

201427009A

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

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26年度 総括・分担研究報告書

(H24-医薬-一般-009)

研究代表者 花尻(木倉) 瑠理

平成27年3月

平成26年度 総括・分担研究報告書

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

目次

I. 総括研究報告

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

花尻(木倉)瑠理 1

II. 分担研究報告

1. 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

花尻(木倉)瑠理

GC-MS 及び LC-MS 分析で注意が必要な指定薬物について

花尻(木倉)瑠理 17

新規流通合成カンナビノイドの *in vitro* 活性(受容体結合親和性)評価について(2)

花尻(木倉)瑠理 35

2. 違法ドラッグの流通実態調査及び新規流通化合物の同定

内山 奈穂子

平成 26 年度入手危険ドラッグ製品中の新規流通危険ドラッグ成分の同定(1)

合成カンナビノイド 2*H*-indazole isomers 他

内山 奈穂子 53

平成 26 年度入手危険ドラッグ製品中の新規流通危険ドラッグ成分の同定(2)

内山 奈穂子 79

平成 26 年度入手危険ドラッグ製品中の新規流通危険ドラッグ成分の同定(3)

内山 奈穂子 101

合成カンナビノイド 5-fluoro-ADB および JWH-018 の神経活動マーカー遺伝子

(*c-fos* m-RNA)発現への影響

小早川 令子, 内山 奈穂子 129

3. 違法ドラッグの分析に関する研究

豊岡 利正

超臨界流体クロマトグラフィー質量分析法によるカンナビノイド類の測定に関する研究

豊岡 利正 137

4. 違法ドラッグ成分の危害影響予測手法に関する研究

栗原 正明

違法ドラッグ成分の活性評価法の開発

栗原 正明 149

3,4-ジクロロメチルフェニデートの合成

出水 庸介 155

5. 違法ドラッグの中樞神経シナプス作用に関する薬理学的評価法	
関野 祐子	
ラット初代培養ミクログリアを用いた合成カンナビノイド系危険ドラッグの薬理作用評価	
関野 祐子, 佐藤 薫, 最上 由香里 161
6. 違法ドラッグの脳波による作用評価に関する研究	
裏出 良博	
新規流通合成カンナビノイド 5-Fluoro-ADB のマウスの脳波に及ぼす作用に関する研究	
内山 奈穂子 169
新規流通合成カンナビノイドの自発運動量に及ぼす作用に関する研究	
内山 奈穂子 177
8. 植物系違法ドラッグの基原種の特等に関する研究	
緒方 潤	
植物系危険ドラッグ製品のメタノール抽出残渣からの基原植物種の同定	
緒方 潤 187
分析依頼を受けた植物片の基原植物種の同定 I	
緒方 潤 193
分析依頼を受けた植物片の基原植物種の同定 II	
緒方 潤 199
分析依頼を受けた植物片の基原植物種の同定 III	
緒方 潤 205
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 211

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

研究代表者:花尻(木倉)瑠理 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 室長

研究要旨: 指定薬物制度に対応し, 具体的な化合物や植物を指定薬物として指定する際に考えられる問題点を科学的に解決し, 規制化に必要な評価手法及び科学的データを監視指導・麻薬行政に提供することを目的として, 違法ドラッグについて以下の研究を行った。

