

LC-MS/MSによるCBDリキッド製品中 カンナビノイド類12成分の一斉分析法の検討

喜名啓志 三枝成美 米田葵 大坂郁恵 今井浩一

Consideration of LC-MS/MS method
for the simultaneous determination of twelve cannabinoids in CBD vape oils

Keishi Kina, Narumi Saegusa, Aoi Yoneda, Ikue Osaka, Koichi Imai

はじめに

大麻草には100種類以上のカンナビノイドと総称される化合物群が含まれている。そのうち Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) 及び Δ^8 -THCは向精神作用が報告されており、麻薬及び向精神薬取締法で規制されている大麻の有害成分である。

一方、cannabidiol (CBD) とは、大麻草などに含まれる成分の一種であり、国外では既に希少疾病用医薬品として、てんかんの治療に用いられている。一方国内では既に医薬品以外には、オイル、クリーム、リキッド、グミ、ガム、サプリメント及び入浴剤等といった様々なCBD製品がある。特に、CBD製品の中で人気の高い電子タバコ用リキッド製品は、その種類も多く、インターネットやディスカウントストアで容易に入手可能な状況にある。

最近、CBD製品から麻薬である Δ^9 -THCが検出され注意喚起されている¹⁾ことから、 Δ^9 -THCを含むカンナビノイド類の検査法の整備が必要である。しかしながら、カンナビノ

イド類の中には構造が類似し組成式が同一のものがあり、その分析には注意が必要である。そこで、本研究ではLC-MS/MSを用いた Δ^9 -THCと組成式が同一の成分を含むカンナビノイド類12成分の一斉分析法を検討し、ディスカウントストアで購入した電子タバコ用CBDリキッド製品に含まれるカンナビノイド類の測定を行った。

方法

1 測定対象成分

Δ^9 -THCを含む12成分のカンナビノイド類 (cannabidivarinic Acid (CBDVA), cannabidivarin (CBDV), tetrahydrocannabivarin (THCV), cannabigerol (CBG), CBD, cannabinol (CBN), Δ^9 -THC, Δ^8 -THC, cannabicyclol (CBL), Δ^9 -tetrahydrocannabinolic acid A (Δ^9 -THCA-A), cannabichromene (CBC), cannabicyclolic acid (CBLA)) を測定対象とした(図1)。

