

報 文

大麻のヘッドスペース中のカンナビノイドの検出

川 端 省 三 , 片 岡 憲 治*

Detection Cannabinoids in Headspace of Cannabis by Preconcentration
and Liquid Chromatography with Pre-column Dansyl Derivatization

Shozo KAWABATA and Kenji KATAOKA*

*Central Customs Laboratory, Ministry of Finance
531, Iwase, Matsudo-shi Chiba-ken, 271 Japan

A technique was described for the identification of Cannabinoids in head space of marijuana and cannabis resin.

Cannabinoids in air were collected using a simple adsorbent prepared from glass wool containing liquid paraffin, or glass wool reacted with dimethyloctadecyl chlorosilane. Collected materials were extracted with acetone and were subjected to dansyl derivatization. The products were separated by HPLC with fluorometric detector.

20ng of tetrahydrocannabinol was detected in 2 l of head space of marijuana, as well as cannabinol, cannabicyclol, cannabichromene and tetrahydrocannabivarin.

It was found that the proportion of cannabinoids in head space was different from that of sample extract, and especially tetrahydrocannabivarin had increased.

- Received April 28 1988 -

1 緒 言

大麻は特有の臭気を有しているが、これが大麻の特異成分であるカンナビノイドによるものではなく、通常の植物にも含まれているテルペン類¹⁾によるものと考えられる。カンナビノイドは分子量約 300 の油状または固体の物質で、揮発性の高いものではない。

一般に、ヘッドスペースの捕集には、活性炭やシリカゲル等の吸着剤、テナックス等のガスクロマトグラフィー (GC) 用の担体が用いられている。吸着剤は有機溶媒などの揮発性物質の捕集に用いられている。

大麻のヘッドスペース中のテルペン類についても、直接あるいはテナックス吸着物の GC 分析が行われ、たばこの場合との違いが報告されている²⁾³⁾。麻薬類では、大麻喫煙後の呼気中のカンナビノイドが、テナックス捕集 - GC - MS により検出され⁴⁾、アンフェタミン (遊離アミン) をテナックスに吸着させ、GC による検出が行われた⁵⁾。

捕集した物質の脱着には、加熱脱着 - 直接導入 - GC 分析による場合が多いが、カンナビノイドのように分子量が大きい物質では、脱着方法に問題があると考えられる。われわれは、カンナビノイドを高感度に検出

* 大蔵省関税中央分析所 〒271 千葉県松戸市岩瀬 531

するため、ダンシルクロリド (DNS - Cl) によりカンナビノイドを蛍光ラベル化した後、蛍光検出器を用いた高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により分離した結果を報告した⁶⁾。この方法を適用するには、捕集したカンナビノイドを溶剤で回収し、蛍光誘導体化反応を行う必要があるが、吸着剤や GC 分離用の担体を用いた場合は回収方法に問題があると考えられる。

ここでは、流動パラフィンを含浸させたガラスウール及びオクタデシルジメチルシリル化したガラスウールに大麻のヘッドスペースを吸着させる方法を検討した。吸着物をアセトンで回収してダンシル誘導体とし、HPLC で分離、蛍光検出を行ったところ、大麻のヘッドスペースには相当量のカンナビノイドが存在することが明らかとなったので報告する。

2 実 験

2.1 試料、試薬及び器具

試料は前報⁵⁾と同じものを用いた。

ダンシルクロリド (DNS - Cl, 5 - ジメチルアミノナフタレン - 1 - スルホニルクロリド) は、東京化成 (0.1% アセトン溶液として使用)、HPLC における溶出溶媒のヘキサン及び酢酸エチルは和光純薬の HPLC 用溶剤、その他の試薬類は和光純薬の試薬特級を用いた。

ガラス器具は、トリメチルクロルシランの 1% 溶液 (クロロホルム) 液中に約 1 時間置いてトリメチルシリル化した後、アルコール及び水で洗浄、130 で約 1 時間乾燥したものを使用した。

2.2 装 置

高速液体クロマトグラフは島津製作所製で、ポンプは LC - 6A (一部の試験は LG - 3A)、蛍光検出器は RF - 535 を用いた。分離用カラムは Du Pont 社の Zorbax SIL (25cm×4.6mm) を用いた。溶出溶媒はヘキサン - 酢酸エチルで、流速は 2ml/min とした。