平成 26 年度は, 違法ドラッグ製品 241 製品を入手し, 60 種類の新規流通違法ドラッグ成分(合成カンナビノイド及びその関連化合物 21, フェチルアミン系化合物 7, カチノン系及びチオフエン系 19, その他化合物 13)を同定した。同定した 50 化合物のうち, 2 化合物は新規化合物であり, 平成 26 年度内に 37 化合物が指定薬物に指定された。平成 26 年に指定薬物に指定された 3,4-ジクロロメチルフェニデートは 2 つの活性中心を有し, 4 種類の光学異性体が存在する。トレオ体とエリスロ体は, LC や GC 等のクロマトグラフィーにおいて別ピークとして検出されるため, ジアステレオマーについて鑑定分析用標品を確保することを目的として合成を行った。平成 24 年度から平成 26 年度までに指定薬物に指定された計 168 化合物について分析データを検討した結果, いくつかの化合物群で GC-MS もしくは LC-MS 分析を用いた確認分析には注意が必要であることが明らかとなり, 複数の分析手法により, 分析用標準品との保持時間, スペクトルデータの一致をもって, 確認を行うことが重要であることが示された。脂溶性化合物の分離分析法の一つとして近年注目されている超臨界流体クロマトグラフィー質量分析法(SFC-MS)による合成カンナビノイド類及び実試料の分析法を検討した結果, SFC-MS は, GC-MS や LC-MS に続く第三の方法となり得ることが示唆された。危険ドラッグを指定薬物に指定する際には, 中枢神経系へ作用を及ぼす蓋然性に関するデータが必要とされるため, *in silico*, *in vitro*, *in vivo* による活性未知危険ドラッグの薬理学的評価手法を検討した。*In silico* 活性予測手法としては, カチノン系化合物に対する包括規制導入前後に新たに出現した 7 種類の包括範囲外長鎖アルキル基を有するカチノン系化合物を含む合計 35 化合物の活性値を組み入れた QSAR モデル式を構築した。*In vitro* 評価手法としては, 新規流通合成カンナビノイド 26 化合物について, カンナビノイド CB₁ 及び CB₂ 受容体に対する結合親和性を評価した。また, 過去に測定済化合物も含め 54 化合物について, 構造と結合親和性の関係について評価した。その結果, 特に平成 26 年度内に流通が目立った idole/indazole-carboxamide-methyl 3-methylbutanoate/methyl 3,3-dimethylbutanoate もしくは 3-methylbutanamide/3,3-dimethyl butanamide 構造(5-fluoro-ADB, MDMB-CHMINACA 等)及び indole/indazol-carboxylate ester-naphthyl/quinolinyl 構造(5-fluoro-QUPIC, QUCHIC 等)を有する化合物群は, カンナビノイド CB₁ 受容体に対する結合親和性が極めて高く, 健康被害が懸念された。*In vitro* 評価手法としては, まず, 23 種類の合成カンナビノイド投与マウスの自発運動量変化を検討した結果, 15 化合物において自発運動量を有意に減少させ, 特に, MDMB-CHMINACA は投与後 4 匹中 2 匹が死亡した。また, アミドエステル類は, 陽性対照である JWH-018 以上に強力または同程度の行動量抑制作用を示したが, この結果は, 受容体親和性評価の結果に矛盾しないものであった。なお, 一部の化合物で投与後に痙攣, 歩行失調, 挙尾反応, 四肢の硬直及び無動状態などが観察され, これら薬物による健康被害が懸念さ

れた。合成カンナビノイド 5-fluoro-ADB 及び JWH-018, 大麻活性成分 Δ^9 -THC のマウス脳における神経活動マーカー遺伝子 (*c-fos* mRNA) 発現への影響を検討した結果, 共通して扁桃体中心核 (CeA) の *c-fos* 発現の上昇を誘発した。また, Δ^9 -THC とは異なり, 5-fluoro-ADB, JWH-018 の投与は室傍核 (PVN) や視索上核 (SO) における顕著な *c-fos* 発現の上昇も誘導した。従って, PVN や SO の *c-fos* 発現を指標にすることで, Δ^9 -THC と 5-fluoro-ADB および JWH-018 の作用を区別できると考えられた。さらに, 全脳活動マッピングの結果から, 5-fluoro-ADB および JWH-018 は Δ^9 -THC よりも大きな影響を脳活動に与えると推定された。CB₂ 受容体選択的アゴニストである JHW-015 及び HU-308 はラット初代培養ミクログリアの ERK1, 2 のリン酸化を誘導し, このリン酸化は CB₂ 受容体選択的アンタゴニストである SR144528 で抑制された。ミクログリアを利用してウエスタンブロットング法を用いて, 合成カンナビノイドの CB₂ 受容体への作用を検出できることがわかった。5-Fluoro-ADB 及び JWH-018 を, マウスの腹腔内に投与し, 脳波および自発運動量の変化について検討した結果, 5-Fluoro-ADB は投与後, マウスの自発運動量を有意に減少させ, 4 匹中 1 匹が死亡した。その抑制作用は JWH-018 より強力であり, さらに長時間にわたり持続した。また, 5-Fluoro-ADB 及び JWH-018 はマウスの脳波パターンに変化を与えたが, 両化合物の脳波スペクトルに明らかな共通パターンはみられず, それぞれ自発運動量の抑制作用と脳波の周波数変化の発現時間に相関はみられなかった。

植物系危険ドラッグ製品については, 遺伝子分析による植物基原種同定に関する検討を行い, 微量・少量の混入植物種の判定は困難であるが, 化学分析に用いた製品のメタノール抽出残渣試料を用いても植物種の同定は可能であることを示した。また, 向精神活性を有する植物成分, メスカリン, DMT, LSA が各々検出された植物製品から植物の基原種を同定し, 同定した植物種にはそれぞれの成分の含有が報告されていることを確認した。

