

200401186 A

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究推進事業）

依存性薬物および未規制薬物による神経毒性と精神病の発現機序

平成 16 年度 総括研究報告書

**Neuroscientific Research on Mechanisms of Neurotoxicity and Psychosis
of Dependent and Unregulated drugs**

Annual Report

Research on Pharmaceutical and Medical Safty

**Supported by Grant from the Ministry of Health, Labour and Welfare,
Japan in 2004**

(Chief ; Toshitaka Nabeshima)

平成 17 年 3 月

主任研究者 鍋島俊隆

1. 平成 16 年度総括研究報告 鍋島俊隆.....	1
2. 平成 16 年度分担研究報告	
MDMA および関連化合物の合成：dichlorophenylpiperazine の合成と serotonin 受容体親和性.....	7
分担研究者：岩村樹憲	
研究協力者：片岡 貞、小田 誠	
(岐阜薬科大学製造薬学科・薬化学教室)	
覚醒剤および MDMA による精神障害の発現の分子機序.....	13
分担研究者：野田幸裕 ¹	
研究協力者：鍋島俊隆 ¹ 、宮崎雅之 ¹ 、毛利彰宏 ¹ 、溝口博之 ¹ 、新田淳美 ¹ 、岩村樹憲 ²	
(¹ 名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学・附属病院薬剤部、 ² 岐阜薬科大学製造薬学科・薬化学教室)	
Methamphetamine 探索行動 (“渴望”) ならびに知的機能に及ぼす MDMA の影響.....	21
分担研究者：山本経之	
研究協力者：縄田陽子、平仁田尊人	
(九州大学大学院薬学府医療薬科学専攻 薬効解析学分野)	
MDMA の serotonin 放出および神経毒性発現の分子機序の解明.....	27
分担研究者 金子周司	
共同研究者 中川貴之、山内陽介、鈴木祐一	
(京都大学大学院薬学研究科 生体機能解析学分野)	
Methamphetamine により誘発される認知障害の機構の解明と治療法の確立.....	34
分担研究者：山田清文	
研究協力者：永井拓、東岸由里子、小林香奈、田熊一敞	
(金沢大学大学院自然科学研究科 病院薬学)	
覚醒剤による行動異常および dopamine 作動性神経系の障害における minocycline の効果：.....	44
ミクログリアの関与	
分担研究者：伊豫雅臣	
研究協力者：張 淋、清水栄司、橋本謙二	
(千葉大学大学院医学研究院・精神医学)	

依存性薬物および未規制薬物の薬物依存評価システム構築と	52
その形成メカニズム解明に関する研究	
分担研究者：船田正彦 ¹	
研究協力者：浅沼幹人 ² 、宮崎育子 ² 、周 曉華 ¹ 、佐藤美緒 ¹ 、和田 清 ¹	
(¹ 国立精神・神経センター精神保健研究所 薬物依存研究部、 ² 岡山大学大学院医歯学総合研究科脳神経制御学講座神経情報学)	
覚醒剤とストレスによる精神障害発現における H1 受容体の役割	62
分担研究者：谷内一彦	
研究協力者：櫻井映子、奥田友宏、代紅梅、加藤元久、倉増敦朗、岡村信行	
(東北大学大学院医学系研究科・機能薬理学分野)	
未規制を含む依存性薬物の精神神経毒性と標的分子への作用機序の解明	68
分担研究者：曾良一郎 ¹	
研究協力者：沼知陽太郎 ¹ 、山下元康 ¹ 、福島攝 ¹ 、小原可久 ¹ 、近江香予 ¹ 、小林秀昭 ¹ 、岩村樹憲 ²	
(¹ 東北大大学院医学系研究科 精神・神経生物学分野、 ² 岐阜薬科大学製造薬学科 薬化学教室)	
未規制を含む依存性薬物による精神障害の分子病態の解明	84
一脳内 D-serine システムの関与に関する研究一	
分担研究者：西川 徹	
研究協力者：柏 淳、金子雄二郎、兼松宗太郎、石井澄和、海野麻未、伊藤 卓、山本直樹	
(東京医科歯科大学医学部精神行動医科学)	
多剤乱用の実態と物質誘発性精神病の遺伝子リスクファクターの解明	91
FZD-3 および CYP2D6 遺伝子の検討	
分担研究者：氏家 寛 ¹	
研究協力者：岸本真希子 ¹ 、森尾亜希子 ¹ 、森田幸孝 ¹ 、大谷恭平 ¹ 、野村 晃 ¹ 、稲田俊也 ² 、原野陸正 ² 、小宮山徳太郎 ² 、山田光彦 ² 、関根吉統 ² 、曾良一郎 ² 、岩田仲生 ² 、伊豫雅臣 ² 、尾崎紀夫 ² 、黒田重利 ¹	
(¹ 岡山大学大学院医歯学総合研究科 精神神経病態学分野、 ² Japanese Genetics Initiative for Drug Abuse (JGIDA))	
薬物依存重症度評価法の構築と候補治療薬の探索	100
分担研究者：池田和隆 ¹	
研究協力者：大谷保和 ¹ 、原口彩子 ¹ 、近藤あゆみ ^{1,2} 、高松幸雄 ¹ 、山本秀子 ¹ 、萩野洋子 ¹ 、笠井慎也 ¹ 、曾良一郎 ² 、妹尾栄一 ³	

(¹東京都精神医学総合研究所・分子精神医学研究部門、²東北大学大学院医学研究科精神神経生物学分野、³東京都精神医学総合研究所・嗜癖行動研究部門)

東京都内の精神科医療機関における脱法ドラッグの実態調査..... 111

分担研究者：糸川昌成¹

研究協力者：新谷昌宏²、岩田健²、安田一郎³、高橋美佐子³、新井誠¹

(¹東京都精神医学総合研究所・統合失調症研究部門、²東京都立広尾病院・神経科、³東京都健康安全研究センター・医薬品部医薬品研究科)

3. 分担研究者氏名一覧.....119

平成 16 年度 総括研究報告

主任研究者 鍋島俊隆

平成 16 年度厚生労働科学研究費補助金
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究推進事業)
「依存性薬物および未規制薬物による神経毒性と精神病の発現機序」

主任研究者 鍋島俊隆

総括研究報告

本研究班の目的は、未規制薬物および規制薬物である methamphetamine (MAP) や 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA : エクスタシー) を対象に、依存と長期乱用による神経毒性の発生に係わる病態を分子生物学的に解明し、新たな予防・治療法の開発と国際的な依存・乱用防止の啓発に役立て、研究成果を社会に還元することである。本研究では、基礎研究は鍋島俊隆が責任者となり、臨床研究は曾良一郎教授が責任者となり、本年から 3 年間の研究を行うこととした。平成 16 年度はその初年度にもかかわらず、多くの研究成果が得られたので、その概要について報告する。