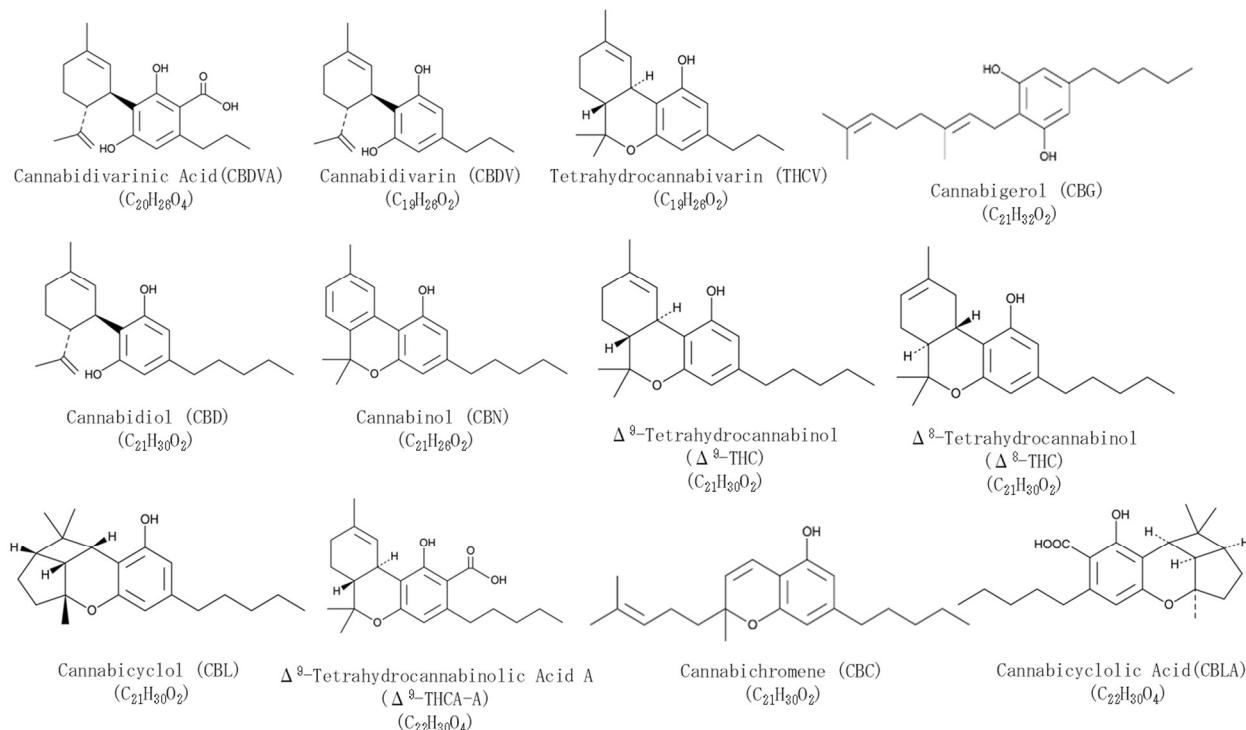


図1 測定対象としたカンナビノイド類12成分

2 試薬及び標準品

分析用標準品はSigma-Aldrich社製又はCayman Chemical社製の試薬を用いた。

ギ酸（特級）、メタノール（LC-MS用）、アセトニトリル（LC-MS用）、プロピレンジコール（特級）、グリセリン（特級）は関東化学社製を用いた。

3 標準溶液の調製

各標準品をアセトニトリルで希釈して、カンナビノイド類12成分の混合標準溶液（1～50 ng/mL）とした。

4 装置

LC:ACQUITY UPLC I-CLASS PLUS (Waters社製)

MS:XevoTQ-S cronos (Waters社製)

5 LC-MS/MS分析条件の検討

(1) MS 条件検討

全ての測定対象成分の1 ng/mL 標準溶液においてS/N=10以上となる最適なSRM条件の検討を行った。

(2) LC 条件検討

測定対象成分のうち5成分（CBD, Δ^9 -THC, Δ^8 -THC, CBL, CBC）は組成式が同一でMSによる判別が困難であるため、分離可能なLC条件を検討した。

4種類のカラム（ACQUITY UPLC BEH Phenyl (1.7 μ m 2.1×100 mm) (Waters社製), ACQUITY UPLC CSH Phenyl-Hexyl (1.7 μ m 2.1×100 mm) (Waters社製), ACQUITY UPLC HSS C18 (1.8 μ m 2.1×100 mm) (Waters社製), Inertsil ODS-HL HP (3.0 μ m 2.1×150 mm) (GLサイエンス社製)²⁾に対して移動相Aに0.1vol%ギ酸水溶液、Bに0.1vol%ギ酸含有アセトニトリル³⁾溶液又は0.1vol%ギ酸含有メタノール⁴⁾を検討した。

6 直線性

1～50 ng/mLに調製した混合標準溶液を用いて検量線の直線性を確認した。

7 再現性

1 ng/mLに調製した混合標準溶液を6回連続で測定し再現性を確認した。

8 添加回収試験

疑似製品としてプロピレンジコール及びグリセリン=1:1 (v/v) 混液を基材にし、1 μ g/mLとなるよう疑似製品に混合標準溶液を添加した後、疑似製品100 mgにアセトニトリルを加えて溶解し、正確に10 mLとした。その液1 mLをアセトニトリルで正確に10 mLとしたものを試料溶液として回収率を確認した。

9 試料

埼玉県内のディスカウントストアで購入した電子タバコ

用CBDリキッド製品2製品を試料とした。

10 試料溶液の調製

試料100 mgをアセトニトリルで正確に10 mLとし、混和した。その液1 mLを正確に採取し、アセトニトリルで正確に10 mLとした液を試料溶液とした。

結果及び考察

1 LC-MS/MS分析条件

(1) MS 条件

SRMモードにおいて対象成分のピークが良好に測定できる条件を確立した（表1）。

表1 SRM条件

	保持時間 (分)	プリカーサーイオン(m/z)	プロダクトイオン(m/z)	コーン電圧(V)	コリジョンエネルギー(eV)
CBDVA	3.4	331.1	313.4	18	9
			191.2	18	28
CBDV	3.9	287.3	165.3	15	22
			231.3	15	16
THCV	7.1	287.3	165.3	30	18
			231.3	30	14
CBG	7.3	317.3	193.3	18	10
			123.2	18	28
CBD	7.4	315.3	193.3	35	17
			135.3	35	17
CBN	11.9	311.1	223.3	18	18
			241.2	18	17
Δ^9 -THC	15.5	315.1	193.2	30	18
			135.3	30	18
Δ^8 -THC	16.5	315.1	193.2	30	18
			135.3	30	18
CBL	19.0	315.3	235.4	30	15
			123.3	30	32
Δ^9 -THCA-A	20.8	359.3	219.1	18	28
			341.3	18	15
CBC	21.0	315.1	193.3	30	17
			135.3	30	15
CBLA	22.1	359.3	261.2	20	23
			341.4	20	16

