

危険ドラッグの包括指定に関する研究：行動薬理学特性に基づく解析

研究分担者 船田正彦 (国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所 薬物依存研究部)

研究協力者 富山健一 (放射線医学総合研究所被ばく医療プログラム)

【研究概要】

危険ドラッグ (いわゆる脱法ドラッグ) の流通拡大は深刻である。危険ドラッグを含む製品としては、パウダー、リキッドおよびハーブの 3 タイプが主流であり、合成カンナビノイドやカチノン系化合物が検出されている。合成カンナビノイドやカチノン系化合物において、特定の化学物質が規制されるとその類似構造を有する別の化学物質が登場する悪循環が続いている。危険ドラッグの流通拡大を阻止するために規制範囲の適切な拡大が必要である。そこで、流通している危険ドラッグの化学構造類似性に着目し、その化学構造と有害作用発現の関連性を検討し、危険ドラッグにおける包括的規制の導入が急務である。妥当性を検証した。本研究では、合成カンナビノイドおよびカチノン系化合物の行動薬理作用発現におけるカンナビノイド受容体およびモノアミントランスポーターの役割について検討し、危険ドラッグ包括規制の範囲の化学的妥当性を検証した。

[研究-1：合成カンナビノイドの行動薬理学的特性並びに細胞毒性とカンナビノイド受容体の役割]

行動薬理的解析：合成カンナビノイドの行動薬理作用発現におけるカンナビノイド CB₁ 受容体の役割について検討した。10 種類の合成カンナビノイドによる運動活性および体温に対する影響を検討した。すべての合成カンナビノイドにより、カタレプシー様の無動状態が引き起こされた。同様に、体温下降作用の発現が確認された。これらの効果は、CB₁ 受容体拮抗薬の AM251 前処置によって抑制された。無動状態および体温下降の発現には、CB₁ 受容体が関与することが明らかになった。合成カンナビノイドの無動状態および体温下降の発現と、CB₁ 受容体に対する親和性強度に関する相関性を検討したところ、正の相関(無動状態: $r=0.789$, 体温下降: $r=0.853$)が認められた。細胞毒性：合成カンナビノイドの細胞毒性：合成カンナビノイドのヒト胎児横紋筋肉腫細胞(RD 細胞)に合成カンナビノイドを添加すると細胞毒性が発現した。RD 細胞による評価方法は、筋細胞に対する危険性予測のための迅速かつ高感度の検出法として有用である。

[研究-2：カチノン系化合物の行動薬理学的特性とモノアミントランスポーターの関連性]

カチノン系化合物の行動薬理作用発現におけるモノアミントランスポーターの役割について検討した。カチノン系化合物 16 種類について、行動薬理学的特性を解析した。行動薬理的解析：16 種類のカチノン系化合物による運動活性に対する影響を検討した。すべてのカチノン系化合物において、運動促進作用が発現した。この効果は、ドパミン受容体拮抗薬の前処置により有意に抑制されることから、作用発現にはドパミン神経系が関与していることが確認された。カチノン系化合物：16 種によって運動促進作用が発現し、中枢興奮作用を有することが明らかになった。ドパミン

トランスポーター(DAT)およびセロトニントランスポーター(SERT)に関する定量的構造活性相関(QSAR)法解析による QSAR 値との相関性を検討したところ、DAT : 相関係数 $r=0.883$ 、SERT : 相関係数 $r=0.04$ であった。カチノン系化合物における運動促進作用の発現強度は、DAT の QSAR 値により推測可能である事が示唆された。

本研究では、合成カンナビノイドおよびカチノン系化合物に関する包括指定の対象範囲の妥当性を検討した。包括指定の範囲としては、実効性の高い範囲を指定するために、文献値及び QSAR (定量的構造活性相関) 法による予測値を効果的に用いることでその範囲を検討した。合成カンナビノイドでは、カンナビノイド CB₁ 受容体に対する親和性強度に関する解析より、包括指定の範囲として総数 778 化合物を抽出した。カチノン系化合物では、ドパミントランスポーター (DAT) に対する親和性強度に関する解析より、包括指定の範囲として総数 504 化合物を抽出した。包括指定範囲内の合成カンナビノイドおよびカチノン系化合物について行動薬理学的解析により、範囲内のカチノン系化合物は中枢興奮作用を発現する危険性が示唆され、包括指定範囲の妥当性が確認された。

本研究のカンナビノイド受容体およびモノアミントランスポーターに対する作用強度を解析する評価システムは、危険ドラッグの中枢作用および有害作用発現の迅速な評価法として有用であり、得られる科学データは規制根拠として活用できると考えられる。また、培養細胞による細胞毒性の評価は迅速かつ高感度の検出法として有用である。

わが国は、第三次覚せい剤乱用期にあり、種々の規制薬物の乱用の拡大は、大きな社会問題である。若年層では、麻薬として規制されている 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) に代表される“クラブ・ドラッグ”の乱用が浸透しており、深刻な状況である。一方、インターネット等の通信手段の普及により、薬物等の化学物質に関する情報伝播は非常に高速化している。それに伴い、様々な化学物質の取引は容易かつ迅速になり、その入手可能性が高まっている。

近年、法的規制を受けない化学物質で、乱用を目的として売買されている危険ドラッグ(いわゆる脱法ドラッグ)の氾濫は、きわめて重大な社会問題となっている。国内で流通が確認されている危険ドラッグとしては、既に麻薬として規制されている 5-methoxy-N,N-diisopropyltryptamine (5-MeO-DIPT) に類似したトリプタミン誘導体および覚せい剤と類似化学構造を有するフェネチルアミン誘導体等が知られている。フェネチルアミン誘導体としては、「2C シリーズ」の 2,5-dimethoxy-4-chlorophenethylamine (2C-C) およびアンフェタミンおよびメタンフェタミンの 4 位が置換

された 4-fluoroamphetamine (4FMP) および 4-methoxymethamphetamine (PMMA) 等は、覚せい剤類似化合物として、国内における流通が確認されており、その乱用拡大が懸念される化学物質である。

最近の問題としては、平成 24 年 1 月以降表面化した危険ドラッグ(いわゆる脱法ハーブ)と称される製品の流通拡大である。その乱用による健康被害が多数発生し、救急搬送される事例が増大した。危険ドラッグ(いわゆる脱法ハーブ)は乾燥した植物片に精神作用を示す薬物が混ぜ込まれており、この混在する薬物を乱用しているのが現状である。現在のところ、検出される化学物質の多くは、合成カンナビノイドである事が判明している。世界的には、合成カンナビノイドは、「スパイス」という呼称で世界的にその乱用が拡大している。スパイスはカラフルな大きな瞳のロゴが印刷されたパッケージ製品として、天然ハーブ等と称してインターネットや路上販売などにより流通していることが判明している。