(I) 基礎研究

1. MDMA および関連化合物の合成 : dichlorophenylpiperazine の合成と serotonin セロトニン受容体親和性
(岐阜薬科大学製造薬学科 薬化学教室 岩村樹憲)
2. 覚醒剤および MDMA による精神障害の発現の分子機序
(名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学・附属病院薬剤部 野田幸裕)
3. Methamphetamine 探索行動 (“渴望”) ならびに知的機能に及ぼす MDMA の影響
(九州大学大学院薬学研究府医療薬科学専攻 薬効解析学分野 山本経之)
4. MDMA の serotonin 放出および神経毒性発現の分子機序の解明
(京都大学大学院薬学研究科 生体機能解析学分野 金子周司)
5. Methamphetamine により誘発される認知障害の機構の解明と治療法の確立
(金沢大学大学院自然科学研究科 病院薬学 山田清文)
6. 覚醒剤による行動異常および dopamine 作動性神経系の障害における minocycline の効果 : ミクログリアの関与
(千葉大学大学院医学研究院 精神医学 伊豫雅臣)
7. 依存性薬物および未規制薬物の薬物依存評価システム構築とその形成メカニズム解明に関する研究
(国立精神・神経センター精神保健研究所 薬物依存研究部 船田正彦)

(II) 臨床研究

1. 覚醒剤とストレスによる精神障害発現における H1 受容体の役割
(東北大学大学院医学系研究科 機能薬理学分野 谷内一彦)

2. 未規制を含む依存性薬物の精神神経毒性と標的分子への作用機序の解明
(東北大学大学院医学系研究科 精神・神経生物学分野 曾良一郎)
 3. 未規制を含む依存性薬物による精神障害の分子病態の解明
—脳内 D-serine システムの関与に関する研究—
(東京医科歯科大学医学部精神行動医科学 西川 徹)
 4. 多剤乱用の実態と物質誘発性精神病の遺伝子リスクファクターの解明
FZD-3 および CYP2D6 遺伝子の検討
(岡山大学大学院医歯学総合研究科 精神神経病態学分野 氏家 寛)
 5. 薬物依存重症度評価法の構築と候補治療薬の探索
(東京都精神医学総合研究所 分子精神医学研究部門 池田和隆)
 6. 東京都内の精神科医療機関における脱法ドラッグの実態調査
(東京都精神医学総合研究所 統合失調症研究部門 糸川昌成)
-

(I) 基礎研究

未規制および規制薬物の依存および神経毒性について動物の行動、生化学および分子生物学的な研究を統合し、それらの発現機序を分子生物学的レベルで解明した。MAP による依存、情動性・認知障害などの精神障害モデル動物は確立し、それらの分子機序として dopamine - glutamate 系を介する細胞内シグナル系、cannabinoid システムおよび histamine 作動性神経系あるいはミクログリアが関与していることが見出された。また、MAP による嗜好性が抗うつ薬によって減弱されることが見出され、臨床現場での有効性について検証中である。MDMA の合成法が確立し、未規制薬物の 5-methoxy-N,N-diisopropyltryptamine (5-MeO-DIPT) が高純度に精製され、両薬物を用いて動物実験が開始された。MDMA あるいは 5-MeO-DIPT による依存・認知障害などの精神障害のモデル動物は確立し、MDMA の分子機序を調べるための培養細胞を用いた実験系も樹立された。また MAP および MDMA の精神依存モデル動物の脳内遺伝子発現の変化の解析や両薬物によって共通して変動するタンパク質が同定され、現在 MAP と MDMA 投与後の脳内遺伝子発現の変化が解析されている。

1. MDMA および関連化合物の合成：dichlorophenylpiperazine の合成と serotonin 受容体親和性 (岐阜薬科大学製造薬学科 薬化学教室 岩村樹憲)

薬物依存性など生物活性評価のための MDMA ならびに MDA の合成方法を確立し、関連化合物合成への展開も可能となった。MDMA 関連化合物の 2,3-dichlorophenylpiperazine (DCPP) 類の中で、N-benzyl-DCPP は、serotonin-S2A 受容体に対して高い親和性 ($K_i=14$ nM) が認められた。

2. 覚醒剤および MDMA による精神障害の発現の分子機序 (名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学・附属病院薬剤部 野田幸裕)

Methamphetamine (MAP) 連続投与後の精神行動障害 (自発性障害と感覚運動情報制御障害) は、側坐

核における dopamine および glutamate 作動性神経系の機能が亢進された結果、dopamine および NMDA 受容体を介する細胞内情報伝達系 (PKA/CaMKII/CREB) が増強されたため、惹起されることを見出した。また、MDMA も連続投与すると運動過多の増強 (逆耐性) が惹起された。

3. Methamphetamine 探索行動 (“渴望”) ならびに知的機能に及ぼす MDMA の影響 (九州大学大学院薬学研究府医療薬科学専攻 薬効解析学分野 山本経之)

MAP 摂取行動発現時には脳内 cannabinoid システムが活性化され、退薬時 (渴望準備期) では逆に不活性化されている可能性が示唆された。また MAP 自己投与ラットでの薬物探索行動を、MDMA それ自体では誘発しないことが確認された。

4. MDMA の serotonin 放出および神経毒性発現の分子機序の解明 (京都大学大学院薬学研究科 生体機能解析学分野 金子周司)

MDMA の分子作用点を明らかにするために単純化した 2 種類の実験系を樹立できた。すなわち、Xenopus 卵母細胞に serotonin トランスポータを強制発現させると、その serotonin 取り込み活性およびイオン電流が検出できた。ラット縫線核スライス培養系を樹立し、免疫染色によって serotonin 合成酵素およびトランスポータの発現を経時的に解析することを可能にした。

5. Methamphetamine により誘発される認知障害の機構の解明と治療法の確立 (金沢大学大学院自然科学研究科 病院薬学 山田清文)

マウスにおいて methamphetamine (MAP: 1 mg/kg) を 1 日 1 回 1 週間連続投与すると認知障害が誘発され、その障害は MAP 断薬後も 4 週間持続することを確認した。さらに、MAP 誘発性認知障害には前頭前皮質における dopamine-D1 受容体-MAPK 系シグナルの機能不全が関与していることを明らかにした。

6. 覚醒剤による行動異常および dopamine 作動性神経系の障害における minocycline の効果: ミクログリアの関与 (千葉大学大学院医学研究院 精神医学 伊豫雅臣)

