

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17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 Safety

Supported by Grant from the Ministry of Health, Labour and Welfare,

Japan in 2005

(Chief ; Toshitaka Nabeshima)

平成 18 年 3 月

主任研究者 鍋島俊隆

目 次

1. 平成17年度総括研究報告	鍋島 俊隆 …………… 1
2. 平成17年度分担研究報告	
メタンフェタミンの立体制御化合物の合成といくつかの薬物受容体親和性 …………… 9	
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と依存形成の分子機序 …………… 16	
分担研究者：野田幸裕 ^{1,2}	
研究協力者：鍋島俊隆 ² , 毛利彰宏 ² , 森瀬貴子 ² , 溝口博之 ² , 新田淳美 ² , 北市清幸 ³ , 岩村樹憲 ⁴	
(¹ 名城大学薬学部医療薬学科病態解析学, ² 名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学, ³ 名古屋大学医学部保健学科検査技術科学専攻, ⁴ 岐阜薬科大学薬化学)	
(±)-3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA) によって …………… 26	
誘発される薬物探索行動ならびに認知機能障害に関する研究	
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研究院薬効解析学分野)	
MDMAのセロトニン放出および神経毒性発現の分子機序の解明 …………… 33	
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, 泉 貴也, 樋口 萌	
(京都大学大学院薬学研究科生体機能解析学分野)	
メタンフェタミン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 …………… 47	
分担研究者：山田清文	
研究協力者：永井 拓, 田熊一敏	
(金沢大学大学院自然科学研究科病院薬学)	
脳内セロトニン神経におけるMDMAの神経傷害に対するミノサイクリンの保護作用 …………… 60	
分担研究者：伊豫雅臣 ¹	
研究協力者：張 淋 ¹ , 清水栄司 ¹ , 橋本謙二 ²	
(¹ 千葉大学大学院医学研究院・精神医学, ² 千葉大学社会精神保健教育研究センター)	

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：……………68

フェネチルアミン誘導体に関する研究

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，青尾直也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薬学総合研究科脳神経制御学講座神経情報学)

ストレスと覚醒剤依存形成：ヒスタミン神経系の役割を中心に ……………78

覚せい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

分担研究者：谷内一彦

研究協力者：櫻井映子，賈飛勇，代紅梅，奥田友宏，渡邊建彦，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 ……………84

分担研究者：曾良一郎^{1,4}

研究協力者：小原可久¹，伊藤美紀¹，山下元康¹，福島 攝¹，近江香予¹，岩村樹憲²，岩渕好治³，小林秀昭¹，沼知陽太郎¹

(¹東北大学大学院医学系研究科精神・神経生物学分野，²岐阜薬科大学薬化学教室，³東北大学大学院薬学研究科合成制御化学分野)

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 …………… 102

一覚せい剤によって形成された逆耐性現象の発現に対するSSRIの作用一

分担研究者：西川 徹

研究協力者：柏 淳，金子雄二郎，石井澄和，海野麻未，山本直樹，車地暁生

(東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科精神行動医科学)

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 …………… 111

FZD-3、XBP-1およびFAAH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，森田幸孝¹，大谷恭平¹，岡久祐子¹，森尾亜希子¹，稲田俊也²，原野陸正²，小宮山徳太郎²，堀 達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，²Japanese 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 123

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，石橋曜子¹，妹尾栄一²，萩野洋子¹，山本秀子¹，
高松幸雄¹，笠井慎也¹，岩村樹憲³，曾良一郎⁴

(¹東京都精神医学総合研究所・分子精神医学研究チーム，²東京都精神医学総合研究所・
嗜癮行動研究チーム，³岐阜薬科大学，⁴東北大学大学院医学研究科精神神経生物学分野)

東京都内の医療機関における脱法ドラッグの実態調査 136

分担研究者：糸川昌成¹

研究協力者：林 直樹²，藤田俊之²，今井淳司²，平野洋太郎²，鈴木 忠³，新谷昌宏⁴，
岩田 健⁴，安田一郎⁵，高橋美佐子⁵，新井 誠¹

(¹東京都精神医学総合研究所・統合失調症研究チーム，²東京都立松沢病院・精神科，
³東京女子医科大学・救急医学講座，⁴東京都立広尾病院・神経科，⁵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 147

平成17年度 総括研究報告書

主任研究者 鍋島俊隆

総括研究報告

「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

【研究要旨】

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-methylenedioxy-methamphetamine (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。