プロダクトイオンの上段は定量イオン、下段は確認イオンとした。

(2) LC 条件

組成式が同一の5成分のうち Δ^9 -THC, Δ^8 -THC及びCBLは保持時間が近いため、完全に分離する条件を検討した。国連薬物犯罪事務所の分析方法⁴⁾で見られる移動相に0.1vol%ギ酸含有メタノールを用いる条件では、 Δ^8 -THC及びCBLは分離が困難となり、0.1vol%ギ酸含有アセトニトリルを用いる条件で完全な分離が可能となった。分析カラムはODSの中でもハイカーボンのACQUITY UPLC HSS C18 (1.8 μ m 2.1×100 mm)を用いることにより良好なピーク形状と分離を得ることが出来た（図2）。

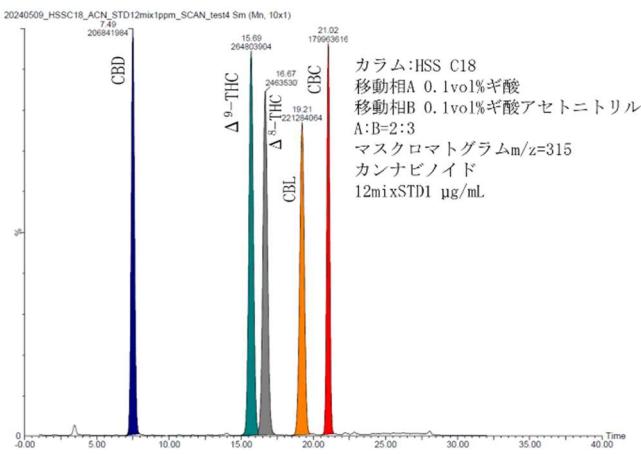


図2 同組成式5成分のマスクロマトグラム

さらに、グラジェント条件を検討することで、対象12成分が良好に分離する条件を確立した（表2）。

表2 分析条件

カラム	Waters ACQUITY UPLC HSS C18 (2.1×100 mm, 1.8 µm)
移動相	A: 0.1 vol%ギ酸水溶液 B: 0.1 vol%ギ酸含有アセトニトリル溶液
流速	0.4 mL/min
グレーディエント	A:B 0~18.0 min (40:60) → 24.0~27.0 min (5:95) → 27.1~32.0 min (40:60)
カラム温度	40°C
注入量	5 µL
イオン化モード	ESIポジティブ
キャビラリー電圧	2.0 kV
ソース温度	150°C
デソルベーションガスN ₂ (1000 L/h)	500°C
測定方法	SRMモード

