

ノート

大麻樹脂中のカンナビノイドの確認及びシリカゲル カラムクロマトグラフィーによる分離

川 端 省 三, 杉 本 成 子, 熊 澤 勉*

Identification and Separation of Cannabinoids in Cannabis Resin by GC-MS and Silica Gel Column Chromatography

Shozo KAWABATA, Shigeko SUGIMOTO and Tsutomu KUMAZAWA*

*Central Customs Laboratory, Ministry of Finance

531, Iwase, Matsudo-shi, Chiba-ken, 271 Japan

Cannabinoids in cannabis resin were separated by silica gel column chromatography and analysed by gas chromatography-mass spectrometry.

Tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC- C_5 and Δ^8 -THC- C_5), cannabinol (CBN- C_5), tetrahydrocannabivarin (THC- C_3), CBN- C_3 , cannabicyclol (CBCY), cannabidiol (CBD- C_5), and cannabigerol (CBG) were identified. Cannabichromene was tentatively detected.

Cannabinoids were eluted on silica gel column chromatography with mixed solvent of heptane and ethyl ether. Eluted components were measured by gas chromatography and elution patterns of cannabinoids were recorded.

1 緒 言

大麻は、含有するカンナビノイド（特にテトラヒドロカンナビノール）が向精神作用を有することから、古来麻薬として用いられて来たが、近年その濫用が増加しており、世界的な社会問題となっている。わが国において濫用される大麻の大部分は密輸入に係るものであることから、税関ではその監視取締りを強化しているところであるが、不特定の輸入貨物中に隠匿された麻薬類の発見は極めて困難であり、その科学的検知方法の開発が急務とされている。検知方法の研究に当

たって、カンナビノイドの分離・確認はその基礎として重要と考えられる。

カンナビノイドの分離・分取は、ガスクロマトグラフィー（GC）¹⁾又は高速液体クロマトグラフィーによる方法が確実であるが、これらの方法は採取量が極めて少ない。薄層クロマトグラフィー（TLC）による分取は簡易であるが、分取用の薄層板を多量に必要とする。カラムクロマトグラフィーによる分取は、比較的少量の試料を扱うことができるほか、相互に完全分離できない場合でも目的成分の濃縮を行うことができる。ここでは、ガスクロマトグラフィー及び質量（GC-

*大蔵省関税中央分析所 〒271 千葉県松戸市岩瀬 531

MS)により、大麻樹脂中のカンナビノイドを分離・確認し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおけるカンナビノイドの溶出挙動を検討したので報告する。

2 実 験

2.1 試 料

試料は嫌疑物件として押収された通常大麻樹脂と称されているものであり、緑褐色のやや固い不規則な板状で、大麻樹脂特有の臭気がある。クロロホルム抽出物を TLC で分離すると、テトラヒドロカンナビノール (THC)、カンナビノール (CBN)、カンナビジオール (CBD) に相当するスポットのほか、いくつかのスポットが検出された。

2.2 石油エーテル抽出

試料 5.07g を石油エーテルで繰り返し抽出し過した。ろ液を合わせて減圧下で溶媒を除去して 1.57g の濃緑褐色ペースト状物を得た。残渣は大部分が無機物であった。試料には、持ち運びの利便及び有効成分の保持のため大量の無機物が加えられているものと考えられる。

2.3 カラムクロマトグラフィー

2.2の抽出物をシリカゲルカラムで予備精製を行った。すなわち、抽出物をシリカゲルカラム (200 メッシュ, 22mm × 30cm) 上に採り、ベンゼンで溶出した。溶出液を TLC で分離し、カンナビノイドが確認される溶出液 (40 ~ 45ml) を、減圧下で溶媒を除去して、予備精製物 0.60g を得た。