覚醒剤投与による行動異常および dopamine 作動性神経系の障害にミクログリアが関与している可能性を見出した。覚醒剤投与によるマウス脳内 dopamine 作動性神経系の障害は、minocycline の投与によって有意に抑制されることから、minocycline は覚醒剤投与による精神障害および神経障害の治療薬として有用である可能性が示唆された。

7. 依存性薬物および未規制薬物の薬物依存評価システム構築とその形成メカニズム解明に関する研究 (国立精神・神経センター精神保健研究所 薬物依存研究部 船田正彦)

Methamphetamine (MAP)、MDMA および脱法ドラッグの 5-methoxy-N,N-diisopropyltryptamine (5-MeO-DIPT) は、報酬効果および神経毒性を有することが明らかとなった。また、MAP および MDMA の投与による脳内遺伝子発現の変化を cDNA マイクロアレイ法で解析したところ、MAP および MDMA の投与により共通して glucocorticoid-induced leucine zipper mRNA 発現レベルが増加していたことを見出した。

(II) 臨床研究

神経画像解析や遺伝子解析、薬物依存性評価システムの構築を行った。実態調査研究においては、総合病院の救命救急科に未規制薬物による健康危害例が来院しているが精神科での十分な対応がなされていないことが判明した。しかし病院と研究施設との研究連携システムは完成したためさらに調査が行われている。薬物依存者のゲノムは現在解析中であり、MDMA 乱用者は独特の臨床類型を示す可能性が明らかとなってきている。依存重症度評価システムは構築され、ホームページ上に公開して活用できるようにした。

1. 覚醒剤とストレスによる精神障害発現における H1 受容体の役割 (東北大学大学院医学系研究科 機能薬理学分野 谷内一彦)

覚醒剤依存形成におけるストレスの関与について検討したところ、隔離ストレスは覚醒剤による驚愕反応変化を増大させた。またストレス関連疾患である統合失調症やうつ病において histamine 作動性神経の機能低下を分子 PET イメージング法により証明した。また抗 histamine 薬の chlorpheniramine が特異的に methamphetamine の濃度を増大させて、覚醒剤による行動異常が増強することを見出した。

2. 未規制を含む依存性薬物の精神神経毒性と標的分子への作用機序の解明 (東北大学大学院医学系研究科 精神・神経生物学分野 曾良一郎)

Methamphetamine (MAP)と MDMA の主な作用分子である dopamine トランスポーター(DAT)と serotonin トランスポーター(SERT)のノックアウト(KO)マウスにおける MAP と MDMA の体温上昇と神経毒性を調べた。MAP の体温上昇作用には DAT と SERT のどちらかが必要で、視床下部 IL-1 β mRNA の上昇と相関することが示唆された。また、MAP と MDMA の体温上昇と急性毒性には、dopamine に加えて serotonin 作動性神経伝達の関与が示唆された。

3. 未規制を含む依存性薬物による精神障害の分子病態の解明—脳内 D-serine システムの関与に関する研究— (東京医科歯科大学医学部精神行動医科学 西川 徹)

選択的・可逆的グリア毒である fluorocitrate を還流したラット内側前頭葉皮質において、細胞外液中の D-serine は 20-30%程度の減少を示したが、glycine、taurine、L-serine は逆に増加した。このラットは、移所運動量の増加、常同行動などの依存性薬物投与時に類似した行動異常を示した。したがって、内側前頭葉皮質のグリア細胞は、細胞外 D-serine の濃度調節や薬物依存に関連する行動の発現に関与する可能性が示唆された。

4. 多剤乱用の実態と物質誘発性精神病の遺伝子リスクファクターの解明 FZD-3 および CYP2D6 遺伝子の検討 (岡山大学大学院医歯学総合研究科 精神神経病態学分野 氏家 寛)

覚せい剤依存・精神病の遺伝子リスクファクターの解析では、FZD-3 遺伝子では遺伝子全体をカバーする 3 カ所の SNP を解析したところ、各 SNP では相関がなかったが、ハプロタイプ解析では有意な相関が見られた。覚せい剤の代謝に関わる CYP2D6 遺伝子では酵素欠損する*5、活性低下する*10 アレルはいずれも覚せい剤依存・精神病の危険因子ではなく、また、予後や経過にも影響を与えていないこ

とがわかった。

5. 薬物依存重症度評価法の構築と候補治療薬の探索（東京都精神医学総合研究所 分子精神医学研究部門 池田和隆）

依存重症度評価尺度として欧米で広く用いられている ASI(Addiction Severity Index)の日本語版を作成し、100 例以上の薬物依存患者のデータ収集を行って評価系の標準化を行った。この質問紙およびマニュアルはホームページ上に公開し、広く活用できるようにした。さらに渴望感評価尺度として Craving Index をオリジナルに開発した。基礎研究では、薬物条件付け場所嗜好性試験により、抗うつ薬の fluoxetine が覚醒剤嗜好性を減弱させることを見出した。

6. 東京都内の精神科医療機関における脱法ドラッグの実態調査（東京都精神医学総合研究所 統合失調症研究部門 糸川昌成）

都内の精神科クリニックには年間数例の未規制薬物使用歴のある患者が来院しているが、直接の薬物効果に基づいた来院動機ではないことが明らかとなった。総合病院では救命救急科を中心に未規制薬物の健康危害例が来院しているが精神科で十分対応しているところは少ないことが判明した。都立広尾病院では、神経科で年間 10 例ほどの緊急入院があることが明らかとなり、広尾病院と都精神研の研究連携システムを完成した。

平成 16 年度 分担研究報告

MDMA ならびに代謝産物の合成、 および MDMA 関連化合物の合成

分担研究者：岩村樹憲

研究協力者：片岡 貞、小田 誠

（岐阜薬科大学製造薬学科・薬化学講座）

[研究要旨]

本研究では、近年乱用薬物として広がりを見ている 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA)、および 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDA) の新規合成法を検討するとともに、MDMA の代謝化合物 2,4,5-trihydroxy-methamphetamine の合成を試みた。

文献記載の MDMA 合成法は、ピペロナルとニトロエタンを出発物質とし、Knoevenagel 反応、水素還元により MDA を合成。MDA のメチル化反応により MDMA を得ている。この合成方法では、MDMA の他にさらにメチル化反応が進行したアンモニウム塩化合物も副生成物として生じ、化学構造類似の MDA, MDMA およびアンモニウム塩化合物の分離精製が煩わしい。そこで類似化合物ライブラリー構築への展開も考慮して、他の別途合成方法を種々検討した結果、Knoevenagel 反応生成物を一電子還元的加水分解して、ケトン体とし、さらに還元的アミノ化反応を行うことで、MDMA および MDA を得る合成方法を開発した。またこの合成方法により関連化合物合成への展開が可能になった。

