

合を Fig. 3e-3j に示した。化合物 14-16 は、それぞれ 6, 6, 8 時間後まで有意に自発運動量を減少させた (Fig. 3e-3g)。また、化合物 17-19 を投与した場合、投与直後から自発運動量は減少し、その後、一度運動量は vehicle 投与時と同程度まで増加するが、再度減少傾向がみられ、最終的には、化合物 17-19 は、それぞれ 11, 11, 12 時間後まで有意に自発運動量を減少させた (Fig. 3f-3j)。従って、これらジアミド類は全てマウスの行動量を抑制し、さらに、インダゾール骨格 (ADB-PINACA (16)) は、インドール骨格 (ADBICA (17)) と比較して若干強力な抑制作用を有することが示された。

次に、アミドエステル類 (化合物 20)、シクロプロピル類 (化合物 21) 及びピペラジン類 (化合物 22) を投与した場合を Fig. 4a-4c に示した。アミドエステル類 (化合物 20) は、投与 11 時間後まで有意に自発運動量を減少させた (Fig. 3a)。また、シクロプロピル類 (化合物 21) は、投与 2 時間後まで有意に自発運動量を減少させた (Fig. 3b)。一方、ピペラジン類 (化合物 22) を投与した場合、有意差はみられなかった (Fig. 3c)。従って、アミドエステル類 (化合物 20)、シクロプロピル類 (化合物 21) はマウス行動抑制作用を有するが、ピペラジン類 (化合物 22) は抑制作用を示さないことが明らかとなった。

#### 【累積自発運動量】

各薬物投与 0-6 時間後及び 6-12 時間後におけるマウスの累積自発運動量を、コントロールを 100% として算出し、Fig. 5 に示した。左側に投与 0-6 時間後 (a)、右側に投与 6-12 時間後 (b) の累積量を示した。

投与 0-6 時間後までの行動累積量を比較すると、カルボニル類のインダゾール骨格 (化合物 2, 3)、エステル類のキノリノール骨格 (化合物 5, 6, 8)、アミド類のインダゾール骨格 (化合物 12, 13)、ジアミド類のインダゾール骨格 (化合物 16)、アミドエステル類のインダゾール骨格 (化合物 20) は顕著に累積自発運動量を減少させ、コントロール

の 20% 未満に抑制した (Fig. 5a)。また、これら化合物は、カルボニル類のインドール骨格 (陽性対照: 麻薬 JWH-018 (1)) と同程度の行動量抑制作用を示した。次に、投与 6-12 時間後までの行動累積量を比較すると、カルボニル類のインダゾール骨格 (化合物 2)、エステル類のキノリノール骨格 (化合物 5)、アミド類のインダゾール骨格 (化合物 13)、アミドエステル類のインダゾール骨格 (化合物 20) は顕著に累積自発運動量を減少させ、コントロールの 30% 未満に抑制した。また、これら化合物は、陽性対照: 麻薬 JWH-018 (1) と同程度の行動量抑制作用を示した (Fig. 5b)。従って、これら化合物は投与 12 時間後までの長時間にわたり、行動量抑制作用を持続させることが示された。

以上の結果から、今回検討した化合物については、おおよそ下記の順で自発運動量を減少させる傾向がみられた。

- カルボニル類, アミドエステル類  $\geq$  エステル類  $\geq$  ジアミド類  $\geq$  アミド類
- インダゾール骨格  $>$  インドール骨格 (アミド類の場合)
- ベンズイミダゾール骨格, ピペラジン類, アミド類 (NNEI のみ): 有意差無し。

なお、NNEI を含む今回検討した合成カンナビノイドの一部について行動を観察したところ、歩行失調、四肢の硬直及び不動状態が観察された。また、5-Fluoro-QUPIC (6) には痙攣の症状がみられ、5-Fluoro-QUPIC (6) 及び QUPIC (5) には挙尾反応が観察された。

#### D. 結論

本研究では、主に平成 24 年度から 25 年度にかけて国内 (外) で違法ドラッグ成分として流通した合成カンナビノイド 21 化合物及び陽性対照 1 化合物 (麻薬 JWH-018) の計 22 化合物について、マウスの自発運動量に及ぼす作用を検討した。その結果、化合物 4, 10, 22 を除く 19 化合物はいずれもマウスの自発運動量を有意に減少させ、

化合物 2, 5, 13, 20 は、陽性対照である JWH-018 と同程度の行動量抑制作用を示した。また、化合物の構造分類から、おおそ下記の順で自発運動量を減少させる傾向がみられた[カルボニル類, アミドエステル類 $\geq$ エステル類 $\geq$ ジアミド類 $\geq$ アミド類, また, インダゾール骨格 $>$ インドール骨格(アミド類及びジアミド類の場合)]. 従って, これら合成カンナビノイドの摂取により重篤な健康被害が生じる可能性が危惧された。

本結果は、薬理作用がほとんど不明である新規流通合成カンナビノイドについての有用なデータである。なお、本結果の一部は、未規制であった違法ドラッグ成分が、平成 25 年度新規指定薬物として規制される際の参考データとして活用された。

#### 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等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)
- 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等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)
- 3) 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)「違法ドラッグの危害影響予測手法と分析に関する研究」平成 21 年度研究分担報告「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」(裏出良博, 内山奈穂子)
- 4) 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)「違法ドラッグの危害影響予測手法と分析に関する研究」平成 22 年度研究分担報告「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(2)」(裏出良博, 内山奈穂子)
- 5) 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)「違法ドラッグの危害影響予測手法と分析に関する研究」平成 23 年度研究分担報告「麻薬成分ケタミン誘導体:メトキセタミンのラット脳波に及ぼす作用に関する研究」(裏出良博, 内山奈穂子)
- 6) Uchiyama N., Kikura-Hanajiri R., Matsumoto N., Huang Z.L., Urade Y., Goda Y. Effects of synthetic cannabinoids on electroencephalogram power spectra in rats. *Forensic Sci. Int.* (2012) 215:179-183.
- 7) 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)「違法ドラッグに関する分析情報の収集及び危害影響予測に関する研究」平成 24 年度研究分担報告「カチノン系化合物  $\alpha$ -PVP 及び合成カンナビノイド MAM-2201 のラットの脳波に及ぼす作用に関する研究」(内山奈穂子)
- 8) Uchiyama N., Kikura-Hanajiri R., Aritake K., Goda Y., Urade Y. Effects of MAM-2201 and  $\alpha$ -PVP on electroencephalogram power spectra and locomotor activity in rats. *SOFT2013* (2013.10)