予備精製物を次の条件のシリカゲルカラムで分離した。シリカゲル (和光純薬): 300 メッシュ, カラムサイズ: 25mm × 70cm, 溶出溶媒: エーテル - ヘプタン (5:95, 10:90, 20:80)。溶出液を 10ml ずつフラクションコレクターで分取し、GC, ガスクロマトグラフ - 質量分析計 (GC-MS) 及び TLC で分離し成分の検討を行った。成分の溶出曲線は、各フラクションの 5 μ l を GC で分離し、得られたインテグレーダーの強度とフラクション数をプロットして作成した。

2.4 GC及びGC-MS

ガスクロマトグラフは島津 GC-9A を用い、GC の条件は、キャピラリカラム (OV-101, 0.25mm × 25m), カラム温度 250, 注入口温度 260 キャリアガス He 1.0ml/min, FID 検出, 注入はスプリット方式で行った。

質量分析計は、日立 M80B 型二重収束分析計を用い、イオン化エネルギー 70eV, イオン化電流 100 μ A で行った。GC-MS の GC 条件はガスクロマトグラフィーに準じて行った。

2.5 T L C

シリカゲル F プレート (E. Merck 社, 厚さ 0.25mm) を用い、展開は、石油エーテル・エチルエーテル (4:1) で行った²⁾。発色は Fast Blue (Sigma 社) の 0.1% 水溶液を噴霧後、アンモニア蒸気に曝して行った。

3 結果及び考察

3.1 GC及びGC-MS

試料の石油エーテル抽出物のガスクロマトグラムを Fig. 1 に示した。

充填カラムによるカンナビノイドの分離は、OV-1,

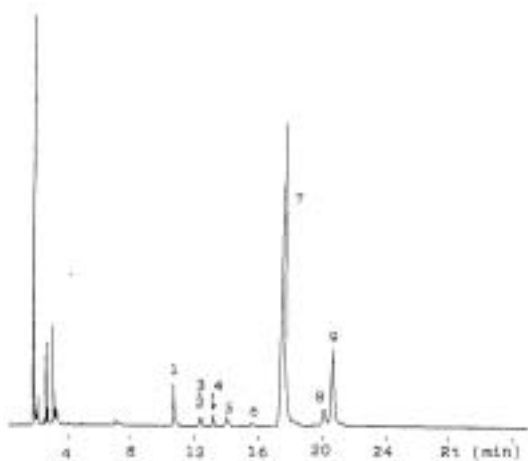


Fig. 1 Gas chromatogram of petroleum ether extract
Column: capillary (OV-101), 0.25mm × 25 m
Column temperature: 240

OV-17, OV-101 等シリコン系の液相を用いて GC が行われているが²⁾, 最近ではキャピラリカラムを用いた報告が主となっており³⁾, 本実験では, キャピラリカラム (OV-101) を用いた。

Fig. 1 の主要ピークのマススペクトルを Fig. 2~4 に示した。マススペクトルは 2.3 のカラムクロマトグラフィーで分画した溶出成分の GC-MS を行って測定し, GC の保持時間から Fig. 1 のピークに対応させた。カンナビノイドのマススペクトルについては多くの報告がなされている⁴⁾。