A. 研究目的

これまでに、依存性薬物としてはアヘン(モルヒネ、ヘロイン)、コカ葉(コカイン)、大麻(カンナビノイド)などが古くから知られているが、近年、依存性の強い合成麻薬として、神経伝達物質であるドパミンやセロトニンなどのモノアミン類、あるいは覚せい剤であるメタンフェタミンに化学構造が類似したものが次々に登場してきている。これらのうち特に、通称 MDMA と呼ばれる 3,4-methylenedioxyamphetamine が乱用薬物として地下市場に広がってきているが、薬物乱用の防止、啓発、中毒症状の治療のためには乱用薬物

の生物学的特性を明らかにする必要がある。そこで生物活性、代謝、毒性などの詳細について調べる目的で、MDMA 及びその類縁化合物の合成を行った。

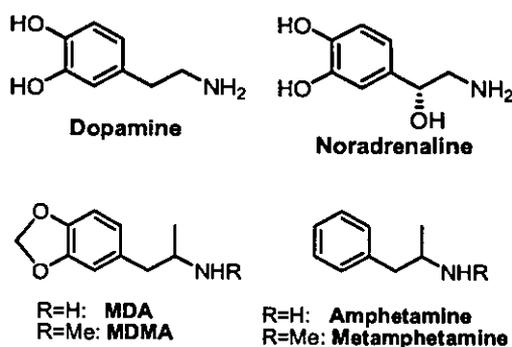


Fig. 1

B. 研究方法

化学合成実験の部

融点(mp)はすべて未補正。柳本製作所製微量融点測定機を使用した。赤外線 (IR) スペクトルは、Perkin-Elmer Paragon-1000 FT-IR スペクトル装置を使用した。プロトン核磁気共鳴装置 ($^1\text{H-NMR}$) スペクトルは、JEOL JNM-AL-400 (400MHz)、JEOL JNM-EX-400 (400MHz) を用いて測定した。 $^1\text{H-NMR}$ の化学シフトは TMS を内部標準とした δ 値で示した。マスマスペクトル (MS)、は JEOL JMS-SX102A を使用した。カラムクロマトグラフィーはカラムクロマトとし、シリカゲル (AP-150、大興産業)、またはシリカゲル (BW-350 富士シリシア) を、薄層クロマトグラフィーは TLC とし、シリカゲルプレート (Merck No.5715 Kieselgel 60PF₂₅₄、層厚 0.15mm) を、分取薄層クロマトグラフィー (preparative thin layer chromatography) は PTLC とし、シリカゲル (Merck No.7749 Kieselgel 60PF₂₅₄) を使用した。

5-((E)-2-Nitropropen-1-yl)benzo[d][1,3]dioxole(4)

Piperonal(75.07 g, 0.50mol)のトルエン(100mL)溶液とし、ニトロエタン(56.07 g, 0.75mol)、ブチルアミン(10mL)を加え、Dean-Stark 水分器、温度 125°C で 24 時間還流した。溶媒を減圧留去した後、メタノールで再結晶を行い、黄色の結晶(37.52 g, 36.2%)を得た。Mp. IR(KBr) cm^{-1} : 1510(NO_2), 1322, 1273, 721, 603. $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ : 2.46(3H, $\text{CH}_3-\text{C}(\text{NO}_2)=$, s), 6.04(2H, $-\text{OCH}_2\text{O}-$, s), 6.94(3H, Ph, m), 8.01(1H, $\text{PhCH}=\text{}$, s).

1-(3,4-Dimethylenedioxyphenyl)-2-plopanone(6)

化合物(4)(4.14 g, 20.00mmol)のトルエン(14mL)溶液に、鉄粉(5.585 g, 100.0mmol)、 FeCl_3 (0.11 g, 0.69mmol)、水(15mL)を加え、75°C で加熱攪拌しながら、濃塩酸(10mL)を 70 分かけて滴下し、1 時間加熱攪拌(75°C)した。さらに鉄粉(1.12 g,

20.00mmol)を加え、濃塩酸(2mL)を滴下し、1 時間加熱攪拌(75°C)し、その後、室温で 12 時間攪拌した。反応液をセライト処理、トルエン抽出し、減圧留去、カラムクロマト(CH_2Cl_2 -ヘキサン)で精製し、暗赤色の液体 3.72 g (収率 83%)を得た。 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ : 2.15(3H, $\text{CH}_3\text{C}=\text{O}-$, s), 3.60(2H, PhCH_2- , s), 5.94(2H, $-\text{OCH}_2\text{O}-$, s), 6.70(3H, Ph, m). MS m/z : 178(M^+), 135(base, M^+-COCH_3).

3,4-Methylenedioxyamphetamine(7a)

メタノール(150 mL)に化合物(6)(32.55 g, 0.183mol)、メチルアミン塩酸塩(16.04 g, 0.274mol)を溶解させ、 NaBH_3CN (5.74 g, 0.0914mol)を加え、4 時間攪拌した。溶媒を減圧留去、水、濃塩酸で処理、水酸化ナトリウム水溶液でアルカリ性とし、クロロホルム抽出、減圧濃縮し、粗生成物をカラムクロマトで精製し、淡赤色の液体 27.65 g (収率 78.3%)を得た。 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ : 1.05(3H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{NHMe})-$, d), 2.39(3H, $-\text{NHCH}_3$, s), 2.54(1H, PhCH_2- , dd, $J=13.4, 6.1\text{Hz}$), 2.63(1H, PhCH_2- , dd, $J=13.4, 7.0\text{Hz}$), 2.72(1H, $-\text{CH}(\text{NH}_2)-$, m), 5.92(2H, $-\text{OCH}_2\text{O}-$, s), 6.62-6.76(3H, Ph, m).

3,4-Methylenedioxyamphetamine(7b)

化合物(6)(26.79 g, 0.15mol)、酢酸アンモニウム(23.18 g, 0.30mol)、 NaBH_3CN (6.28 g, 0.10mol)から 7a と同様に反応・処理し、淡紫色の液体 6.87 g (収率 24.4%)を得た。 $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ : 1.12(3H, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{NH}_2)-$, d), 1.73(2H, $-\text{NH}_2$, br s), 2.45(1H, PhCH_2- , dd, $J=13.6, 8.0\text{Hz}$), 2.64(1H, PhCH_2- , dd, $J=13.4, 5.4\text{Hz}$), 3.12(1H, $-\text{CH}(\text{NH}_2)-$, m), 5.93(2H, $-\text{OCH}_2\text{O}-$, s), 6.62-6.76(3H, Ph, m).

