

应用纪要

使用超高效合相色谱分离大麻素

Alyssa Loo, Chantel Lee

Waters Corporation



仅适用于法医毒理学应用。

这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

摘要

随着大麻素的兴起，现在愈加需要能够分离大麻素的分析方法以满足严苛的监管要求¹。大麻素检测缺少一致的分析方法，为此，科学家们开始探索先进技术。本技术简报介绍了一种基于超高效合相色谱技术在10 min内有效分离7种大麻素的方法。本研究所开发的方法配合Viridis BEH 2-EP色谱柱和CO₂流动相使用可减少溶剂废液的产生，发挥出色的重现性并且更为环保，因此可用作反相液相色谱的重要补充分析方法。

优势

- 反相液相色谱的正交分离方法
- 梯度覆盖广泛的极性范围，可提供完整的检测功能
- 技术更加环保，产生的溶剂废液更少
- 分离度可达到1.4以上

简介

近几十年来，大麻（cannabis，又称marijuana）在医疗健康和娱乐休闲领域的合法化已实现稳步推进。而大麻素作为大麻中所含的化学物质，也得到世界各地科学家们的广泛研究。随着大麻素的兴起，现在愈加需要能够分离和定量目标成分的分析技术。

一直以来，各种大麻素的分析主要采用反相液相色谱(RPLC)^{2,3}法，近年来，液质联用法(LC-MS)⁴分析上述物质也呈增长态势，原因是该方法在共流出化合物的分析方面较单独采用UV检测具有更高的选择性。

除采用液相色谱技术以外，还在研究将超高效合相色谱(UPC²)作为大麻素分析的正交方法。配合亚2 μm颗粒色谱柱和多种检测器，UPC²能够实现快速检测和分离。UPC²采用整体式设计，使用压缩CO₂作为主要流动相，能够充分发挥正相色谱的优势和选择性，同时还具有反相色谱的易用性及简便的方法开发功能。因此，流出时的保留顺序通常与反相LC相反，其正交性对于确认复杂基质中的分析物鉴定结果非常有用。

本应用纪要介绍了如何使用ACQUITY UPC²和PDA开发能够在10 min内分离7种大麻素的分析方法。

实验

仪器方法

仪器：	配备ACQUITY PDA检测器的ACQUITY UPC ² 系统
软件：	Empower 3
色谱柱：	Viridis BEH 2-EP 130 Å, 100 x 3.0, 1.7 µm
柱温：	50 °C
样品温度：	5 °C
ABPR：	2000 psi
PDA通道：	228 nm
流动相：	梯度洗脱，流动相A：二氧化碳，流动相B：1:1 甲醇:乙醇
运行时间：	10 min
进样体积：	1 µL

梯度

时间 (min)	流速 (mL/min)	%A (CO ₂)	%B
0.00	2.000	98.0	2.0
2.00	2.000	98.0	2.0
5.00	2.000	93.0	7.0
8.00	2.000	82.0	18.0
8.10	2.000	98.0	2.0
10.00	2.000	98.0	2.0

结果与讨论

将含有7种大麻素标准品 (Δ^9 -THC、 Δ^8 -THC、CBC、CBD、CBN、CBG和THCA) 的混合物溶于甲醇 (图 1) 中, 重复进样分析(n=6)。将ACQUITY UPC²系统与ACQUITY UPC² PDA检测器联用, 以二氧化碳(CO₂)和甲醇乙醇混合物为流动相进行梯度洗脱, 在10 min内实现了上述大麻素的分离。

