大麻成分の理化学的試験

奥井誠一, 内山 充, 水柿道直 (東北大学医学部薬学科*¹)吉田 篤夫 (東北地区麻薬取締官事務所*²)Studies on the Narcotic Components of *Cannabis Sativa* by Physical and Chemical Methods.

Seiichi Okui, Mitsuru Uchiyama, Michinao Mizugaki

(Department of Pharmaceutical Science, School of Medicine, Tohoku University*¹)

Tokuo Yoshida

(Narcotic Control Office of the Tohoku District*²)

Attempt was made to offer a standard physico-chemical method of detecting and identifying hemp plant or its extract by comparing the applicabilities of such methods as color reactions, thin-layer chromatography, gas-chromatography etc.

Thin-layer of silicagel impregnated with dimethylformamide could efficiently separate three major components, cannabinal (CBN), cannabidiol (CBD), tetrahydrocannabinol (THC), and the gas liquid chromatography with the stationary liquid of SE-30 was satisfactorily employed for detection and determination of each component. Further, using these methods some fifteen samples prepared from hems gathered in various areas of north eastern Japan were examined in comparison with those from the U. S. A. and Nepal.

It was found that the relative amount of the three major components in the extracts of the hemp from Japan was almost constant, namely THC was predominant. They were, however, different from those of the U. S. A. and Nepal as well as from those of various origins already described in some foreign reports.

(Received March. 26, 1967)

まえがき

大麻試験法の確立は裁判化学上重要な意義をもち古くから二、三の呈色反応が発見され、最近では各種クロマトグラフ法や機器分析手段を利用した微量確認法に関する研究も見られる。われわれはこれら種々の方法の応用性を比較検討して理化学的試験の標準法を提出しようと企てた。さらにその方法を応用して北日本産各地の大麻および米国、ネパール、インド産のものについて検討を加えた。その結果その固有成分といわれている cannabinal (CBN), cannabidiol (CBD), tetrahydrocannabinol (THC) の相対含有量が、日本のものではこれら外国のおよび文献¹⁾にみられる世界各地のものと異なった共通性を示すことを見いだしたのであわせて報告する。

実験方法

1) 試料溶液の調製

植物から抽出してガスクロマトグラフ (GLC) および薄層クロマトグラフ (TLC) の試料とするための処理方法はつぎの2つを行なった。

A法: 乾燥した植物の葉および葉柄の部分を集め細切しエタノールで還流し、減圧下約 $1/2$ 量のエタノールを留去したのち、等量の水を加え、さらに大部分のエタノールを減圧留去する。残存する水層より石油エーテルまたはヘキサンで抽出し、減圧濃縮して試料とする。

B法: Korte の報告²⁾に準じ乾燥植物を1夜ヘキサンまたは石油エーテルに浸したのち、窒素ガス下ブレンダーで粉碎し吸引ろ過する。ろ液を窒素下20~30°Cで減圧濃縮し試料とする。

2) カラムによる精製

ケイ酸カラム: silicic acid (Marincrodt, 100 mesh) をメタノールにサスペンドしデカンティションにより粒

*¹ 仙台市北四番丁85: 85-Kitayonbancho, Sendai-shi, Japan

*² 仙台市外記丁105: 105-Gekicho, Sendai-Shi, Japan

度をそろえる。メタノールを除いたのち 105° で 1 夜活性化したものを内径約 20 mm のカラムにヘキサンで湿式充てんする。エキ스는 1~2 ml のヘキサンに溶かしてカラムにかけ、溶出溶媒はヘキサン、ヘキサン・エーテル (9:1)、酢酸エチル、エタノールの順に用いた。

アルミナカラム：カラムにヘキサンを満たしこれに活性アルミナを除々に入れ、2~5 度転倒し均一に分散せしめて充てんする。流出はヘキサンおよびヘキサンエーテルで行なう。

3) 呈色反応

Ghamrawy, アルカリ Beam, Duquenois-Negm 反応に加えて diazoblu B (o-dianisidine tetrazotized・塩化亜鉛コンプレックス 15mg を冷時 20 ml の $\frac{1}{10}$ N 水酸化ナトリウム水に溶かす。用時調製) による呈色を行なった。反応は試料 1 滴に各試薬数滴をマイクロ試験管中で加え観察した。

4) 薄層クロマトグラフィー

シリカゲルプレート：Kieselgel G (Merck) を使用し常法どおり製する。105°, 1 時間活性化ののちデシケーター中に保存する。

アルミナプレート：Aluminium oxide G (Merck) を使用し同様に製する。

シリカゲルプレートの N,N-dimethylformamide の impregnation²⁾：プレートに展開する場合と同様の操作でジメチルホルムアミドを十分しみ込ませたのち、室温で半乾燥の状態にし使用する。

展開溶媒はシリカゲル、アルミナプレートにはベンゼン・エーテル (4:1) およびヘキサン・エーテル (4:1) を試み、ジメチルホルムアミドプレートにはシクロヘキサンを用いた。

スポットの検出には UV ランプ照射, Ghamrawy 試薬, 濃硫酸, アルカリ Beam 試薬およびジアゾブルー試薬の噴霧によった。

5) UV 吸収スペクトルの測定

試料の着色の著しい場合には少量の活性炭処理ののちエーテルに溶かし日立自記分光光度計で測定した。

6) ガスクロマトグラフィー

島津ガスクロマトグラフ GC-1B を使用した。条件を下に示す。

カラム：1.5% SE 30, 担体 Simalite 60~80 mesh,

φ 3 mm, 長さ 1.5 m

温度：試料室 290°, カラムバス 226°

水素炎イオン化検出器室 240°

流速：窒素 50 ml/min

実験結果および考察

抽出法については A 法におけるヘキサンまたは石油エーテルを酢酸エチルにかえると夾雑物が多く適当ではないことが認められた。大麻は limonene, hnmulone など非特異成分を始め 18 種もある³⁾ 精油成分を含有するが B 法によれば夾雑物が少く CBN, THC, CBD をよく抽出するという結果が得られた。また窒素ガスを用いる操作は省いてもよいようである。

