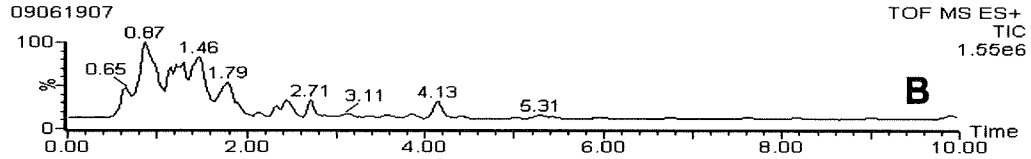
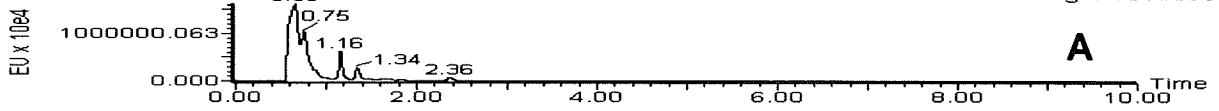


Fig. 5. Typical mass chromatograms and mass spectra of psychotropic substances spiked in human plasma (A), FL; (B), TIC; (I), SIC; (II), Mass spectra.

The UPLC-FL-ESI-TOF-MS conditions are described in Table 1.

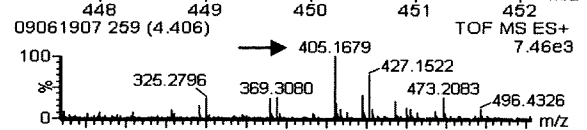
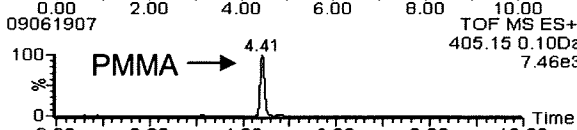
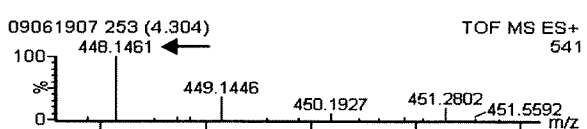
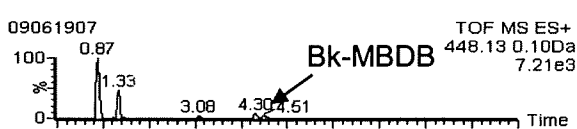
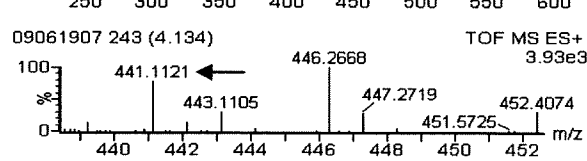
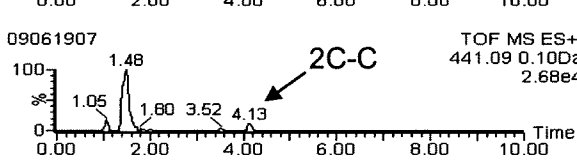
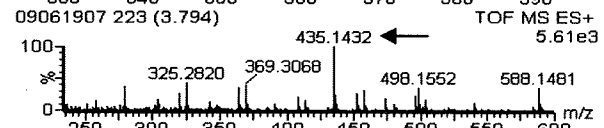
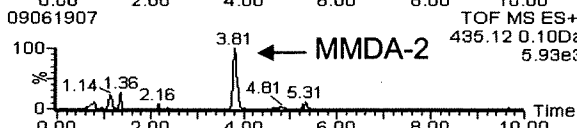
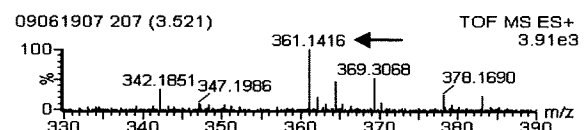
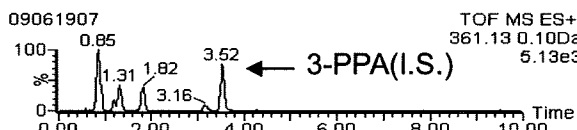
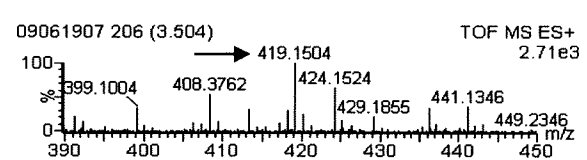
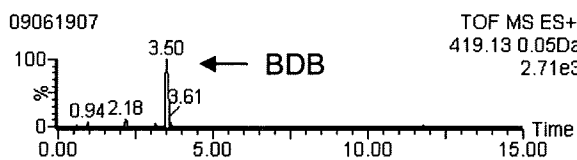
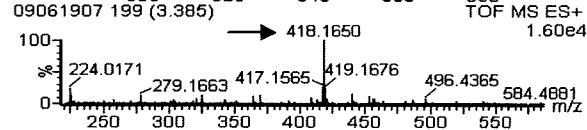
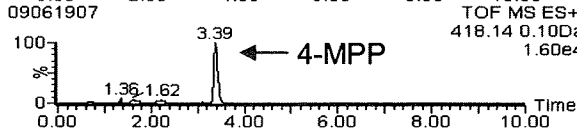
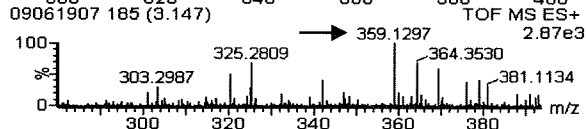
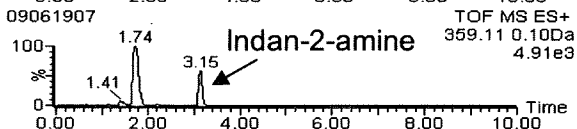
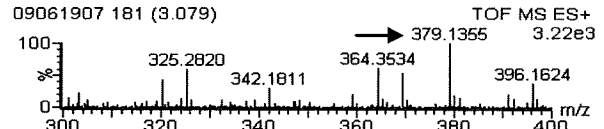
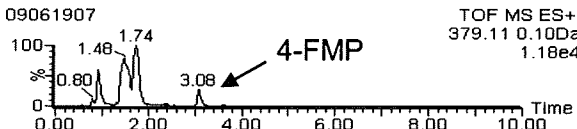
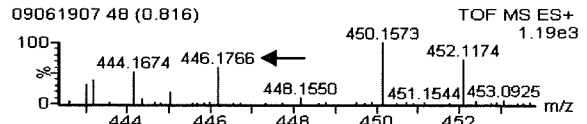
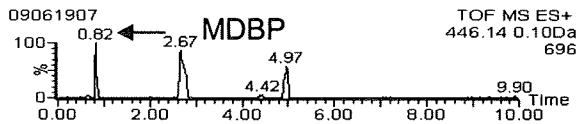
09061907

ACQUITY FLR ChA Ex450,Em550 nm
Range: 1615899



(I)

(II)