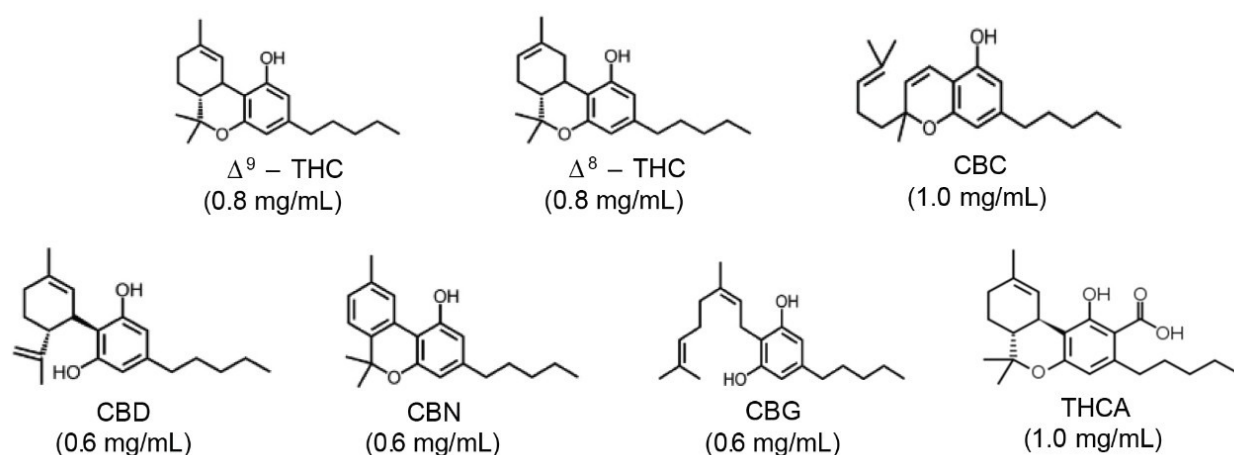


图1.7种目标大麻素的化学结构和浓度

分离采用Viridis BEH 2-EP色谱柱（部件号186006581 <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/shop/columns/186006581-viridis-beh-2-ethylpyridine-column-130a-17--m-3-mm-x-75-mm-1-pk.html>>）。该色谱柱的固定相由亚乙基桥杂化颗粒(BEH)和2-乙基吡啶(2-EP)构成，其色谱特性非常适用于大麻素在UPC²条件下的分离和保留（图2）。

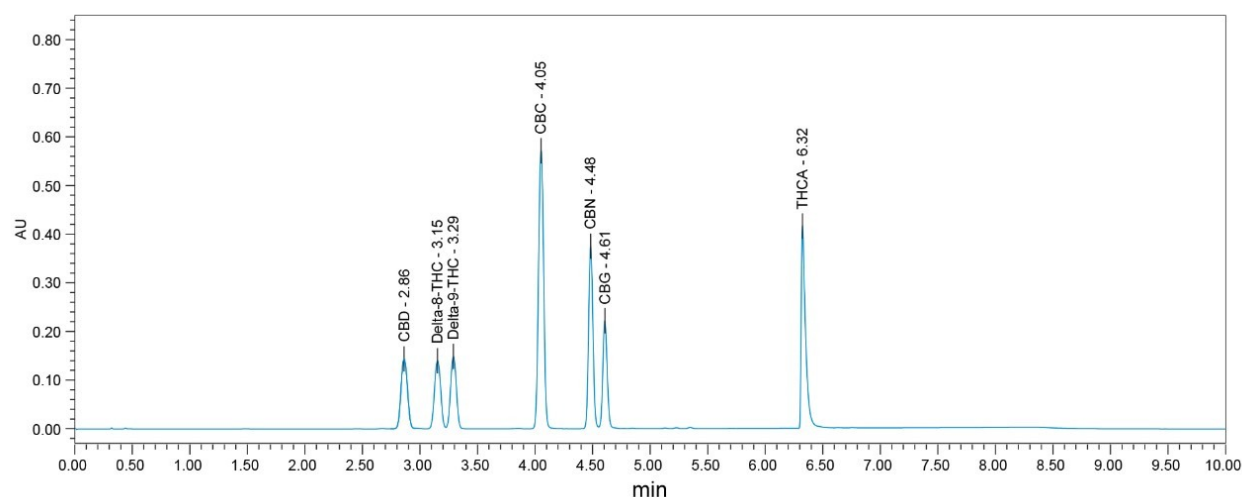


图2.通过UPC²-PDA法梯度分离7种大麻素

所提出的方法设计能够通过1种方法实现7种大麻素的有效色谱分离和保留。目标峰分离良好，邻近洗脱的手性 Δ^9 -THC与 Δ^8 -THC的峰分离度大于1.40，其余大麻素的峰分离度大于1.65（图3）。