(7b)塩酸塩: HCl エタノール(1mol/L)から粗結晶を得た後、イソプロパノールで再結晶し、塩酸塩(赤白色針状晶)を得た。Mp.: 185-189°C. Anal. Calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{NO}_2\text{Cl}$: C, 55.69; H, 6.54; N, 6.49. Found: C, 55.70; H, 6.41; N, 6.43.

1,2,4-Trimethoxy-5-(2-nitroprop-1-enyl)benzene(9)

2,4,5-trimethoxybenzaldehyde(8)(25.00g, 0.127 mol), トルエン(40mL)溶液と、ニトロエタン(19.14 g, 0.255mol)、ブチルアミン(2mL)、Dean-Stark 水分器、温度 150℃で4日間還流した。溶媒を減圧留去した後、メタノールで再結晶を行い、黄色の結晶(25.50 g, 79%)を得た。IR(KBr)cm⁻¹: 1509(NO₂), 1267, 1218. ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 2.45(3H, CH₃C(NO₂)=, s), 3.86(3H, CH₃O-, s), 3.88(3H, CH₃O-, s), 3.95(3H, CH₃O-, s), 6.54(1H, Ph, s), 6.88(1H, Ph, s), 8.32(1H, PhCH=, s).

1-(2,4,5-Trimethoxyphenyl)propan-2-one(10)

化合物(9)(5.07 g, 20mmol)のトルエン(14mL)溶液に、鉄粉(5.59 g, 100mmol)、FeCl₃(0.11 g, 0.69mmol)、水(15mL)を加え、75℃で加熱攪拌しながら、濃塩酸(10mL)を1時間かけて滴下し、さらに1時間加熱攪拌(75℃)した。さらに鉄粉(1.12 g, 20mmol)を加え、濃塩酸(2mL)を滴下し、1時間加熱攪拌(75℃)し、その後、室温で24時間攪拌した。セライト層処理、トルエン抽出し、減圧留去し、AcOEt-ヘキサン(1:1)を溶媒としカラムクロマトで精製し、無色の結晶4.14 g (収率92%)を得た。Mp.: 40-44℃. ¹H-NMR (CDCl₃) δ: 2.14(3H, CH₃CO-, s), 3.61(2H, PhCH₂-, s), 3.80(3H, CH₃O-, s), 3.83(3H, CH₃O-, s), 3.90(3H, CH₃O-, s), 6.54(1H, Ph, s), 6.67(1H, Ph, s). Anal. Calcd for C₁₂H₁₆O₄: C, 64.27; H, 7.19. Found: C, 64.10; H, 7.05.

2,4,5-Trimethoxymetamphetamine(11)

化合物(10)(2.54 g, 11.3mmol)、ミチルアミン塩酸塩(1.00 g, 14.7mmol)、NaBH₃CN(0.36 g, 5.67mmol)から7aあるいは7bと同様の反応・処理操作にて乳白色の粉末1.90 g(収率70.4%)を得た。¹H-NMR (CDCl₃) δ: 1.09(3H, CH₃CH(NHMe)-, d), 2.01(1H, -NHMe, br s), 2.43(3H, -NHCH₃, s), 2.54(1H, PhCH₂-, dd, J=13.2, 6.4Hz), 2.75(1H, PhCH₂-, dd, J=13.3, 6.9Hz), 2.85(1H, -CH(NHMe)-,

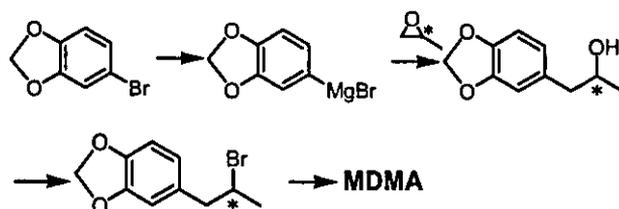
m), 3.80(3H, -OCH₃O-, s), 3.83(3H, -OCH₃O-, s), 3.88(3H, -OCH₃O-, s), 6.52(1H, Ph, s), 6.70(1H, Ph, s).

C. 研究結果

MDMA 及びその類縁化合物の合成

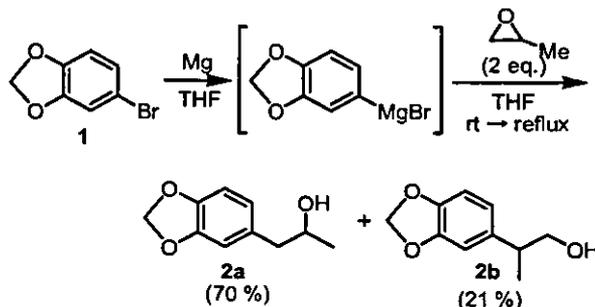
(a). Grignard 反応を経由した MDMA の合成

Propyleneoxide と Grignard 試薬との反応を用いると立体配置の決まった不斉炭素を導入しやすいということもあり、5-bromobenzo[d][1,3]dioxole を出発原料とし、Grignard 試薬への変換、propyleneoxide との反応による2級アルコールの合成、S_N2 反応によるアルコールの臭素化物への変換、さらに臭素化物のアミンへの変換反応により MDMA を合成する計画を立てた(Scheme 1)。



Scheme 1

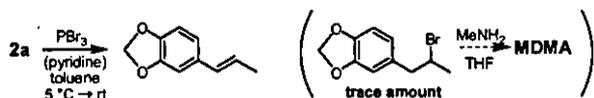
THF 中で 5-bromobenzo[d][1,3]dioxole(1)と金属マグネシウムを反応させ Grignard 試薬に変換し、これと2等量の propylene-oxide と反応させて 1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-2-propanol(2a) と 2-(3,4-methylenedioxyphenyl)-1-propanol(2b)の混合物を得た(Scheme 2)。



Scheme 2

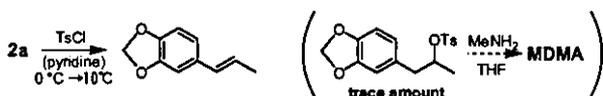
反応混合物をカラムクロマトグラフィーにより精製し、2級アルコール(2a)をトルエン中で PBr₃

と反応させたところアルケンが主生成物となり、目的とする S_N2 反応生成物である臭素化物はほとんど得られなかった(Scheme 3)。アルケンが主生成物となったのは、 PBr_3 と反応して生成した臭素化物が、発生する HBr を中和するために反応系中に加えたピリジンが塩基として $E2$ 脱離を起こしたことが理由と考えられる。