#### F. 健康危険情報

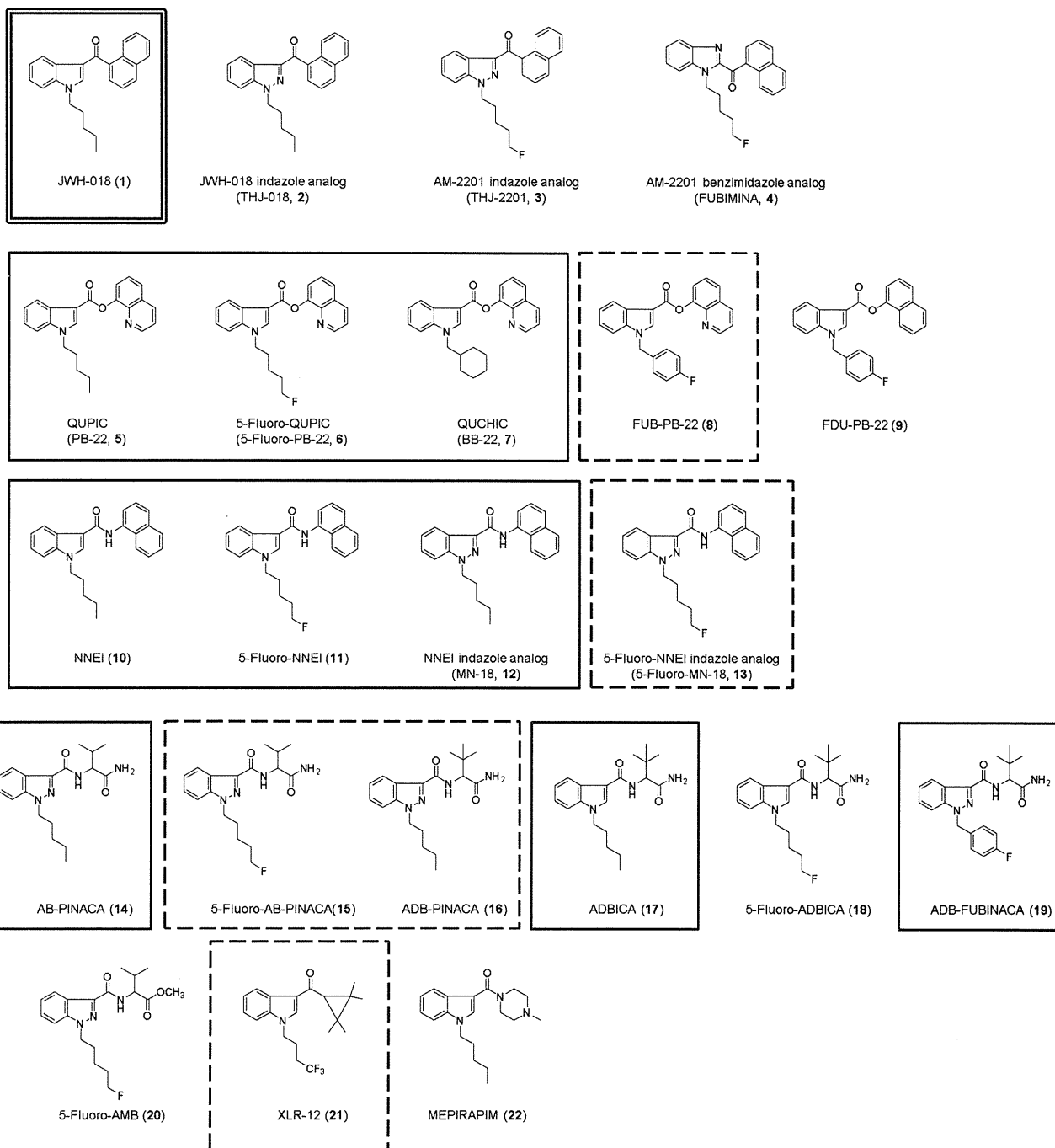
特になし。

#### G. 研究発表(学会発表)

内山奈穂子, 有竹浩介, 花尻(木倉)瑠理, 裏出良博, 合田幸広, 袴塚高志: 新規流通違法ドラッグ成分である合成カンナビノイドのマウス自発運動量に及ぼす作用 日本薬学会第 134 年会(2014.3)

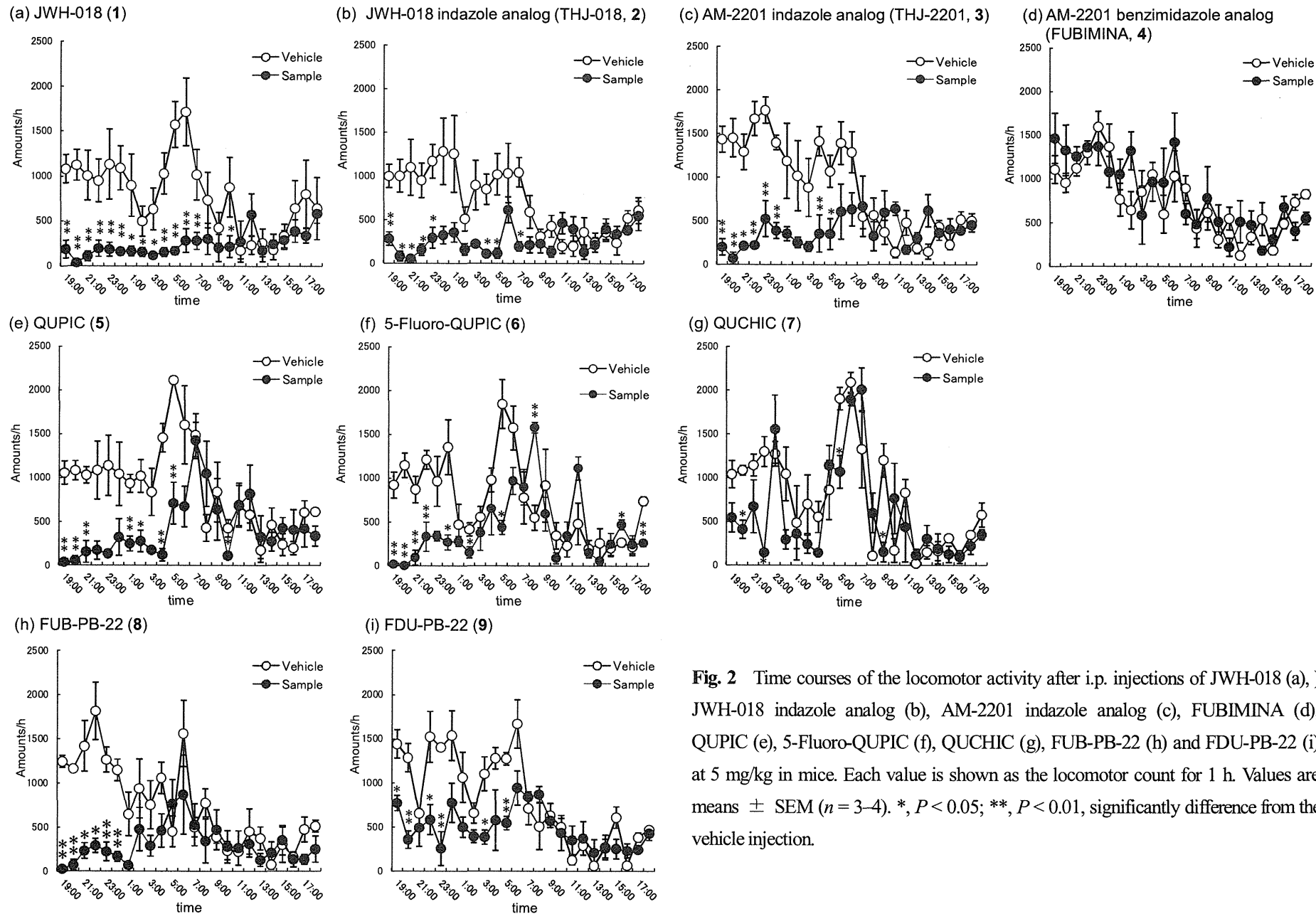
#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。



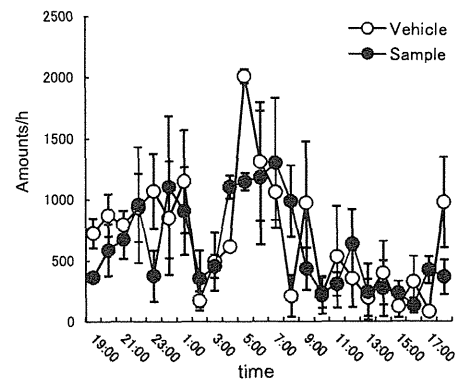
麻薬  
 指定薬物  
 指定薬物予定 (パブリックコメント募集中, 2014.4.時点)

Fig. 1. Structures of tested synthetic cannabinoids

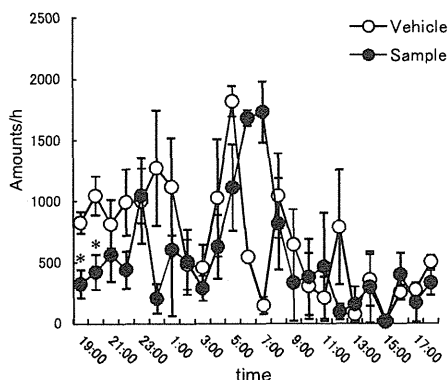


**Fig. 2** Time courses of the locomotor activity after i.p. injections of JWH-018 (a), JWH-018 indazole analog (b), AM-2201 indazole analog (c), FUBIMINA (d), QUPIC (e), 5-Fluoro-QUPIC (f), QUCHIC (g), FUB-PB-22 (h) and FDU-PB-22 (i) at 5 mg/kg in mice. Each value is shown as the locomotor count for 1 h. Values are means  $\pm$  SEM ( $n = 3-4$ ). \*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ , significantly difference from the vehicle injection.

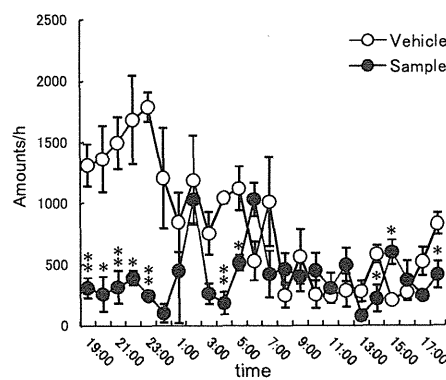
(a) NNEI (10)



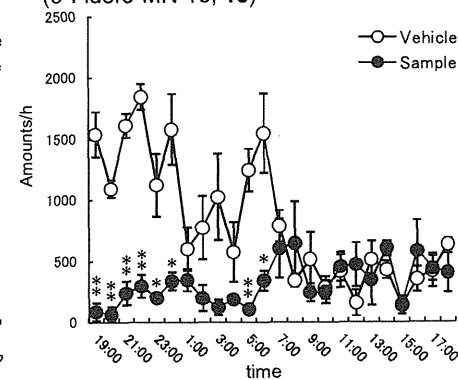
(b) 5-Fluoro-NNEI (11)



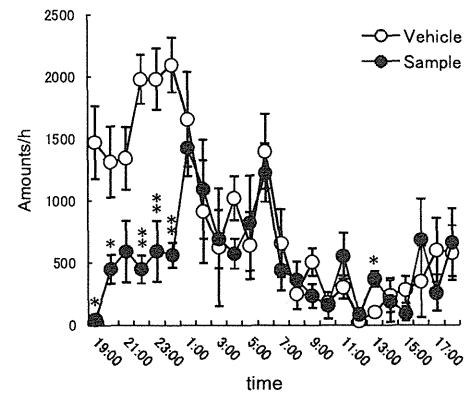
(c) NNEI indazole analog (MN-18, 12)