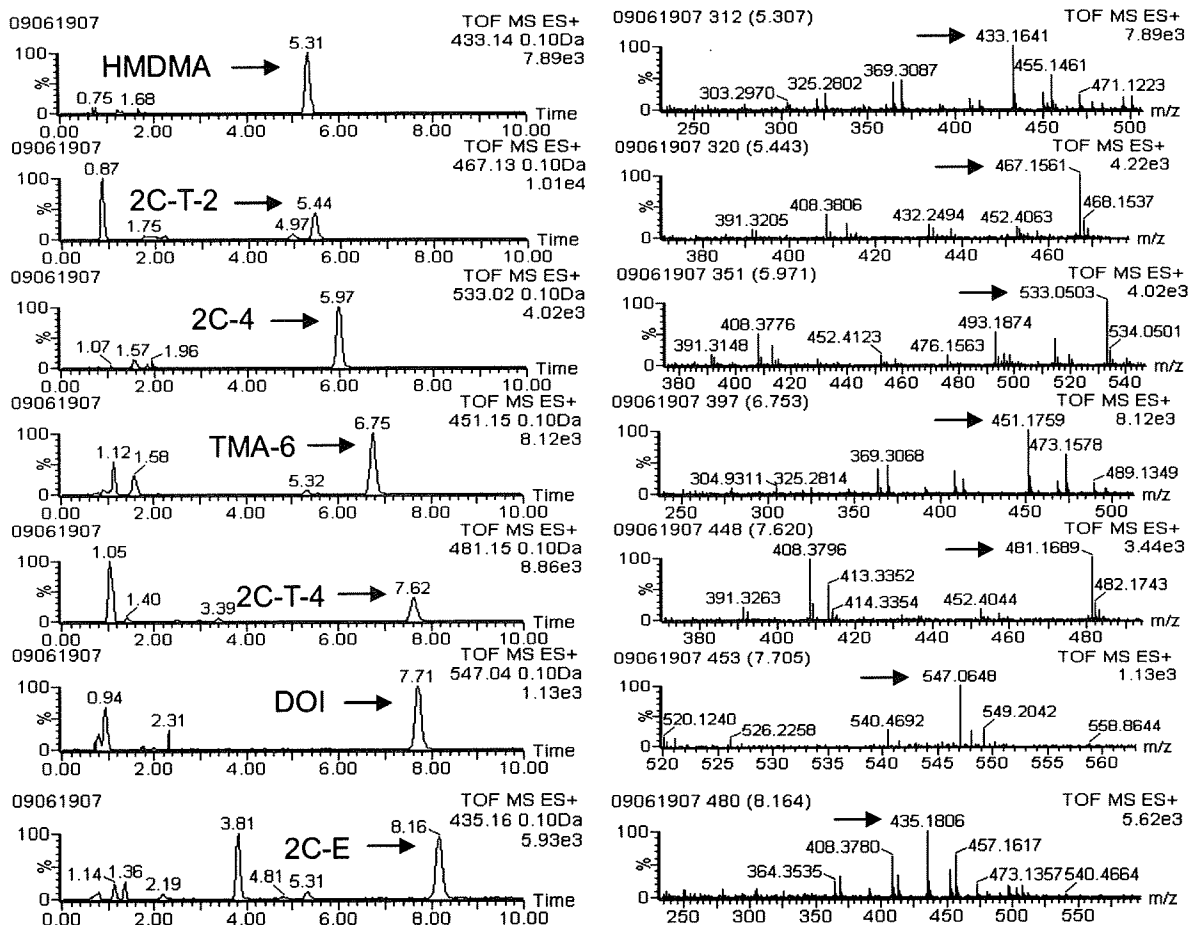


Fig. 6. Typical mass chromatograms and mass spectra of psychotropic substances spiked in human urine (A), FL; (B), TIC; (I), SIC; (II), Mass spectra.

The UPLC-FL-ESI-TOF-MS conditions are described in Table 1.

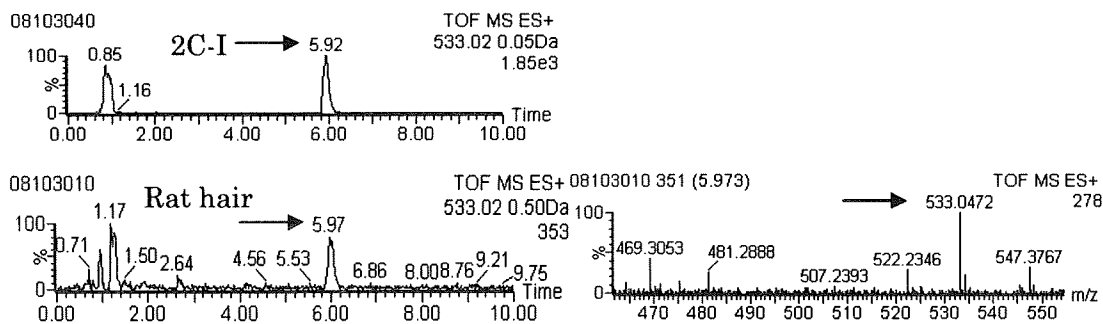


Fig. 7. Mass chromatograms and mass spectra obtained from rat hair

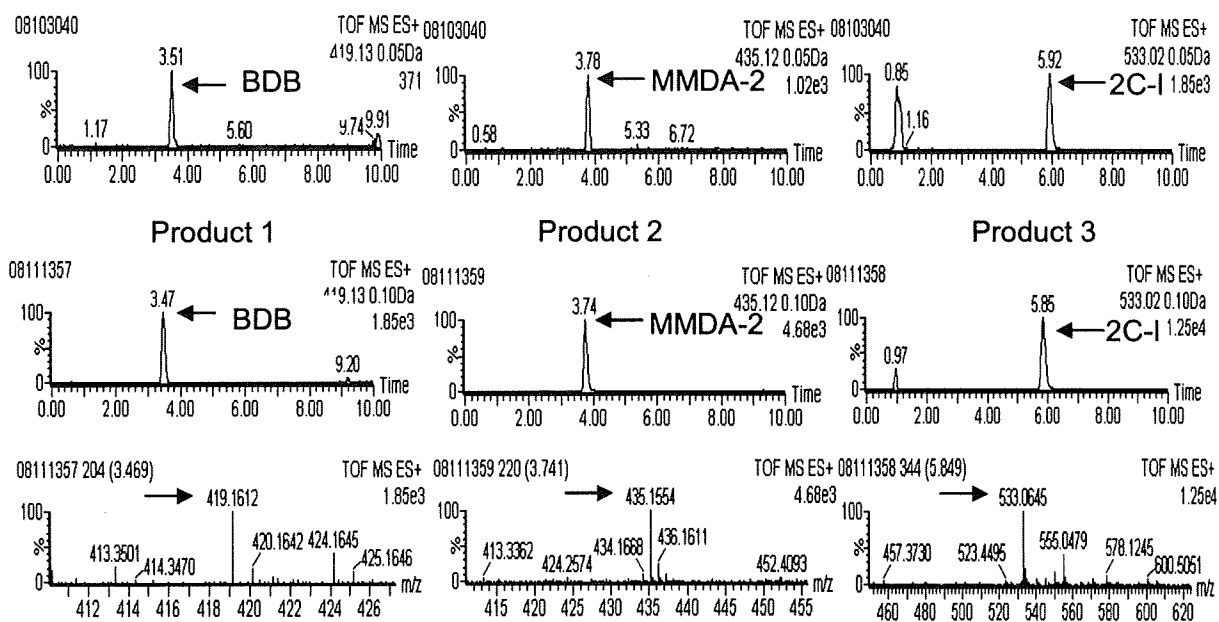


Fig. 8. Mass chromatograms and mass spectra obtained from real products containing psychotropic substances

The UPLC-ESI-TOF-MS conditions are described in Table 1.