現在までに、ドイツや日本において、スパイスシリーズの成分解析が進んでおり、合成カンナビノイド誘導体としては、(-)-cis-3-

[2-hydroxy-4-(1,1-dimethylheptyl) phenyl]-trans-4-(3-hydroxypropyl)cyclohexanol (CP-55,940)、5-(1,1-dimethylheptyl)-2-(3-hydroxycyclohexyl) phenol (CP-47,497)、5-(1,1-dimethyloctyl)-2-(3-hydroxycyclohexyl)phenol (CP-47,497-C8)、(1-pentyl-1H-indol-3-yl)-1-naphthalenyl-methanone (JWH-018)、(1-butyl-1H-indol-3-yl)-1-naphthalenyl-methanone (JWH-073)、(4-methyl-1-naphthalenyl) (1-pentyl-1H-indol-3-yl)-methanone (JWH-122)、2-(2-chlorophenyl)-1-(1-pentyl-1H-indol-3-yl)-ethanone (JWH-203)、(4-ethyl-1-naphthalenyl)(1-pentyl-1H-indol-3-yl)-methanone (JWH-210)、[1-(5-fluoropentyl)-1H-indol-3-yl]-1-naphthalenyl-methanone (AM-2201)、[1-(5-fluoropentyl)-1H-indol-3-yl] (4-methyl-1-naphthalenyl)-methanone (MAM-2201)、2-(4-methoxyphenyl)-1-(1-pentyl-indol-3-yl)methanone (RCS-4)などが検出されている。この合成カンナビノイドは多くの類縁体の存在が知られており、特定の薬物を規制しても、次々に新しい薬物が登場する状況が続いていた。こうした状況を打破するために、危険ドラッグの化学構造に着目し、類似したものを一括で規制するいわゆる「包括規制」の導入が急務である。

一方、危険ドラッグのパウダーやリキッドなどの流通も深刻であり、こうした製品では覚せい剤と類似の効果を示すカチノン系化合物が検出される場合が多い。カチノン系化合物もその種類は多いため、包括規制を実施する必要がある。カチノン系化合物はドパミントランスポーター(DAT)およびセロトニントランスポーター(SERT)を介して、様々な薬理作用を示す事が知られている。DATやSERTに対する作用強度と薬理作用発現の強度には相関があると考えられる。

本研究では、1)合成カンナビノイドの行動薬理作用発現におけるCB₁受容体の役割および2)カチノン系化合物の行動薬理作用発現におけるDATおよびSERTの役割について検討した。量的構造活性相関(QSAR)解析による予測値と中枢興奮作用の発現強度の相関性を検

討し、合成カンナビノイドおよびカチノン系化合物における包括規制の範囲の妥当性について検証した。

一方、カチノン系化合物に加え、合成カンナビノイド、セロトニン系化合物といった危険ドラッグが数多く流通している。各系統の危険ドラッグに着目し、迅速に毒性発現等の有害作用を検出する評価システムの構築が重要である。現在までの研究から、培養細胞を利用する毒性評価は迅速かつ客観的な解析法として有用であると考えられる。本研究では、ヒト胎児横紋筋肉腫細胞(RD細胞)を利用した毒性評価を行い、危険ドラッグによる細胞毒性評価のシステム構築並びに構図活性相関について検討した。

1) 合成カンナビノイドの行動薬理学的特性並びに細胞毒性とカンナビノイド受容体の役割

大麻と類似の作用を示す合成カンナビノイドが、危険ドラッグ(いわゆる脱法ドラッグ)として流通しており、その乱用が問題となっている。条件付け場所嗜好性試験等の評価から、大麻及び合成カンナビノイドは、精神依存形成能を有する危険性が明らかになっている。一方、未規制の合成カンナビノイドは多数存在している事から、行動薬理学的手法を用いた危険性を推測するスクリーニング法の確立が必要である。

本研究では、1) 危険ドラッグ(脱法ハーブ)より検出された合成カンナビノイド 10 種類 (CP-55,940、CP-47,497、CP-47,497-C8、JWH018、JWH-073、JWH-122、JWH-203、JWH-210、AM-2201、MAM-2201) による運動活性および体温に対する影響を検討した。すべての合成カンナビノイドにより、カタレプシー様の無動状態が引き起こされた。同様に、体温下降作用の発現が確認された。これらの効果は、CB₁受容体拮抗薬 AM251 前処置によって抑制された。無動状態および体温下降の発現には、CB₁受容体が関与することが

明らかになった。合成カンナビノイドの無動状態および体温下降の発現と、CB₁ 受容体に対する親和性に関する相関性を検討したところ、正の相関(無動状態: $r=0.789$, 体温下降: $r=0.853$)が認められた。

合成カンナビノイドの投与によって、カタレプシー様無動状態および体温下降が発現した。これらの薬理作用は、CB₁ 受容体拮抗薬で抑制されることから、CB₁ 受容体を介して発現することを確認した。同様に、3-(1-naphthoyl)indole 構造を有する合成カンナビノイドに関して、包括指定の範囲に含まれる新規合成カンナビノイド 4 種類(A,B,C,D)は有意な無動状態および体温下降を示した。一方、包括指定範囲外に存在する新規合成カンナビノイド 4 種類(E,F,G,H)は有意な効果を示さなかった。

合成カンナビノイドの細胞毒性：ヒト胎児横紋筋肉腫細胞(RD 細胞)を使用して、合成カンナビノイド添加による細胞毒性の発現を検討した。死細胞由来プロテアーゼ量を化学発光で測定した。(–)-cis-3-[2-hydroxy-4-(1,1-dimethylheptyl)phenyl]-trans-4-(3-hydroxy-propyl)-cyclohexanol (CP-55,940)添加 2 時間後、細胞毒性が発現した。この効果は、カンナビノイド CB₁ 受容体拮抗薬 AM251 の前処置により完全に抑制された。2) 細胞内 Ca²⁺の変動：RD 細胞に蛍光指示薬 Fluo-4 を 1 時間取り込ませ、薬物添加による蛍光強度の変化を、Flexstation II により測定した。CP-55,940 添加の 2 時間後、蛍光強度の増加が確認された。この効果は、カンナビノイド CB₁ 受容体拮抗薬 AM251 の前処置により完全に抑制された。3) クレアチンキナーゼ(CK)活性：RD 細胞を利用して、薬物添加による NADH 遊離量の変化を、発色指示薬を使用して測定した。CP-55,940 添加 2 時間後、細胞培養液を回収し NADH 遊離量を測定したところ有意な増加が確認された。

2) カチノン系化合物の行動薬理学的特性とモノアミントランスポーターの関連性

本研究では、16 種類のカチノン系化合物による運動活性に対する影響を検討した。すべてのカチノン系化合物において、運動促進作用が発現した。カチノン系化合物によって誘発される運動促進作用はドパミン D1 受容体拮抗薬 SCH23390 およびドパミン D2 受容体拮抗薬 raclopride の前処置により有意に抑制された。カチノン系化合物による運動促進作用は、ドパミン受容体拮抗薬の前処置により抑制されることから、作用発現にはドパミン神経系が関与していることが確認された。カチノン系化合物：16 種によって運動促進作用が発現し、中枢興奮作用を有することが明らかになった。ドパミントランスポーター (DAT) およびセロトニントランスポーター (SERT) に関する定量的構造活性相関(QSAR) 法解析[研究-2]による QSAR 値との相関性を検討したところ、DAT：相関係数 $r=0.883$ 、SERT：相関係数 $r=0.04$ であった。カチノン系化合物における運動促進作用の発現強度は、DAT の QSAR 値により推測可能である事が示唆された。