平成17年度の研究の目的は、従来のMAPの分子生物学的な研究に加え、未規制薬物のスクリーニングをさらに確立し、昨年度において作製されたMDMAの依存および精神行動障害動物モデルを用いて、未規制薬物やMDMAによる依存および精神行動障害に関与する各種神経系について行動、神経画像、生化学および分子生物学的な解析研究をさらに推進する。基礎研究に加え、臨床研究として覚醒剤、MDMAおよび未規制薬物の精神病患者や乱用者を対象とした実態調査、依存重症度の評価方法の構築、神経画像や遺伝子解析などの研究をさらに進め、これら薬物に対する依存や神経毒性の発生機序や精神病の発症脆弱性を分子生物学的なレベルでさらに解明する。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、昨年度から3年間の研究を行うこととした。平成17年度は、初年度に引き続き、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. メタンフェタミンの立体制御化合物の合成といくつかの薬物受容体親和性
(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
(名城大学薬学部 病態解析学 野田幸裕)
3. (±)-3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA) によって誘発される薬物探索行動ならびに認知機能障害に関する研究
(九州大学大学院薬学研究院薬効解析学分野 山本経之)
4. MDMAのセロトニン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. メタンフェタミン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. 脳内セロトニン神経におけるMDMAの神経傷害に対するミノサイクリンの保護作用
(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：
フェネチルアミン誘導体に関する研究
(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. ストレスと覚醒剤依存形成：ヒスタミン神経系の役割を中心に
覚せい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. 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
—覚せい剤によって形成された逆耐性現象の発現に対するSSRIの作用—
(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、XBP-1およびFAAH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

5-MeO-DIPT の抽出やMDMAの合成法が確立し、MAP、MDMAや5-MeO-DIPTの依存および神経毒性に関する発現機序を分子生物学的レベルで解明した。MAPやMDMA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、これらの分子機序としてドパミン・グルタミン酸系を介する細胞内シグナル系、カンナビノイドシステムおよびヒスタミン作動性神経系が関与していることが見出された。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。サル脳PETを用いてMDMAの神経障害を検討し、現在そのデータ解析が行われている。MDMAによる依存・認知障害などの精神障害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が解析された。MAPとMDMAの投与により共通して変動するタンパク質が同定され、現在MAPとMDMAあるいは5-MeO-DIPT投与後の脳内遺伝子発現の変化が解析されており、MAPとMDMAの投与により共通してglucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ) mRNA発現レベルが増加

し、未規制薬物である2CT7により GILZ mRNA 発現レベルが増加することが確認された。

1. メタンフェタミンの立体制御化合物の合成といくつかの薬物受容体親和性(岐阜薬科大学製造薬学科 薬化学教室 岩村樹憲)

メタンフェタミンおよびMDMAなどに共通の化学骨格であるフェニルプロパンアミンの立体化学と神経伝達物質受容体親和性について検討した。その結果、フェニルプロパンアミン部分のみが「ねじれ」位置に配置された化合物において、D1, D2, 5-HT1受容体に対する親和性が高かったことを見出し、メタンフェタミン類は主にこの立体配置により薬物活性を生じているものと推察された。

2. 覚醒剤およびMDMAによる精神障害の発現の分子機序(名城大学薬学部病態解析学 野田幸裕)

MDMA連続投与による運動過多の増強(逆耐性)は、MDMAの連続投与によって側坐核におけるドパミン作動性神経機能が亢進された結果、ドパミン作動性神経系とグルタミン酸作動性神経系の間に変異的なネットワークが構築されたため、惹起されることを見出した。また、MDMA連続投与マウスにおいて認知機能障害が認められ、その発現機序にグルタミン酸作動性神経系が関与していることを見出した。

3. (±)-3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA) によって誘発される薬物探索行動ならびに認知機能障害に関する研究(九州大学大学院薬学研究院薬効解析学分野 山本経之)

MDMAは自己投与行動ならびに退薬時での薬物探索行動を誘発させることを見出した。またカンナビノイドCB1受容体アンタゴニストおよびCB1受容体欠損マウスを用いた実験からMDMAによる自発運動量亢進および認知障害は、CB1受容体の活性化を介して発現することが示唆された。

4. MDMAのセロトニン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)

Xenopus卵母細胞に発現させたセロトニンおよびドパミントランスポーターに対してMDMAが輸送電流を惹起することを見出した。また、ラット中脳スライス標本においてMDMAはセロトニン神経毒として作用することを見出し、in vitro評価系として利用できる可能性を明らかにした。

5. メタンフェタミン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)

メタンフェタミン誘発性作業記憶障害には海馬におけるERK1/2の機能障害が関与していること、メタンフェタミン誘発性作業記憶障害に対するクロザピンの有効性を見出した。Delayed spatial win-shift課題を用いたメタンフェタミン誘発性作業記憶障害モデルは覚醒剤精神病の認知障害を反映した動物モデルとして有用性が高いことが示唆された。

6. 脳内セロトニン神経におけるMDMAの神経傷害に対するミノサイクリンの保護作用(千葉大学大学院医学研究院 精神医学 伊豫雅臣)

ミノサイクリンはMDMAによって引き起こされるセロトニン神経の傷害や脳内ミクログリアの活性化を抑制することを見出した。ミノサイクリンは臨床的に使用されている薬剤であるため、覚醒剤やMDMA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ことが示唆された。