以上, 本研究結果は, 厚生労働省の監視指導行政に直接貢献する研究であり, 国の違法ドラッグ対策に即したものと考えられる。

分担研究者 (アイウエオ順)

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
裏出 良博 筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構 分子睡眠生物学研究室 教授
緒方 潤 国立医薬品食品衛生研究所
生薬部 主任研究官
栗原 正明 国立医薬品食品衛生研究所
有機化学部長
関野 祐子 国立医薬品食品衛生研究所
薬理部長
豊岡 利正 静岡県立大学薬学研究院
生体機能分子分析学教室 教授
花尻 (木倉) 瑠理 国立医薬品食品衛生研究所
生薬部第 3 室 室長

協力研究者 (アイウエオ順)
入江 智彦 国立医薬品食品衛生研究所
薬理部 主任研究官
河村 麻衣子 国立医薬品食品衛生研究所
生薬部
田中 理恵 国立医薬品食品衛生研究所
生薬部 主任研究官
小早川 令子 大阪バイオサイエンス研究所
神経機能学部門・研究室長
佐藤 薫 国立医薬品食品衛生研究所
薬理部 室長
出水 庸介 国立医薬品食品衛生研究所
有機化学部 室長
最上 由香里 国立医薬品食品衛生研究所
薬理部

A. 目的

平成 23 年度以降、危険ドラッグが関与したと考えられる救急搬送事例(死亡事例を含む)や自動車事故等の他害事件の報告が増加している。厚生労働省は、流通と規制の「いたちごっこ」的状況を打破すべく、平成 24 年度及び 25 年度に 2 種類の構造を対象として薬事法(現在の医薬品医療機器等法)下で初めて包括指定を導入した。また、麻薬取締官及び麻薬取締員に薬事法上の指定薬物に対する取締権限の付与等を内容とする改正法を平成 25 年 10 月 1 日より施行し、指定薬物の単純所持・使用等を罰則付きで禁止すること等を内容とする改正法を平成 26 年 4 月 1 日に施行した。さらに、平成 26 年 7 月には、6 月末に起きた池袋の自動車暴走事件に関係したとみられる 2 物質について、指定薬物制度が誕生して初めて「指定手続きの特例」として定められている緊急指定を行った。その後も本年 1 月末までに数回にわたり「公益上、緊急に命令等を定める必要がある」場合に該当するとして、意見募集手続きを行わずに指定薬物指定の省令を公布し、通例では 30 日となっていた周知期間も 10 日に短縮したスピード施行を行った。その結果、平成 27 年 2 月 28 日の時点で指定薬物総数は 1454 物質となった。一方、平成 26 年 8 月末より断続的に、指定薬物の販売の可能性がある店舗に対し検査命令を実施し、検査結果が出るまで該当商品の販売を禁止する措置をとっている。さらに平成 26 年 12 月からは、医薬品医療機器等法の改正により、「指定薬物と同等以上に有害な疑い」がある薬物も規制の対象となった。しかし、危険ドラッグ規制強化の一方で、新規に出現する危険ドラッグは多様化しており、分析現場はますます混迷している。

本研究は、指定薬物制度に対応し、具体的な化合物や植物を指定薬物として指定する際に考えられる問題点を科学的に解決し、規制化に必要な評価手法及び科学的データを監視指導・麻薬行政に提供することを目的に行うものである。平成 26 年度は、前年度に引き続き、次々と市場

に現れる新規麻薬構造類似化合物について、インターネットにおける国際的な違法ドラッグ製品流通情報や、国連(UNODC)・EU(EMCDDA)・米国(DEA)等の薬物統轄機関との情報交換により広く情報収集するとともに、問題となりうる製品について入手し、新規流通化合物の構造決定及び分析用標品の製造・各種分析データの整備、迅速分析法の開発等を行った。平成 24 年度から平成 26 年度までに指定薬物に指定された計 168 化合物について、通常行っている GC-MS, LC-MS 分析上、分解等が見られ、注意が必要な化合物についてデータを取りまとめた。さらに、脂溶性化合物の分離分析法の一つとして近年注目されている超臨界流体クロマトグラフィー質量分析法(SFC-MS)による合成カンナビノイド類及び実試料の分析法を検討した。危険ドラッグを指定薬物に指定する際には、中枢神経系へ作用を及ぼす蓋然性に関するデータが必要とされるが、薬理活性未知化合物について、まず QSAR 等によるコンピューター活性予測手法を検討した。また、新規流通合成カンナビノイドの薬理活性評価のために、①カンナビノイド受容体との結合能評価、②薬物投与マウスの自発運動量変化、③薬物投与マウスの脳波変化、④薬物投与マウスの全脳を用いた *c-fos* マッピング、⑤ラット初代培養ミクログリアを用いた薬理作用評価を検討した。植物系違法ドラッグについては、いわゆるハーブ系の危険ドラッグ製品について、化学分析を行った後のメタノール抽出残渣を用いて、含有植物の基原植物種の同定が可能か検討した。また、植物由来と考えられる向精神活性成分が検出された植物製品について、基原植物種の同定法を検討した。

