了该方法在0~10 pg/mg范围内的线性，校准曲线和残差图如图3所示。

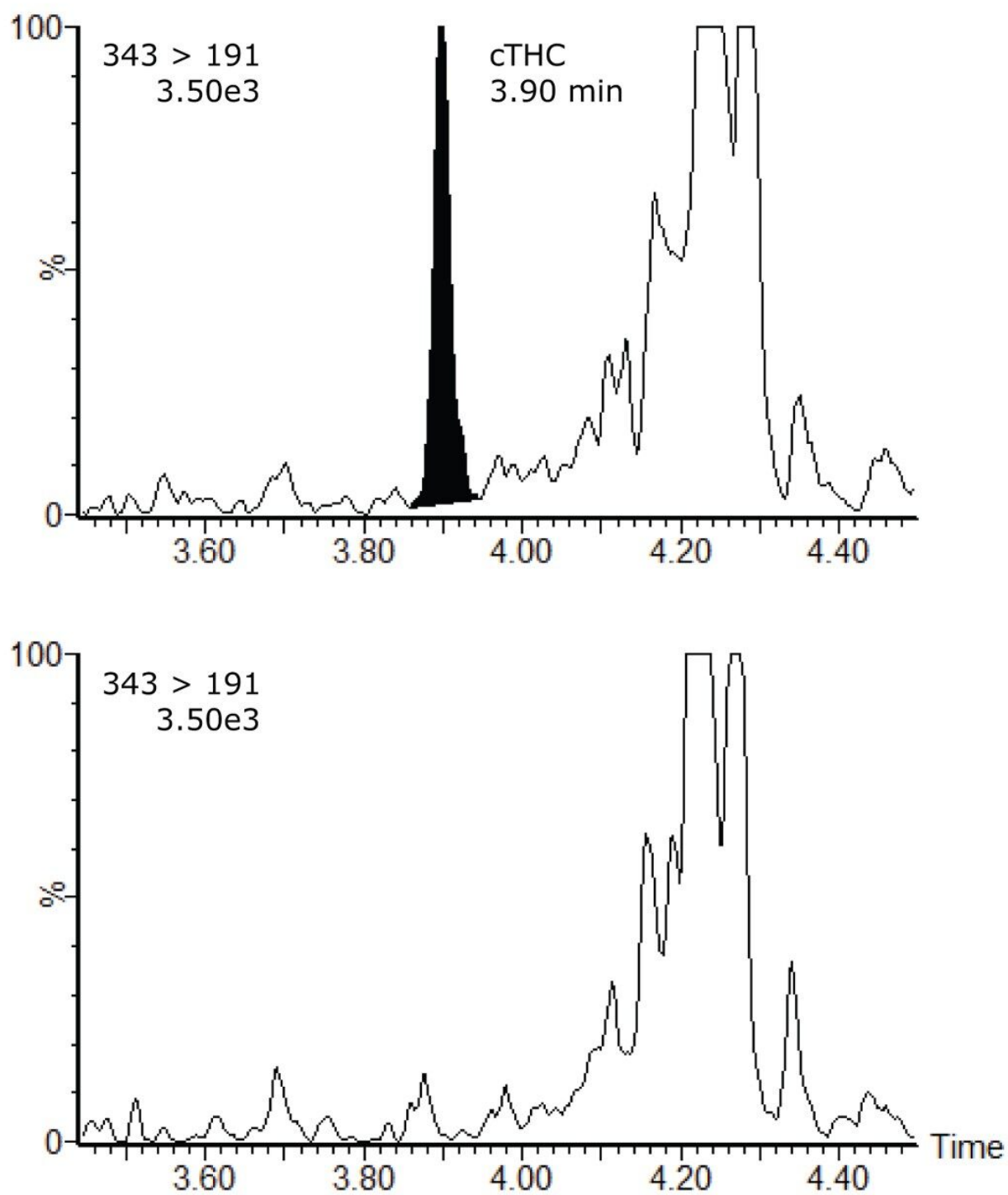


图1.对照(0 pg/mg)毛发样品 (下方谱图) 和cTHC加标(0.2 pg/mg)毛发样品 (上方谱图) 定量离子MRM通道的色谱图。

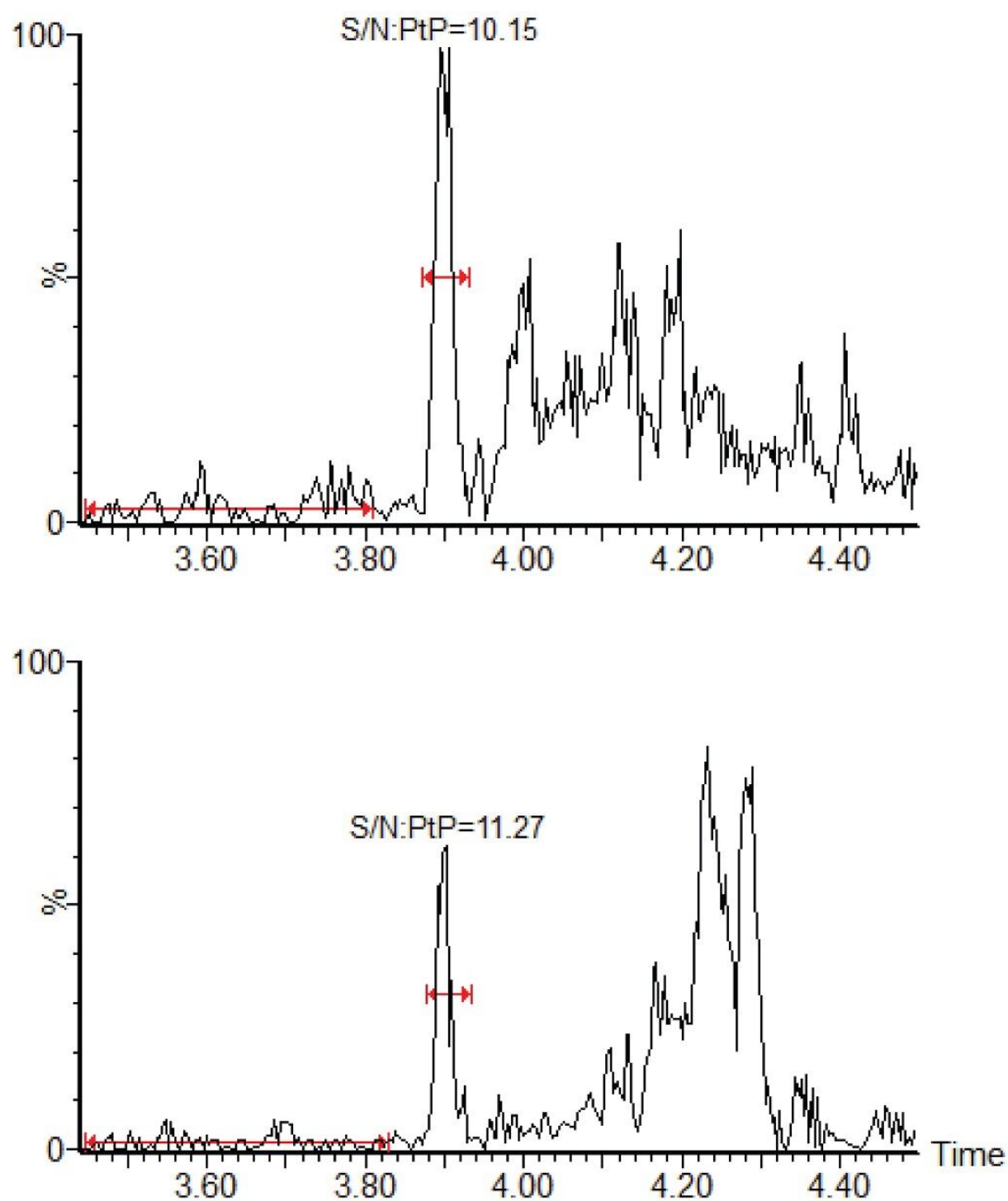


图2.0.2  $pg/mg$ 加标毛发样品定量离子（下方谱图）和定性离子（上方谱图）*MRM*通道的色谱图，图中显示了信噪比计算结果。

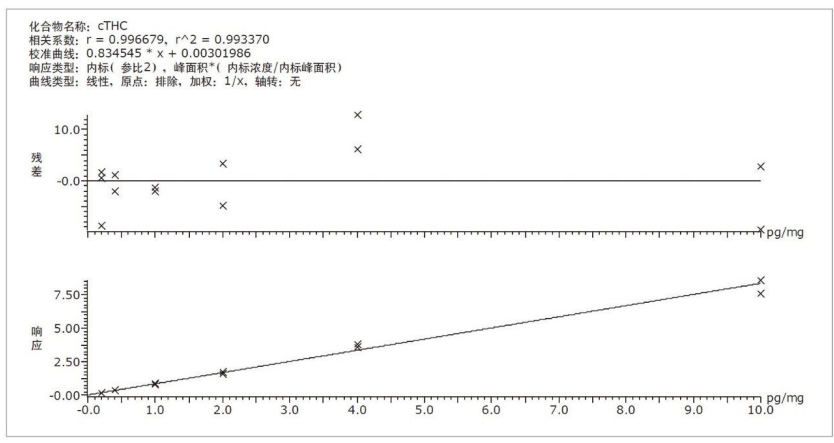


图3.加入对照毛发样品中的cTHC在0~10 pg/mg范围内的线性。

# 结论

随着法医毒理学检测的兴起,人们迫切需要能够快速、准确、可靠且稳定地定量各种生物基质中的化合物的分析方法。以毛发作为检测对象,能以简单、受控且非侵入性的方式采集基质,而且毛发中含有这类检测方案通常需要测定的各种分析物。

本研究证明,ACQUITY UPLC I-Class/Xevo TQ-S micro系统的分析灵敏度足以检测毛发中亚pg/mg浓度水平的cTHC。

# 参考文献

1. G.A.A. Cooper, R. Kronstrand, P. Kintz.Society of Hair Testing guidelines for drug testing in hair.Forensic Science International 218 (2012) 20–24.

本技术简报系沃特世公司与COMEDICAL s.r.l. (意大利特伦托) 合作撰写。

# 特色产品

Xevo TQ-S micro三重四极杆质谱仪 <<https://www.waters.com/134798856>>

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

可在线购买

Oasis PRiME HLB 1 cc Vac小柱，每根小柱装填30 mg吸附剂 <

<https://www.waters.com/waters/partDetail.htm?partNumber=186008055>>

ACQUITY UPLC BEH C18色谱柱 <<https://www.waters.com/513206#>>

720006363ZH，2018年12月

©2019 Waters Corporation. All Rights Reserved.