Scheme 3

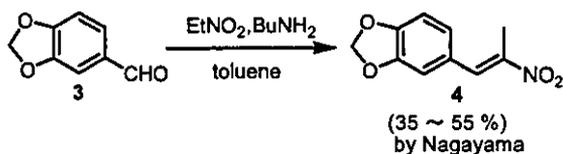
そこで、計画を変更し、2級アルコール(2a)を塩化トシルと反応させてトシル化を行おうとしたが、この場合も主生成物がアルケンとなり狙い通りにいかなかった(Scheme 4)。そこで、別の経路で合成を行うことにした。



Scheme 4

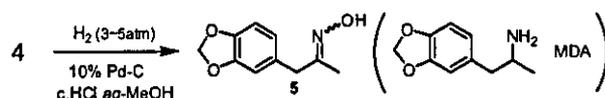
(b). ニトロアルケンを経由した MDMA および MDA の合成

文献の記述を元に MDMA の合成を開始した。3,4-dimethoxybenzaldehyde(3)をトルエン中、塩基触媒存在下 nitroethane と反応させてニトロアルケン(4)を合成した (Scheme 5)。



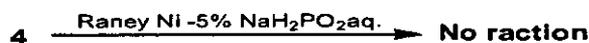
Scheme 5

これを 10%Pd-C 触媒存在下、水素で還元して MDA を合成しようとしたが、主生成物がオキシムとなり MDA はほとんど得られなかった (Scheme 6)。



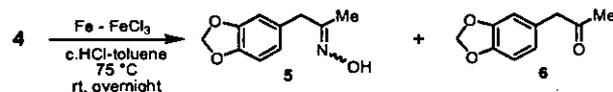
Scheme 6

この反応とは別にヒドリド還元剤によるニトロアルケン(4)の還元も行ったが、目的とする MDA の生成量が少なく、副生成物も TLC でみれば多量に現れた。還元反応がうまくいかなかったので、ニトロアルケン(4)のアミンへの直接的な変換はあきらめ、ケトンへの変換反応を経由して合成を行うことにした。まず、ニッケルを触媒とする反応を行ったが、Raney Ni の処理の仕方が文献に記述がないため、Raney Ni を無処理で反応を行ったところ全く反応が進まなかった (Scheme 7)。



Scheme 7

次に鉄触媒として 5-((E)-2-nitroprop-1-enyl)benzo[d][1,3]-dioxole(4)の還元的加水分解によるケトンへの変換反応を行ったところ、この反応はうまく進んだ(Scheme 8)。



scheme8

カラムクロマトグラフィーによるオキシム(5)とケトン(6)の分離精製がしやすかったこともあり、この反応を経由して合成を行うことに決定し、反応条件の検討を行った(Table 1)。その結果、entry4 に示す原料：鉄：HCl=1：6：7.3、75°Cで加熱反応させた後、さらに室温で12時間反応させるという条件が最も収率が良かった。

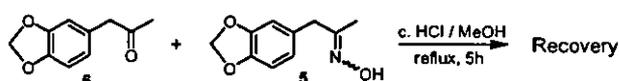
Entry	Fe	FeCl ₃	HCl	Time	% Yield of 6
1	3.5	0.025	4.4	80 min. *	2:1 mix. of 5/6
2	3.6	0.025	4.4	80 min.	36
3	4.0	0.025	4.5	4 h	51
4	6.0	0.035	7.3	12 h	83

* There is no treatment of c.HCl-toluene at rt for overnight after addition of c.HCl.

Table 1

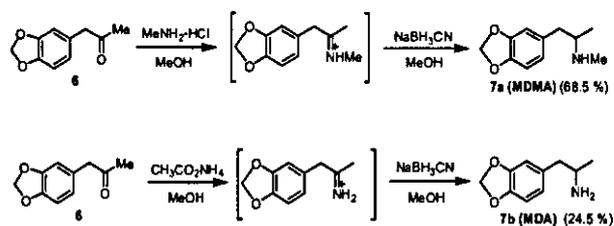
この反応では塩酸滴下終了後1時間ぐらいで

原料は消えてケトンとオキシムの混合物になるが、さらに室温で攪拌を続けることによりオキシムの分解が進んで混合物中のケトンの割合が多くなっていくことが観察され、室温での攪拌が長いほど収率が良くなった。反応混合物中のオキシム(5)を加水分解してすべてケトンにできるのではないかと考え、Table 1, entry 1 で得た混合物をメタノール中で塩酸による加水分解を行ったが反応は進まなかった(Scheme 9)。オキシム(5)の加水分解は鉄粉存在下の酸で行わないと進まないことを確認した。



Scheme 9

ケトン(6)の還元的アミノ化により MDMA 及び MDA を合成した (Scheme 10)。まず、1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-2-propan- one(6)のメタノール溶液に MDMA の合成の場合はメチルアミン塩酸塩、MDA の合成の場合は酢酸アンモニウムを加えることによってイミニウム塩とし、生成する水を溶媒とともに減圧留去した後、再びメタノールを加えて NaBH₃CN により還元し MDMA 及び MDA を得た。

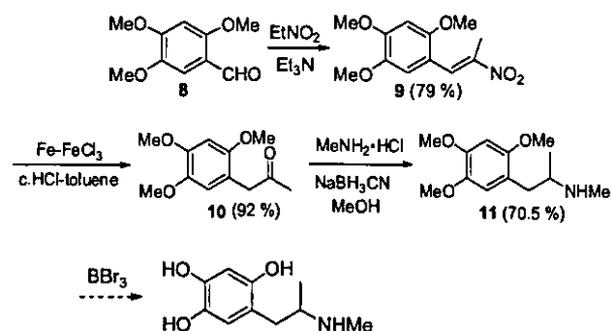


Scheme 10

c). 2,4,5-trihydroxymetamphetamine の合成

2,4,5-Trimethoxybenzaldehyde(8)をとり塩基触媒存在下ニトロエタンと反応させてニトロアルケンに変換し、還元的加水分解によるケトンへの変換、還元的アミノ化により 2,4,5-trimethoxymetamphetamine(11)を合成した (Scheme 11)。今後、保護基を外して

2,4,5-trihydroxymetamphetamine を合成する予定である。



Scheme 11

D. 考察

従来の MDA からメチル化反応による MDMA の合成法では、目的とする MDMA の他にさらにメチル化された化合物が混入し、分離精製が困難となる。今回の研究による MDMA の合成方法ではより純粋なものが得られる。MDMA の代謝物である 2,4,5-trihydroxymetamphetamine はポリフェノールの 1 つで、オルトおよびパラヒドロキノ型構造に非常に酸化されやすく、別途合成方法を検討する必要がある。

E. 結論

MDMA、MDA、及び MDMA の代謝物のひとつと推定される 2,4,5-trihydroxymetamphetamine の前駆体の 2,4,5-trimethoxymetamphetamine を合成した。

[参考文献]

1. Glennon, R.A. (2002) 'Foye's Principles of Medicinal Chemistry', 5th ed., Williams, D.A., Lemelke, T.L. (eds), Lippincott, Williams and Wilkins, Inc., Philadelphia, pp.434-452.
2. Nicols, D.E., Hoffman, A.J., Oberlender, R.A., et al. (1986) *J. Med. Chem.*, **29**, 2009-2015.
3. Rastogi, S.N., Kansal, V.K., Bhaduri, A.P. (1983) *Indian J. Chem.*, **22B**, 234-237.
4. Kohno, M., Sasao, S., Murahashi, S. (1990) *Bull.*

Chem. Soc. Jpn., **63**, 1252-1254.