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：フェネチルアミン誘導体に関する研究(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)

メタンフェタミンおよびMDMAの精神依存モデル動物の脳内遺伝子発現の変化をcDNAマイクロアレイ法で解析した結果、共通してglucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ) mRNA発現レベルが増加していた。未規制薬物であるフェネチルアミン誘導体の2C-T-7は非常に強力な細胞毒性を有すること、覚せい剤や麻薬の作用を増強すること、GILZ mRNA 発現レベルを増加させることを見出した。

(II) 臨床研究

実態調査研究において未規制薬物として入手して服用後、せん妄状態や精神病状態を呈した症例から5MeO-DIPT、5MeO-MIPTや未知のトリプタミン系剤が検出され、覚醒剤として偽って売買されていることが判明した。MDMAも覚醒剤と同様に依存性および精神毒性を有すること、覚醒剤精神病の遺伝子リスクファクターとしてFZD-3遺伝子が関与していることを見出された。依存重症度評価システムの構築とASI日本語版およびCraving Indexの作成により、収集された薬物依存患者のデータが標準化された。

1. ストレスと覚醒剤依存形成：ヒスタミン神経系の役割を中心に 覚せい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)

社会的隔離ストレスを与えたマウスは、驚愕反応、恐怖の条件付け学習、モリス水迷路学習において認知障害を示し、これらの障害は、メタンフェタミン投与によりさらに増悪することを見出した。社会的隔離マウスにメタンフェタミンを投与した時に認められる恐怖の条件付け学習の障害は、クロザピンにより改善されることを見出した。

2. 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)

メタンフェタミン、MDMAおよび5-MeO-DIPTのモノアミン系を介した神経毒性の機序を調べたところ、中枢性シナプス小胞モノアミントランスポーターはMAPの致死毒性に対して保護的に作用するが、MDMAおよび5-MeO-DIPTの急性毒性には関与しないことを見出した。また、我が国のメタンフェタミン依存症患者100名を対象にSNPマイクロアレイを用いて全ゲノム相関解析を行ったところ、染色体上の47ヶ所の座位に位置する遺伝子がメタンフェタミン依存症の発症脆

弱性に関与する可能性が示唆された。

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 —覚せい剤によって形成された逆耐性現象の発現に対するSSRIの作用—(東京医科歯科大学医学部精神行動医科学 西川 徹)

逆耐性が形成されたメタンフェタミン連続投与マウスに、メタンフェタミン最終投与12日後からSSRIのflouxetinやparoxetineを連続投与すると、メタンフェタミンの低用量を負荷した時の移所運動の増強が抑制されることを見出した。

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、XBP-1およびFAAH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)

多剤乱用の実態では、MDMAを含む多剤乱用の10名全員が5種以上の重度多剤乱用者であり、MDMAのみへの依存形成はなかった。覚せい剤精神病の遺伝子リスクファクターの解析では、FZD-3遺伝子の5prime側の2SNPを解析したところ、SNP3が多剤乱用傾向と有意な相関を示し、SNp2-SNP5間のハプロタイプ解析では覚せい剤精神病全体と強い相関が認められた。XBP-1、エンドカンナビノイドの律速分解酵素のFAAH遺伝子の一塩基多型は、覚せい剤精神病全体、臨床経過や予後のいずれとも相関しなかった。

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)

依存重症度評価システムを構築し、ASI日本語版およびCraving Indexを作成してそれぞれ100例以上の薬物依存患者でのデータ収集を行い、標準化を行った。基礎研究では、5-MeO-DIPTやMDMAの効果を脳内微量透析法によって明らかにした。抗うつ薬が覚醒剤に対する渴望感だけでなく感受性亢進も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)

セックスドラッグとして脱法ドラッグを服用してせん妄状態を呈した20代の女性の症例を同定し、5MeO-DIPT, 5MeO-MIPTおよび未知のトリプタミン系剤を検出した。覚醒剤として販売された薬物で精神病状態を呈した20代の男性を同定し、尿から5MeO-DIPTを検出した。同剤の非合法指定により、覚醒剤として偽って地下で売買されていることが判明した。