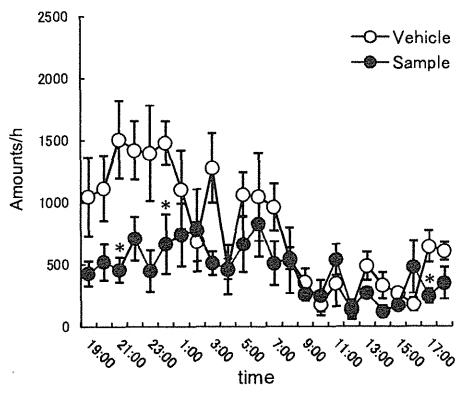
(d) 5-Fluoro-NNEI indazole analog (5-Fluoro-MN-18, 13)



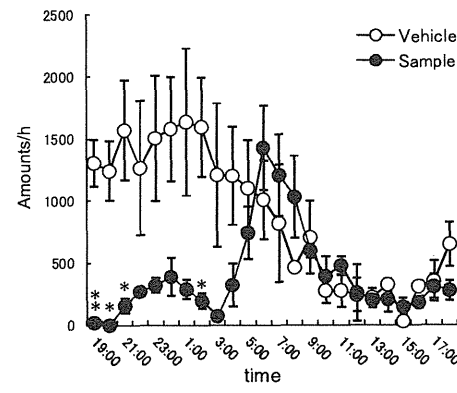
(e) AB-PINACA (14)



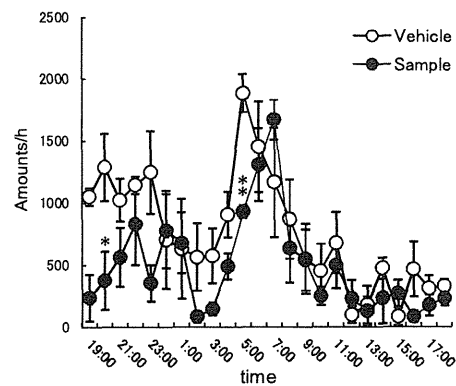
(f) 5-Fluoro-AB-PINACA (15)



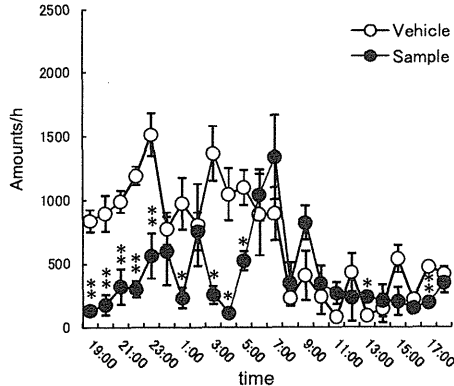
(g) ADB-PINACA (16)



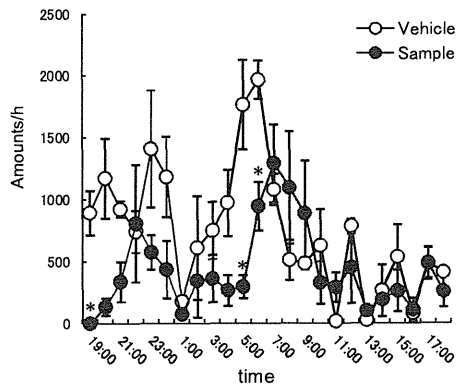
(f) ADBICA (17)



(i) 5-Fluoro-ADBICA (18)

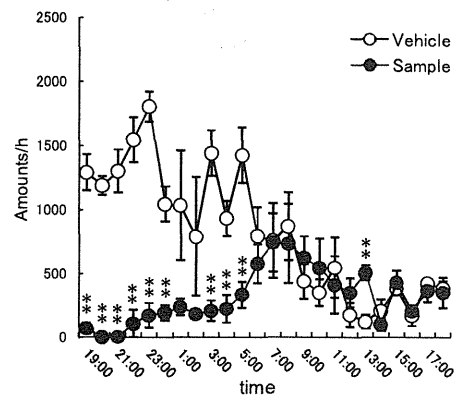


(j) ADB-FUBINACA (19)

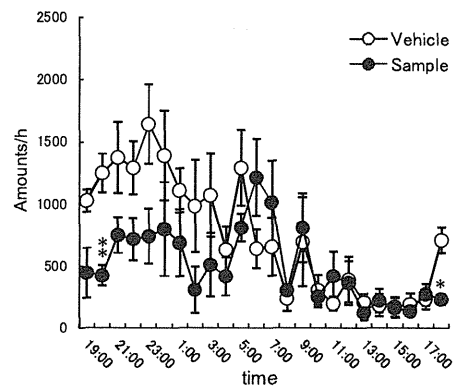


**Fig. 3** Time courses of the locomotor activity after i.p. injections of NNEI (a), 5-Fluoro-NNEI (b), NNEI indazole analog (c), 5-Fluoro-NNEI indazole analog (d), AB-PINACA (e), 5-Fluoro-AB-PINACA (f), ADB-PINACA (g), ADBICA (h), 5-Fluoro-ADBICA (i) and ADB-FUBINACA (j) at 5 mg/kg in mice. Each value is shown as the locomotor count for 1 h. Values are means  $\pm$  SEM ( $n = 3-4$ ). \*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ , significantly difference from the vehicle injection.

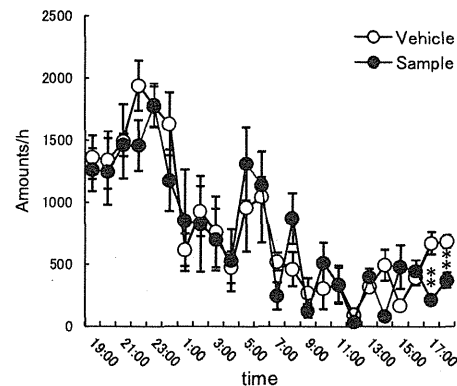
(a) 5-Fluoro-AMB (20)



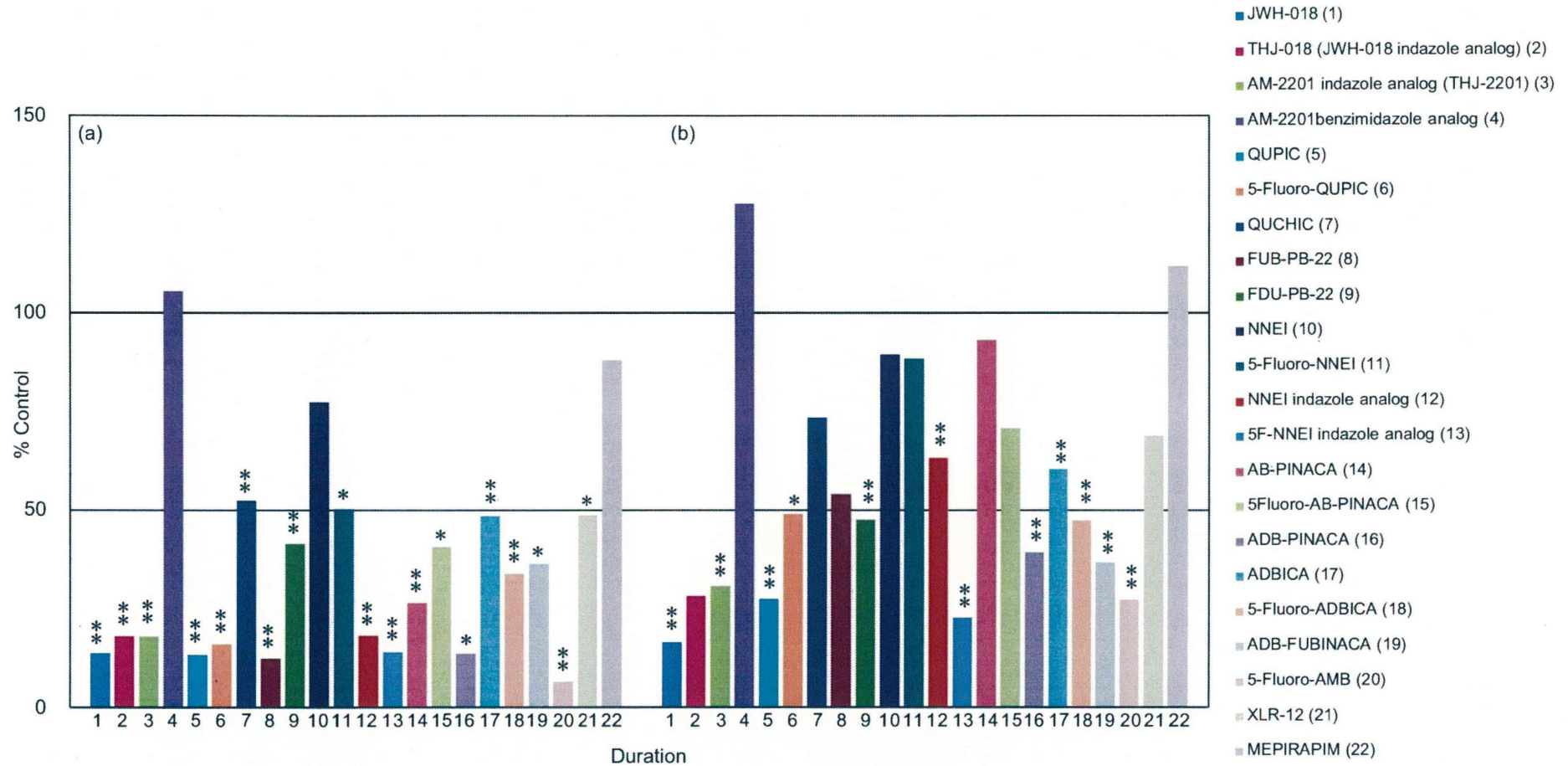
(b) XLR-12 (21)