5. Ho, B.T., Mclsaac, W.M., An, R.A., *et al.* (1970) *J.*

Med. Chem., **13**, 26-30.

6. Morgan, P.H., Beckett, A.H. (1975) *Tetrahedron*,

31, 2599-2601

7. Noggle, Jr., F.T., Clark, C.R., Deruiter, J. (1989) *J.*

Chromat. Sci., **27**, 602-606.

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Iwamura, T., Kataoka, T. (2004) *Drugs Fut.*, **29**

(suppl.A), 267.

2. 学会発表

1. Iwamura, T., Kataoka, T., "Synthesis of

4-Aralkyl-1-(2,3-dichlorophenyl)piperazines and

their Affinities for Serotonergic Receptors", the

18th International Symposium on Medicinal

Chemistry, Copenhagen, Denmark, 2004年8月.

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

覚醒剤およびMDMAによる精神障害の発現の分子機序

分担研究者：¹野田幸裕

研究協力者：¹鍋島俊隆、¹宮崎雅之、¹毛利彰宏、¹溝口博之、¹新田淳美、²岩村樹憲

（¹名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学・附属病院薬剤部、²岐阜薬科大学薬化学）

[研究要旨]

本研究では、①メタンフェタミン (MAP) 連続投与後の精神行動障害の発現機序および②MDMA の精神行動障害について調べた。野生型マウスに MAP (1 mg/kg/day) を 7 日間連続投与すると、MAP 誘発運動過多および驚愕反応試験における感覚運動情報制御の障害が増強され、逆耐性が形成された。これらの行動障害に対して逆耐性が形成された MAP 連続投与マウスの側坐核における Ca^{2+} /calmodulin kinase II (CaMKII) と cAMP response element binding protein (CREB) のリン酸化蛋白の発現および G-蛋白/cAMP を介する protein kinase A (PKA) の活性化は、saline 連続投与マウスのそれらと比べ有意に増加していた。しかし、ドパミン合成機能を遺伝的に低下させたチロシン水酸化酵素遺伝子変異 ($TH^{+/}$) マウスおよび N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) 受容体機能を遺伝的に低下させた NMDA 受容体サブユニット ϵ 1 遺伝子欠損 ($NR2A^{+/}$) マウスでは、そのような逆耐性やリン酸化蛋白の発現と PKA 活性化の増加は認められなかった。以上の結果から、MAP 連続投与によって側坐核におけるドパミン作動性神経系機能が亢進された結果、ドパミン受容体を介する PKA/CaMKII、CREB などの細胞内情報伝達系が増強され、ドパミン作動性神経系とグルタミン酸作動性神経系の異常な神経ネットワークが構築され、MAP 誘発行動障害が惹起されるものと推察される。また、MDMA (10 mg/kg/day) も連続投与すると運動過多の増強（逆耐性）が惹起された。今後、認知機能に対する MDMA の作用についても検討する予定である。

A. 研究目的

覚醒剤であるメタンフェタミン (MAP) は、現在わが国で最も深刻な社会的影響を及ぼしている依存性薬物であり、長期乱用により、休薬後も長期間に渡り、少量の MAP の再投与やストレスによって幻覚・妄想や認知障害といった統合失調症の急性期に酷似した精神行動障害（覚醒剤精神病）を示す^{1, 2)}。MAP は、中枢神経系においてドパミンの再取り込みを抑制するとともに遊離を促進し³⁾、ドパミン作動性神経系を亢進させるこ

とから、MAP の連続投与により惹起される精神行動障害の発現には、ドパミン作動性神経機能異常が関与していると示唆されている。しかし、MAP の連続投与により誘発される精神行動障害の発現には、ドパミン作動性神経機能異常の一次的な作用にとどまらず、二次的な分子レベルでの機能変化および他の神経回路との相互作用、特に側坐核におけるグルタミン酸作動性神経系との相互作用が関与していることが示唆されている⁴⁾。しかし、その発現に関わる分子機序は未だ明確でな

い。そこで、MAP 連続投与により誘発される精神行動障害のうち、自発性障害の指標として運動過多の増強 (逆耐性) および認知情報障害の指標として感覚情報処理機能の障害に焦点を当て、精神行動障害の発現機序について行動薬理学的および分子生物学的に検討した。

一方、遊興用ドラッグである 3,4-メチレンジオキシメタンフェタミン (MDMA: エクスタシー) の乱用は、欧米諸国ばかりでなく、日本においても深刻な社会問題となっている。すなわち、MDMA は、安全な薬であるという誤解のもとに従来の覚醒剤乱用群と異なり、社会的逸脱群でない若年層に急速に普及している⁵⁾。MDMA は、遊興的使用量でも明らかな精神毒性を示し、日本で最も乱用されている MAP と同様に、精神障害は使用を中止した後も残遺し、長期使用により重度の精神障害を発症させることが知られている⁵⁾。そこで、本年度は MDMA 連続投与により運動過多の増強 (逆耐性) が発現するかどうかを行動薬理学的に検討した。

B. 研究方法

1. 実験動物および薬物

実験には、野生型である 6-8 週齢の C57BL/6J 系雄性マウス (日本エスエルシー、静岡) および TH 遺伝子ヘテロ変異型 (TH^{+/+})⁶⁾ および N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) 受容体サブユニット $\epsilon 1$ 遺伝子欠損 (NR2A^{-/-})⁷⁾ マウスを使用した。動物は実験を開始する前少なくとも 3 日間は、室温 23±1 °C、湿度 50±5 % で、明暗サイクル (明期 8 時~20 時) の室内にて飼育し、水および餌は自由に摂取させた。なお、本実験計画は名古屋大学医学部動物実験委員会で承認され、名古屋大学医学部動物実験指針および Principles of Laboratory Animal Care (National Institutes of Health Publication 85-23, 1985) に準じて行った。