B. 研究方法

1. 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

1) GC-MS 及び LC-MS 分析で注意が必要な指定薬物について

平成 24 年度から平成 26 年度(2 月)までに指定薬物に指定された計 168 化合物(麻薬に指定された物質を含む, 包括指定化合物数を除く)に焦点をあて, GC-MS もしくは LC-MS 分析において, 分解が認められる, 異性体との識別が困難である等, 注意が必要な化合物群の分析データをまとめた.

2) 新規流通合成カンナビノイドの *in vitro* 活性(受容体結合親和性)評価について (2)

違法ドラッグ市場に新規に登場した活性未報告の合成カンナビノイド 26 化合物について, カンナビノイド CB₁ 及び CB₂ 受容体への結合親和性を測定し, 中枢神経系へ影響を及ぼす蓋然性について検討した. 結合親和性は, それぞれの受容体に対する各化合物の dose-response curve を作成し, トレーサー(CP-55,940 ³H ラベル体)と受容体の結合を 50%阻害する濃度(IC₅₀ 値)を算出した. また, 過去に報告した値も含め, 我々が検討した新規流通合成カンナビノイド 54 種類のカンナビノイド受容体親和性について, 構造と IC₅₀ 値の関係について論じた.

2. 違法ドラッグの流通実態調査及び新規流通化合物の同定

1) 平成 26 年度入手危険ドラッグ製品中の新規流通危険ドラッグ成分の同定 (1)ー合成カ

2) 平成 26 年度入手危険ドラッグ製品中の新規流通危険ドラッグ成分の同定 (2)

3) 平成 26 年度入手危険ドラッグ製品中の新規流通危険ドラッグ成分の同定 (3)

主に平成 26 年度にインターネットを介して入手した危険ドラッグ 241 製品(乾燥植物細片, 粉末, 液体またはシート状等)について GC-MS, LC-MS 分析を行った. このうち, 未知の成分が検出された製品から, リサイクル分取 HPLC 及び分取 HPLC を用いて各化合物を単離し, 高分解能 MS 分析及び NMR 分析により同定を行った. また, 標準品があるものについては直接比較し, 同

定した.

4) 合成カンナビノイド 5-fluoro-ADB および JWH-018 の神経活動マーカー遺伝子(*c-fos* m-RNA)発現への影響

マウスの全脳を用いて, 危険ドラッグの脳における神経活動マーカー遺伝子(*c-fos* m-RNA)の発現に及ぼす作用を検討するために, 新規流通合成カンナビノイド成分 5-fluoro-ADB および麻薬である JWH-018 の *c-fos* 発現への影響を検討した. また同時に, 大麻の主活性カンナビノイド Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC, 麻薬)の結果と比較した. なお, 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.

3. 違法ドラッグの分析に関する研究

ー超臨界流体クロマトグラフィー質量分析法によるカンナビノイド類の測定に関する研究ー

超臨界流体クロマトグラフィー(SFC)は, 溶出溶媒として CO₂ を主に用い, 大量に有機溶媒を使用しないため環境への負荷も少なく, さらに短時間で分析できるため, LC の順相分析法に代り得る方法と考えられる. また, 脂溶性化合物の分離分析法の一つとして近年注目されている. 本研究では, カラムとして BEH 2-EP カラム及びキラルカラム Trefoil AMY1, 移動相として MeOH 含有の CO₂ を用いて, SFC-MS による合成カンナビノイド類及び実試料の分析法を検討した.

