



Differenzierung von THC-Cannabis und CBD-Cannabis mittels FT-IR⁵

Application Note M175

Cannabis - eine alte Medizinalpflanze mit vielversprechender Zukunft

Noch Ende des 19. Jahrhunderts war Cannabis in allen Apotheken als Medizinalpflanze für verschiedenste Indikationen präsent. Erst im Zuge des Missbrauchs als Rauschmittel wurde sie zunehmend verteufelt und schließlich verboten. Mittlerweile erfahren Cannabis und ihre wichtigsten Inhaltsstoffe (Cannabinoide), vor allem CBD und THC, eine vielversprechende Renaissance als Medizinalpflanze bzw. potente Wirkstoffe. Auch in der Literatur wird auf die vielfältigen Anwendungen von Cannabis verwiesen.^[1,2,3]

Viele Länder überdenken deshalb inzwischen die herrschende Gesetzgebung und haben seinen kontrollierten medizinischen Gebrauch von Cannabis und seiner Wirkstoffe legalisiert.¹ Cannabis enthält mehr als 60 Cannabinoide in unterschiedlichen Konzentrationen. Der legale wie illegale Markt werden hauptsächlich von THC-, bzw. CBD-Hanf dominiert. Da jedoch nur THC eine psychoaktive Wirkung hat, ist es von zentraler Bedeutung, zwischen verschiedenen Hanfsorten unterscheiden zu können. Eine solche Identitätsprüfung wird meist mittels Mikroskopie und HPLC durchgeführt, obwohl dies mittels FT-IR viel eleganter und mindestens ebenso zuverlässig gemacht werden kann.

Die Verbindung aus FT-IR-Spektroskopie und softwaregestütztem Spektenvergleich stellt ein ideales Analysewerkzeug dar. Es wird daher bereits in hunderten Apotheken weltweit mit großem Erfolg zur Identitätsbestimmung eingesetzt. Der Fokus dieser Anwendung liegt hierbei auf der schnellen und zuverlässigen Analyse von Arzneistoffen, in Übereinstimmung mit den geltenden Regeln der Pharmakopöen.

Identifizierung von Cannabis-Blüten

Rein visuell sind CBD-Cannabisblüten nicht von den THC-Blüten zu unterscheiden (vgl. Abbildung 1). Somit muss zur Differenzierung zwischen CBD- und THC-haltiger Pflanze auf chemische Analysemethoden zurückgegriffen werden.



Fig. 1
CBD- (links) und THC-
Cannabis (rechts) sind
mit bloßem Auge nicht zu
unterscheiden.

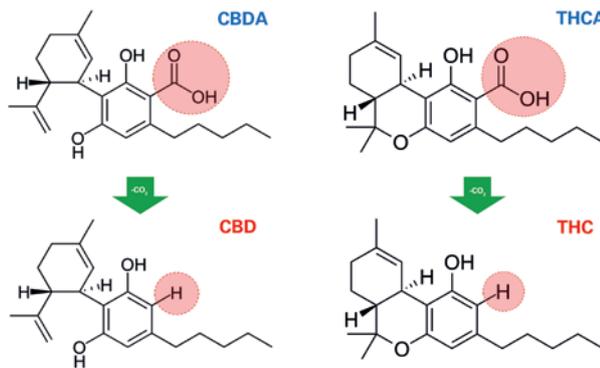


Fig. 2
Thermische
Decarboxylierung von
CBDS zu CBD, bzw.
THCS zu THC.

Da beide Wirkstoffe in den Blüten in relativ hohen Konzentrationen vorkommen (5 bis 30 %) ist auch mit einer direkten Vermessung der verriebenen Blüten eine zweifelsfreie Zuordnung zum CBD- oder THC-Typ mittels FT-IR möglich. Zudem können diese Verbindungen auch mit lipophilem Lösungsmittel leicht aus der Pflanzenmatrix extrahiert und anschließend der Extrakt untersucht bzw. identifiziert werden.

Technik und Methodik

Bei der Infrarotspektroskopie wird eine Probe mit infrarotem Licht bestrahlt und die stoffabhängige Absorption dazu verwendet, molekulare Informationen über die untersuchte Probe zu erhalten. Das Ergebnis ist ein IR-Spektrum, das wie ein Fingerabdruck eine eindeutige Zuordnung der Substanz erlaubt. Alle Spektren wurden mit einem ALPHA II FT-IR-Spektrometer (Abb. 3) sowie einer Platinum-ATR-Einheit aufgenommen.

Eine Messung in abgeschwächter Totalreflexion (ATR) dauert meist weniger als eine Minute, kommt ohne aufwendige Probenpräparation aus, ist unkompliziert und vor allem universell für Feststoffe und Flüssigkeiten einsetzbar. Die eingesetzte Software (OPUS, bzw. OPUS TOUCH) legt besonderen Wert auf einfache Bedienbarkeit und liefert umfängliche, automatisierte Auswertemethoden.