呈色反応の結果を参考までに TABLE I に示す。対照として CBD 標準品と市販紙巻タバコから同様に抽出したエキスについて行なった。いずれもタバコの場合は陰性であった。

TABLE I Color Reactions of the Extract, CBD and Tobacco

	Extract	CBD	Tobacco
Ghamrawy	red $\xrightarrow{\text{water}}$ blue	red $\xrightarrow{\text{water}}$ blue	—
Duquenois	bluish violet	bluish violet	—
Beam	purple	purple	—
Diazoblu B	red	orange	—

TABLE II Silicic Acid Column Fractionation and Color Reactions

Fraction	Ghamrawy	Duquenois
hexane	—	—
10% ether in hexane	+	±
10% ether in hexane	++	++
10% ether in hexane	++	±
ether	+	—
ethyl acetate	+	—
ethanol	±	—

Fig. 1 UV Absorption Spectrum of the Extract and CBD

Fig. 2 Thin Layer Chromatography (TLC) of *Cannabis* Extract

- A : Crude extract
B : SiO_2 column treated
C : after an additional column treatment with Al_2O_3
D : CBD standard sample
E : sterol

カラムによる精製：TABLE II にケイ酸カラムによる分画と呈色反応による結果を示す。両反応に陽性なヘキサン・エーテル流出部をさらにアルミナカラム処理を行なうと、初めのヘキサン流出部は両反応とも陰性でつぎ

Fig. 3 Dimethylformamide Impregnated TLC of *Cannabis* Extract

- A : obtained in Japan
B : in America
C : in Nepal
D : CBD standard sample
coloration : by diazoblu B

の20%エーテル・ヘキサン流出部に強陽性が現れた。この紫外外部吸収スペクトルを Fig. 1 に示す。

CBD の含量の多い資料あるいは fraction では双峰性を示すが、本邦産の多くは CBD をほとんど含まず、し

Fig. 4 Gas Chromatographic Patterns of *Cannabis* Extracts

- A : obtained in Tochigi prefecture
B : in Miyagi prefecture
C : in Aomori prefecture
D : in the U. S. A.
E : in Nepal
F : CBD standard sample
G : tobacco

Fig. 5 Effect of Column Purification

A : before treatment

B : after treatment with SiO_2 and Al_2O_3 columns

Fig. 6 Seasonal Variation in the Amount of Major Components

A : harvested at the beginning of June

B : in the middle of September

The perk indicated by an arrow in each figure represents the same amount of methyl oleate as an internal standard.

たがって紫外外部吸収スペクトルは単峰性である。

薄層クロマトグラフィー：シリカゲルプレートによる結果を Fig. 2 に示す。斜線のスポットのみが数時間放置するかまたは水を噴霧することにより青変することが見いだされ、UV ランプでは暗点に、硫酸では緑褐色に検出された。カラムで精製したCをアルミナプレートで展開溶媒をシクロヘキサン、ベンゼン、エーテル（4：1）およびヘキサン・エーテル（9：1）で試みたがやはり1点であった。これに反しジメチルホルムアミドプレートでは Fig. 3 に示すように2点または3点となる。スポット(i), (ii)は呈色および CBD との R_f 値の比較から文献²⁾にしたがいそれぞれ THC と CBN と推定される。

ガスクロマトグラフィー：Fig. 4 に示されるように東日本産のものはどれもピーク①が圧倒的に多く②は微量で③はほとんど検出されない。CBD との比較保持時間¹⁾およびジメチルホルムアミドプレートでの分離呈色の度合とガスクロマトグラム上のピーク面積とを照合してピーク①は THC、②は CBN であることは確定的である。またタバコから同様の操作で得た結果はこの付近に誤認されるようなピークはみられず区別は容易であった。Fig. 4 のクロマトグラムは抽出試料そのままについてのものであるが、前もって前記のカラムにより精製したものは、群少のピークの消失がみられるよい結果を得た

(Fig. 5)。また採集時期により成分の含量の差が認められ6月初旬に比し9月下旬では数倍に増していた (Fig. 6)。米国産およびネパール産の大麻は Fig. 4 に示すように東日本産とその含有主成分に関して大きな差異がみられる。すなわち前者では日本産に比し高い CBN の含有率を示し、後者では特徴的に CBD の含有率が高かった。

Davisらはガスクロマトグラフィーにより CBD : THC + CBN の分量比が生育地の気象条件と関係があり、それによって産地を判別することもある程度可能であることを見いだしている。われわれが分析した結果東日本産のものは、6月から11月までの種々の採集時期にわたり THC が圧倒的に多く CBN が少量検出され CBD はほとんど含まれないという共通性が認められたが、これは日本の温帯モンスーン性気候と関係が深いものと思われる。しかし気候との関連性を論議するには外国産のものの採集条件が不明であり、またデータの数も少な過ぎるので、今後の研究が期待される。

文 献

- 1) W. M. Davis, C. G. Farmilo : Anal. Chem., **35**, 752 (1963).
- 2) F. Korte, H. Sieper : J. Chromatog., **13**, 90 (1964).
- 3) L. Martin : Nature, **191**, 774 (1961).