Table 2 Calibration curves for DBD- psychotropic substances by the proposed method

Designated substance	Calibration range (pmol)	Linear equation	Linearity (R^2)
MDBP	0.05-5	$y=1.33x+0.162$	0.9985
4-FMP	0.3-5	$y=0.693x+0.104$	0.9999
Indan-2-amine	0.05-5	$y=0.772x+0.124$	0.9994
4-MPP	0.05-5	$y=13.2x+1.04$	0.9996
BDB	0.05-5	$y=3.62x+0.469$	0.9992
MMDA-2	0.1-5	$y=1.74x+0.200$	0.9996
2C-C	0.05-5	$y=2.55x+0.278$	0.9994
Bk-MBDB	3-12.5	$y=0.00880x-0.0170$	0.9834
PMMA	0.05-5	$y=2.42x+0.251$	0.9993
HMDMA	0.05-5	$y=2.68x-0.0920$	0.9997
2C-T-2	0.05-5	$y=3.21x+0.0600$	0.9999
2C-I	0.05-5	$y=3.29x+0.383$	0.9996
TMA-6	0.05-5	$y=4.30x+0.592$	0.9995
2C-T-4	0.05-5	$y=3.89x+0.600$	0.9996
DOI	0.2-5	$y=0.652x+0.0580$	0.9998
2C-E	0.1-5	$y=4.56x+0.756$	0.9995

Table 3 Accuracy and precision of the proposed method by intra-day and inter-day assays

Designated substance	Amount (pmol/mL)	Intra-day assay			Inter-day assay		
		Mean±SD	CV% (n=5)	Accuracy (%)	Mean±SD	CV% (n=5)	Accuracy (%)
MDBP	50	45±4.0	7.41	89.60	47±6.0	3.07	94.40
	100	113±3.0	8.81	113.1	113±6.0	1.96	113.3
	500	498±10	3.59	99.64	516±6.0	2.73	103.1
4-FMP	50	49±1.0	5.79	97.00	49±9.0	8.28	97.80
	100	104±4.0	8.68	103.8	108±4.0	7.64	108.4
	500	500±14	5.38	99.90	510±1.0	2.48	102.0
Indan-2-amine	50	47±9.0	7.04	94.60	48±8.0	7.24	95.40
	100	109±5.0	6.11	108.7	108±8.0	3.58	107.7
	500	499±11	4.67	99.76	534±17	5.47	106.7
4-MPP	50	48±3.0	2.57	96.60	52±1.0	5.55	104.8
	100	108±5.0	8.54	107.8	115±3.0	5.92	115.2
	500	499±8.0	2.43	99.78	545±31	6.53	108.9
BDB	50	48±5.0	5.79	95.60	52±5.0	4.72	103.2
	100	111±2.0	5.14	111.0	115±4.0	3.13	115.2
	500	498±13	1.69	99.68	537±22	5.46	107.4
MMDA-2	50	48±5.0	5.47	96.60	50±5.0	5.13	100.2
	100	108±1.0	7.84	108.1	111±4.0	3.50	111.0
	500	499±13	4.06	99.76	519±7.0	2.72	103.7
2C-C	50	48±3.0	7.02	95.00	49±4.0	5.89	99.20
	100	109±2.0	8.06	109.2	111±2.0	4.14	110.6
	500	499±13	3.90	99.74	513±4.0	2.18	102.6
Bk-MBDB	750	732±265	12.97	97.64	704±249	10.59	93.87
	1000	956±294	12.91	95.60	922±269	10.06	92.23
	1250	1296±263	6.17	103.6	1226±308	10.87	98.08
PMMA	50	47±4.0	4.78	94.20	48±4.0	4.75	95.60
	100	109±2.0	7.59	109.2	109±4.0	2.85	108.7
	500	499±16	4.56	99.74	515±5.0	2.22	103.0
HMDMA	50	46±7.0	6.16	92.60	49±7.0	6.04	97.40
	100	105±11	6.62	105.2	108±9.0	4.29	108.1
	500	499±28	4.89	99.88	536±31	5.03	107.1
2C-T-2	50	49±3.0	6.88	97.60	49±1.0	4.28	97.80
	100	103±7.0	6.94	103.4	106±3.0	3.58	106.1
	500	499±11	2.22	99.90	516±9.0	1.94	103.1
2C-I	50	48±6.0	4.14	96.20	52±5.0	5.01	103.6
	100	108±1.0	6.22	107.8	113±3.0	4.42	112.5
	500	499±13	4.23	99.78	521±8.0	3.14	104.1
TMA-6	50	48±6.0	5.91	96.00	50±8.0	2.48	100.0
	100	109±1.0	7.98	109.0	111±5.0	4.24	111.2
	500	499±16	5.10	99.74	519±6.0	2.99	103.8
2C-T-4	50	48±8.0	5.52	96.60	50±9.0	5.49	100.6
	100	108±2.0	5.15	107.7	109±6.0	4.79	109.4
	500	499±17	3.58	99.78	513±1.0	2.54	102.6
DOI	50	50±2.0	6.89	99.40	51±2.0	7.16	102.6
	100	106±4.0	8.86	106.0	109±2.0	6.32	108.7
	500	499±11	3.30	99.80	523±13	3.48	104.6
2C-E	50	48±9.0	6.31	96.40	52±9.0	4.72	104.2
	100	108±4.0	7.45	108.4	110±8.0	3.63	109.7
	500	499±9.0	4.19	99.76	525±4.0	3.18	104.9

SD: standard deviation; CV: coefficient of variation.

Table 4 Determination of psychotropic substances spiked in human plasma (n=5)

Designated substance	Spiked amount (pmol/0.1mL)	Detection amount (pmol/0.1mL)	Assay (%) Mean±SD	CV (%) (n=5)
MDBP	100	88±4.0	87.7±3.7	4.24
	300	316±16	105.5±5.4	5.19
	500	495±12	98.9±2.4	2.46
4-FMP	100	103±1.0	103.5±0.41	0.39
	300	287±18	95.5±6.2	6.46
	500	516±37	103.2±7.3	7.09
Indan-2-amine	100	102±6.0	102.1±5.5	5.42
	300	292±24	97.3±7.9	8.11
	500	507±24	101.5±4.9	4.81
4-MPP	100	99±2.0	99.0±2.3	2.33
	300	307±10	102.4±3.4	3.30
	500	501±13	100.2±2.6	2.56
BDB	100	107±2.0	107.4±2.4	2.22
	300	298±20	99.3±6.7	6.78
	500	506±2.0	101.2±0.4	0.36
MMDA-2	100	106±2.0	106.3±2.0	1.90
	300	298±23	99.4±7.8	7.81
	500	504±15	100.9±3.1	3.06
2C-C	100	100±4.0	100.4±3.6	3.57
	300	293±10	97.8±3.1	3.13
	500	505±13	101.0±2.6	2.55
Bk-MBDB	500	497±3.0	99.4±0.67	0.68
	750	762±16	101.6±2.1	2.04
	1000	986±17	98.6±1.7	1.75
PMMA	100	105±3.0	105.2±2.9	2.81
	300	293±5.0	97.5±1.7	1.70
	500	507±15	101.5±3.0	2.95
HMDMA	100	107±7.0	106.6±6.5	6.07
	300	288±4.0	96.1±1.4	1.44
	500	507±3.0	101.4±0.60	0.59
2C-T-2	100	99±5.0	99.0±4.5	4.53
	300	301±7.0	100.4±2.5	2.46
	500	505±21	101.0±4.2	4.13
2C-I	100	98±6.0	98.0±6.1	6.21
	300	304±5.0	101.5±1.8	1.77
	500	504±19	100.7±3.9	3.86
TMA-6	100	101±4.0	100.6±3.7	3.70
	300	304±15	101.4±5.1	5.02
	500	500±17	100.1±3.3	3.34
2C-T-4	100	102±2.0	101.8±2.2	2.18
	300	296±6.0	98.8±1.9	1.96
	500	500±12	99.9±2.3	2.31
DOI	100	96±6.0	96.1±5.9	6.17
	300	309±8.0	102.9±2.5	2.45
	500	501±14	100.2±2.7	2.73
2C-E	100	105±1.0	104.8±1.2	1.18
	300	293±23	97.6±7.7	7.92
	500	506±10	101.2±2.0	1.96

SD: standard deviation; CV: coefficient of variation.