Referenzspektren der Leitsubstanzen CBDS und THCS

Um die IR-Spektren der Cannabisblüten bzw. deren Extrakte mit den entsprechenden identitätsstiftenden Leitsubstanzen (CBDS und THCS) reproduzierbar vergleichen zu können, müssen Referenzspektren von CBDS und THCS elektronisch verfügbar sein. Die entsprechenden FT-IR-Spektren der mit präparativer Dünnschichtchromatographie isolierten Leitsubstanzen sind in Abbildung 4 wiedergegeben (rot CBDS und blau THCS).

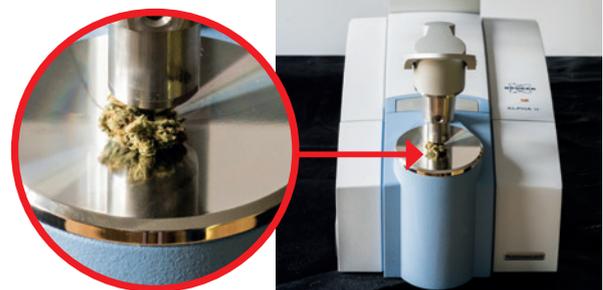


Fig. 3
ALPHA II FT-IR-
Spektrometer
ausgestattet mit
Platinum-ATR-Einheit.
In Vergrößerung
ist die angepresste
Cannabisblüte
zu sehen.

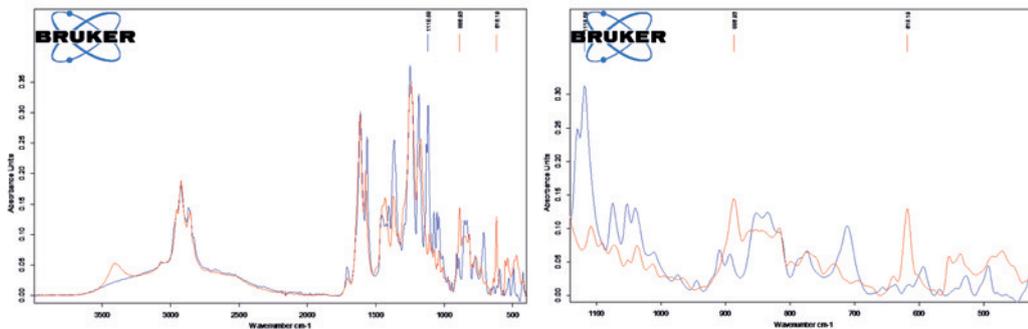


Fig. 4
Vergleich der Spektren von THCS (blau) und CBDS (rot) (links). Im vergrößerten Ausschnitt (rechts) sind die spektralen Unterschiede gut zu erkennen.

Die erhaltenen Daten wurden mit KBr-Spektren aus der Literatur eindeutig verifiziert.^[4] Durch Überführung von CBDS zu CBD bzw. THCS zu THC konnte die Identität der isolierten Leitsubstanzen zusätzlich gesichert werden (vgl. auch Abb.5). Die charakteristischen Banden der Leitsubstanzen wurden erfasst und eine Methode erstellt, um eine sichere und vor allem schnelle Identifikation weiterer Proben zu gewährleisten.

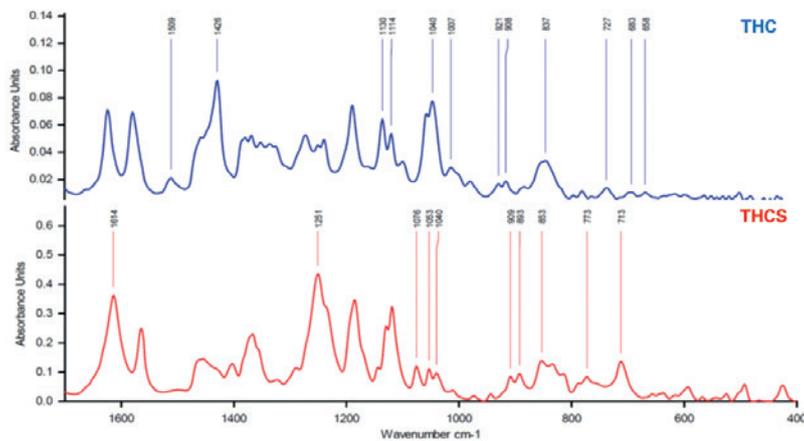


Fig. 5
Decarboxylierung von THCS (rot) zu THC (blau).

Vorbereitung der Messproben

Es gibt zwei Ansätze, um die störenden Signalbeiträge der Pflanzenmatrix möglichst gering zu halten. Eine Möglichkeit ist die Extraktion der Hanfblüten mit Petrolether (Leicht-/Flecken-/Wundbenzin) oder Aceton. Das hierbei erhaltene Filtrat wird durch verdampfen eingengt und der klebrige Rückstand auf den Messkristall aufgebracht. Es ist auch möglich, wenige Tropfen des Filtrates direkt auf dem Messelement zu verdampfen. Bei der direkten Vermessung der Blüten hingegen, sollten diese zuerst in einem kleinen Achatmörser fein zerrieben und dann die am Mörser klebenden harzigen, wirkstoffreichen Pflanzenteile zur IR-Messung eingesetzt.