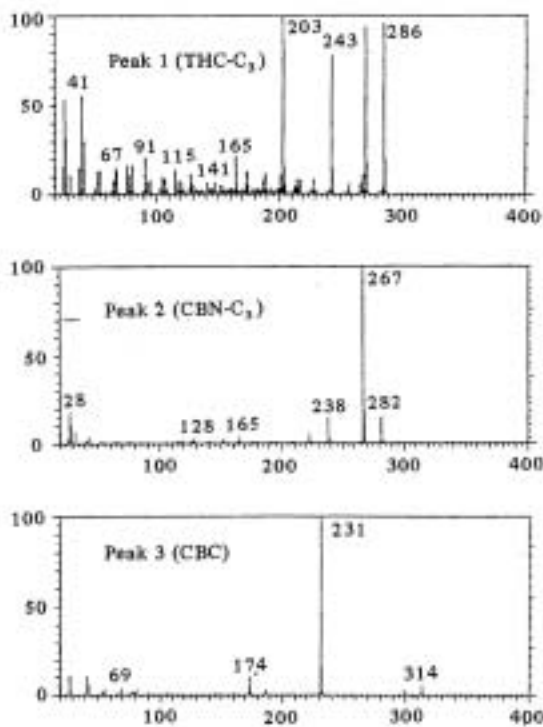


Fig. 2 Mass spectra of cannabinoids
Peak numbers refers to Fig. 1

ピーク 5 は CBD-C₅ (カンナビジオール) で, $M^+ = 314$ のほか, 9, 10 位の二重結合による逆 Diels-Alder 開裂によって $m/z 246$ のフラグメントイオンが生成し, 更に脱メチル化によって $m/z 231$ (ベースピーク) が生成する。ピーク 7 の 9 -THC-C₅ (テトラヒドロカンナビール) では $M^+ = 314$ がベースピークで, CBD-C₅ と同様に逆に Diels-Alder 開裂が生ずるが, $m/z 246$ のフラグメントイオンは極めて弱い。

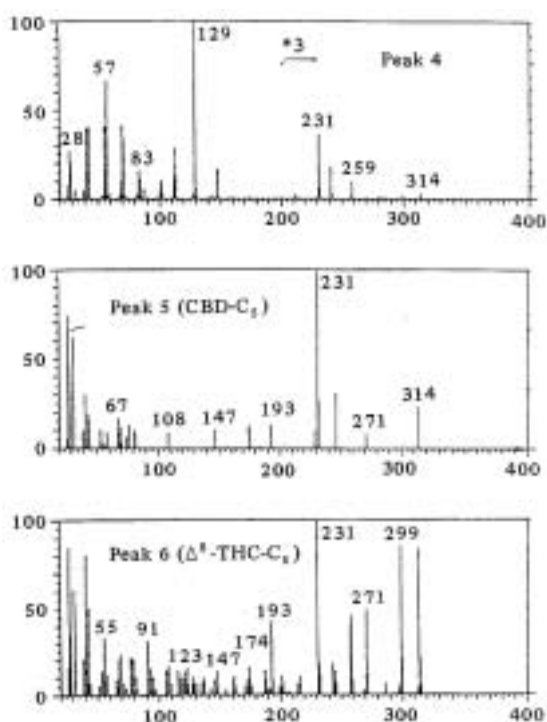


Fig. 3 Mass spectra of cannabinoids
Peak numbers refer to Fig. 1

ピーク 9 の CBN-C₅ (カンナビノール) は, テルペノイド部が芳香環化しているため, 逆 Diels-Alder 開裂は起らず, $M^+ = 314$ から脱メチル化した $m/z 295$ のフラグメントイオンが顕著である。

ピーク 1 及び 2 は, THC-C₅ 及び CBN-C₅ に対し, 質量数が 28 少ないフラグメントイオンが対応して認められ, それぞれ, 側鎖のアルキル部の炭素数が 2 個少ない同族体の THC-C₃ (テトラヒドロカンナビリン) 及び CBN-C₃ (カンナビリン) と確認した。ピーク 3 の CBC_y (カンナビシクロール) も $M^+ = 314$ を示すが $m/z 231$ のフラグメントイオンが極めて強い。

なお, CBN-C₃ と CBC_y は GC で同一保持時間を示すが, 3.2 に示したようにシリカゲルカラムクロマトグラフィーにおける溶出容量は著しく異っていた。

ピーク 4 は CBC_h (カンナビクロメン) と推定され, GC の保持時間も Mechoulam の報告²⁾と一致するが, マススペクトルの対照は行っていない。 8 -THC-C₅ のマススペクトル (ピーク 6) は, 9 -THC-C₅ のものと類似しているが, 9 -THC-C₅ では $m/z 193, 246$,