Table 5 Limit of detection and limit of quantification of psychotropic substances spiked in human plasma and urine

Designated substance	Plasma		Urine	
	LOD (pmol/0.1mL)	LOQ (pmol/0.1mL)	LOD (pmol/0.1mL)	LOQ (pmol/0.1mL)
MDBP	2.5	8.0	15	50
4-FMP	30	0.11*	15	50
Indan-2-amine	5.0	17	3.0	10
4-MPP	0.40	1.3	0.30	1.0
BDB	3.0	10	3.0	10
MMDA-2	5.0	17	5.0	15
2C-C	2.0	7.0	2.0	7.0
Bk-MBDB	0.15*	0.50*	0.15*	0.50*
PMMA	2.2	7.5	3.0	9.0
HMDMA	3.0	10	2.0	6.0
2C-T-2	3.0	10	3.0	10
2C-I	2.0	8.0	1.5	5.0
TMA-6	2.0	7.0	1.5	5.0
2C-T-4	2.0	7.0	3.0	10
DOI	10	35	8.0	25
2C-E	5.0	15	6.0	20

LOD: limit of detection (S/N>3); LOQ: limit of quantification (S/N>10).

* nmol/0.1mL

分担研究課題:違法ドラッグ成分の危害影響予測手法に関する研究
研究分担者:栗原 正明 国立医薬品食品衛生研究所有機化学部 室長

—違法ドラッグ成分の活性評価法の開発—

研究要旨:違法ドラッグにおいてはその有害性、蓋然性を評価する手法が確立されていない。本研究では、コンピュータを用いた化学計算によるインシリコ評価法を開発する。本年度は、既知の化合物との構造の類似性に基づいたファーマコファインガープリント法及び 2D-QSAR 法による評価法の検討を行った。

A. 研究目的

違法ドラッグが大きな社会問題となっている。そこで、違法ドラッグを速やかに規制するためには、違法ドラッグの迅速な評価法が必要である。本研究では、それら違法ドラッグ類縁薬物のコンピュータを用いた化学計算によるインシリコ評価法を開発することを目的とする。本年度は、4-メチルメトカチノン、*N*-Me-2FMP、5-MeO-EPT について検討した。

B. 研究方法

(I) 4-メチルメトカチノン(図1)

4-メチルメトカチノンの生物活性値の予測は以下の2つの方法で行った。いずれも化学計算パッケージ MOE を使った。

(1) ファーマコフォアフィンガープリント法

3点のファーマコフォアのグラフ距離で分子の類似性を評価する。

(2) 2D-QSAR(定量的活性相関)法

AutoQuaSAR法を使って妥当なQSARモデル式を構築し、4-メチルメトカチノンの活性値を予測した。QSARモデル式で用いた記述子は、MOE上で動作するAutoQuaSARプログラムによって、MOEに搭載されている184のすべての2D記述子から選択されたものである。

下記文献から(+)-アンフェタミン(1 mg/kg)で弁別したラットを用いて般化試験を行った際の構造類似化合物1,2,3,4,5,6,7,8,9,10の実測活性値(ED₅₀値)を採用し、それぞれの方法で4-メチルメトカチノン11活性値を予測した。(図2、3)

Table 1:

番号	化合物名	活性実測値(ED ₅₀ , mg/kg)*
1	Amphetamine	0.71
2	(±)-Methamphetamine	0.49
3	(+)-Dimethylamphetamine	2.92
4	(±)-Catinone	0.71
5	(±)-Methcatinone	0.37
6	Ethcathinone	0.77
7	Prop_cathinone	2.03
8	MDA	2.29
9	MDMA	1.64
10	Methylone	2.36

* T. A. Dal Cason et al., *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 58(4) (1997) 1109-1116.

(II) *N*-Me-2FMP(図4)

N-Me-2FMPの活性予測を行った。方法は、

2D-QSAR を使って行った。条件は、4-メチルメトカチノンと同様に行った。(図 4、5) 活性値が既知の化合物は 4-メチルメトカチノンと同様の化合物 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10 を用いた。

(III) 5-MeO-EPT(図 7)

5-MeO-EPT の活性予測を行った。方法は、4-メチルメトカチノンと同様に行った。活性値が既知の化合物は以下の 14~18 を用いた。(ラット脳 synaptosome におけるセロトニンの monoamine re-uptake に対する IC₅₀ 値)

		IC ₅₀ , μM
14	AMT	0.38
15	5-MeO-AMT	2.9
16	5-MeO-DMT	4.1
17	5-MeO-MIPT	6.4
18	5-MeO-DIPT	2.2

C. 研究結果

3 つの化合物、4-メチルメトカチノン、*N*-Me-2FMP、5-MeO-EPT の活性の予測を行った。ファーマコフォアフィンガープリント法、2D-QSAR 法によって求めたそれぞれの活性の予測の結果をグラフにまとめた。(図 2, 3, 5, 6, 8, 9)

D. 考察

既知である類似化合物の活性データの有無がデータの信頼性に大きく係わって来ることが最大の問題点である。

E. 結論

類似化合物の活性(既知)と比較するために、ファーマコフォアフィンガープリント法及び 2D-QSAR(定量的活性相関)法の 2 方法で評価した。その結果、4-メチルメトカチノン、*N*-Me-2FMP、5-MeO-EPT は活性予測に

用いた既知化合物と同様の活性があることが予測された。

F. 参考文献

1. M. Nagano, M. Tanaka, M. Doi, Y. Demizu, M. Kurihara, H. Suemune
Helical-Screw Directions of Diastereoisomeric Cyclic-α-Amino Acid Oligomers
Org. Lett., **11**, 1135-1137(2009)
2. N. Suzuki, T. Suzuki, Y. Ota, T. Nakano, M. Kurihara, H. Okuda, T. Yamori, H. Tsumoto, H. Nakagawa, N. Miyata
Design, Synthesis, and Biological Activity of Boronic acid-Based Histone Deacetylase Inhibitors
J. Med. Chem., **52**, 2909-2922(2009)
3. W. Hakamata, M. Kurihara, H. Okuda, T. Nishio, T. Oku
Design and Screening Strategies for α-Glucosidase Inhibitors Based on Enzymological Information
Curr. Top. Med. Chem., **9**, 3-12 (2009)
4. S. Honzawa, N. Takahashi, A. Yamashita, T. Sugiura, M. Kurihara, M. A. Arai, S. Kato, A. Kittaka
Synthesis of a 1α-C-methyl analogue of 25-hydroxyvitamin D₃: interaction with a mutant vitamin D receptor Arg274Leu
Tetrahedron, **65**, 7135-7145 (2009)
5. M. Kurihara, Y. Sato, N. Yamagata, H. Okuda, M. Nagano, Y. Demizu, M. Doi, M. Tanaka, H. Suemune
Computational Study on Helical Structure of α,α-Disubstituted Oligopeptides Containing Chiral α-Amino Acids
Peptide Science 2008, 149-150(2009)
6. Y. Demizu, N. Yamagata, Y. Sato, M. Doi, M. Tanaka, H. Okuda, M. Kurihara
Controlling the helical screw sense of peptides with C-terminal L-valine
J. Pept. Sci., **16**, 153-158 (2010)