Hierdurch lassen sich IR-Spektren guter Qualität, mit hohen Wirkstoffanteilen (CBDS oder THCS) und relativ wenig störender Pflanzenmatrix erhalten. Die relevanten IR-Signale von THCS sind auch bei der direkten Blütenvermessung klar zu identifizieren, wie im Folgenden gezeigt wird.

Auswertung mittels Spektrenvergleich

Für die folgenden Messungen wurden die Cannabisblüten direkt und ohne Probenvorbereitung auf den Messkristall gepresst und vermessen. Die finale Auswertung erfolgt durch die Korrelation des gemessenen Probenspektrums mit den Einträgen einer Referenzdatenbank.

Für Reinstoffe sollte diese Korrelation üblicherweise über 95% liegen. Je nach konkreter Fragestellung, kann dieser Wert jedoch auch höher oder tiefer angesetzt sein. Für die hier vorliegende Untersuchung zeigte sich, dass mit einer Korrelationsgrenze von 90% eine zuverlässige Diskriminierung und Identifikation von THCS bzw. CBDS Hanf erreicht werden kann.

In Abbildung 6 ist das Analyseergebnis einer THCS haltigen Cannabisprobe gezeigt. Schon augenscheinlich zeigt sich eine starke Übereinstimmung des Probenspektrums mit dem in blau dargestellten THCS Referenzspektrum. Die Korrelation zwischen Probenspektrum und der hinterlegten THCS Referenz beträgt laut Spektrenvergleichsmethode 95.6%, die Korrelation zur CBDA Referenz liegt mit 63% deutlich tiefer und unterhalb des Schwellenwertes von 90%, was eine eindeutige Bestimmung erlaubt. Diese Probe würde somit in vielen Ländern einer strengen Gesetzgebung unterliegen.

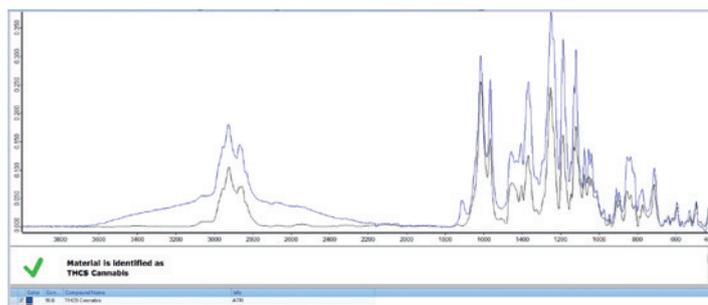


Fig. 6
Analyse einer THCS-haltigen Cannabisprobe (schwarz), THCS Referenzspektrum (blau)

Abbildung 7 zeigt die Analyse einer CBDS-haltigen Cannabis Probe. Auch hier ist die Korrelation zur CBDS Referenz mit 92.9% deutlich über dem Schwellenwert von 90%. Die Korrelation zur THCS Referenz beträgt dagegen nur 49%, wodurch die Substanz eindeutig zugeordnet werden kann.

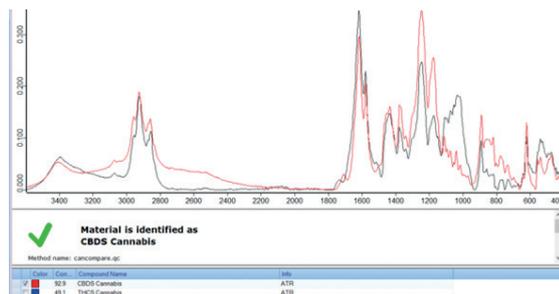


Fig. 7
Analyse einer CBDS-haltigen Cannabisprobe (schwarz), CBDS Referenzspektrum (rot)

Fazit

Die FT-IR-Spektroskopie ermöglicht innerhalb weniger Sekunden eine zuverlässige Unterscheidung zwischen THCS und CBDS Hanf. Die Möglichkeiten der FT-IR-Analytik gehen aber noch weiter. Mit Hilfe entsprechender Referenzproben kann eine Kalibration erstellt werden, die auch eine quantitative Analyse, also eine Bestimmung des genauen Wirkstoffgehaltes durch Integration substanzspezifischer Banden erlaubt. Auch diese Technik wird vielfach in Apotheken zur Quantifizierung des Wirkstoffgehaltes eigener Rezepturen eingesetzt und könnte in Zukunft auch zur quantitativen Analyse von Cannabis benutzt werden.

References

- [1] Häussermann K., Grotenhermen F. und Milz E., Cannabis Arbeitshilfe für die Apotheke, Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart, 2. Aufl. (2018)
- [2] Grotenhermen F., Hanf als Medizin, Nachtschatten Verlag Solothurn (2015)
- [3] Grotenhermen F. und Reckendrees B., Die Behandlung mit Cannabis und THC, Nachtschatten Verlag Solothurn, 7. Aufl. (2017)
- [4] Hazekamp A., Peltenburg A., Verpoorte R. und Giroud Ch., J. Liquid Chromatog. & Tel. Technol. 28, 2361-2382 (2005)
- [5] Schorno, H.J.X., Koch, H.C. Differenzierung von THC-Cannabis und CBD-Cannabis mittels FT-IR (2018)