空気流量計は品川計器製作所の湿式ガスメータ WE - 1A を使用した。

2.3 吸着剤及び吸着管

二種類の吸着剤を次の様にして作製した。

流動パラフィン含浸ガラスウール：

シリル化処理を行ったガラスウールを 10% 流動パ

ラフィン溶液 (石油エーテル) に浸漬した。ガラスウールを取り出し、直ちにろ紙上に置いて過剰の液をろ紙に吸収させた。付着している流動パラフィンは、ガラスウールの約 50 分の 1 である。

C₁₈ - ガラスウール：

ガラスウールを希塩酸、次いで水でよく洗浄し、130 で約 3 時間乾燥した。これをジメチルオクタデシルクロルシランの 2% 溶液 (クロロホルム) に入れ、30 分間還流した。冷却後ろ過し、クロロホルム次いでエタノールで十分洗浄し、130 で約 3 時間乾燥した。

吸着管：

細い部分の内径 1mm 及び長さ 4cm、太い部分の内径 5mm 及び長さ 10cm のガラス管 (パスツールピペット) に吸着剤の 30mg を詰め吸着管とした (Fig. 1)。

2.4 ヘッドスペースの捕集

Fig. 1 に示した装置でヘッドスペースの捕集を行った。500ml 容の広口びん (高さ 15cm、直径 7cm) にマリファナまたは大麻樹脂約 2g を置いた。これに吸着管と乾燥空気導入用ガラス管 (内径 3mm) を取りつけたコルク栓でふたをした。吸着管にゴム管を付け、空気流量計を経由して水流式アスピレーターで吸引した。乾燥空気導入用ガラス管の先端からびんの底までの距離は 10cm である。濃硫酸及びソーダタルクを通過させて乾燥空気とし、その流速は 200ml/min とした。

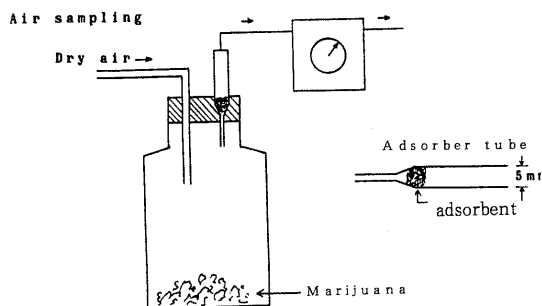


Fig. 1 Schematic diagram for air sampling

2.5 カンナビノイドの回収及びダンシル誘導体化

捕集及び抽出したカンナビノイドのダンシル誘導体化反応の条件は、ダンシルクロリドの濃度を 0.1% (アセトン) とした他は、前報⁶⁾と同様とした。

ダンシル誘導体化反応は、内径 5mm のガラス管の一端を封じた小型試験管で行った。

ヘッドスペースを捕集した吸着管にアセトン 1ml を 3 回流し、溶出液を小型試験管に受けた。窒素を吹き込んでアセトンを留去した。これに 0.1% DNS - C₁₈ (アセトン溶液) 20 μ l 及び 0.1% 炭酸ナトリウム溶液 20 μ l を加えて混合し、60 $^{\circ}$ C で 10 分間置いてダンシル化反応を行った。20 μ l の水酸化ナトリウムを加えて混合した後、ヘキサン 0.5ml で抽出した。ヘキサン層の 10 μ l を HPLC に注入した。これらの混合または抽出操作においては、試験管ミキサーを使用した。

3 結果及び考察

3.1 吸着剤

Zaromb ら⁷⁾は多孔性 PTFE で空気中のアニリン類を捕集した。これを用いると脱着操作を要しないが特殊な装置が必要である。Lawrence ら⁸⁾は、アンフェタミン (遊離アミン) の吸着に Tennax - GC を用いたが、シリカゲルや活性炭は試料の脱着が困難であると報告している。カンナビノイドは揮発性の高い物質ではなく、大麻のヘッドスペース中に存在する量は極めて少ない。テンベルなどの軽い物質の場合のように、長い吸着管や強い吸着剤を用いる必要はないと考えられる。また、粉状の吸着剤は捕集する空気の流量を任意に調節することが困難であり、吸着物を溶剤で回収したあと、ろ過等の操作を行う必要が生じる。更に、3.2 に記すように、THC は吸着されやすい物質であり、これがかえって脱着を困難にすると考えられる。