平成17年度 分担研究報告

メタンフェタミンの立体制御化合物の合成といくつかの薬物受容体親和性

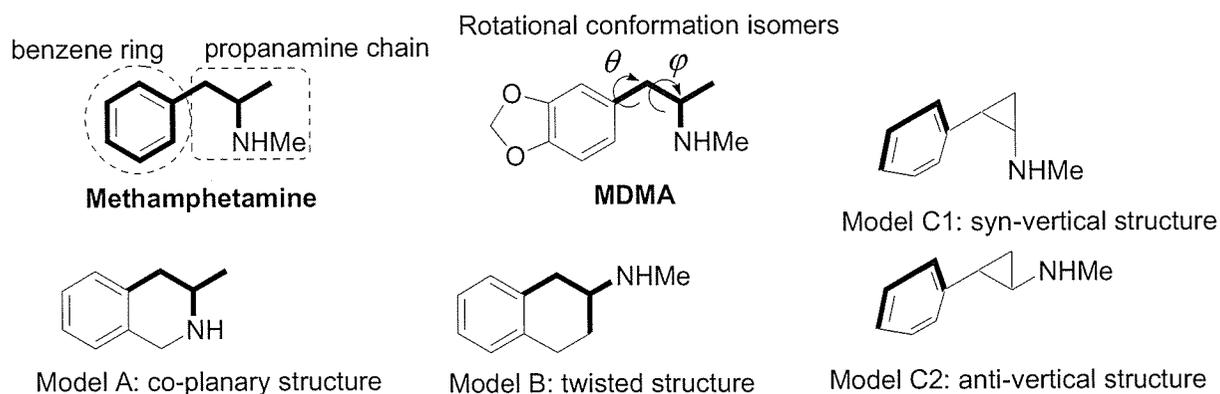
分担研究者：岩村樹憲

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)

【研究要旨】

本研究では、メタンフェタミンおよびMDMAなどに共通の化学骨格であるフェニルプロパンアミンの立体化学と中枢作用を中心とした薬物活性に注目した。フェニルプロパンアミンの立体配座が薬物活性にどのような影響を及ぼすのかを明らかにするためのモデル分子を設計し、計算機化学的手法による on-silico chemistry ならびに実際に設計した分子の合成を検討するとともに、いくつかの薬物受容体親和性について検討した。

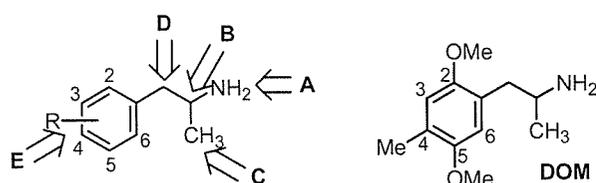


Model Aは、メタンフェタミンの2つの特徴構造であるベンゼン環と炭素鎖状プロパンアミン部分が同一平面的に固定化された分子である。Model Bの化合物は、アミン部分のみが「ねじれ」位置に配置された分子である。Model C1はベンゼン環が「ねじれ」位置でかつアミン部分と同じ配向の分子である。Model C2はModel C1に対してアミン部分が外配向の分子である。Model Aの化合物はドパミン受容体(D1, D2), およびセロトニン受容体(5-HT1, 5-HT2)のいずれの受容体親和性も極めて低かったが、アドレナリン α 1受容体にはやや親和性を示した。Model Bの化合物はD1, D2, 5-HT1受容体に親和性を示した。Model C1はどの受容体親和性も低かったが、Model C2は5-HT1に親和性を示した。

これらの結果によりメタンフェタミン類は主にModel B様の立体配置により薬物活性を生じていると推察された。

A. 研究目的

これまでに、神経伝達物質であるエピネフリン、ドパミン、セロトニンなどのモノアミンについての薬物受容体選択性と化学構造との間に存在する構造活性相関を系統的に行なった報告は多数なされている。¹⁾ 覚せい剤(アンフェタミンおよびメタンフェタミン)もこれら神経伝達物質と化学構造的には同じモノアミン類であり、基本分子骨格としてβ-フェニルエチルアミン構造を共有しており、芳香環とアルキルアミン炭素鎖のどの部分を化学修飾するとどのような中枢神経作用を生じるかについての構造活性相関の情報集積が構築されている。²⁾



Position	Amphetamine-like action	DOM-like action
A: Terminal amine	N·CH ₃ > NH ₂ > NHR > NR ₂	NH ₂ > NHR > NR ₂
B: Chiral center	S(+) > (±) > R(-)	R(-) > (±) > S(+)
C: α-Methyl group	Homologation decreases potency Replacement by H decreases potency	Homologation decreases potency Replacement by H decreases potency
D: β-Position	b-OH: reduces potency b-ketone (=O): retains activity	No information
E: Aromatic substituents	Unsubstitution is preferred	2,5-Dimethyl is preferred 4-Substitution modulates activity

This table is partly modified from those of Glennon, R.A. in "Foye's Text Book of Medicinal Chemistry, 2003, p.443.

しかしながら、覚せい剤あるいはMDMAの炭素軸回転による立体配座異性と生物活性に関する報告はほとんどない。そこで、アンフェタミンのプロパンアミン軸回転-立体配座異性に関するon-silico配座エネルギー解析を行い、また炭素軸回転配座を化学構造的に固定化したモデル化合物を合成し、その生物活性について検討を行った。

B. 研究方法

1. 化学合成に関する実験

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(¹H-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。¹H-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。

N,O-Formyl-(1R,2S)-norephedrine

Norephedrine (75.07g, 0.50mol)のトルエン(100mL)溶液とし、100% formic acid (56.07g, 0.75mol)、無水トリフルオロ酢酸(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(37.52g,36.2%)を得た。Mp. IR (KBr) cm^{-1} : 1510(NO_2), 1322, 1273, 721, 603. $^1\text{H-NMR}$ (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).