G. 研究発表等

特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

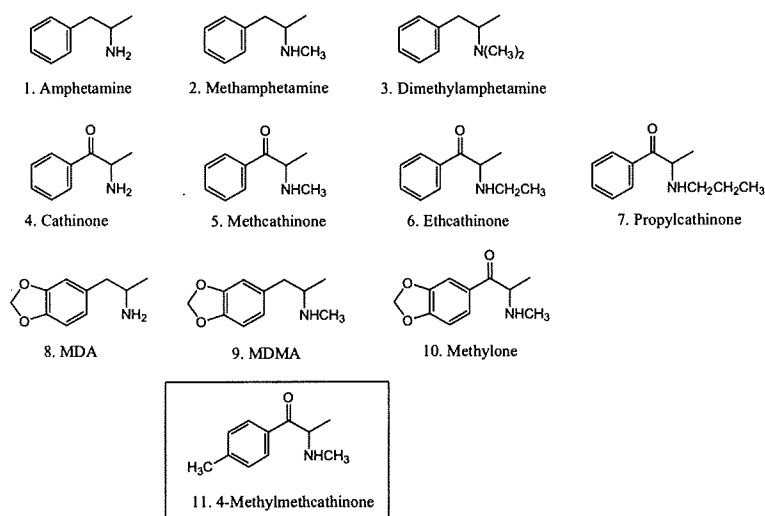


図 1 4-メチルメカチノン及びモデル構築に使用した構造類似化合物の構造

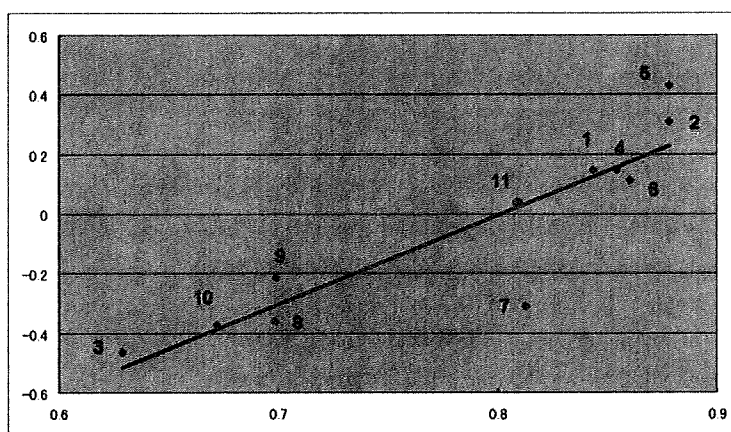


図 2 フェーマコフォアフィンガープリント法:縦軸は活性値の対数(-log 値)、横軸はフェーマコフォアフィンガープリント法による構造類似性

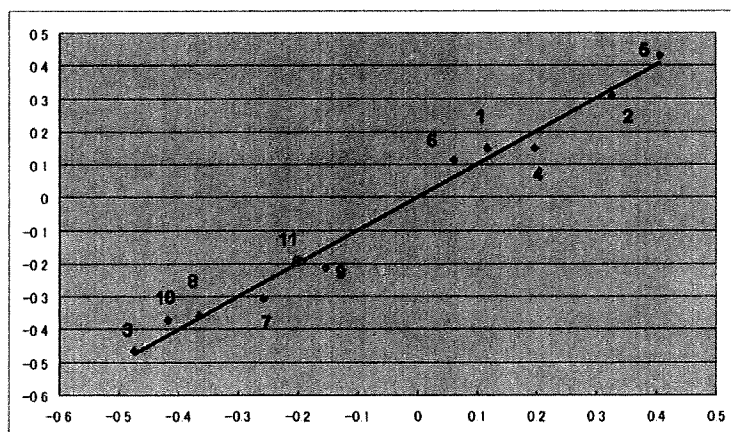
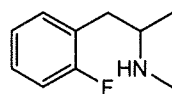


図 3 2D-QSAR 法:縦軸は活性値の対数(-log 値)、横軸は 2D-QSAR 法による活性予測値



12. *N*-Me-2FMP

図 4 *N*-Me-2FMP の化学構造

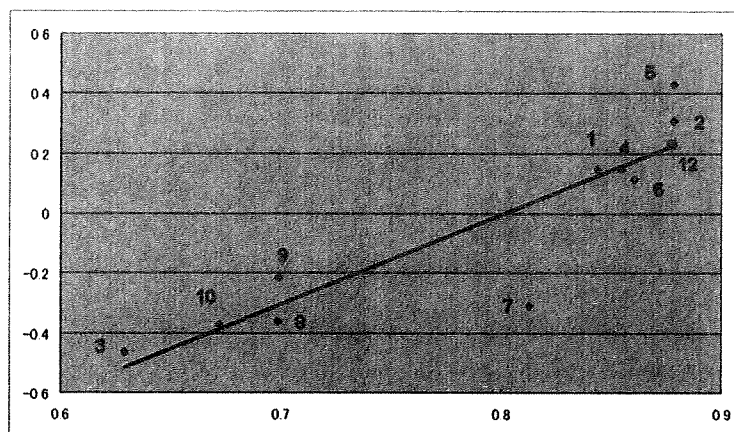


図 5 ファーマコフォアフィンガープリント法:縦軸は活性値の対数(-log 値)、横軸はファーマコフォアフィンガープリント法による構造類似性

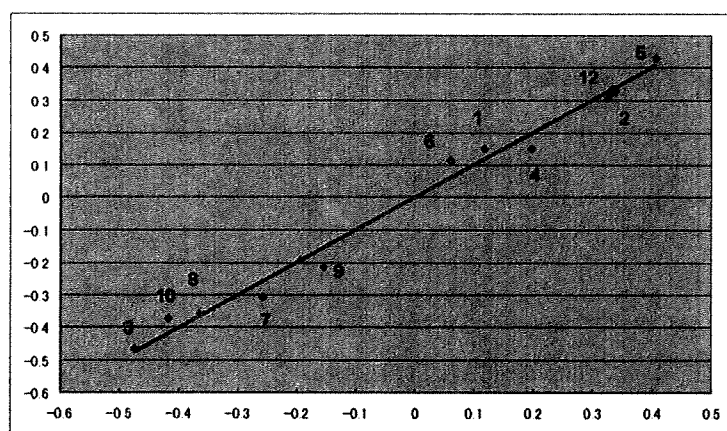
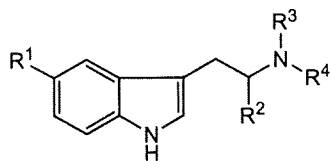


図 6 2D-QSAR 法:縦軸は活性値の対数(-log 値)、横軸は 2D-QSAR 法による活性予測値



番号		R ¹	R ²	R ³	R ⁴
14	AMT	H	CH ₃	H	H
15	5-MeO-AMT	OCH ₃	CH ₃	H	H
16	5-MeO-DMT	OCH ₃	H	CH ₃	CH ₃
17	5-MeO-MIPT	OCH ₃	H	CH ₃	CH(CH ₃) ₂
18	5-MeO-DIPT	OCH ₃	H	CH(CH ₃) ₂	CH(CH ₃) ₂
19	5-MeO-EPT	OCH ₃	H	CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₃