【総括】

本研究では、脱法ハーブに多く含まれている合成カンナビノイドのうち、既に麻薬に指定されている JWH-018 (1-pentyl-3-(1-naphthoyl) indole) に着目して 3-(1-naphthoyl) indole 構造を有する物質に関する包括指定の対象範囲の妥当性を検討した。包括指定の範囲としては、実効性の高い範囲を指定するために、文献値及び QSAR (定量的構造活性相関) 法による予測値を効果的に用いることでその範囲を検討した。CB₁ 受容体に対する親和性強度に関する解析より、包括指定の範囲として総数 719 化合物を抽出した。包括指定範囲内の合成カンナビノイドについて行動薬理学的マーカーを利用した評価により、範囲内の合成カンナビノイドは強力な精神作用を発現する危険性の高い CB₁ 受容体作用薬であ

る事が示唆され、包括指定範囲の妥当性が確認された。また、培養神経細胞による細胞毒性評価法は、低濃度のドラッグの暴露早期における細胞障害性を迅速かつ感度良く、定量的に評価できる方法として有用であることが確認された。

同様に、本研究では、カチノン系化合物に関する包括指定の対象範囲の妥当性を検討した。包括指定の範囲としては、実効性の高い範囲を指定するために、文献値及びQSAR(定量的構造活性相関)法による予測値を効果的に用いることでその範囲を検討した。ドパミントランスポーター(DAT)に対する親和性強度に関する解析より、包括指定の範囲として総数504化合物を抽出した。包括指定範囲内のカチノン系化合物について行動薬理学的解析により、範囲内のカチノン系化合物は中枢興奮作用を発現する危険性が示唆され、包括指定範囲の妥当性が確認された。

本研究のカンナビノイド受容体およびモノアミントランスポーターに対する作用強度を解析する評価システムは、危険ドラッグの中枢作用および有害作用発現の迅速な評価法として有用であり、得られる科学データは規制根拠として活用できると考えられる。また、培養細胞による細胞毒性の評価は迅速かつ高感度の検出法として有用である。

したがって、動物を用いた行動薬理学的試験と培養細胞評価を組み合わせた一連の評価システムにより、国内で流通が確認されている危険ドラッグの検出、精神依存性および神経毒性の検討を行い、危険ドラッグの迅速な発見に活用できると考えられる。また、将来的に乱用拡大につながる化学物質を特定し規制薬物指定への早期の対策に有用であると考えられる。

【研究業績】

1. 論文発表

- 1) 富山健一, 船田正彦:カンナビノイド誘導体の弁別刺激特性と細胞毒性. 日本ア

ルコール・薬物医学会雑誌. (2012) 47 : 135-143.

- 2) K. Tomiyama, M. Funada : Cytotoxicity of synthetic cannabinoids on primary neuronal cells of the forebrain: the involvement of cannabinoid CB1 receptors and apoptotic cell death. *Toxicol Appl Pharmacol.* 274:17-23. 2013.
- 3) Funada M, Mori T, Maeda J, Tsuda Y, Komiya S, Shimizu N, Kamei J, Suzuki T, Splenectomy modifies hyperactive states of the dopaminergic system induced by morphine in C57BL/6J-bgJ/bgJ (beige-J) mice. *Eur J Pharmacol.* 742C: 89-93, 2014.
- 4) Mori T, Funada M, Tsuda Y, Maeda J, Uchida M, Suzuki T., Dopaminergic hyperactivity accompanied by hyperlocomotion in C57BL/6J-bg(J)/bg(J) (beige-J) mice. *J Pharmacol Sci.* 125(2): 233-236, 2014.

2. 学会発表

- 1) 船田正彦: 脱法ドラッグの有害作用: 脱法ハーブの依存性と毒性の評価研究を中心に. 第108回日本精神神経学会学術総会. 札幌. 2012.5.24.
- 2) Funada M, Tomiyama K, Aoo N, Wada K : Discriminative properties and cytotoxicities of cannabinoid receptor agonist CP 55,490. 73th Annual Meeting -College on Problems of Drug Dependence-, Hollywood, Florida, June 23, 2011.
- 3) Funada M, Tomiyama K, Wada K : Activation of the brain noradrenergic system during cannabinoid withdrawal in mice. - College on Problems of Drug Dependence -, Palm Springs, CA, June 11, 2012.

- 4) Shimane T, Hidaka Y, Wada K, Funada M: Problematic behavior and MDMA use among Japanese rave populations. 74th Annual Meeting - College on Problems of Drug Dependence. Palm Springs, CA. 2012.6.9-14.
- 5) 船田正彦、富山健一、和田清、脱法ドラッグに含まれる合成カンナビノイドの神経細胞毒性、平成 25 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会、岡山コンベンションセンター、10 月 5 日・2013 年
- 6) M. Funada, K. Tomiyama, K. Wada, Role of dopamine system on the expression of behavioral and cytotoxicological properties of MDPV in mice. 75th Annual Meeting - College on Problems of Drug Dependence. June 15-20, 2013, San Diego, CA, USA
- 7) 船田正彦：「脱法ドラッグ」の依存性・細胞毒性評価と対応策としての「包括指定」。第 110 回日本精神神経学会。横浜。6 月 27 日。2014。
- 8) 船田正彦：脱法ハーブの危険性を知る：薬物依存性・細胞毒性ならびにその法規制。第 14 回日本外来精神医療学会。宇都宮。7 月 12 日。2014。
- 9) 船田正彦：脱法ドラッグによる有害作用の評価：合成カンナビノイドの包括的規制を目指して。平成 26 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会。第 49 回日本アルコール薬物・医学会総会。横浜。10 月 3 日。2014。
- 10) 竹林美佳、富山健一、和田 清、船田正彦： 3,4-methylenedioxypropylvalerone (MDPV) の行動薬理学的特性と有害作用。平成 26 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会。第 49 回日本アルコール薬物・医学会総会。横浜。10 月 4 日。2014。
- 11) Funada, M.: Abuse of law-evading herbs as a new trend in Japan: harmful effect and

legislation. The 3rd Congress of Asia-Pacific Society for Alcohol and Addiction Research. Shanghai, April 26, 2014.

3. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得：特になし
 実用新案登録：特になし
 その他：特になし

分担研究報告書 [3 年間のまとめ]

コンピュータシミュレーションによる違法ドラッグの 有害性予測法に関する研究

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)

【研究概要】

合成カンナビノイドのうち、既に麻薬に指定されている JWH-018 (1-pentyl-3-(1-naphthoyl) indole) に着目して 3-(1-naphthoyl)indole 構造を有する物質に関する包括指定の対象範囲の妥当性を検討した。包括指定の範囲としては、実効性の高い範囲を指定するために、文献値及び QSAR (定量的構造活性相関) 法による予測値を効果的に用いることでその範囲を検討した。カチノン系化合物の包括指定の範囲としては、カチノン系化合物において流通化合物を考慮し、活性に重要な 3 つの置換基 (R^1, R^2, R^3) について、そのバリエーションにより考えられる 504 化合物について QSAR (定量的構造活性相関) 法によって活性予測 (ドパミン取り込み作用およびセロトニン取り込み作用の 50%抑制濃度=IC₅₀ 値の予測) を行った。指定範囲のカチノン系化合物では、ドパミン取り込み阻害作用 QSAR 値(μM)およびセロトニン取り込み阻害作用 QSAR 値(μM)であった。さらに、カチノン系化合物の包括指定の範囲を拡張するために、長鎖アルキル基を有するカチノン系化合物について活性予測を行った。

違法ドラッグの包括規制を行うことを視野に包括規制の範囲をどのように決定するかを検討することを目的とした。検討対象化合物は合成カンナビノイドとカチノン系化合物とした。

(1) 合成カンナビノイドの包括規制

基本骨格 3-(1-Naphthoyl)indole 構造に、特に CB1 受容体親和性(Ki 値)を増強する置換基 R^1, R^2, R^3 を有するものについて指定の対象とした。(Fig. 1)

包括指定の範囲としては、実効性の高い範囲を指定するために、文献値及び QSAR (定量的構造活性相関) 法による予測値を効果的に用いることでその範囲を指定した。指定する範囲の化合物は数百になるので、全ての化合物について予測値を求めることは困難であ

るので、一部は化学的な考察によりその範囲を決定した。

1. 炭素鎖の置換基を持つ化合物

基本構造として主に直鎖の炭素鎖を有する化合物によりその指定の範囲を決定した。QSAR 解析には、化学計算パッケージ MOE を用いた。QSAR モデル式で用いた記述子は AutoQuaSAR プログラムにより MOE に搭載されている全て 2D 記述子から選択されたものである。34 個の JWH 化合物をデータセットとして QSAR 式を求めた。その結果、妥当な QSAR 式が得られた (Fig. 2)。

置換基として $R^1: C1 \sim C8, R^2: H, C1, R^3: C1 \sim C6$ の範囲について QSAR 法で CB1 受容体親和性(Ki 値)の予測を行った。(Table 1, Table2)

Ki 値より範囲を指定すると以下のような範

囲となった。

R ¹	n-propyl, n-butyl, n-pentyl, n-hexyl, n-heptyl (5 置換基)
R ²	H, methyl (2 置換基)
R ³	H, methyl, ethyl, methoxy, n-propyl, ethoxy, n-butyl, n-pentyl, (8 置換基)

合成カンナビノイドの CB1 受容体親和性(Ki 値)と作用発現に関する解析より、包括指定の範囲の妥当性を検証した。QSAR の解析については、実測値からの大幅な乖離を避けるため、実測値が存在する物質から +C2 まで (R³=C6)とした。

2. 炭素鎖以外で既に既知であり、活性の高い置換基を追加する。

これは、1. で指定した範囲で CB1 受容体親和性(Ki 値)をさらに増強するまたは維持する炭素鎖以外の置換基を追加した。

追加した置換基

① R¹: C3-C5 の末端にハロゲン (F, Cl, Br, I), ニトリル (CN), 水酸基 (OH), アセチル基 (OAc) が存在するもの。C5 の直鎖アルケニル基 (4 つ)。

その理由: Table 3 に示すように炭素鎖のみと比べて CB1 受容体親和性(Ki 値)が増強または維持されている。

② R³: ハロゲン (F, Cl, Br, I)

R¹=C3, C5 のものが文献値にある。いずれも炭素鎖のみより CB1 受容体親和性(Ki 値)が高い。R²=Me の場合は、活性が弱まる傾向があるが CB1 受容体親和性(Ki 値)が維持されると考えるので指定が必要である。(Table 4, Table 5)

実験値 (文献値) 及び予測値 (QSAR) を基に指定範囲を決定した。包括指定の対象として、以下を包括指定の範囲とした。

R ¹	直鎖 C3-C7 (5 置換基) C5 アルケニル (4 置換基) 直鎖 C3-C5 の末端に F, Cl, Br, I, CN, OAc (3×6 の 18 置換基) 直鎖 C4 と C5 の末端に OH (2 置換基)
R ²	H (1 置換基)
R ³	H, Me, Et, Pr, Bu, pentyl, hexyl, OMe, OEt, F, Cl, Br, I (13 置換基)
	[R ¹ =C8, R ² =H, R ³ =C2], [R ¹ =C8, R ² =H, R ³ =C3] の 2 物質

ただし、[R¹=C6, R²=H, R³=C6], [R¹=C7, R²=H, R³=C6] の 2 物質を除く。

[R¹=C8, R²=H, R³=C2], [R¹=C8, R²=H, R³=C3] の 2 物質については個別指定とする。

$$\text{※指定範囲の化合物数: } \{ (5 + 4 + 18 + 2) \times 1 \times 13 \} - 2 = 375$$

R ¹	直鎖 C3-C7 (5 置換基) C5 アルケニル (4 置換基) 直鎖 C3-C5 の末端に F, Cl, Br, I, CN, OAc (3×6 の 18 置換基) 直鎖 C4 と C5 の末端に OH (2 置換基)
R ²	Me (1 置換基)
R ³	H, Me, Et, Pr, Bu, pentyl, OMe, OEt, F, Cl, Br, I (12 置換基)

ただし、[R¹=C6, R²=Me, R³=C5], [R¹=C7, R²=Me, R³=OEt], [R¹=C7, R²=Me, R³=C4], [R¹=C7, R²=Me, R³=C5] の 4 物質を除く。

$$\text{※指定範囲の化合物数: } \{ (5 + 4 + 18 + 2) \times 1 \times 12 \} - 4 = 344$$

総数 719 化合物

(2) カチノン系化合物の包括規制

カチノン系化合物の包括指定範囲の検討を行った。カチノン系化合物 (Fig.3, Fig.4) において流通化合物等を考慮し、活性に重要な 3 つの置換基 (R¹, R², R³) を決め、そのバリエーションにより考えられる 504 化合物 (Table 6) について QSAR 法によって活性予測

を行った。QSAR 式は活性既知化合物より求めた。

R ¹	methyl, ethyl, <i>n</i> -propyl	3 種
R ²	NH ₂ , NHCH ₃ , NHC ₂ H ₅ , N(CH ₃) ₂ , N(CH ₃)(C ₂ H ₅), N(C ₂ H ₅) ₂ , pyrrolidinyl	7 種
R ³	H, 2-methyl, 3-methyl, 4-methyl, 2-ethyl, 3-ethyl, 4-ethyl, 2-OCH ₃ , 3-OCH ₃ , 4-OCH ₃ , 3,4-methylenedioxy, 2,3-methylenedioxy, 2-F, 3-F, 4-F, 2-Cl, 3-Cl, 4-Cl, 2-Br, 3-Br, 4-Br, 2-I, 3-I, 4-I	24 種
3 x 7 x 24 = 504 化合物		

1. 既知の活性値

参考文献 1-3 より、ドパミン取り込み作用に対する 50%抑制濃度 (IC₅₀ 値) 28 化合物およびセロトニン取り込み作用に対する 50%抑制濃度 (IC₅₀ 値) 18 化合物を使用した。(Table 6, Table 7)

2. QSAR の方法と解析結果

QSAR 解析には、化学計算パッケージ MOE を用いた。用いた記述子は AutoQuaSAR プログラムにより MOE に搭載されている全て 2D 記述子から選択されたものである。構築した QSAR 式を以下に示した。