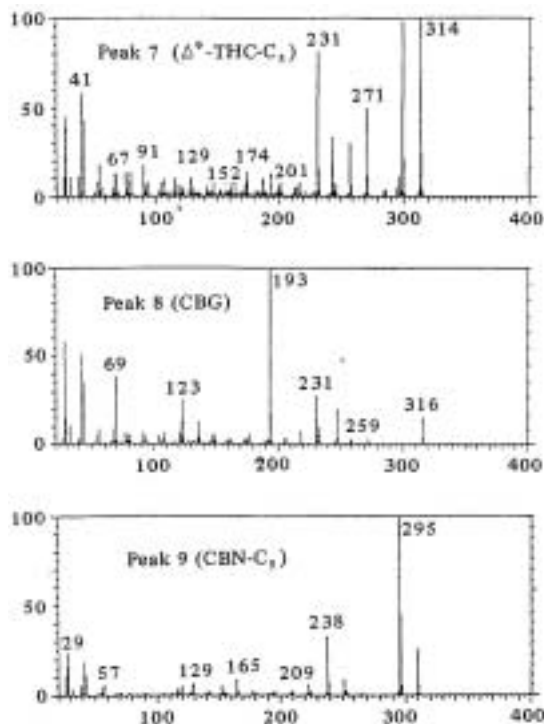


Fig. 4 Mass spectra of cannabinoids
Peak numbers refer to Fig. 1

258 のフラグメントイオンが強く現れているのに対し,

Δ^9 -THC- C_5 ではこれらのフラグメントイオンが弱い。CBG (カソナビゲロール, ピーク 8) は $M^+ = 316$ 及び m/z 193 (ベースピーク) が特徴的であるが, m/z 193 は環を形成していないテルペノイド部の脱離によるものと考えられる。

3.2 カラムクロマトグラフィー

シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおけるカンナビノイドの溶出曲線を Fig. 5 に示す。

シリカゲルを固定相とする固-液クロマトグラフィーでは, 溶質と溶媒がシリカゲル表面で吸着を競合するモデルで表わされ, 一般に中間極性を有する化合物が分離の対象とされる⁶⁾。カンナビノイドはフェノール性水酸基を有し, 極性の高い化合物とみなされるが, 芳香環に置換した側鎖のアルキル基やモノテルペノイド部を含むため, フェノール性水酸基の極性は相対的に減殺されるものと考えられる。

Δ^9 -THC, CBN 及び CBD はこの順序で溶出しているが, CBD はフェノール性水酸基を 2 個有しているため, 1 個のみの Δ^9 -THC 及び CBN より保持容量が大きい。 Δ^9 -THC と CBN とでは, モノテルペノイドが芳香環化している CBNの方が Δ^9 -THC より保持容量が大きくなっている。側鎖のアルキル基について比較すると, THC- C_3 は THC- C_5 より保持容量が大きい。