(c) MEPIRAPIM (22)



**Fig. 4** Time courses of the locomotor activity after i.p. injections of 5-Fluoro-AMB (a), XLR-12 (b) and MEPIRAPIM (c) at 5 mg/kg in mice. Each value is shown as the locomotor count for 0.5 h. Values are means  $\pm$  SEM ( $n = 3-4$ ). \*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ , significantly difference from the vehicle injection.



**Fig. 5** Time courses Total amounts of locomotor activity during a 0-6-h (a) and 6-12-h period (b) after injections of synthetic cannabinoids (1-22) at 5 mg/kg in mice. Each value is shown as percentage of the control value in animals treated with vehicle. \*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ , significantly difference from the vehicle injection.

分担研究課題：違法ドラッグの中枢神経系に及ぼす影響評価

分担研究者：和田光弘 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 医療情報解析学研究室

－カチノン誘導体の中枢神経系に及ぼす影響評価－

研究要旨：カチノン誘導体の危険性評価を目的として、麻酔拘束下のマウスをコントロール群、エトカチノン (2.5, 5, 10 mg/kg) 投与群、ペンチロン (5, 10, 17.5, 25 mg/kg) 投与群の3群に分割し、脳側坐核におけるドパミン (DA) 及びセロトニン (5-HT) の濃度をモニタリングした。

その結果、エトカチノン ( $\geq 5$  mg/kg) 及びペンチロン ( $\geq 17.5$  mg/kg) 投与により、DA 及び5-HT濃度は有意に上昇した ( $P < 0.05$ )。また、 $AUC_{0-110}$  はコントロール群と比較して有意な増加がみられ、その増加率はエトカチノン投与群において最大 6.5 倍 (DA) 及び 11.8 倍 (5-HT) であり、ペンチロンは最大 13.4 倍 (DA) 及び 6.3 倍 (5-HT) であった。エトカチノン及びペンチロンは側坐核において DA 及び 5-HT を上昇させたことから、依存性に関与する可能性がある。

A. 研究目的

カチノン誘導体はアロマリキッドやバスソルトと称して売買されており、そのうち29種類が厚生労働省により麻薬、向精神薬、指定薬物に指定されている(2013年9月現在)。カチノン誘導体を摂取することで、興奮、多幸感だけでなく、異常高熱や腎不全などの重篤な中毒症状が起ると言われている<sup>1)</sup>。これらの身体症状が生じるメカニズムは未だ解明されていないが、ドパミン (DA) 及びセロトニン (5-HT) などの脳内アミンの関与が示唆されており、複数の因子の複雑な相互作用により引き起こされると考えられている<sup>2-5)</sup>。カチノン誘導体が中枢へ作用すること、また、その身体症状に脳内アミンの関与が示唆されることから、カチノン誘導体により生じる健康被害のメカニズムを解明する上で、脳内アミンを用いた評価は有用であると考えられる。さらに乱用者が死に至る事例も報告されており、カチノン誘導体の危険性評価は急務である。また、1 押収品中からカチノン誘導体とリドカインやプロカインなどの局所

麻酔薬が同時検出される例も報告されており<sup>6)</sup>、これらの薬物相互作用による毒性の増加も懸念される。

一方、DA や5-HT などの脳内アミンの定量には、HPLC-電気化学検出 (electrochemical detection, ECD) 法を用いたものが多く報告されている<sup>3-5,7-13)</sup>。この方法は誘導体化操作などの煩雑な前処理操作が不要であり、簡便かつ迅速な測定が可能となる。また、*in vivo* における脳内アミンの経時的なモニタリングには、マイクロダイアリシス法が有用である<sup>7-10)</sup>。マイクロダイアリシス法とは、半透膜を介して、標的部位における内因性及び外因性物質の経時的な濃度変化を測定する手法であり、薬物動態及び薬効の解析や診断などに繁用されている<sup>14)</sup>。著者らはこれまで覚せい剤であるメタンフェタミン (MP) 及び合成麻薬である 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) の中枢神経系に及ぼす影響を上記の手法を用いて評価し、さらに両者が混在する場合の相互作用評価を行ってきた<sup>15,16)</sup>。



本研究では、カチン誘導体による危険性評価として、麻酔拘束下のマウスにカチン誘導体であるエトカチン及びペンチロンを投与し、脳内アミン(DA 及び 5-HT)濃度への影響評価を行った。

## B. 研究方法

カチン誘導体の危険性を評価するために、マウスに投与するエトカチン及びペンチロンの用量を変化させた場合の、これらの薬物が脳内アミンに及ぼす影響を検討した。

マウスに薬物を投与した後、マイクロダイアリシス法<sup>17)</sup>を用いて脳透析液を採取し、HPLC-電気化学検出(-ECD)法<sup>15,16)</sup>により脳透析液中のDA及び5-HTの同時定量を行った。

本実験は、ウレタン麻酔下で行うため、実験の全過程を通じて、実験動物は覚醒することではなく、苦痛が軽減されるよう配慮している。また使用動物の下限体重を26 gとし、実験全体の所要時間は6時間である。さらに脳内アミン濃度測定には、同一動物での経時的サンプリングが可能なマイクロダイアリシス法を用いることにより、体液の損失および実験に使用する動物数を必要最小限に抑えている。

全ての操作は、長崎大学における動物実験の指針に基づいて行った。なお、本研究は、長崎大学動物実験委員会の承認の下で行った(受付番号071109-2)。

### 1. HPLC-ECD 法

DA 及び 5-HT の定量に用いたシステム概略図及び測定条件を Fig. 1 に示す。システムにはエイコム社製 HTEC-500 を用いた。本システムの装置は送液ポンプ、デガッサ、恒温槽及び電気化学検出器が一体となっており、高感度な生体試料分析が可能である。試料注入後、カラムで分離し、ECD で検出、PowerChrome version 2.3 ソフトウェアを用いてピーク面積を算出し、定量を行った。

### 2. マイクロダイアリシス条件

マイクロダイアリシス法とは、先端に半透膜を有する透析プローブを生体組織に挿入し、人工脳脊髄液などを灌流することにより、標的部位の外液中に存在する内因性及び外因性の低分子量物質を透析液中に経時的に回収する方法である。

本研究では脳内の DA 及び 5-HT の経時的なサンプリングを目的として、マイクロダイアリシス法をマウス脳組織に適用した。

#### 2.1. 実験動物

6 週齢の ddY male mouse (26 – 36 g) を使用した。

飼育環境は室温 22±1℃、湿度 55±5%、12 時間(明期 8:00-20:00)の明暗サイクルとし、飼料(固形飼料 MF)及び水道水は自由に摂取できるものとした。

#### 2.2 マイクロダイアリシス法および実験スケジュール

マウスをカルバミド酸エチル(1.5 g/kg, i. p.)で麻酔し、脳定位固定装置に固定した。頭皮を切開し頭蓋骨を露出させ、ドリルで穴(直径 1.5 mm)を開けて透析プローブを挿入した。プローブには、A-I-6-01(カットオフ値 50,000 Da, 再生セルロース膜, 膜長 1 mm)を使用した。プローブ挿入部位は Franklin & Paxios の脳地図<sup>18)</sup>に従い、左側坐核(A, +1.2 mm; L, +1.4 mm; H, -5.0 mm from bregma)とした。灌流液には人工脳脊髄液を用いて、CMA/100 マイクロインジェクションポンプによって流速 2.0 µL/min にて灌流した。

プローブ挿入後、組織損傷による内因性物質への影響を除くため、脳透析液を採取せずに約 90 分の灌流を行い、その後ベースラインとして 10 分間隔で 30 分間、試料の採取を行った。その後薬物を腹腔内投与し、投与後 110 分まで 10 分間隔で脳透析液を採取した。

脳透析液中の脳内アミンの分解を防ぐため、脳透析液の採取は氷上にて行い、保存液として

0.1 mM EDTA・2Na を含む 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 3.5) をあらかじめ添加したエッペンドルフチューブを用いて採取した。採取した脳透析液は直接 HPLC-ECD 分析へ供した。