図7 5-MeO-EPT 及びモデル構築に使用した構造類似化合物の構造

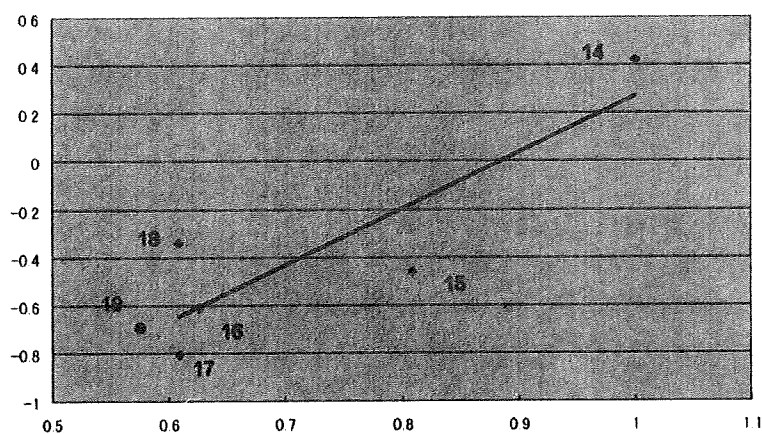


図8 ファーマコフォアフィンガープリント法:縦軸は活性値の対数(-log 値)、横軸はファーマコフォアフィンガープリント法による構造類似性

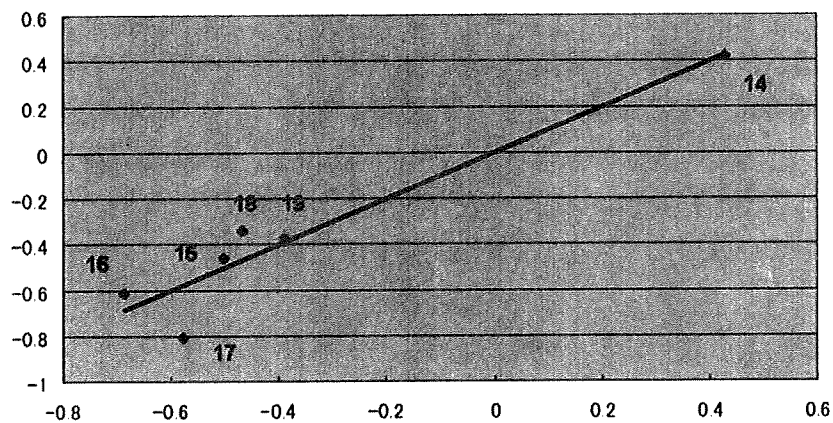


図9 2D-QSAR 法:縦軸は活性値の対数(-log 値)、横軸は2D-QSAR 法による活性予測値

分担研究課題:違法ドラッグの脳波による作用評価に関する研究

研究分担者:裏出 良博 (財)大阪バイオサイエンス研究所分子行動生物学部門・研究部長

研究協力者:内山 奈穂子 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 主任研究官

—合成カンナビノイドのラットの脳波に及ぼす作用に関する研究—

研究要旨:我々は、違法ドラッグ成分の中樞神経系の興奮若しくは抑制又は幻覚等の作用を検出する方法として、動物実験用脳波解析システムを用いて、動物の脳波の変化から薬物の薬理学的効果を判定する方法を検討している。今回、違法ドラッグとして、平成 21 年度に指定薬物となった 3 種類の合成カンナビノイド:Cannabicyclohexanol (CCH), CP-47,497 および JWH-018 を用いた。CCH, CP-47,497 および JWH-018 をラットの腹腔内に投与し、脳波および自発運動量の変化について検討を行った。その結果、3 化合物ともにラットの脳波に有意な変化を与えるとともに、自発運動量についても有意に減少させることが明らかとなった。また、3 化合物投与後の自発運動量は、大麻の主活性成分かつ麻薬である Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) 投与後の場合と比較して、より長時間にわたり減少した。従って、これら合成カンナビノイドは Δ^9 -THC と比較して長時間作用する可能性が示唆された。

A. 研究目的

乱用が懸念される違法ドラッグを迅速に規制するためには、その有害性を的確に把握し評価することが重要である。しかし、現状では違法ドラッグに関する科学的知見は少なく、また作用についても不明な点が多い。そこで本研究では、違法ドラッグ成分の中樞神経系の興奮若しくは抑制又は幻覚作用を検出する方法として、動物実験用脳波解析システムを導入し、動物の脳波の変化から薬物の薬理学的効果を判定する方法を検討することとした。

我々はこれまでに、興奮系違法ドラッグとして指定薬物であるフッ素置換アンフェタミン誘導体 4-Fluoroamphetamine (4-FMP), *N*-Methyl-4-fluoroamphetamine (*N*-Me-4-FMP) および代表的な興奮薬である覚醒剤 (*d*-amphetamine, *d*-methamphetamine) をラットに腹腔内投与し、脳

波、覚醒-睡眠時間、自発運動量の変化について検討を行った。その結果、4 化合物ともにラットの脳波に有意な変化を与え、また覚醒量および自発運動量についても投与量依存的に有意に増加させることを報告した^{1,2)}。

本研究では、代表的な抑制系薬物として、大麻の主活性成分かつ麻薬である

Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) を選定し、また、大麻様の薬理作用を有する化合物として報告されている 3 種類の合成カンナビノイド:

Cannabicyclohexanol (CCH), CP-47,497 および JWH-018 を用いた (Fig. 1)。これら 3 化合物は平成 21 年度に新たに指定薬物となった化合物である。これら 4 薬物を用いて、ラットの脳波に対する変化を検討した。

B. 研究方法

【使用動物】 Sprague-Dawley ラット(オス, 生後 8 週, 体重 290-350g)を日本エスエルシー株式会社より購入した。

【飼育方法】 ラットは防音チャンバー内に設置したアクリル製ゲージで個別に管理した。12 時間ごとの明暗周期(午前 8 時より明期開始)下で, ラット用固形飼料を与え, 飼料と水を自由に摂取させた。

【脳波・筋電位測定用電極の処理手術と測定装置への接続】 ラットに脳波・筋電位測定用の電極の留置手術を実施し, 回復用チャンバーに 10 日間おいて回復させた。その後, 記録用チャンバーに移して電極に測定用ケーブルを接続し, 4 日間順応させた。

【薬物投与】 各薬物をエタノール/emurphor® EL-620(GAF Chemical, Wayne, NJ)/生理食塩水(1/1/18)の溶媒に溶解させ, SD ラットに腹腔内投与(intraperitoneal administration: i.p.)した。投与は 20:00(暗期開始時刻)に行い, 1 日目は溶媒単独のコントロールとして, Vehicle(溶媒)のみを投与し, 2 日目に薬物を投与した(n = 3~4)。Cannabicyclohexanol(CCH)は合成したものを使用し, CP-47,497, JWH-018 は Cayman chemical 社から購入した。また, Δ^9 -Tetrahydrocannabinol(Δ^9 -THC)は Cerillant 社から購入した。各薬物は各 2.5 mg/kg ずつ投与した。

【脳波・筋電位の記録と解析】 脳波および筋電位は増幅(脳波:0.5-35 Hz, 筋電位:16-128 Hz)後, サンプリング速度:128 Hz でデジタル化して記録した。解析は脳波記録ソフトウェア 'Sleep Sign'(キッセイコムテック社製)を用いて, 10 秒間のデータを 1 エポックとし, 脳波と筋電位の周波数成分・波形について, 投与後 24 時間にわたる脳波データを解析した。また, 脳波のパワースペクトルの FFT (Fast Fourier Transform) 解析を行い, 0.5 時間毎の各段階における周波数 (0.5-34.5 Hz)の強度について, 1 日目のコントロールを 100 %として相対強度を算出し, 各薬物を比較した。

【自発運動量測定】自発運動量の測定は, 脳波・筋電位の測定と同時に行い, 赤外線センサーによりラットの行動量を測定した。投与後 24 時間にわたるデータを解析し, 0.5 時間毎の自発運動量を算出した。