R,S-1-Hydroxy-2-methyltetrahydroisoquinoline

化合物(4) (4.14g, 20.00mmol) のトルエン(14mL) 溶液に、鉄粉(5.585g, 100.0mmol)、 FeCl_3 (0.11g, 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(1.12g, 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3.72g(収率83%)を得た。 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 2.15 (3H, $\text{CH}_3\text{CO}-$, 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, $\text{M}^+ - \text{COCH}_3$).

S-2-Methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline

メタノール(150mL) に化合物(6) (32.55g, 0.183mol)、メチルアミン塩酸塩(16.04g, 0.274mol) を溶解させ、 NaBH_3CN (5.74g, 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27.65g(収率78.3%)を得た。 $^1\text{H-NMR}$ (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).

2- α -Phenylethyl-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene

化合物(6) (26.79g, 0.15mol)、酢酸アンモニウム(23.18g, 0.30mol)、 NaBH_3CN (6.28g, 0.10mol) から7aと同様に反応・処理し、淡紫色の液体6.87g(収率24.4%)を得た。 $^1\text{H-NMR}$ (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.

2S-2-Amino-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene

2,4,5-trimethoxybenzaldehyde (8) (25.00g, 0.127 mol)、トルエン(40mL) 溶液と、ニトロエタン(19.14g, 0.255mol)、ブチルアミン(2mL)、Dean-Stark 水分器、温度150°C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(25.50g, 79%)を得た。IR (KBr) cm^{-1} : 1509(NO_2), 1267, 1218. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 2.45 (3H, $\text{CH}_3\text{C}(\text{NO}_2)=$, s), 3.86 (3H, $\text{CH}_3\text{O}-$, s), 3.88 (3H, $\text{CH}_3\text{O}-$, s), 3.95 (3H, $\text{CH}_3\text{O}-$, s), 6.54 (1H, Ph, s), 6.88 (1H, Ph, s), 8.32 (1H, $\text{PhCH}=\text{}$, s).

2-Phenylcyclopropanecarboxylic acid

化合物(9) (5.07g, 20mmol) のトルエン(14mL) 溶液に、鉄粉(5.59g, 100mmol)、 FeCl_3 (0.11g, 0.69mmol)、水(15mL) を加え、75°C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°C)した。さらに鉄粉(1.12g, 20mmol) 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4.14g(収率92%)を得た。Mp.:40-44°C。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-Phenylcyclopropanamine

化合物(10)(2.54g, 11.3mmol)、メチルアミン塩酸塩(1.00g, 14.7mmol)、NaBH(OAc)3(0.36g, 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1.90g(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)。

2. 生物活性に関する実験

a) 実験動物

動物は、雄性ラットStd-Wister(日本エスエルシー、静岡・体重250-300g)を用いた。動物は、12時間明暗サイクル(明期6:00-18:00)下、温度23°C、湿度55±5%の部屋で飼育し、水(水道水)および餌(CE-2、日本クレア、大阪)は自由に摂取させた。ラットは無麻酔下で断頭殺し、直ちに脳を摘出した。氷上にてGlowinskiとIversenの方法に従って、必要な脳組織を切り出し、膜標本調整時まで-80°Cで保存した。

b) 薬物

薬物は、脱イオン水に溶解し、濃度10⁻³Mの溶液を調整した。溶解しにくい化合物はジメチルスルホキシド(DMSO、最終濃度0.5%以下)または塩酸(1M HCl)を少量加えた。薬液は脱イオン水で希釈して用いた。

c) 受容体膜標本の調製

-80°Cで保存しておいた前頭皮質を最初の湿組織重量の10倍の氷冷した50mM Tris-HCl buffer(pH 7.7)でテフロンガラスPotter型ホモジナイザーによりホモジナイズ(10 strokes, 5000rpm)したのち、50000×g、2°Cで15分間遠心分離した。得られた沈渣を同量の氷冷した50mM Tris-HCl bufferで懸濁させた。内因性モノアミンリガンドを除去する目的で37°Cで30分間インキュベーションした後、50000×g、2°Cで15分間遠心分離した。さらに、その沈渣を同量の氷冷した50mM Tris-HCl bufferで再懸濁し、50000×g、2°Cで20分間遠心分離した。得られた沈渣を最初の湿組織重量の20倍量の氷冷したassay bufferである50mM Tris-HCl buffer(pH 7.7、10μM pargyline, 4mM CaCl₂, 0.1% ascorbic acidを含む)で懸濁し、使用するまで-80°Cで保存した。

d) 5-HT受容体標本の調製

d.1) CHO細胞への5-HT受容体cDNAのトランスフェクション

CHO細胞は10%ウシ胎児血清、50U/mlペニシリン、50μg/ml硫酸ストレプトマイシンを含むハムF12培地で、37°C、5%炭酸ガス培養器中で培養した。受容体cDNAを含むプラスミドを(リポフェクチン法(GibcoBRL, Gaithersburg, USA)によりCHO細胞にトランスフェクトした。500μg/mlのG418(GibcoBRL)存在下で培養し、生存するコロニーのうち[³H]8-Hydroxy-DPAT、あるいは[³H]