本試験に用いた吸着剤は、このような問題は全くないと思われる。吸着物の回収も容易である。空気の流速は、200ml/min としたが、任意の流速、例えば 1000ml/min とすることも可能である。また、流動パラフィンを含浸させたガラスウールと C₁₈ - ガラスウールとで吸着性に差は認められなかったが、この点については更に検討する必要がある。

3.2 捕集装置

Garrett ら⁹⁾によると、THC を 0.1 μ g/ml の濃度でガラス製メスフラスコに入ると、その約 50% がガラス器具に吸着するが、シリル化したガラス器具にはほとんど吸着しない。空気中のカンナビノイドについて

も同様と考えられる。また、ゴム管やプラスチック管は、ガラス管よりも吸着しやすいと考えられ、ヘッドスペースの流路にこれらを用いることは適当でないことから、Fig. 1 の様な装置とした。乾燥空気の流速は、微細な試料が舞い上がって吸着管に到達するおそれがあることから、200ml/min とした。乾燥空気導入用のガラス管の内径は 3mm であり、この流速では空気が試料に強く吹きつけることはなかった。

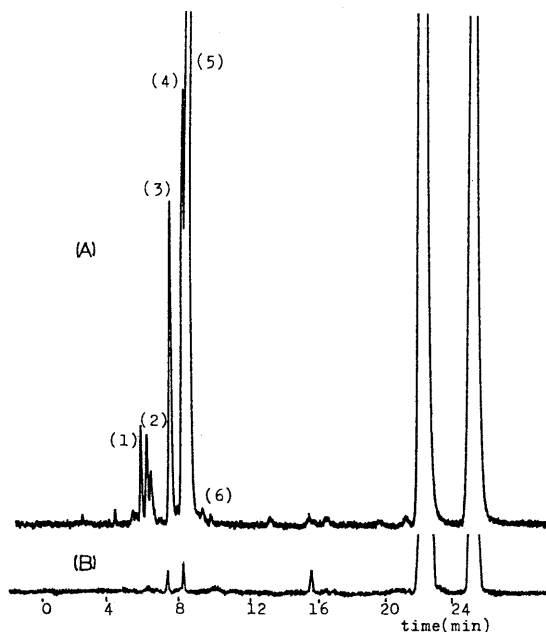


Fig. 2 HPLC chromatograms of(A)dansyl derivatives of cannabinoids collected by air sampling of head space of cannabis resin and(B)blank Condition ;

column : Zorbax SIL (25cmx 4.6mm)

eluent: 5% ethyl acetate in hexane

flow rate : 2 ml/min.

Peaks: (1)CBCy, (2)CBCh, (3) ¹-THC, (4)CBN
(5)THC-C₃and (6)CBN-C₃

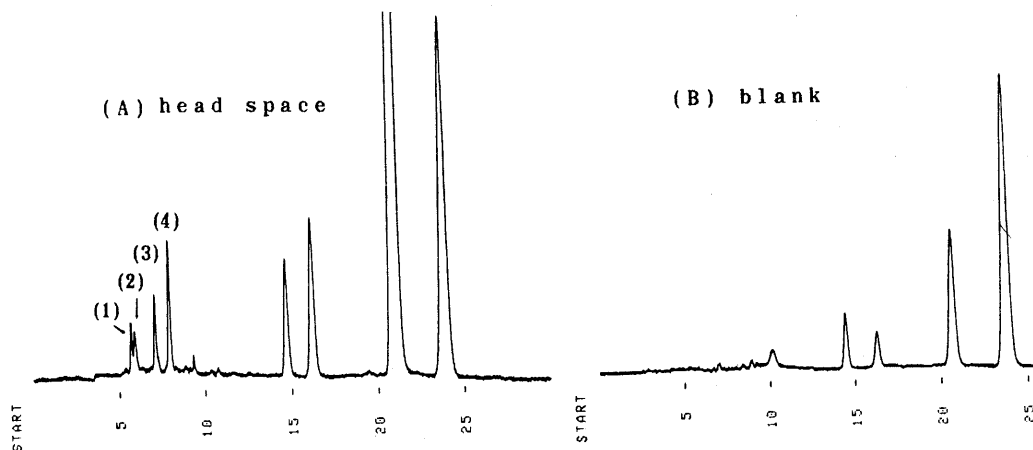


Fig. 3 HPLC chromatograms of (A) dansyl derivatives of cannabinoids collected by air sampling of head space of marijuana and (B) blank

Condition; Conditions;

column: Zorbax SIL (25cm \times 4.6mm)

eluent: 5% ethyl acetate in hexane

flow rate: 2 ml/min.