(倫理面の配慮)

動物実験は, 大阪バイオサイエンス研究所の「動物実験に関する指針」を厳守し, 動物福祉の観点に基づいて, 適切な実験計画, 実験手技のもとで実施した。

C. 研究結果および考察

【自発運動量に及ぼす作用】各薬物を 2.5 mg/kg 投与した場合の自発運動量の経時変化を, Fig. 2a-2d に示した。CCH を投与した場合, 投与 11 時間後まで有意に自発運動量は減少した(Fig. 2a)。また, CP-47,497 を投与した場合, 投与 11.5 時間後まで有意に自発運動量は減少した(Fig. 2b)。JWH-018 を投与した場合, 投与 4.5 時間後まで有意に自発運動量は減少した(Fig. 2c)。一方, 大麻の主活性成分である Δ^9 -THC を投与した場合は, 投与 3.5 時間後まで有意に自発運動量は減少した(Fig. 2d)。従って, CCH および CP-47,497 は, Δ^9 -THC と比較して約 3 倍の長時間にわたり著しく自発運動量を減少させた。JWH-018 に関しても, 若干ではあるが Δ^9 -THC と比較して自発運動量の減少が長時間続くことが示された。次に, 各薬物の投与 3, 6, 12 時間後のラットの合計自発運動量を比較した(Fig. 3)。その結果, CCH, CP-47,497 および JWH-018 はすべて, 投与 3, 6, 12 時間後まで有意に合計自発運動量を減少させた。一方, Δ^9 -THC は投与 3, 6, 12 時間後いずれにおいても, 合計自発運動量の減少傾向はあるものの有意差は認められなかった(Fig. 3a-3c)。なお, CCH は投与 20 時間後まで有意に合計自発運動量を減少させた。また, CP-47,497 および JWH-018 については, それぞれ投与 12 時間後および 22 時間後まで有意に合計自発運動量が減少した(Data not shown)。

以上の結果から、これら合成カンナビノイドは、 Δ^9 -THC と比較してより長時間にわたりラットの自発運動量を有意に減少させることが示された。

【各周波数における脳波のパワースペクトル変化】

次に、各薬物投与後の脳波の各周波数における強度変化を検討した。例として、Fig. 4に Vehicle (溶媒)および CCH 投与 3 時間後の各周波数における強度を示した。CCH 投与により、5.0~7.0 Hz の周波数が著しく増加し、一方で 9.0 Hz 付近の周波数が減少することが明らかとなった。

さらに、1 日目のコントロールの各周波数強度を 100 %とした相対強度を算出し、比較した。投与 3 時間後までの 30 分毎の周波数強度率の経時変化を Fig. 5 に示した。CCH 投与 0.5~3 時間後では、周波数 5.0~6.0 Hz および 10.0~13.0 Hz 付近に共通して強度率の増加がみられ、逆に、8.0 Hz 付近では強度の減少がみられた (Fig 5a)。特に周波数 5.0~6.0 Hz ではコントロールに対して約 350%と顕著な強度率の増加が認められた。また、CCH の demethyl 体である CP-47,497 を投与した場合、投与 0.5~3 時間後に周波数 5.0~6.0 Hz において強度率の増加がみられ、特に投与 1 時間後では、コントロールに対して 450%以上の顕著な強度率の増加が認められた。また、周波数 10.0~13.0 Hz 付近でも一部の時間で強度率の増加がみられた (Fig. 5b)。次に、JWH-018 を投与した場合も、投与 0.5~3 時間後に周波数 5.0~6.0 Hz において強度率の増加がみられ、特に投与 30 分および 1 時間後では、コントロールに対して約 450%の顕著な強度率の増加が認められた (Fig. 5c)。CCH, CP-47,497 および JWH-018 に共通して強度率の増加が認められた 5.0~6.0 Hz の周波数は、一般的に θ 波といわれるレム睡眠時に増加する帯域であった。一方、 Δ^9 -THC を投与した場合、投与 0.5~2 時間後では、周波数 30 Hz 付近までの広範囲にわたって強度率の減少がみられた (Fig. 5d)。なお、2006 年に Robbe らが、 Δ^9 -THC (5 mg/kg i.p.) を投与したラットの脳波を解析したところ、0~25 Hz までの周波数の強度は減

少することを報告しており³⁾、この結果はこの報告を支持するものであった。しかし、投与 3 時間後では周波数 9 または 14 Hz 付近の強度率の増加がみられたものの、CCH, CP-47,497 および JWH-018 とは異なる挙動を示した。

以上の結果から、CCH, CP-47,497 および JWH-018 は、ほぼ共通した特定の周波数強度率に有意な変化を与えることが示された。しかし、その変化に Δ^9 -THC との相関はみられなかった。

D. 結論

本研究により、平成 21 年度新規指定薬物である 3 種類の合成カンナビノイド: Cannabicyclohexanol (CCH), CP-47,497 および JWH-018 は、ラットの自発運動量を有意に減少させることが明らかとなった。また、3 化合物は、大麻の主活性成分かつ麻薬である Δ^9 -THC と比較して、より長時間にわたり投与後の自発運動量を減少させた。従って、これら合成カンナビノイドは Δ^9 -THC と比較して長時間作用する可能性が示唆された。また、3 化合物はラットの脳波のほぼ共通した特定の周波数に有意な変化を与えることが示された。ただし、今回は 1dose のみの投与であることから、今後、濃度を変えて検討を行う必要が考えられる。さらに今後も引き続き、興奮薬、鎮静薬、幻覚薬等の中樞神経作用薬に関して脳波測定を実施し、薬物の中樞作用評価法を確立すべく検討を行う予定である。

E. 参考文献

- 1) 厚生労働科学研究補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)「違法ドラッグの依存性に基づいた乱用防止対策に関する研究」平成 20 年度研究分担報告「フッ素置換アンフェタミン誘導体のラットの脳波に及ぼす作用および血漿中薬物濃度に関する研究」(裏出良博, 内山奈穂子)
- 2) 厚生労働科学研究補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)「違法ドラッグの依存性に基づいた乱用防止

対策に関する研究」平成 19 年度研究分担報告「フッ素置換アンフェタミン誘導体のラットの脳波に及ぼす作用」(裏出良博, 内山奈穂子)

- 3) Robbe D, Montgomery SM, Thome A, Rueda-Orozco PE, McNaughton BL, Buzsaki G, Cannabinoids reveal importance of spike timing coordination in hippocampal function. *Nat Neurosci.* **2006**, 9(12), 1526-33.