Ketanseri (DuPont – New England Nuclear, Wilmington, USA) を用いた結合実験により各受容体を高レベルで発現しているクローン細胞を選別した。それぞれの受容体の発現はノーザンブロット法にて確認した。

d.2) 5-HT 受容体結合実験標本の調製

トランスフェクションした受容体を安定的に発現した CHO 細胞を回収し、Tris 緩衝液 [50mM Tris (pH 7.4)、10mM MgCl₂、1mM EDTA] 中でホモジナイズした。30,000g で 20 分間遠心した後、ペレットを緩衝液中に懸濁しこれを粗膜標品として結合実験に使用した。

標識リガンド 10 μ L、非標識リガンド 10 μ L、粗膜標品 80 μ L を混合し、25 $^{\circ}$ C、60 分インキュベートした後、氷冷した Tris 緩衝液 1mL 反応を停止した。これを 0.1% polyethyleneimine に浸した Whatman GF/C フィルターで濾過し、フィルターを 5mL のクリアズル I (Nakalai Tesque, Kyoto, Japan) に入れ、液体シンチレーションカウンターでその放射活性を測定した。

e) 受容体結合実験

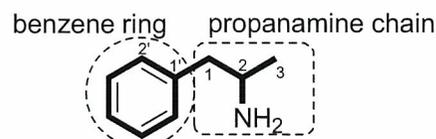
飽和結合実験には、種々の濃度の標識リガンドとそれぞれの非標識リガンド 10mM を用いた。競合結合実験には、一定濃度の [³H] SCH-23390 (D1 受容体)、[³H] Sulpiride (D2 受容体)、[³H] Ifnprodil (α 1 受容体)、[³H] 8-Hydroxy-DPAT (5HT1A 受容体)、[³H] Ketanserin (5HT2A 受容体)、(DuPont – New England Nuclear, Wilmington, USA) と種々の濃度の非標識リガンドを用い、非特異的結合は 10mM の非標識リガンドの存在下で求めた。データは 3 から 7 回の実験結果の平均値 \pm 標準誤差で表している。

C. 研究結果

1. アンフェタミン立体配座異性の On-silico 探索

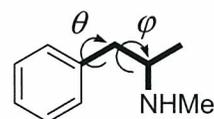
図に示すようにアンフェタミンには 2 つの回

転可能なアルキル軸 (二面角 $\theta = C2-C1-C1'-C2'$ $\varphi = C1'-C1-C2-C3$) が存在する。(Fig. 1)