指定範囲のカチノン系化合物では、ドパミン取り込み阻害作用 QSAR 値(μM)およびセロトニン取り込み阻害作用 QSAR 値(μM)であった。

ここで解析したカチノン系化合物 504 個全てを包括指定した。

(3) 長鎖アルキル基を有するカチノン系化

合物について活性予測

カチノン系化合物の置換基 R² にさらに長い炭素鎖 (*n*-butyl, *n*-pentyl, *n*-hexyl, *n*-heptyl, *n*-octyl, *n*-nonyl) を検討した。

活性既知化合物として 7 化合物を加えた。(Table 8)

1. QSAR の方法と解析結果

QSAR 解析には、化学計算パッケージ MOE を用いた。用いた記述子は AutoQuaSAR プログラムにより MOE に搭載されている全て 2D 記述子から選択されたものである。構築した QSAR 式を Fig.7 に示した。28 化合物から構築した QSAR 式と 35 化合物から構築した QSAR 式を比較するために、活性既知化合物 35 に 2 つの QSAR 式を適用した。(Table 9) 35 化合物から構築した QSAR 式を用いた場合の方がより、実測値近い予測値を得られた。今後長鎖アルキル基を有するカチノン系の予測に用いると効果的であると考えられる。今後、包括規制に利用していく予定である。

【研究業績】

1. 論文発表

- 1) 栗原正明：コンピュータシミュレーションによる違法ドラッグの活性予測
YAKUGAKU ZASSHI, 133, 13-16 (2013)
- 2) Demizu, Y., Sano, K., Terayama, N., Hakamata, W., Sato, Y., Inoue, H., Okuda, H., Kurihara, M.: Solid-phase nucleophilic fluorination, *Synth. Commun.*, 42, 1724-1730 (2012)
- 3) Y. Demizu, K. Okuhira, H. Motoi, A. Ohno, T. Shoda, K. Fukuhara, H. Okuda, M. Naito, M. Kurihara: Design and synthesis of estrogen receptor degradation inducer based on a protein knockdown strategy. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 22, 793-1796(2012)

- 4) Demizu, Y., Doi, M., Kurihara, M., Maruyama, T., Suemune, H., Tanaka, M.: One-Handed Helical Screw Direction of Homopeptide Foldamer Exclusively Induced by Cyclic α -Amino Acid Side-Chain Chiral Centers. *Chem. Eur. J.*, **18**, 2430-2439 (2012)
- 5) Y. Demizu, Y. Yabuki, M. Doi, Y. Sato, M. Tanaka, M. Kurihara: Conformations of helical Aib peptides containing a pair of L-amino acid and D-amino acid *J. Pept. Sci.*, **18**: 466-475 (2012)
- 6) K. Anan, Y. Demizu, M. Oba, M. Kurihara, M. Doi, H. Suemune, M. Tanaka: Helical structures of bicyclic α -amino acid homo-chiral oligomers with the chiral centers at the side-chain fused-ring junctions *Helv. Chim. Acta.*, **95**, 1694-1713 (2012)
- 7) Y. Demizu, S. Nagoya, M. Doi, Y. Sato, M. Tanaka, M. Kurihara
Twisted Structure of a Cyclic Hexapeptide Containing a Combination of Alternating L-Leu-D-Leu-Aib Segments *J. Org. Chem.*, **77**, 9361-9365 (2012)
- 8) Y. Demizu, S. Nagoya, M. Shirakawa, M. Kawamura, N. Yamagata, Y. Sato, M. Doi, M. Kurihara: Development of stapled short helical peptides capable of inhibiting vitamin D receptor (VDR)-coactivator interactions *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **23**, 4292-4296 (2013)
- 9) N. Sakakibara, T. Hamasaki, M. Baba, Y. Demizu, M. Kurihara, K. Irie, M. Iwai, E. Asada, Y. Kato, T. Maruyama; Synthesis and evaluation of novel 3-(3,5-dimethylbenzyl)uracil analogs as potential anti-HIV-1 agents *Bioorg. Med. Chem.*, **21**, 5900-5906 (2013)
- 10) Okuhira, K.; Demizu, Y.; Hattori, T.; Ohoka, N.; Shibata, N.; Nishimaki-Mogami, T.; Okuda, H.; Kurihara, M.; Naito, M.; Development of small molecules that induce degradation of estrogen receptor- α and necrosis in breast cancer cells *Cancer Science*, **104**, 1492-1498 (2013)
- 11) T. Shoda, K. Okuhira, M. Kato, Y. Demizu, H. Inoue, M. Naito, M. Kurihara: Design and synthesis of tamoxifen derivatives as a selective estrogen receptor down-regulator *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **24**, 87-89 (2014)
- 12) Yamashita, H., Demizu, Y., Shoda, T., Sato, Y., Oba, M., Tanaka, M., Kurihara, M.: Amphipathic short helix-stabilized peptides with cell-membrane penetrating ability *Bioorg. Med. Chem.* **22**, 2403-2408(2014)
- 13) Nagakubo, T., Demizu, Y., Kanda, Y., Misawa, T., Shoda, T., Okuhira, K., Sekino, Y., Naito, M., Kurihara, M.: Peptides as Inhibitors of Estrogen Receptor-Mediated Transcription *Bioconjugate Chem.*, **2014**, 25, 1921-1924
- 14) T. Shoda, K. Okuhira, M. Kato, Y. Demizu, H. Inoue, M. Naito, M. Kurihara: Design and synthesis of tamoxifen derivatives as a selective estrogen receptor down-regulator *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **24**, 87-89 (2014)
- 15) T. Misawa, Y. Demizu, M. Kawamura, N. Yamagata, M. Kurihara: Structural development of stapled short helical peptides as vitamin D receptor (VDR)-coactivator interaction inhibitors *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, 23, 1055-1061
2. 学会発表
- 1) 栗原 正明: コンピュータシミュレーションによる違法ドラッグの活性予測
日本薬学会第 132 年会 (2012/03/29-31, 札幌)
3. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得：特になし

実用新案登録：特になし

その他：特になし

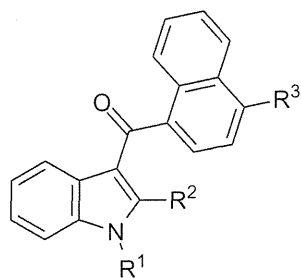


Fig.1 : 3-(1-Naphthoyl)indole 構造

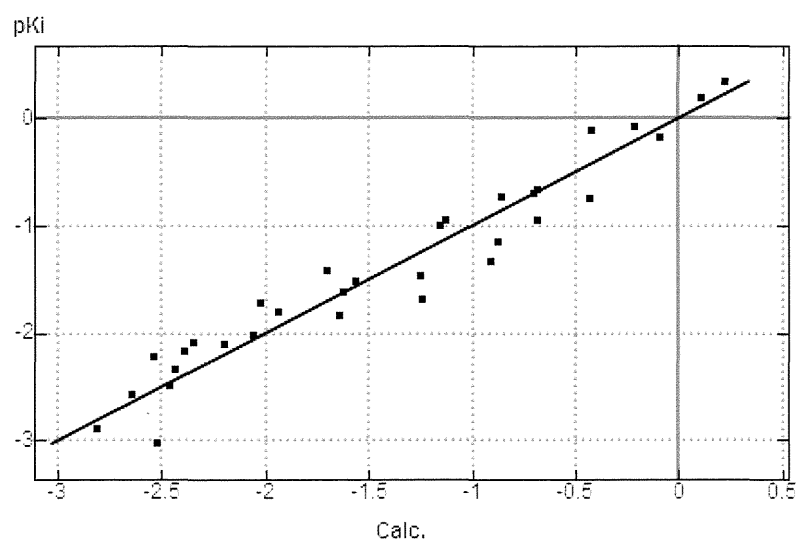


Fig.2 : 用いたQSAR式

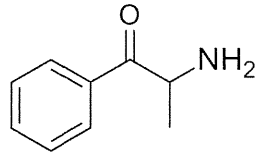


Fig.3 : カチノン (Cathinone)