### 2.3 投与薬物及び投与量

本研究で検討した投与群は以下の通りである。

・生理食塩液 + 1% ジメチルスルホキシド (DMSO) (n=3)

・エトカチノン (2.5, 5, 10 mg/kg) + 1% DMSO (n=3)

・ペンチロン (5, 10, 17.5, 25 mg/kg) + 1% DMSO (n=3)

・ペンチロン (10 mg/kg) + リドカイン (1, 10 mg/kg) (n=3)

エトカチノン、ペンチロンは生理食塩液に溶解したものを使用した。リドカインとの併用投与を想定し、コントロール群は生理食塩液およびリドカイン溶解液に使用する 1% DMSO 生理食塩液を使用した。投与量はマウスの体重 10 g 当たり 0.1 mL となるように調製し、腹腔内投与した。

## 3. 統計解析及び脳内アミンの挙動評価方法

解析結果は平均値 (mean) ± 標準偏差 (SD) で示した。統計処理は JMP Pro 10.0.2 (SAS Inc.) を用いて行った。

薬物の脳内アミン AUC<sub>0-110</sub> に対する影響を評価する際には、Tukey-Kramer の Honestly Significant Difference (HSD) 検定を行い、 $P < 0.05$  を有意差ありとした。

## C. 研究結果及び考察

### 4. エトカチノン及びペンチロン単独投与時の脳内アミンの濃度推移

#### 4.1 マウス脳側坐核における DA の濃度推移

エトカチノン (2.5, 5, 10 mg/kg) を単独投与した場合の DA 濃度の経時変化を Fig. 2 (a) 及びその AUC<sub>0-110</sub> を Fig. 2 (b) にそれぞれ示す。DA 濃度の経時的変化のデータから算出した各群の動態パラメータを Table 1 に示す。同様に

ペンチロン (5, 10, 17.5, 25 mg/kg) を単独投与した場合の DA 濃度の経時変化を Fig. 3 (a) に、AUC<sub>0-110</sub> を Fig. 3 (b) にそれぞれ示す。各群の動態パラメータを Table 2 に示す。

DA 濃度はいずれも、薬物投与後速やかに上昇し、その濃度は用量依存的であった。コントロール群と比較して、AUC<sub>0-110</sub> はエトカチノン (5, 10 mg/kg) およびペンチロン (17.5, 25 mg/kg) 単独投与群において有意に増加した ( $P < 0.05$ )。

マウス脳側坐核における 5-HT の濃度推移

エトカチノン (2.5, 5, 10 mg/kg) を単独投与した場合の 5-HT 濃度の経時変化を Fig. 4 (a) に、また AUC<sub>0-110</sub> を Fig. 4 (b) にそれぞれ示す。各群の動態パラメータについては Table 3 にまとめている。一方、ペンチロン (5, 10, 17.5, 25 mg/kg) を単独投与した場合の 5-HT 濃度の経時変化を Fig. 5 (a) に、AUC<sub>0-110</sub> を Fig. 5 (b) にそれぞれ示す。また、各群の動態パラメータを Table 4 に示す。

5-HT も DA と同様の挙動であり、AUC<sub>0-110</sub> は、コントロール群と比較して、エトカチノン (5, 10 mg/kg) およびペンチロン (17.5, 25 mg/kg) 単独投与群において有意に増加した ( $P < 0.05$ )。

## 6. 考察

本研究では麻酔下のマウスにおいて、エトカチノン及びペンチロン単独投与時の側坐核における DA 及び 5-HT 濃度に与える影響の評価を試みた。

今回の結果ではエトカチノンおよびペンチロンの投与により側坐核における DA および 5-HT 濃度の上昇がみられた。これはカチノン誘導体がドパミントランスポーター (DAT) 阻害作用及びセロトニントランスポーター (SERT) 阻害作用を持つという報告<sup>19)</sup>と一致する。さらに薬物自体が DAT 及び SERT の基質として働き、神経伝達物質を放出させるという報告もある<sup>20)</sup>。依存性薬物は中脳腹側被蓋野から側坐核へ投射しているドパミン神経を賦活化させ、側坐核での DA 放出を増加させる<sup>21)</sup>。また 5-HT は GABA 作動性神経

に発現している 5-HT<sub>1B</sub> 受容体に結合することで GABA の放出を抑制し、側坐核の DA 濃度の上昇をもたらす<sup>22)</sup>。今回、薬物投与により側坐核における DA 濃度及び 5-HT 濃度の上昇がみられたことから、カチノン誘導体が依存性を有する可能性が示され、乱用の危険性を示唆すると考えられる。

#### D. 今後の計画

今後は上述の通り、1 押収品中からカチノン誘導体とリドカインやプロカインなどの局所麻酔薬が同時検出される例が報告されている。これらを併用した場合の薬物相互作用について、DA 及び 5-HT を指標とした検討を行う予定である。

#### E. 参考文献

- 1) German, C.L., Fleckenstein, A.E., Hanson, G.R., *Life Sci.*, **97**, 2-8 (2013).
- 2) Cole, J.C., Sumnall, H.R., *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **27**, 199-217 (2003).
- 3) Benamar, K., Geller, E.B., Alder, M.W., *Eur. J. Pharmacol.*, **596**, 84-88 (2008).
- 4) Shioda, K., Nisijima, K., Yoshino, T., Kuboshima, K., Iwamura, T., Yui, K., Kato, S., *Neurotoxicology*, **29**, 1030-1036 (2008).
- 5) Stanley, N., Salem, A., Irvine, R.J., *Neuroscience*, **146**, 321-329 (2007).
- 6) Kikura-Hanajiri, R., Uchiyama, N., Kawamura, M., Goda, Y., *Forensic Toxicology*, **31**, 44-53 (2013).
- 7) Hagino, Y., Takamatsu, Y., Yamamoto, H., Iwamura, T., Murphy, D.L., Uhl, G.R., Sora, I., Ikeda, K., *Curr. Neuropharmacol.*, **9**, 91-95 (2011).
- 8) Ikeda, R., Igari, Y., Fuchigami, Y., Wada, M., Kuroda, N., Nakashima, K., *Eur. J. Pharmacol.*, **660**, 318-325 (2011).
- 9) Kehr, J., Ichinose, F., Yoshitake, S., Goiny, M., Sievertsson, T., Nyberg, F., Yoshitake, T., *Br. J. Pharmacol.*, **164**, 1949-1958 (2011).
- 10) Baumann, M.H., Clark, R.D., Rothman, R.B., *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **90**, 208-217 (2008).
- 11) Clemens, K.J., Cornish, J.L., Hunt, G.E., McGregor, I.S., *Drug Alcohol Depend.*, **86**, 183-190 (2007).
- 12) Clemens, K.J., Cornish, J.L., Li, K.M., Hunt, G.E., McGregor, I.S., *Neuropharmacology*, **49**, 195-207 (2005).
- 13) Clemens, K.J., van Nieuwenhuyzen, P.S., Li, K.M., Cornish, J.L., Hunt, G.E., McGregor, I.S., *Psychopharmacology*, **173**, 318-325 (2004).
- 14) 村上照夫, 高野幹久, *医学のあゆみ*, **182**, 478-479 (1997).
- 15) Ikeda, R., Igari, Y., Fuchigami, Y., Wada, M., Kuroda, N., Nakashima, K., *Eur. J. Pharm. Sci.*, **49**, 57-64(2013).
- 16) Fuchigami, Y., Ikeda, R., Kuzushima, M., Wada, M., Kuroda, N., Nakashima, K., *Eur. J. Pharm. Sci.*, **49**, 57-64 (2013).
- 17) 村上照夫, 高野幹久, *医学のあゆみ*, **182**, 478-479 (1997).
- 18) Franklin, K.B.J., Paxinos, G., Academic Press (1997).
- 19) Simmler, L.D., Buser, T.A., Donzelli, M., Schramm, Y., Dieu, L.H., Huwyler, J., Chaboz, S., Hoener, M.C., Liechti, M.E., *Br. J. Pharmacol.*, **168**, 458-470 (2013).
- 20) Baumann, M.H., Ayestas, Jr, M.A., Partilla, J.S., Sink, J.R., Shulgin, A.T., Daley, P.F., Brandt, S.D., Rothman, R.B., Ruoho, A.E., Cozzi, N.V., *Neuropsychopharmacology*, **37**, 1192-1203 (2012).
- 21) 西 昭徳, *The Lung perspectives*, **21**, 82-89 (2013).
- 22) Przegalinski, E., Golda, A., Filip, M., *Pharmacol. Rep.*, **60**, 798-810 (2008).

F. 健康危険情報

なし.

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Fuchigami, Y., Ikeda, R., Kuzushima, M., Wada, M., Kuroda, N., Nakashima, K., Warning against co-administration of 3,4-methylenedioxy methamphetamine (MDMA) with methamphetamine from the perspective of pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluations in rat brain. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 49, 57-64 (2013).