Amphetamine

Rotational conformation isomerization



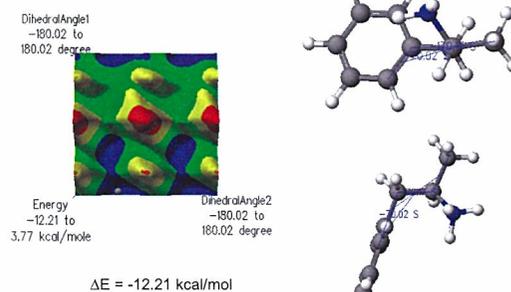
Methamphetamine

Fig. 1

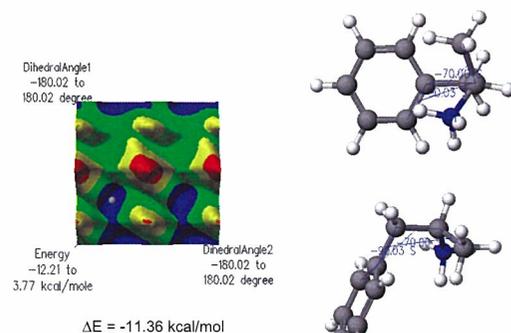
a) プロトン化アンフェタミンの配座解析

アンフェタミン類は生体内において有利塩基ではなく、プロトン化されていると推定されるので、プロトン化アンフェタミンについて解析した。

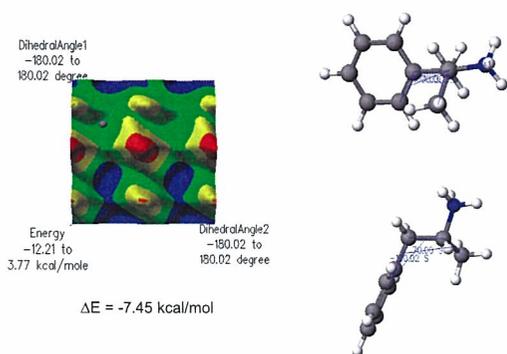
Conformation of amphetamine



Conformation of amphetamine



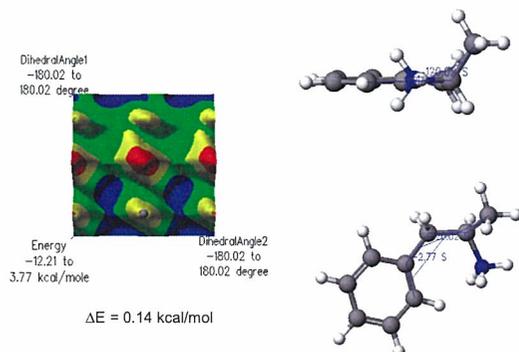
Conformation of amphetamine



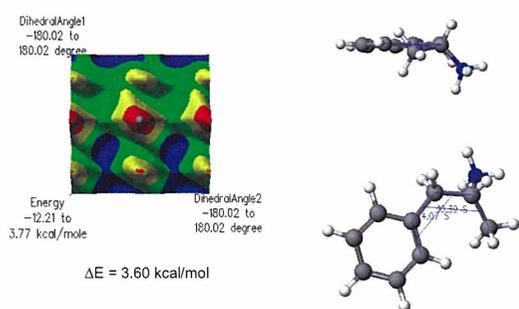
これら安定および準安定配座においては、ベンゼン環平面部分はいずれも C1-C2 軸と直行しており、Model C に類似した配座と言える。

ベンゼン環平面とプロパンアミン軸がほぼ同一平面に並ぶ、Model A と Model B についての配座解析では非常に高エネルギーとなり、生体内ではリガンド-蛋白相互作用による配座安定化効果を考慮しても不可能な配置であると推定された。

Conformation of amphetamine



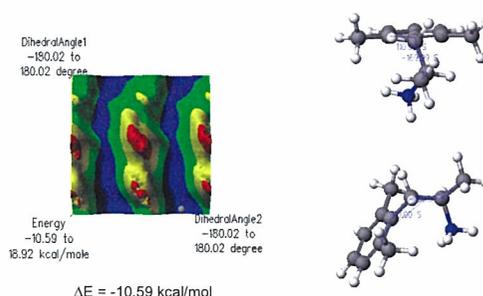
Conformation of amphetamine



b) 2,6-Dimethylamphetamine の配座解析

アンフェタミンの安定配座異性体をより明確に生成すると予想される 2,6-Dimethyl 置換した amphetamine の配座解析もおこなった。

Conformer of 2,6-DiMeAMP⁺



2. 配座異性制御化合物の化学

リガンド合成

a) Model A, co-planary compound の合成

Norephedrine をギ酸-トリフルオロ酢酸無水物と反応させて、N-formylnorephedrine とした後、Pictet-Spengler 反応条件化にて処置すると閉環して 3,4-dihydroisoquinoline 誘導体を与えた。このものは酸素存在に大変不安定なため、直ちにトリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウムにて還元し、3,4-dihydro-4-hydroxyisoquinoline 誘導体とした。無水トリフルオロメタンスルホン酸により、対応する N,O-Ditriflate に導き、水素化リチウムアルミニウムにて、還元的置換反応すると 3-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (Model A) が得られた。

b) Model B, twisted compound の合成

Tetrahydronaphthalene-2-one を酢酸酸性下の無水 MeOH 中、S- α -phenethylamine とトリアセトキシ水素化ホウ素ナトリウムにて還元的アミノ化し 2- α -phenethylaminotetrahydronaphthalene 誘導体に導いた。これをパラジウム炭素と水素雰囲気 (5 hPa) にて加水素化分解して、2-amino-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene (Model

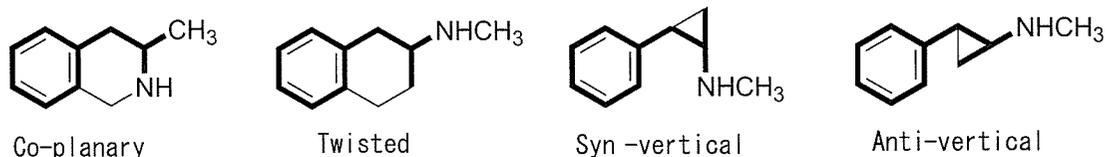
B) が得られた。

c) Model C, vertical compounds の合成

Methyl cinnamate を酢酸ロジウム、トリフェニルフォスフィン、トリメチルシリルジアゾメタンと反応させると trans-2-phenylcyclopropanecarboxylate が得られた。これを加水分解後、その一部分をキラルカラムクロマトグラフィーにて光学分割した。このようにして得られた標準光学異性体を元にシンコニンおよびシンコニジンを用いて、ジアステレオ塩の光学分割を行った。このカルボン酸を対応するアミドに導き、Hoffmann 転位反応に付すと、立体保持した trans-cyclopropanamine (Model C2) が得られた。一方、ジフェニルリン酸アジドを用いて Curtius 転位反応すると立体反転した cis-配置の cyclopropanamine (Model C1) が得られた。