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

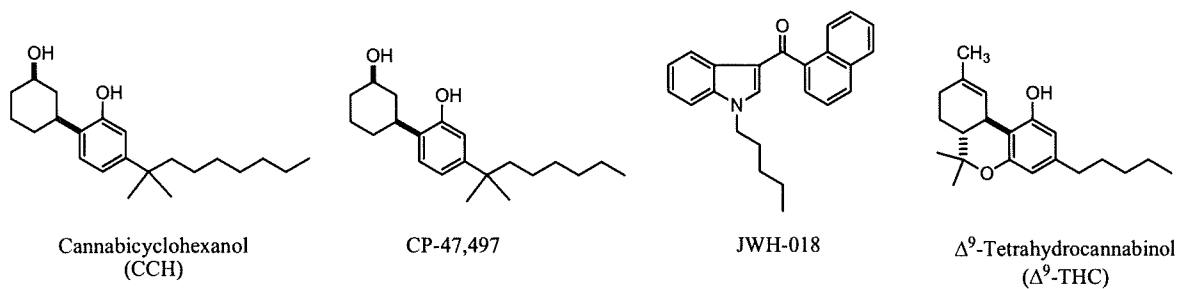


Fig. 1. Structures of synthetic and natural cannabinoids

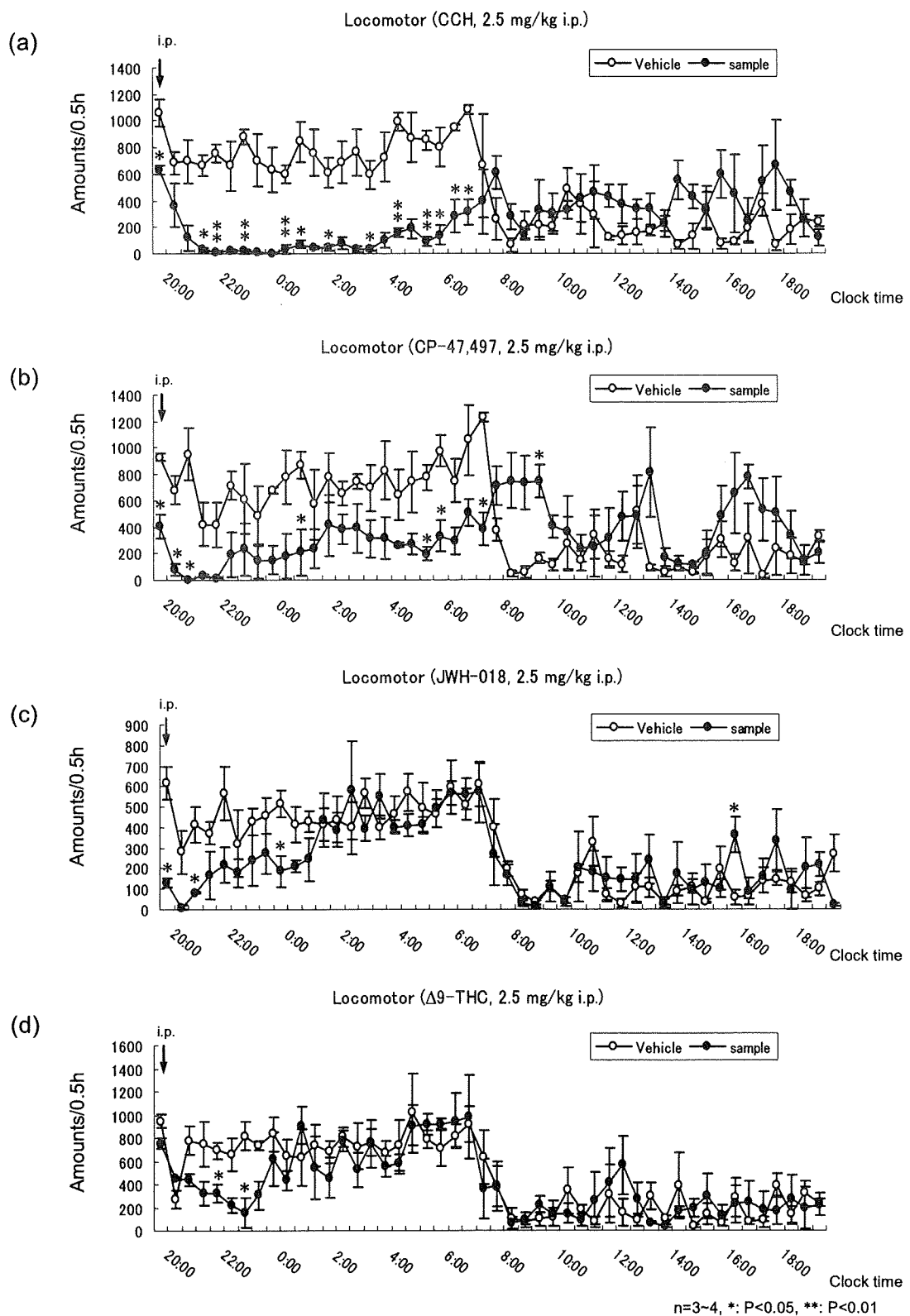


Fig. 2 薬物投与後のラットの自発運動量の経時変化

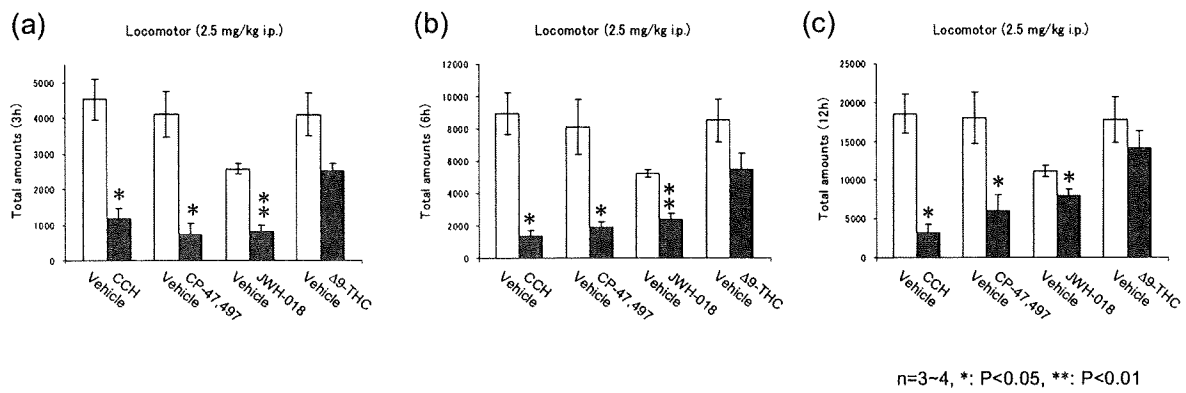


Fig. 3 薬物投与 3, 6, 12 時間後のラットの合計自発運動量

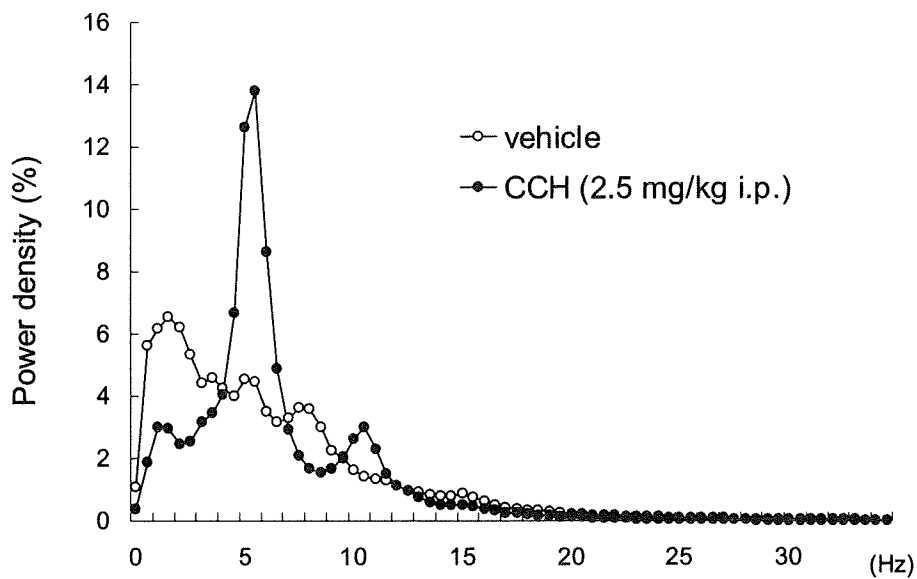


Fig. 4 CCH 投与 3 時間後のラット脳波の各周波数における強度