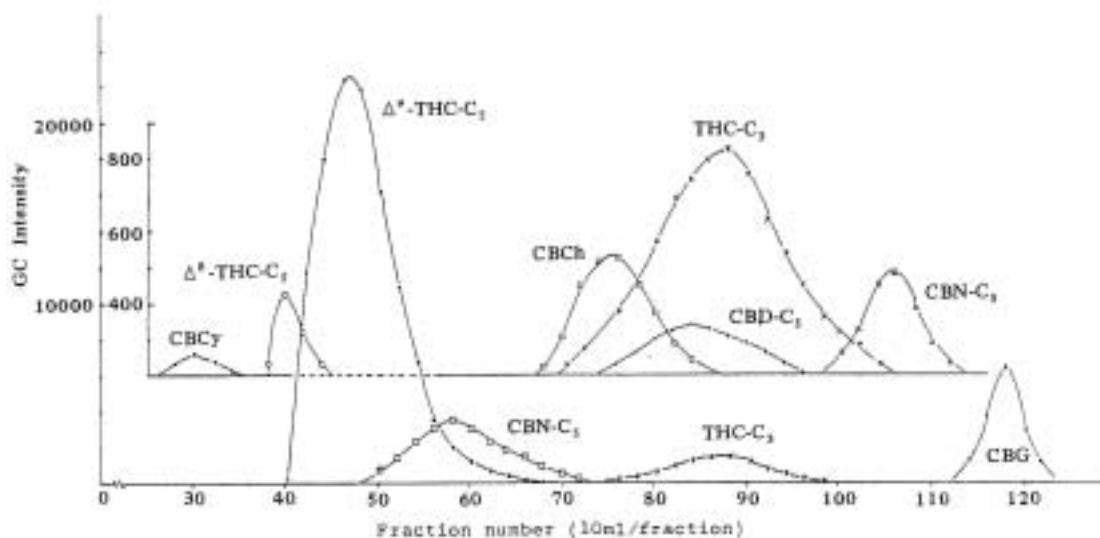


Fig. 5 Elution patterns of cannabinoids on silica gel chromatography

Column : silica gel (300 mesh, 5 mm \times 70 cm),

Eluent : ethyl ether-heptane, 800 ml (5 : 95), 200 ml (10 : 90) and 200 ml (20 : 80).

CBN-C₅ と CBN-C₃ の場合も同様である。また、モノテルペノイド部が複雑な環を形成している CBC_γ は Fig. 5 中のカンナビノイド中で最も早く溶出し、逆に長く伸びたテルペノイド部を有する CBG は溶出が最も遅い。CBC_h は CBN-C₅ と CBD-C₅ の中間の保持容量を有している。これらの知見は GC-MS で同定した結果と一致しており、特に CBC_γ と CBN-C₃ は GC 分離において同一の保持時間を示すが、カラムクロマトグラフィーにおいては著しい溶出容量の差が認められた。

4 要 約

大麻樹脂中のカンナビノイドをカラムクロマトグラ

フィーにより分離し、ガスクロマトグラフ及び質量分析計により成分の検討を行った。テトラヒドロカンナビノール (⁹-THC-C₅ 及び ⁸-THC-C₅), カンナビノール (CBN-C₅), テトラヒドロカンナビバリン (THC-C₃) のほか , CBN-C₃ , カンナビシクロール (CBC_γ), カンナビジオール (CBD-C₅) 及びカンナビゲロール (CBG) も確認された。また、カンナビクロメン (CBC_h) の存在も推定された。

シリカゲルカラムクロマトグラフィーでは、溶出溶媒としてエチルエーテル - ヘプタン混合溶媒を用いた。溶出液をガスクロマトグラフィーで分離し、各カンナビノイドの溶出曲線を作成し、成分の単離における参考とした。

文 献

- 1) M. Repeto , Lopez-Artiguez and D. Martinez : Bull. Narcotics , 28 , 69 (1971)
- 2) Y. Gaoni and R. Mechoulam : J. Amer. Chem. Soc . , 93 , 217 (1971)
- 3) M. Navotony , F. Merli , D. Weiler, M. Fench and T. Safed : J. Chromatogr., 238 , 141 (1982)
- 4) T. B. Vree , D. D. Breimer , C. A. M. Van Ginneken , J. M. Van Rasmus : J. Chromatogr., 74 , 124 (1972)
T. B. Vree : J. Pharm. Sic., 66 , 1444 (1977)
L. Stromberg : J. Chromatogr., 96 , 179 (1974) ; ibid., 121 , 313 (1976)
出来三男 : 本誌 , 21 , 49 (1980)
鈴木真一 , 井上堯子 , 岸 徹 : 科学警察研究所報法科学編 , 36 , 255 (1985)
- 5) Snyder : 化学の領域 , 31 , 199 (1977)