3. 受容体親和性

Receptor bindings of conformer model compounds



Compounds	<i>K_i</i> (nM)				
	D1	D2	5HT1A	5HT2A	α1
Co-planary	732.4 ± 32.8	913.9 ± 42.6	1298.6 ± 104.8	1093.6 ± 72.9	226.6 ± 18.2
Twisted	79.1 ± 11.6	58.5 ± 10.7	132.7 ± 7.44	218.2 ± 61.1	43.5 ± 10.8
<i>Syn</i> -vertical	1298.6 ± 94.8	>1,000	>1,000	>1,000	>1,000
<i>Anti</i> -vertical	113.6 ± 12.6	289.4 ± 16.0	62.3 ± 39.7	149.3 ± 13.5	148.9 ± 7.80

D. 考察

Model A は、メタンフェタミンの2つの特徴構造であるベンゼン環と炭素鎖状プロパナミン部分が同一平面的に固定化された分子である。Model B の化合物は、アミン部分のみが

「ねじれ」位置に配置された分子である。Model C1 はベンゼン環が「ねじれ」位置でかつアミン部分と同じ配向の分子である。Model C2 は Model C1 に対してアミン部分が外配向の分子である。On-silico 配座解析においては、配座モデル Model C1 あるいは Model C2 がエネルギー安定あるいは準安定配座を代表しているように推察されたが、中枢作用に関係すると推察できる、ドパミン、あるいはセロトニン受容体への親和性はそれほど強くなかった。これは配座拘束に導入したシクロプロパン環による立体電子的阻害作用の影響と推定される。

E. 結論

Model A の化合物はドパミン受容体 (D1, D2), およびセロトニン受容体 (5-HT1, 5-HT2) のいずれの受容体親和性も極めて低

かったが、アドレナリン α1 受容体にはやや親和性を示した。Model B の化合物は D1, D2, 5-HT1 受容体に親和性を示した。Model C1 はどの受容体親和性も低かったが、Model C2 は 5-HT1 に親和性を示した。

これらの結果によりメタンフェタミン類は主にModel B様の立体配置により薬物活性を生じていると推察された。

【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., McIsaac, 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.
- 8) Reddy, T.J., Leclair, M., Proulx, M. (2005) *Synlett*, 583-586.
- 9) Yamamura, H.I., Enna, S.J., Kuhar, M.J., eds. (1985) "Neurotransmitter Receptor Binding, 2nd ed.", Raven Press, NY.
- 10) Graham, R.M., Perez, D.M., Hwa, J. Piascik, M.T. (1996) *Circ. Res.*, 78, 737-749.
- 11) Missale, C., Nash, S.R., Robinson, S.W., Jaber, M., Caron, M.G. (1998) *Physiol. Rev.*, 78, 189-225.
- 12) Jaber, M., Robinson, S.W., Missale, C., Caron, M.G. (1996) *Neuropharmacol.*, 35, 1503-1519.

- 13) Boess, F.G., Martin, I.L. (1994) *Neuropharmacol.*, 33, 275-317.
- 14) Hoyer, D., Clarke, D.E., Forzard, J.R. (1994) *Pharmacol. Rev.*, 46, 157-203.
- 15) Cannon, J.G., Perez, J.A., Pease, J.P., Long, J.P., Flynn, J.R., Rusterholz, D.B., Dryer, S.E., (1980) *J. Med. Chem.*, 23, 745-749.
- 16) Cannon, J.G., Lee, T., Goldman, H.D., Costall, B., Naylor, R. (1977) *J. Med. Chem.*, 20, 1111-1116.

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Iwamura, T., Ito, Y., Kuno, N., Mizutani, T. (2005) *J. Health Sci.*, 51, 325-332.
- 2) Kinoshita, H., Takahashi, N., Iwamura, T., Watanabe, S., Kataoka, T., Muraoka, T., Tanabe, G. (2005) *Tetrahedron Lett.*, 46, 7155-7158.
- 3) Iwamura, T., Uesawa, Y., Kataoka, T., Tokuyama, S., Ueda, H. (2005) 岐阜薬大紀要, 54, 45-50.

2. 学会発表

- 1) 塩田勝利、西嶋康一、吉野達規、岩村樹憲「MDMAによる高体温に対するダントレンの有効性の検討」, 第27回日本生物学的精神医学会・第35回日本神経精神薬理学合同年会, 大阪, 2005年7月.
- 2) Iwamura, T., Kinoshita, H., Watanabe, S., Yosihara, S., Mizuno, K., Kataoka, T., "Synthesis of 3-phenylpropanols containing three-cumulative stereocenters via tandem Michael-aldol reaction of enoyloxazolothiones with aldehydes or acetals", SICC-4, Singapore, 2005, Dec.

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