2. 学会発表

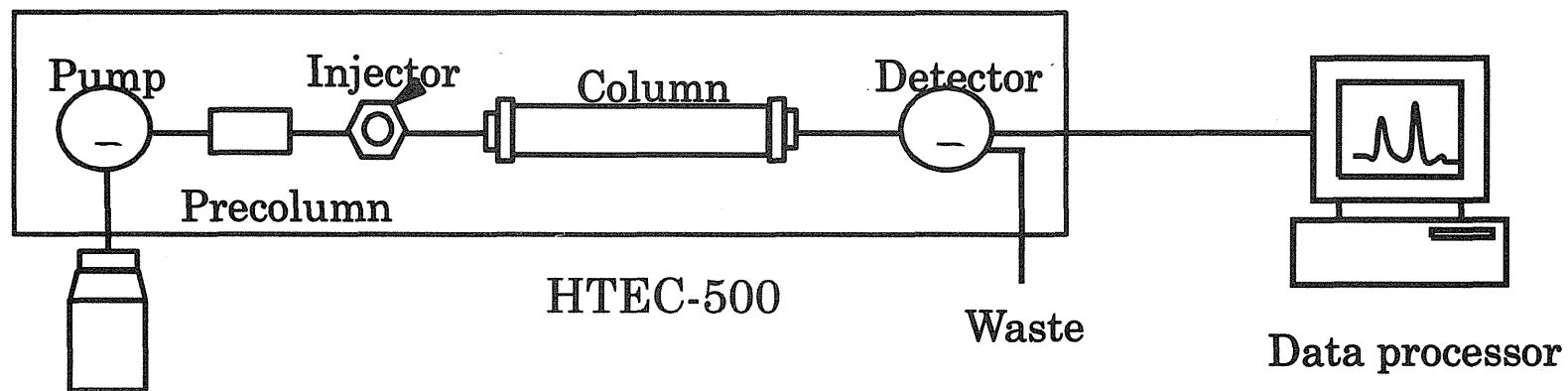
1) 池田理恵, 瀧上由貴, 葛島美季, 和田光弘, 黒田直敬, 中島憲一郎: 乱用薬物の中樞神経系に対する PK-PD 評価, 日本薬学会第 133 年会, 横浜 (2013. 3. 27-30).

2) Fuchigami Yuki, Ikeda Rie, Kamaya Nami, Ikeda Tomomi, Kawakami Shigeru, Kuroda Naotaka, Wada Mitsuhiro, Nakashima Kenichiro: Dose-dependent increase of dopamine and serotonin concentration of nucleus accumbens after ethcathinone administration in mice. 第7回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム(2013. 11, 宮城).

3) 釜谷 奈未, 池田理恵, 瀧上由貴, 池田朝美, 花尻瑠理, 川上茂, 和田光弘, 中島憲一郎: エトカチノンおよびペンチロン単回投与時のマウス脳内アミン濃度に及ぼす影響評価, 日本薬学会第 134 年会 (2014.3, 熊本)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし.



## Mobile phase

System, HTEC-500

Column, EICOM PP-ODSII (30×4.6 mm, i.d., 2 μm)

Column temperature, 25°C

Mobile phase, 1.5% methanol in 0.1 M phosphate buffer (pH 5.4) containing 50 mg/L EDTA·2Na and 500 mg/L sodium 1-decansulfonate

Flow rate, 0.5 mL/min

Working electrode, WE-3G (graphite)

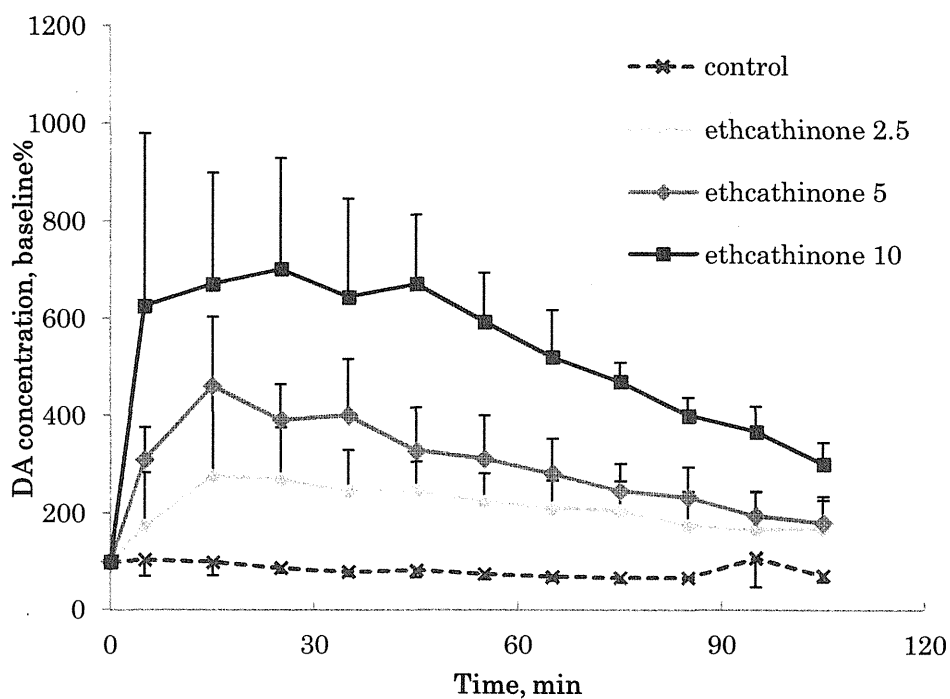
Reference electrode, RE-100 (Ag/AgCl)

Applied potential, +400 mV

Injection volume, 20 μL

Fig.1 HPLC-ECD system and conditions for determination of DA and 5-HT.

(a)



(b)

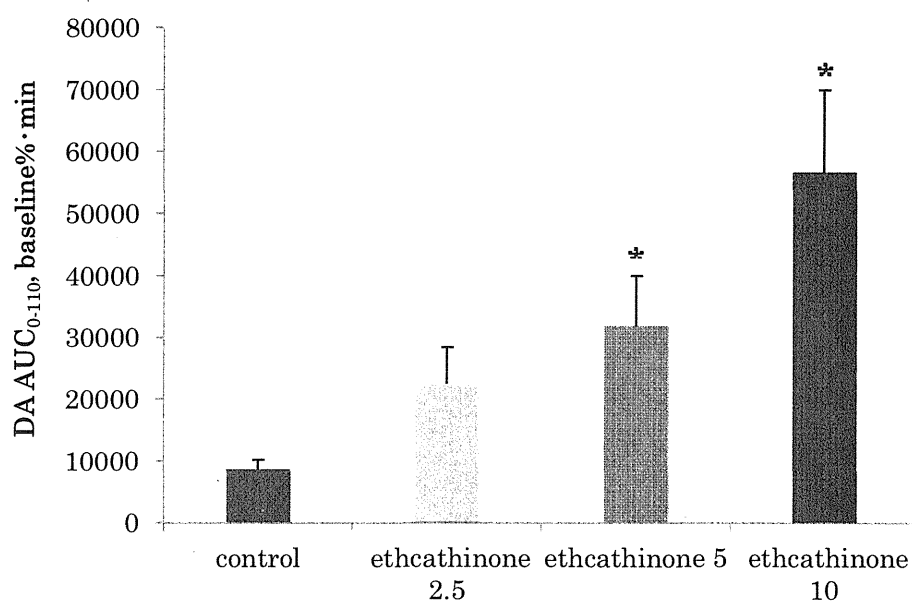


Fig.2 (a) Time-concentration profiles of DA after a single administration (*i.p.*) of saline (control), ethcathinone (2.5, 5, 10 mg/kg), and (b) comparison of the mean AUC<sub>0-110</sub> of DA response for 110 min after administration.

Each point represents the mean+SD (n=3).

Table 1 Moment parameters of DA in mouse nucleus accumbens after a single administration (*i.p.*) of saline (control), ethcathinone (2.5, 5, 10 mg/kg).