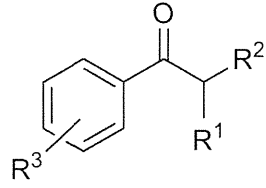


Fig.4 : カチノン系化合物

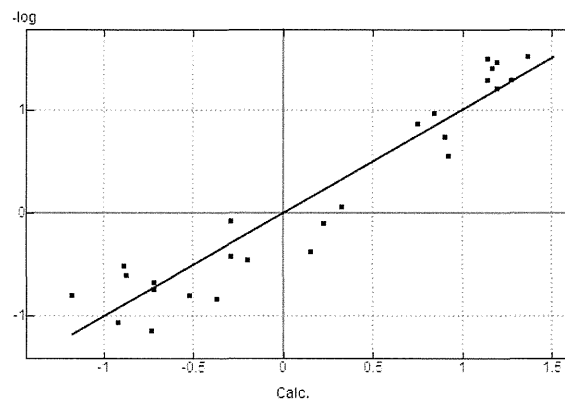


Fig.5 : ドパミン取り込み阻害活性

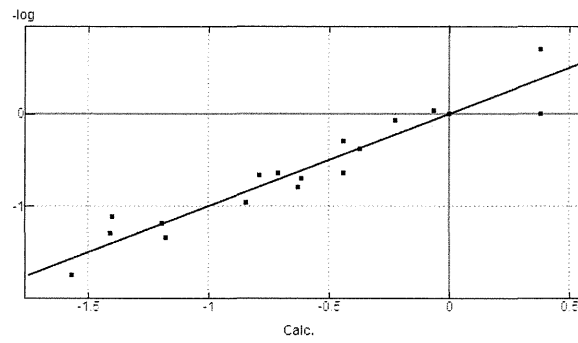


Fig.6 : セロトニン取り込み阻害活性

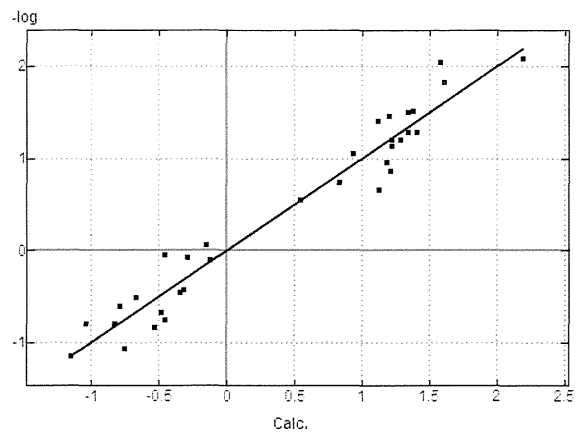


Fig.7: 35 化合物から構築した QSAR モデル

Table 6 : ドパミン取り込み阻害活性が既知の化合物とその活性(IC₅₀ 値, μM)

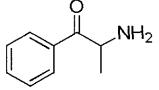
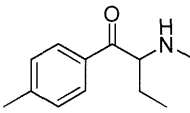
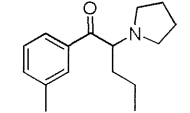
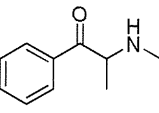
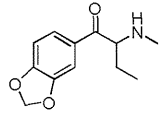
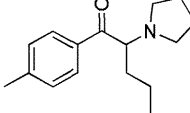
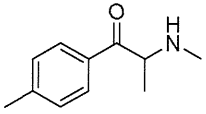
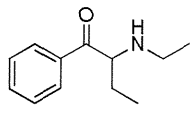
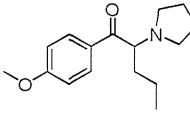
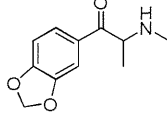
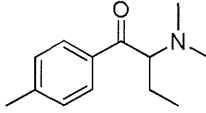
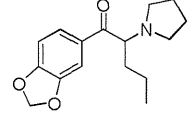
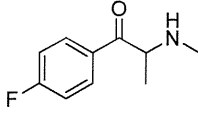
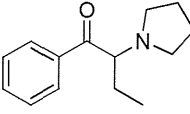
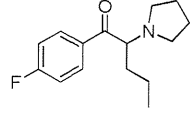
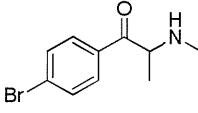
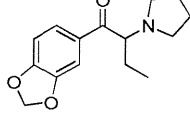
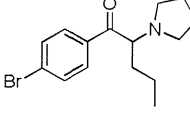
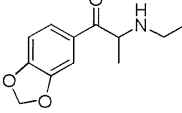
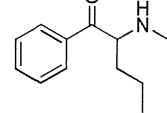
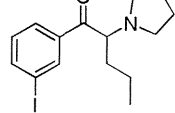
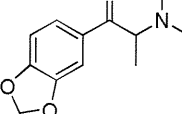
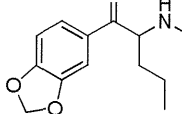
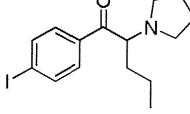
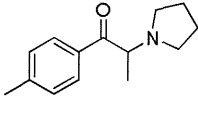
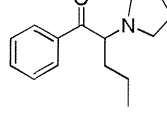
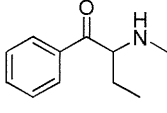
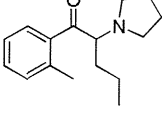
	カチノン系化合物	DAT (μM)		カチノン系化合物	DAT (μM)		カチノン系化合物	DAT (μM)
1		14	11		6.92	21		0.063
2		1.12	12		2.90	22		0.035
3		3.31	13		1.21	23		0.283
4		4.82	14		6.36	24		0.031
5		6.35	15		0.138	25		0.185
6		11.7	16		0.110	26		0.040
7		5.68	17		1.27	27		0.052
8		4.04	18		0.874	28		0.032
9		2.40	19		0.052			
10		2.70	20		0.063			

Table 7 : セロトニン取り込み阻害活性が既知の化合物とその活性(IC₅₀値, μM)