Peaks: (1) CBCy, (2) CBCh, (3) 1-THC, and (4) THC-C₃.

3.3 HPLC

大麻のヘッドスペースのクロマトグラムを、ブランクのクロマトグラムと共に Fig. 2 に示した。カンナビシクロール(CBCy)、カンナビクロメン(CBCh)、1-THC、カンナビノール(CBN)及びテトラヒドロカンナビバリン(THC-C₃)のピークが認められた。

各ピークは前報⁶⁾の結果をもとに保持時間から同定した。また、CBN-C₃と推定されるピークも認められた。

ヘッドスペース捕集に用いた大麻樹脂のカンナビノイドのクロマトグラムは、前報⁶⁾のとおりである。これに対し、ヘッドスペースでは、THC-C₃のピークが極めて強くなっている。CBCy 及び CBCh のピークも、1-THC のピークに比べれば相対的に強くなっている。これらは、カンナビノイドの中でも蒸気圧が高く、ヘッドスペースには、もとの樹脂中よりも多く含まれているものと考えられる。

保持時間 12 分以降に検出されるピークは、ブランクでも検出されることから DNS-Cl の分解物と考えられる。また、ブランクでは、1-THC 及び CBN に相当する位置に微小ピークがみられたが、カラムまた

は装置の汚れによるものと考えられる。

Fig. 3 にマリファナのヘッドスペースのクロマトグラムを示した。空気の捕集量は 2 l (10 分) である。マリファナ中の 1-THC 含有量は、GC 分析の結果、約 1% であったが、大麻樹脂の約 10% に比べ少なく、全体の捕集量も少なくなっている。しかし、各カンナビノイドの相対的強度は、大麻樹脂の場合と同様に THC-C₃ のピークが強くなっている。この実験で捕集された 1-THC の量は約 20ng であった。

4 要 約

マリファナ及び大麻樹脂のヘッドスペース中のカンナビノイドを検出した。ヘッドスペースの捕集は、少量の流動パラフィンを含むガラスウールまたはオクタデシルジメチルシリル化したガラスウールで行った。捕集したカンナビノイドをアセトンで回収、ダンシルクロリドを反応させて蛍光誘導体とし、高速液体クロマトグラフィーで分離した。マリファナのヘッドスペース 2 l を捕集したところ、約 20ng のテトラヒドロカ

ンナビノールが検出された。その他、カンナビシクロール、カンナビノール、テトラヒドロカンナビバリンも検出された。ヘッドスペースのカンナビノイドの組成

は、捕集に用いた大麻のエキスのカンナビノイドの組成と異なっており、とくに、テトラヒドロカンナビバリンが強く検出された。

文 献

- 1) L. Stromberg ; J. Chromatogr., 96 , 99 (1974)
- 2) A. Osman and B. Caddy ; J. Forensic Sci. Sci. Society , 25 , 377 (1985)
- 3) L. V. S. Hood and G. T. Barry ; J. Chromatogr. ; 166 , 499 (1978)
- 4) A. Manolis , L. J. Mcburney and B. A. Bobby ; Clinical Biochem., 16 , 229 (1983)
- 5) A. H. Lawrence and L. Elias ; Anal Chem . , 57 , 1485 (1985)
- 6) 川端省三 ; 本誌 , 29 (1989) in press
- 7) S. Zaromb , C. S. Woo , K. Quandt , L. M. Rice , A. Fermaint and L. J. Mitnaul ; J. Chromatogr., 439 , 283 (1988)
- 8) E. R. Garrett and C. A. Hunt ; J. Pharm. Sci., 63 , 1056 (1974)