実験には、覚醒剤の塩酸メタンフェタミン

(MAP、大日本製薬 (株)、大阪) および我々が合成した MDMA を使用した。MAP および MDMA は生理食塩水に溶解し、10 mL/kg の投与用量に調整した。

2. 運動量測定試験

MAP (1 mg/kg) および MDMA (5 mg/kg) を 1 日 1 回 7 日間連続皮下投与し、MAP あるいは MDMA 投与 1 日目、3 日目、5 日目および 7 日目に、投与直後からマウスを自発運動量測定ケージ (縦 30 cm、横 47.5 cm、高さ 35 cm) に入れ、投与 30 分後から 30 分間の自発運動量を SCANET SV-10、メルクエスト、富山) により測定した。

3. プレパルスインヒビション (Prepulse inhibition: PPI) 試験

MAP (1 mg/kg) を 1 日 1 回 7 日間連続皮下投与し、MAP 投与開始 2 日前、MAP を投与した 1 日目および 7 日目に、投与直後からマウスを PPI 測定装置 (San Diego Instruments, CA, USA) に入れ、驚愕反応を測定した。PPI (%) は、100 - [(prepulse+pulse での驚愕反応 / pulse 単独での驚愕反応) × 100] より算出した。MAP 投与開始 2 日前に測定した PPI (%) 値に基づいて saline および MAP 連続投与群に均等に群分けした。

4. Protein kinase A (PKA) 活性測定

MAP 最終投与 30 分後にマウスを断頭により屠殺し、氷冷下で側坐核を取り出した。PKA assay kit (upstate, NY, USA) および [γ -³²P]ATP (3000 Ci/mmol; Perkinelmer Life Sciences, MA, USA) を用いて PKA 活性を測定した。

5. Western blotting 法

MAP 最終投与 30 分後にマウスを断頭により屠殺し、氷冷下で側坐核を取り出した。リン酸化 Ca²⁺/calmodulin kinase II (CaMKII) (①phospho-

CaMKII α/β antibody, Upstate, NY, USA)、リン酸化 cAMP response element binding protein (CREB) [②Phospho-CREB (Ser133) antibody, Cell Signaling, MA, USA]、CaMKII (③CaMKII α antibody, SIGMA, MO, USA)および CREB [④ CREB (Ser133) antibody, Cell Signaling] のタンパクをそれぞれ①、②、③、④を用いてウエスタン法により解析した。

6. 統計解析

結果は平均値±標準誤差として示した。得られた結果は、分散分析を行い、各群間比較には、Bonferroni の多重比較検定法を用いた。なお、危険率が5%以下の場合を有意差ありと判定した。

C. 研究結果

1. MAP および MDMA 連続投与により誘発される運動過多の増強 (逆耐性の形成)

野生型マウスに MAP 1 mg/kg あるいは MDMA 10 mg/kg を7日間連続投与し、1、3、5および7日目に運動量を測定したところ、いずれの測定日の運動量も saline 投与野生型マウスのそれらに比べて有意に増加した(Fig. 1)。MAP および MDMA 投与7日目の野生型マウスの運動量は、投与1日目のそれに比べて有意に増加しており、逆耐性が認められた (Fig. 1)。しかし、1と7日目における MAP 投与 TH^{+/+}および NR2A^{+/+}マウスの運動量は、saline 投与マウスのそれらより有意に増加していたが、野生型マウスに認められたような運動過多の増強 (逆耐性) は認められなかった (Fig. 1A)。

2. MAP 連続投与により誘発される感覚情報処理機能障害

Saline 投与野生型、TH^{+/+}および NR2A^{+/+}マウスは、prepulse の強度に依存して PPI を示し、各マウス間の PPI に差は認められなかった。野生型、TH^{+/+}および NR2A^{+/+}マウスに MAP 1 mg/kg を単回

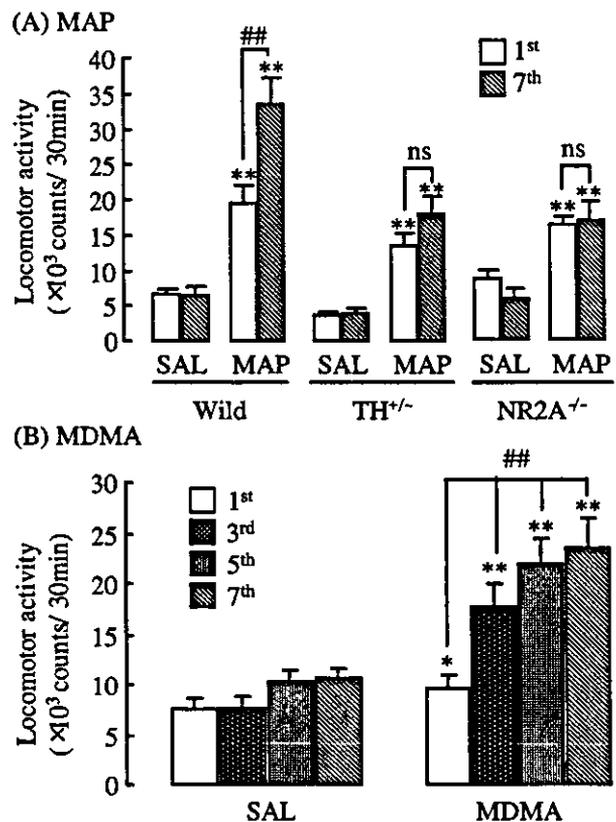


Fig. 1 Development of behavioral sensitization to methamphetamine (MAP) (A)- and MDMA (B)-induced hyperlocomotion in mice. Mice were administered saline (SAL), MAP (1mg/kg) or MDMA (10 mg/kg) once a day for 7days. Values are the means \pm S.E. * P <0.05, ** P <0.01 vs corresponding SAL-treated mice. ## P <0.01 vs the 1st day. ns: not significant. TH^{+/+}: tyrosine hydroxylase heterozygous, NR2A^{+/-}: NMDA receptor subunit ϵ 1 knockout.

投与しても驚愕反応に何ら影響を与えなかった。しかし、野生型マウスに MAP 1 mg/kg を7日間連続投与し、7日目の PPI を測定したところ、P8 (データ示さず) および P16 (Fig. 2) において saline 投与野生型マウスに比べて有意な PPI の障害が認められた。一方、TH^{+/+}および NR2A^{+/-}マウスでは、そのような障害は認められなかった (Fig. 2)。

3. MAP 連続投与により誘発される精神行動障害発現時における側坐核の PKA 活性の変化

MAP の連続投与により精神行動障害を発現した野生型マウスの側坐核における PKA 活性を測