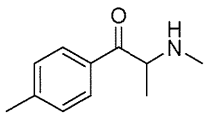
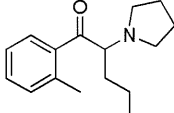
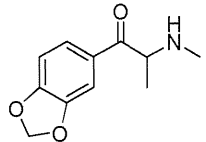
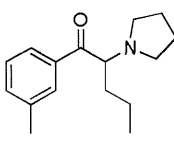
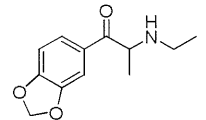
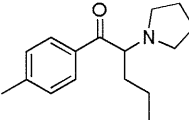
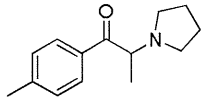
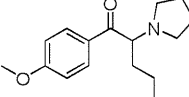
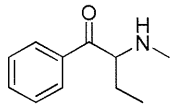
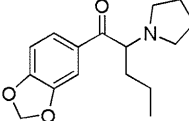
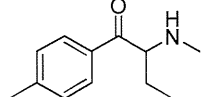
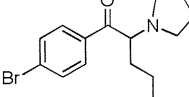
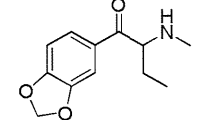
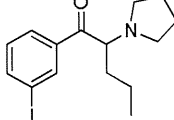
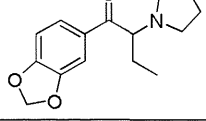
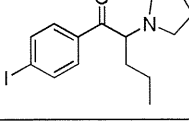
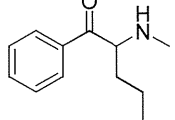
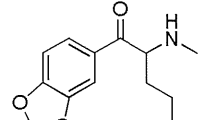
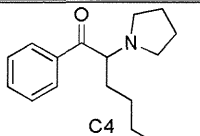
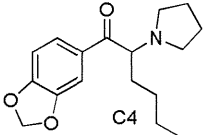
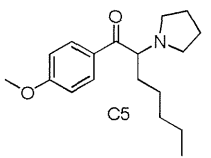
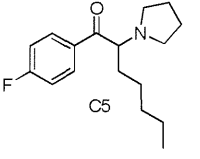
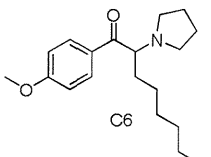
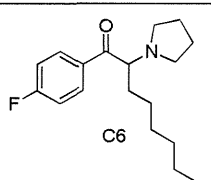
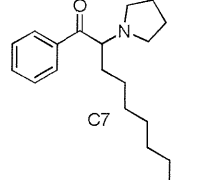
	カチノン系化合物	SERT (μM)		カチノン系化合物	SERT (μM)
1		4.64	11		2.02
2		15.5	12		4.4
3		4.36	13		13
4		56	14		2.4
5		22	15		9.3
6		1.19	16		1
7		6.22	17		1
8		20	18		0.2
9		5.01			
10		0.923			

Table 8: 追加した7化合物のドパミン取り込み阻害活性値

	新規カチノン系化合物	DAT (μ M)
29	 C4	0.015
30	 C4	0.0092
31	 C5	0.088
32	 C5	0.073
33	 C6	0.22
34	 C6	0.77
35	 C7	0.0084

平成 24～26 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政策研究事業) (H24-医薬-一般-008)
違法ドラッグの構造類似性に基づく有害性評価法の確立と乱用実態把握に関する研究

分担研究報告書 [3 年間のまとめ]

危険ドラッグの細胞毒性評価法に関する研究

研究分担者 富山健一 (放射線医学総合研究所被ばく医療プログラム/国立精神・神経センター精神保健研究所 薬物依存研究部)

研究協力者 船田正彦 (国立精神・神経センター精神保健研究所 薬物依存研究部)

【研究概要】

本研究では、危険ドラッグの中枢毒性と新たな評価系の確立を行い、薬物依存性評価システムの新しい一面の構築を試みた。本研究では、合成カンナビノイド誘導体 CP-55,940、CP-47,497、CP-47,497-C8、HU-210、JWH-018、JWH-203、JWH-210、AM-2201、MAM-2201、RCS-4 について、初代培養による神経細胞に対する細胞毒性を検討した。1) マウス forebrain の初代培養：カンナビノイド(CB₁)受容体の発現解析を行った。神経細胞マーカーである MAP-2 陽性細胞上に、CB₁ 受容体の発現が認められた。2) 神経細胞に対する細胞毒性：培養 7 日目の forebrain 由来初代培養細胞に 10 種類の合成カンナビノイドを処理し、細胞毒性の指標であるプロテアーゼを定量した。その結果、全ての合成カンナビノイド誘導体は、forebrain 由来の神経細胞に対して有意な細胞毒性を誘導した。また、CB₁ 受容体拮抗薬 AM251 を前処置しておくこと、合成カンナビノイド誘導体によって誘導される細胞毒性は、有意に抑制された。したがって、合成カンナビノイド誘導体は CB₁ 受容体を介して細胞毒性を誘発することが明らかとなった。3) アポトーシスの評価：forebrain 初代培養細胞に 10 種類の合成カンナビノイド誘導体を処理し、アポトーシスマーカーである Annexin-V 染色を行った。その結果、forebrain 由来初代培養細胞は、合成カンナビノイド誘導体の処理によって Annexin-V 陽性細胞の有意な増加が認められた。本研究より、合成カンナビノイド誘導体は、神経細胞に対して細胞毒性を誘導することが明らかになった。さらに、細胞毒性の指標となる細胞死由来プロテアーゼは、神経細胞のアポトーシスによって放出されると考えられた。そして、合成カンナビノイド誘導体による細胞毒性は、CB₁ 受容体が重要な役割を担っていると考えられた。合成カンナビノイド誘導体は、神経細胞に対して重大な障害を誘発する可能性が示唆された。一方で、合成カンナビノイドと同様に覚せい剤と類似構造を有するカチノン系誘導体の流通とその乱用が問題となっている。カチノン誘導体は、中枢興奮作用を有しており、その薬理機序は脳内神経伝達物質のドパミン、ノルエピネフリンそしてセロトニンの遊離促進および再取り込みの阻害であると考えられる。流通の形態としては、ハーブ、リキッドそしてパウダーなど様々な形態で販売されている。現在これらの製品から未規制の薬物を検出には、検出方法等の問題から非常に時間がかかっている。そこで本研究では、流通している製品より簡便に未知の未規制薬物を検出するために、動物を用いた行動薬理的試験や GS-MS のような高度な技術を必要とする検出系とは異なり、薬物の作用点であるドパミントランスポーター(DAT)、ノルエピネフリントランスポーター(NET)そしてセロトニントランスポーター(SERT)を安定的に発現する細胞株を作成し、生物学的応答をもとに薬理効果から薬物の種類を推測可能なスクリーニングシステム構築を試みた。マルチクロニングサイトに DAT、

NET そして SERT 遺伝子を挿入したベクターCMV6-Entry と Viafect を用いて CHO 細胞にトランスフェクションを行った。その結果、DAT および SERT タンパク質を発現する安定細胞株を得ることができた。今後は、この細胞を用いて各モノアミントランスポーター機能の確認を進め、ラジオアイソトープを使用しない簡便で正確なスクリーニングシステムの構築を行う。また、カチノン誘導体の細胞毒性を迅速に評価するために、効率的なこれらモノアミントランスポーターを発現する神経系細胞株の確立を行い、現在の初代培養による神経細胞を用いた細胞毒性試験もより短時間かつ簡便なスクリーニングを目指した。