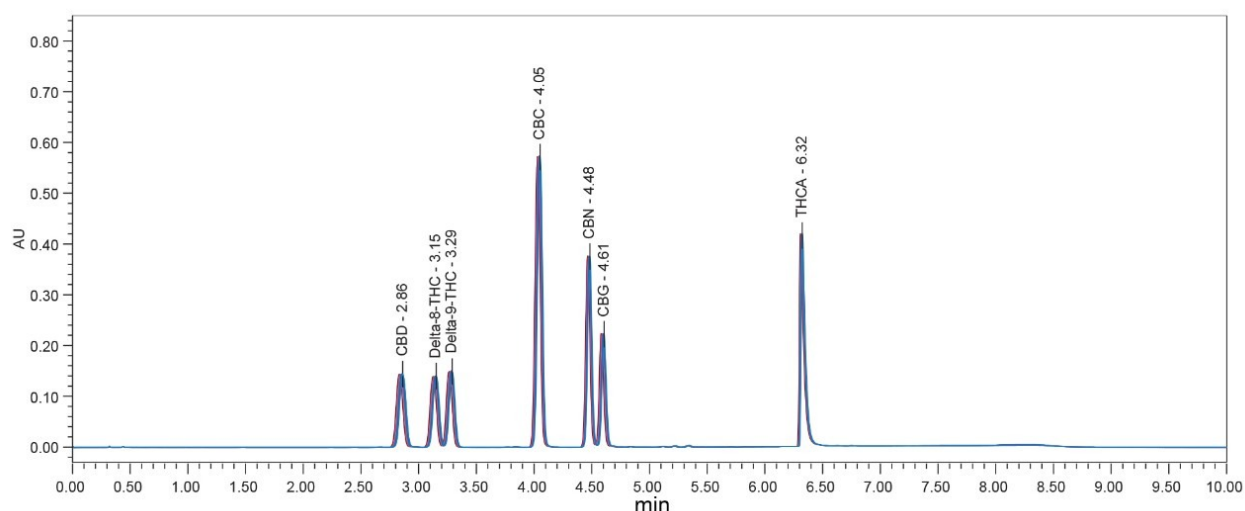


图3.7种大麻素标准品6次重复进样的叠加图

所有大麻素分析物的6次进样结果表现出优异的峰面积重现性(RSD 0.3%-0.7%)，证明ACQUITY UPC²-PDA系统在目标大麻素分析方面具有优异的稳定性和较高精度（进样体积1 μ L）。此外，该方法的保留时间稳定性还可以达到 ± 0.05 min。

结论

本研究开发出一种能够检测大麻素 Δ^9 -THC、 Δ^8 -THC、CBC、CBD、CBN、CBG和THCA的ACQUITY UPC²-PDA方法。研究证明该方法能够有效分离7种大麻素，并且表现出优异的重现性。该方法将Viridis色谱柱对大麻素的保留能力与ACQUITY UPC²-PDA系统的分离功能相结合，此配置有助于实现高效、快速的分离，可用作传统RPLC-PDA大麻素分析的正交方法。因此，该方法为使用传统RPLC分离时会共流出的物质提供了更好的分离策略。

参考资料

1. Regulation of Cannabis and Cannabis-Derived Products, Including Cannabidiol (CBD)
<https://www.fda.gov/news-events/public-health-focus/fda-regulation-cannabis-and-cannabis-derived-products-including-cannabidiol-cbd> <<https://www.fda.gov/news-events/public-health-focus/fda-regulation-cannabis-and-cannabis-derived-products-including-cannabidiol-cbd>

[focus/fda-regulation-cannabis-and-cannabis-derived-products-including-cannabidiol-cbd>](#) .

2. UPLC Separation for the Analysis of Cannabinoid Content in Cannabis Flower and Extracts

720006509EN <<https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720006509en.pdf>> .

3. Separation of 16 Cannabinoids in Cannabis Flower and Extracts Using a Reversed-Phase Isocratic HPLC Method 720006426EN <

<https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720006426en.pdf>> .

4. Screening for Cannabinoids Using the Waters Forensic Toxicology Application Solution with UNIFI

720005413EN <<https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720005413en.pdf>> .

特色产品

ACQUITY UPC2系统 <<https://www.waters.com/134658367>>

Empower色谱数据系统 <<https://www.waters.com/513188>>

ACQUITY UPLC PDA检测器 <<https://www.waters.com/514225>>

720007230ZH, 2021年4月