		Control	Ethcathinone		
			(2.5 mg/kg)	(5 mg/kg)	(10 mg/kg)
C <sub>max</sub> , nM	mean	144.6	319.4	461.2	736.1
	±SD	34.7	150.7	141.0	246.3
T <sub>max</sub> , min	mean	25.0	25.0	15.0	25.0
	±SD	62.4	10.0	0.0	20.0
AUC <sub>0-110</sub> , baseline%·min	mean	8773.4	22612.1	31987.1*	56871.0*
	±SD	1427.7	5768.6	7972.9	13058.1
MRT <sub>0-110</sub> , min	mean	50.3	49.2	46.4	48.0
	±SD	3.5	10.2	0.4	4.1

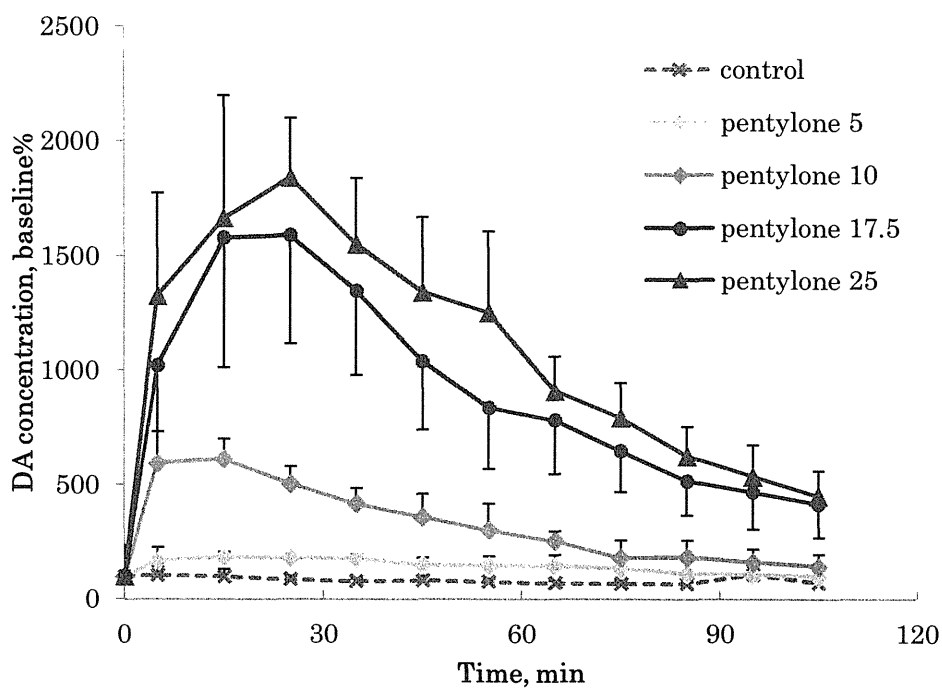
\**P*<0.05 vs. control group (Tukey's HSD test).

Table 2 Moment parameters of DA in mouse nucleus accumbens after a single administration (*i.p.*) of saline (control), pentylone (5, 10, 17.5, 25 mg/kg).

		Control	Pentylone			
			(5 mg/kg)	(10 mg/kg)	(17.5 mg/kg)	(25 mg/kg)
C <sub>max</sub> , nM	mean	144.6	206.0	636.5	1382.0	1841.2
	±SD	34.7	20.1	116.5	247.0	256.7
T <sub>max</sub> , min	mean	25.0	31.7	8.3	21.7	25.0
	±SD	62.4	37.9	5.8	5.8	0.0
AUC <sub>0-110</sub> , baseline%·min	mean	8773.4	15388.5	35226.5	78408.6*	117601.2*
	±SD	1427.7	2033.7	7102.0	20473.3	22157.4
MRT <sub>0-110</sub> , min	mean	50.3	47.0	39.5	39.0	43.1
	±SD	3.5	6.3	4.1	7.2	3.6

\**P*<0.05 vs. control group (Tukey's HSD test).

(a)



(b)

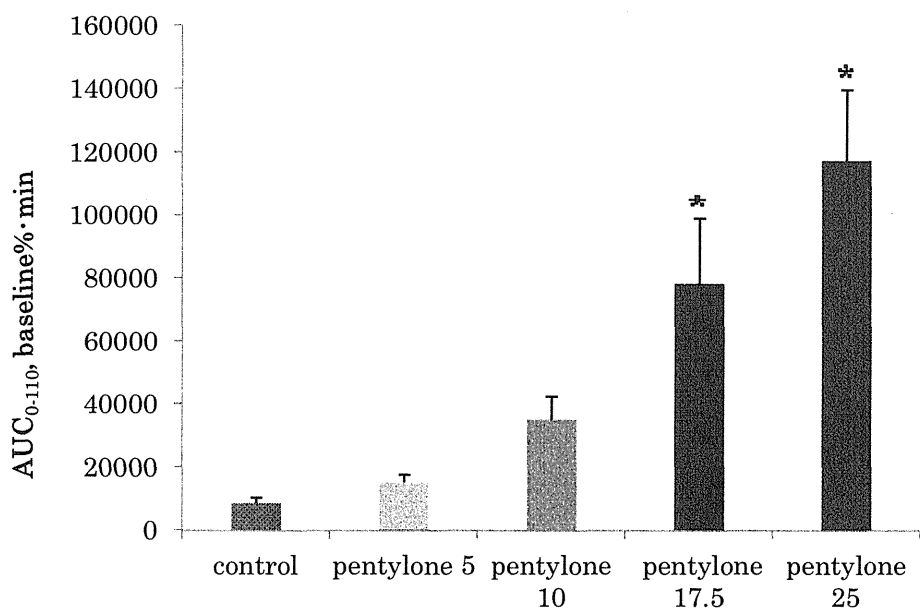
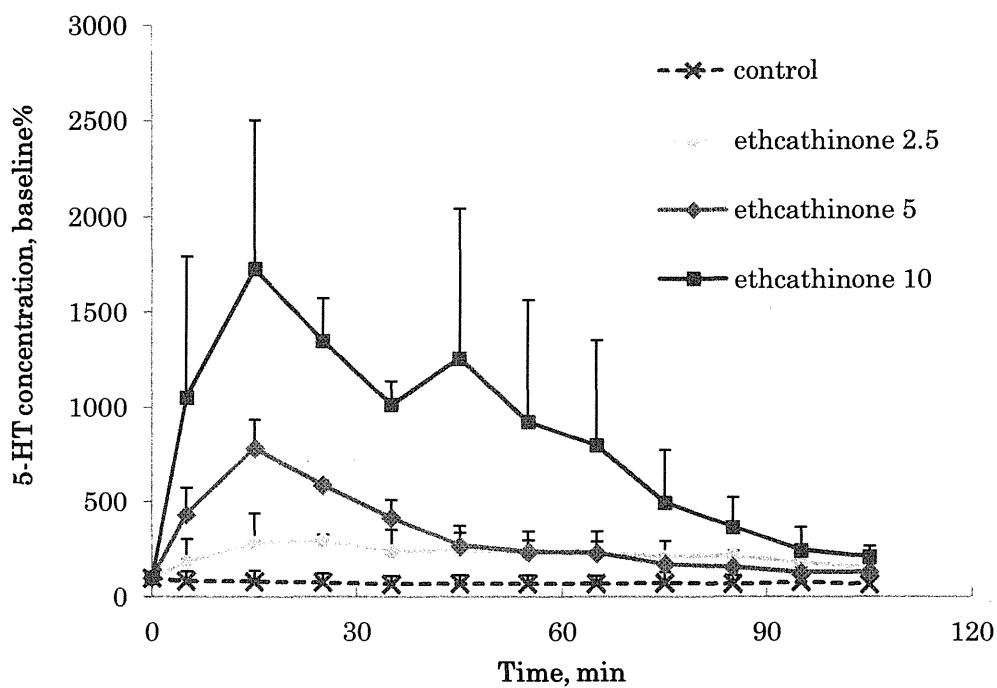


Fig.3 (a) Time-concentration profiles of DA after a single administration (*i.p.*) of saline (control), pentylone (5, 10, 17.5, 25 mg/kg), and (b) comparison of the mean AUC<sub>0-110</sub> of DA response for 110 min after administration.

Each point represents the mean+SD (n=3).



(a)



(b)

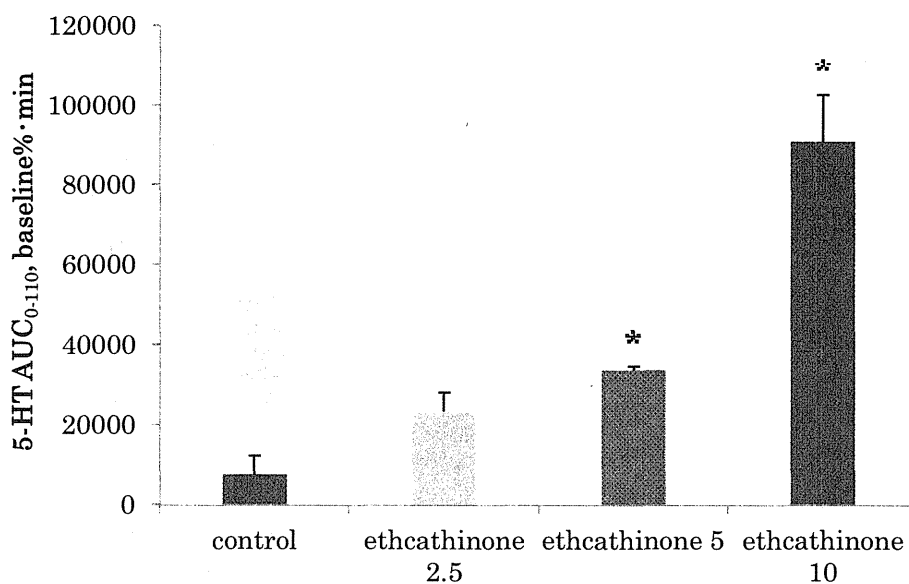


Fig.4 (a) Time-concentration profiles of 5-HT after a single administration (*i.p.*) of saline (control), ethcathinone (2.5, 5, 10 mg/kg), and (b) comparison of the mean AUC<sub>0-110</sub> of 5-HT response for 110 min after administration. Each point represents the mean+SD (n=3).