わが国は第三次覚せい剤乱用期にあり、種々の規制薬物の乱用の拡大は、大きな社会問題である。若年層では、麻薬として規制されている 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) に代表される“クラブ・ドラッグ”の乱用が浸透しており、深刻な状況である。

一方で、近年の新たな傾向として麻薬等に規制されている薬物と類似の構造を持つ化合物をいわゆる脱法（危険）ドラッグとして乱用するケースが急増している。これは、すなわち違法薬物の乱用から法的に処罰を受けない未規制薬物の乱用へと流行がシフトしていることを現している。また、危険ドラッグ乱用の増加に伴い、意識障害、嘔吐、けいれん、呼吸困難などの健康被害が報告されている。こうした危険ドラッグの取り締まりには包括規制を導入するなど様々な対策が行われている。しかしながら、危険ドラッグは、ハーブ、リキッド、パウダーなど様々な形態で流通しており、これらの製品からの薬物検出には高価な分析機器と熟練のオペレーターが必須であり、また解析結果を得るまでに時間がかかるため、迅速な販売停止および取り締まりに位たるまでに時間を要している。そこで本研究では、流通している危険ドラッグより、迅速かつ簡便に薬物を検出可能なシステム構築として、培養細胞を用いたスクリーニングシステムの構築を試みた。カチノン系誘導体の薬理作用は、脳内の神経伝達物質であるドパミン、ノルエピネフリンやセロトニンの遊離促進やこれらを運搬するトランスポーターの働きを阻害するモノアミン再取り込み阻害作用を有している。本研究では、薬物検出スクリーニングシステムで用いる培養細胞として、

メタンフェタミン、カチノン系誘導体の作用点であるドパミン、ノルエピネフリンそしてセロトニントランスポーターをそれぞれ安定発現させた細胞株の樹立を行う。

1) 合成カンナビノイド誘導体の神経毒性の評価

本研究では、違法ドラッグ（危険ドラッグ）として流通している脱法ハーブ製品より検出された合成カンナビノイドのうち、 Δ^9 THC と類似の構造を持つ classical cannabinoid または non-classical cannabinoid に分類される合成カンナビノイド誘導体とそれらとは構造の全く異なる aminoalkylindole 誘導体の神経細胞に対する細胞毒性について検討した。

合成カンナビノイド誘導体の毒性発現条件は、CB 受容体の機能解析によく用いられる CP-55,940⁸⁾ を標準物質として検討した。その結果、CB₁ 受容体の発現が認められる神経細胞において、CP-55,940 は 30 μ M 濃度で 2 時間処置することによって有意な細胞毒性が認められた。さらにこの細胞毒性は、CB₂ 受容体拮抗薬ではなく、CB₁ 受容体拮抗薬によって有意に抑制されることが明らかとなった。すなわち合成カンナビノイド誘導体による細胞毒性の発現には、CB₁ 受容体が関与していることが明らかとなった。

さらに、細胞毒性によって神経細胞のアポトーシスを誘導することから、合成カンナビノイド誘導体を乱用することによって神経細胞に深刻なダメージを与える可能性が示唆された。また、流通が確認されている合成カンナビノイド誘導体 CP-47,497、CP-47,497-C8、

HU-210、WH-018、JWH-203、JWH-210、AM-2201、MAM-2201 および RCS-4 においても全て有意な細胞毒性の発現を確認した。またこれら合成カンナビノイド誘導体による細胞毒性の発現も、CP-55,940 と同様に CB₁ 受容体を介することが明らかとなった。

本研究において、classical cannabinoid (HU-210)、non-classical cannabinoid (CP-55,940、CP-47,497、CP-47,497-C8) および aminoalkylindole (WH-018、JWH-203、JWH-210、AM-2201、MAM-2201、RCS-4) に分類される合成カンナビノイド誘導体は全て、forebrain 由来の神経細胞に対して細胞毒性を誘導した。すなわち、合成カンナビノイド誘導体の構造に依存するのではなく、CB₁ 受容体に作用する化合物は強力な細胞毒性を誘導する可能性が高いと考えられる。

一方で、我々はすでに、NG108-15 細胞による合成カンナビノイド誘導体の細胞毒性スクリーニングシステムを確立している。本研究によって、合成カンナビノイド誘導体は NG108-15 細胞および初代培養神経細胞に対して同様の条件で細胞毒性を発現することが確認された。したがって、NG108-15 細胞を用いて効率良く合成カンナビノイド誘導体の細胞毒性を評価できると考えられる。

2) 培養細胞を用いた覚せい剤類似化合物の新規検出システムの構築

違法ドラッグとして流通が確認されている覚せい剤（アンフェタミンおよびメタンフェタミン）類似化合物、カチノン系誘導体の作用点であるモノアミントランスポーターを安定発現する培養細胞株の樹立を試みた。本研究では、クローニングサイトに SLC6A3 (DAT)、ELK3 (NET) および SLC6A4 (SERT) の遺伝子を導入したベクター CMV6-Entry と ViaFect を用いて、CHO 細胞にトランスフェクションを行った。その結果、DAT および SERT を安定発現する CHO 細胞株を得ることができた。前年度樹立した HEK293 細胞は薬

剤セレクションの途中で発現低下が認められた事、継代を繰り返すうちに細胞の贈職能が落ちる事、さらに NET 遺伝子導入で、HEK293 細胞が死滅してしまうため、安定株の樹立が難航していた。現在、安定培養している細胞株の中からより均一な細胞集団を得るためのクローニングを限界希釈法で行っている。クローン細胞樹立後、各トランスポーターの機能評価を行うために、トリチウムラベルをしたドパミン、ノルエピネフリンそしてセロトニンを用いて再取り込み阻害作用を検討し、トランスポーターの働きを確認する。その後機能が正常に働くにこれらの機能的モノアミントランスポーターを発現した細胞株を用いて、アイソトープを使わない簡便で安全かつ正確な薬物スクリーニングシステムを構築し、一般に流通している製品より薬物検出を試みる予定である。また、カチノン誘導体の細胞毒性を迅速に評価するために、効率的なこれらモノアミントランスポーターを発現する神経系細胞株の確立を行い、現在の初代培養による神経細胞を用いた細胞毒性試験もより短時間かつ簡便なスクリーニングを目指す。現在、間様系幹細胞を用いることで効率よく神経細胞の分化誘導が可能となっている(図 5)。今後は、この間様系幹細胞に DAT 等の遺伝子を導入し、これら機能的タンパク質を発現する神経細胞への分化を試みる予定である。

【総括】

大麻と類似の精神作用を持つ合成カンナビノイド誘導体の神経細胞に対する細胞毒性を検討した。classical cannabinoid (HU-210)、non-classical cannabinoid (CP-55,940、CP-47,497、CP-47,497-C8) および aminoalkylindole (WH-018、JWH-203、JWH-210、AM-2201、MAM-2201、RCS-4) に分類される合成カンナビノイド誘導体は全て、強力な細胞毒性を誘導した。また、合成カンナビノイド誘導体による細胞毒性は、CB₁ 受容体拮抗薬 AM251