確立した条件で1 ng/mL 標準溶液を測定したところ、全ての成分においてS/N=30以上の良好なピークを測定することが出来た（図3）。

2 直線性

各成分において回帰式を求めたところ、決定係数(r^2)1.000の良好な直線性が得られた。また、定量下限値は検量線の最小濃度である1 ng/mLとした。

3 再現性

各成分においてRSDは5%以下で、良好な再現性が得られた。

4 添加回収試験

各成分の回収率は95~120%，RSDは1.0~5.3%で、良好な回収率が認められた。

直線性、再現性、添加回収試験結果を表3に示す。

5 CBDリキッド製品の測定

ディスカウントストアで購入した2つのCBDリキッド製品について12成分の測定を行った（表4）。

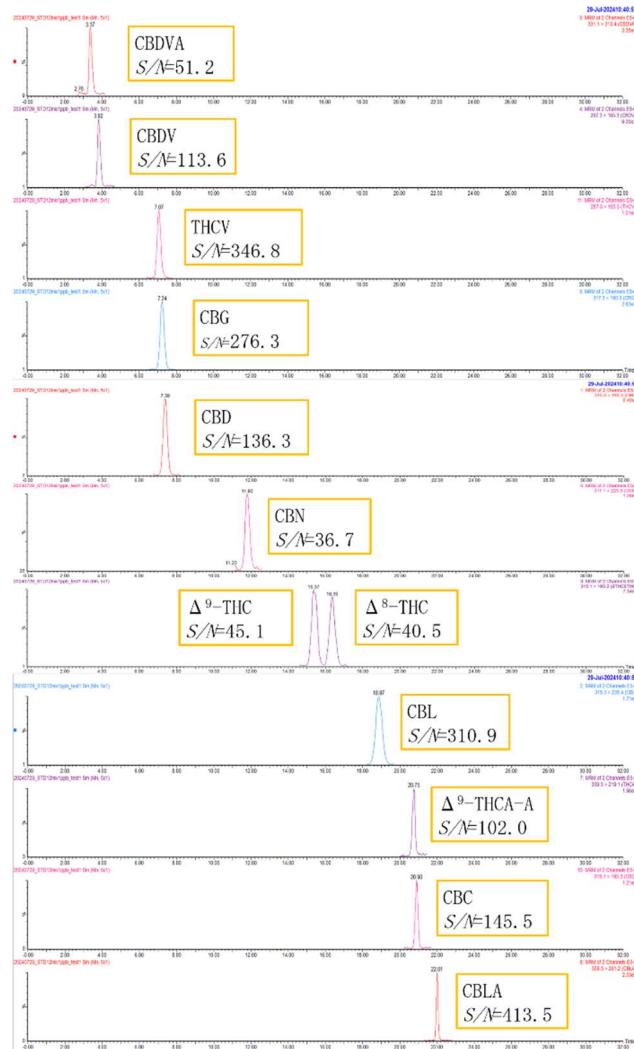


図3 標準溶液1 ng/mLのSRMクロマトグラム

表3 直線性、再現性、添加回収試験結果

	検量線 決定係数 1-50 ng/mL	再現性1 ng/mL %RSD(%)	添加回収	
			回収率(%)	%RSD(%) [*]
CBDVA	1.000	1.88	119.9	2.57
CBDV	1.000	3.82	95.9	3.02
THCV	1.000	3.36	98.0	5.23
CBG	1.000	1.83	104.1	1.99
CBD	1.000	2.67	96.5	4.25
CBN	1.000	2.35	99.7	1.67
Δ⁹-THC	1.000	2.79	98.7	3.19
Δ⁸-THC	1.000	2.26	102.9	3.44
CBL	1.000	2.59	96.0	1.04
Δ⁹-THCA-A	1.000	2.92	115.3	2.79
CBC	1.000	2.37	103.8	2.53
CBLA	1.000	3.75	113.6	1.60

^{*}n=5

麻薬に該当する Δ^9 -THC等は確認されなかったが複数のカンナビノイド類が測定されたことから、合成したCBDを添加して製造された製品ではなく大麻草の成熟した茎等から抽出されたCBDを添加して製造された製品の可能性が示唆された。

表4 CBDリキッド製品測定結果

製品名	製品1	製品2
記載された CBD含有量(mg)	1000	1000
製品表示量(mL)	10.0	10.0
CBDVA(μg/mL)	ND	ND
CBDV(μg/mL)	103.1	101.0
THCV(μg/mL)	ND	ND
CBG(μg/mL)	145.1	136.1
CBD(μg/mL)	87867	83129
CBN(μg/mL)	102.5	101.3
Δ ⁹ -THC(μg/mL)	ND	ND
Δ ⁸ -THC(μg/mL)	ND	ND
CBL(μg/mL)	ND	ND
Δ ⁹ -THCA-A(μg/mL)	ND	ND
CBC(μg/mL)	ND	ND
CBLA(μg/mL)	ND	ND

ND: 1μg/mL 未満

まとめ

カンナビノイド類 12 成分の一斉分析方法を検討した。MS 条件及び LC 条件を検討し、良好な直線性及び再現性が得られる測定法を確立した。対象としたカンナビノイド以外にも多くのカンナビノイドが存在しており、大麻草由来製品の分析結果を評価するにあたっては注意が必要と考えられた。

また、電子タバコ用 CBD リキッド 2 製品を分析したところ、麻薬に該当する Δ⁹-THC 等のカンナビノイド成分は検出されなかった。一方で複数のカンナビノイド類が測定されたことから、合成した CBD を添加して製造された製品ではなく大麻草の成熟した茎等から抽出された CBD を添加して製造された製品の可能性が示された。今後は更に多くの製品の分析を進めるとともに、様々な形状の製品についても分析方法を検討していく。

文献

- 1) 残留限度値を超える Δ⁹-THC が検出された製品について。令和 7 年 5 月 23 日付事務連絡、厚生労働省医薬局監視指導麻薬対策課
https://www.mhlw.go.jp/stf/hodou/0000212707_00028.html (2025 年 9 月 1 日参照)
- 2) Akira Namera, Shigenori Ota, Yasuhiro Saito, 他 : Facile determination of natural cannabinoids in cannabis products using a conventional fully porous particle column and isocratic high-performance liquid chromatography with diode-array detector. *Forensic Toxicology*, 40, 417-421, 2022
- 3) 田中理恵, 水谷佐久美, 河村麻衣子, 他 : LC-Q-TOF-MS を用いた大麻草 (*Cannabis sativa L.*) のカンナビノイ

ド 11 成分の分析. *YAKUGAKU ZASSHI*, 143, 411-418,

2023

- 4) United Nations Office on Drugs and Crime : Recommended Methods for the Identification and Analysis of Cannabis and Cannabis Products. 2022