Table 3 Moment parameters of 5-HT in mouse nucleus accumbens after a single administration (*i.p.*) of saline (control), ethcathinone (2.5, 5, 10 mg/kg).

		Control	Ethcathinone		
			(2.5 mg/kg)	(5 mg/kg)	(10 mg/kg)
C <sub>max</sub> , nM	mean	137.9	382.6	783.3	1993.6
	±SD	22.4	69.0	147.4	726.3
T <sub>max</sub> , min	mean	1.7	25.0	15.0	25.0
	±SD	15.3	10.0	0.0	5.8
AUC <sub>0-110</sub> , baseline% · min	mean	7725.9	23618.7	33792.9*	90963.3*
	±SD	4512.9	4499.8	811.6	11496.0
MRT <sub>0-110</sub> , min	mean	49.7	49.8	36.9	38.9
	±SD	3.7	6.0	2.9	9.7

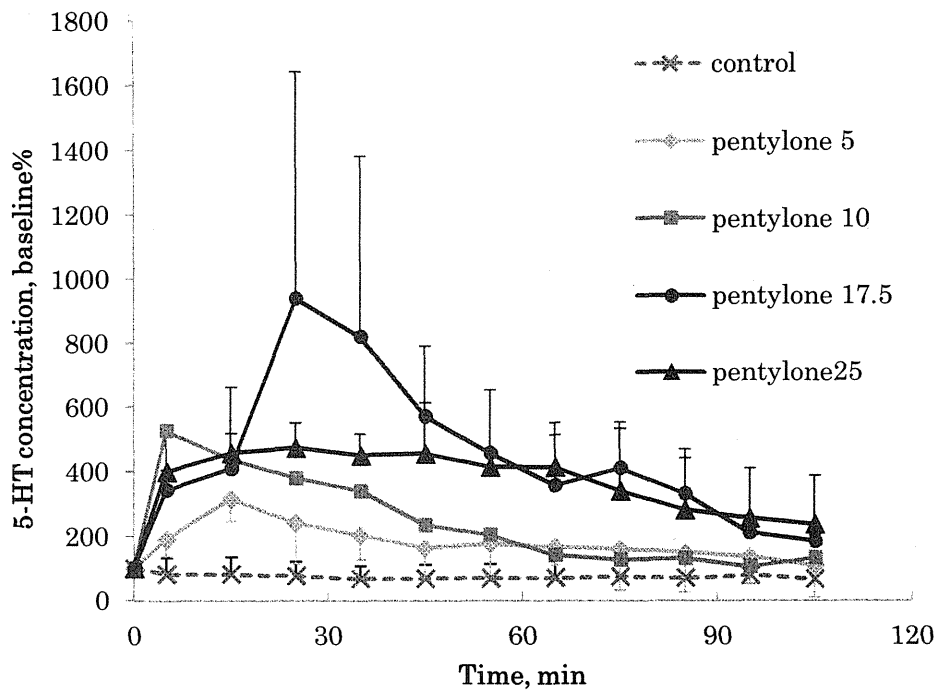
\**P*<0.05 vs. control group (Tukey's HSD test).

Table 4 Moment parameters of 5-HT in mouse nucleus accumbens after a single administration (*i.p.*) of saline (control), pentylone (5, 10, 17.5, 25 mg/kg).

		Control	Pentylone			
			(5 mg/kg)	(10 mg/kg)	(17.5 mg/kg)	(25mg/kg)
C <sub>max</sub> , nM	mean	141.5	320.9	547.8	949.0	504.8
	±SD	30.4	69.2	154.2	691.1	104.1
T <sub>max</sub> , min	mean	1.7	35.0	8.3	28.3	38.3
	±SD	15.3	34.6	5.8	5.8	20.8
AUC <sub>0-110</sub> , baseline% · min	mean	7725.9	19343.9	25863.0	48823.2*	39854.3*
	±SD	4512.9	7838.0	5699.2	15391.0	10811.1
MRT <sub>0-110</sub> , min	mean	49.7	44.6	37.9	45.8	47.4
	±SD	3.7	8.7	2.7	1.6	4.6

\**P*<0.05 vs. control group (Tukey's HSD test).

(a)



(b)

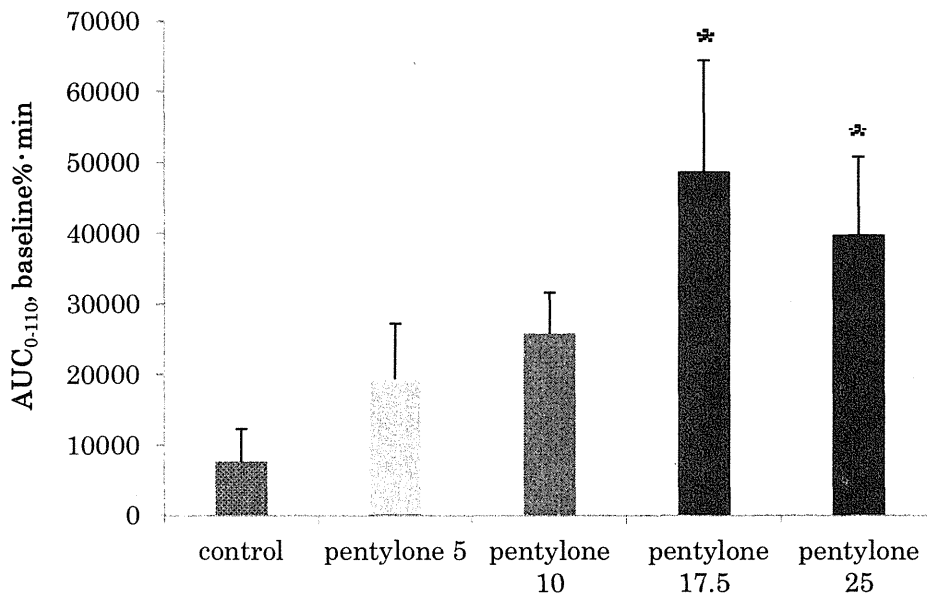


Fig.5 (a) Time-concentration profiles of 5-HT after a single administration (*i.p.*) of saline (control), pentylone (5, 10, 17.5, 25 mg/kg), and (b) comparison of the mean AUC<sub>0-110</sub> of 5-HT response for 110 min after administration. Each point represents the mean+SD (n=3)

分担研究課題:植物系違法ドラッグ製品の基原種の特定

分担研究者:合田 幸広 国立医薬品食品衛生研究所薬品部 部長

—植物系違法ドラッグ製品の基原植物種の同定—

研究協力者:緒方 潤 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 主任研究官

研究要旨:“脱法ハーブ”と称する違法ドラッグ製品 21 製品の DNA 塩基配列を指標とした基原植物の同定を行った。21 製品中、最も検出された植物種は *Althaea officinalis* (マシュマロウ, ウスベニタチアオイ) であり、昨年同様、最もハーブ基材として使用されている植物種であった。一方、合成カンナビノイド等合成化合物が検出されなかった製品一群からは、いずれの製品からも *Turnera diffusa* (ダミアナ) の DNA 断片が検出された。今年度は大麻などの幻覚性植物は検出されなかった。

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

A. 研究目的

違法ドラッグ市場では、2008 年頃から「Spice」をはじめとして植物の乾燥物、粉碎物に、合成カンナビノイド等を添加し「お香」と謳い販売する「脱法ハーブ」が社会問題化し、ニュースや事件として連日報道されている。本研究機関ではこれまで違法ドラッグ対策を目的として、継続的に化学的<sup>1,4)</sup>、分子生物学的<sup>5)</sup>手法を用いた製品分析を行っている。これまでに、分子生物学的手法を用いた解析として、DNA 塩基配列を用いた植物種の同定を行い、大麻(*Cannabis sativa* L.)、指定薬物であるサルビア・ディビノラム(*Salvia divinorum*)、幻覚性植物であるクラートン(*Mitragyna speciosa*)の混入を確認している<sup>5)</sup>。依然として違法ドラッグ市場において流通量の多い脱法ハーブ製品の実態調査として、DNA 塩基配列を用いた製品中の植物片の基原種の調査を行った。

B. 研究方法

1. 実験材料

違法ドラッグ市場品としてインターネット上で販売されている「脱法ハーブ」製品 21 製品(製品 No. 1~21; 植物体乾燥(刻み)品)を使用した。Product No. 4~10 は脱法ハーブとして販売していたが、合成カンナビノイド等合成化合物が検出されなかった製品 (data not shown)。また、膨大に製造販売される脱法ハーブ製品の流通実態把握としてできるだけ時系列での分析サンプルの回収を行った。また、同一時期の販売および同一製造元の製品については、植物片の形態確認を行い、類似しているものは分析サンプルとして用いなかった。

2. 実験方法

製品に混入されている植物片を目視により、同一器官、組織に外観の形状から分類可能なものについては分離した。

各試料を液体窒素で凍結させた後、MM-300 (Qiagen) により粉碎した。粉碎した各試料は Maxwell 16 Tissue DNA purification kit (Promega) 内の溶出液に溶解し、Maxwell 16