4. 違法ドラッグ成分の危害影響予測手法に関する研究

1) 違法ドラッグ成分の活性評価法の開発

カチノン系化合物に対する包括規制導入前後に新たに出現した長鎖アルキル基を有するカチノン系化合物を含む活性予測を行った. QSAR 式の構築には化学計算パッケージ MOE を使った. また, モデル構築のための活性値として, 35

化合物のドパミン取り込み作用に対する 50%抑制濃度(IC50 値)を用いた。QSAR 法(定量的活性相関)は AutoQuaSAR 法を使って妥当な QSAR モデル式を構築した。求めた QSAR 式より 35 化合物の活性予測を行った。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。QSAR 式は交差検定の R²(相関係数の 2 乗)が最も良いものを用いた。

2) 3,4-ジクロロメチルフェニデートの合成

3,4-Dichlorobenzyl cyanide に t-BuOK を用いて 2-bromopyridine を反応させ化合物 1 を合成した。化合物 1 を濃塩酸で加水分解し、化合物 2 とした。化合物 2 に PtO₂ を触媒として水素添加を行い、化合物 3 を合成した。化合物 3 を濃塩酸で加水分解し化合物 4 とした。化合物 4 はシリカゲルクロマトグラフィーで精製(酢酸エチル/メタノール = 4/1)することで *threo*-5, *erythro*-5 を得た。それぞれ塩酸塩として再結晶を行いさらに精製を行った。

5. 違法ドラッグの中枢神経シナプス作用に関する薬理学的評価法

—ラット初代培養ミクログリアを用いた合成カンナビノイド系危険ドラッグの薬理作用評価—

合成カンナビノイド(CB)系化合物は、中枢神経細胞に発現する CB₁ 受容体を介した作用ばかりではなく、CB₂ 受容体を介しても中枢機能に変調をもたらす。中枢神経細胞には CB₂ 受容体は発現していないため、CB₂ 受容体の活性化によって生じる中枢機能の変調は、ミクログリアに発現する CB₂ 受容体に起因すると考えられる。危険ドラッグとして問題となっている合成カンナビノイドの中枢機能変調を同定する実験系として、脳由来ミクログリアの CB₂ 受容体を介した ERK リン酸化パスウェイの利用可能性を検討した。なお、実験は国立医薬品食品衛生研究所動物実験の適

正な実施に関する規程、及び国立医薬品食品衛生研究所遺伝子組換え実験安全管理規則に従って行った。

6. 違法ドラッグの脳波による作用評価に関する研究

1) 新規流通合成カンナビノイド 5-Fluoro-ADB のマウスの脳波に及ぼす作用に関する研究

平成 26 年度新規流通危険ドラッグ成分として製品から検出された合成カンナビノイド：5-Fluoro-ADB (指定薬物)及び陽性対照 JWH-018(麻薬)を、マウスの腹腔内に投与し、脳波および自発運動量の変化について検討を行った。各薬物は、DMSO/emurphor® EL-620 (GAF Chemical, Wayne, NJ)/生理食塩水(1/1/18)の溶媒に溶解させ、それぞれ 2.5 mg/kg ずつマウスに腹腔内投与した。投与は 19:00 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)。動物実験は、筑波大学の動物実験委員会「動物実験に関する指針」、文部科学省のガイドラインおよび動物の愛護および管理に関する法律(第 105 号)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。

2) 新規流通合成カンナビノイドの自発運動量に及ぼす作用に関する研究

指定薬物 18 化合物、未規制化合物 4 化合物、陽性対照として麻薬(JWH-018)の計 23 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。各薬物を DMSO/emurphor® EL-620 (GAF Chemical, Wayne, NJ)/生理食塩水(1/1/18)の溶媒に溶解または懸濁させ、マウスに各 5 mg/kg の用量で腹腔内投与した。投与は暗期開始時刻(19:00)直前に行い、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)。マウスは動物行動量測定用チャンバー内の個別のケージに入れ、行動量測定を行った。動物実験

は、筑波大学の動物実験委員会「動物実験に関する指針」、文部科学省のガイドラインおよび動物の愛護および管理に関する法律(第 105 号)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。

7. 植物系違法ドラッグの基原種の特定等に関する研究

1) 植物系危険ドラッグ製品のメタノール抽出残渣からの基原植物種の同定

危険ドラッグ市場に流通するいわゆる脱法ハーブと称する製品について、化学分析を行った後のメタノール抽出残渣を用いて、植物片の基原種同定が可能か検討した。インターネット上で販売されている「脱法ハーブ」製品 1 製品(植物体乾燥(刻み)品)を対象とし、100%メタノールで成分分析用として抽出した残渣を乾燥させ試料とし、ダイレクトシーケンス、サブクローニング後のクローン・シーケンスを行った。

2) 分析依頼を受けた植物片の基原植物種の同定 I

メスカリンが検出された植物片の基原植物の同定を目的として、植物の鑑別・同定に用いられる葉緑体 DNA 上の 3 領域 (*matK*, *rpl16*, *trnL-trnF*)を増幅後、各増幅産物の塩基配列を決定し、国際塩基配列データベース(DDBJ/EMBL/GenBank)に登録されている配列と比較した。

3) 分析依頼を受けた植物片の基原植物種の同定 II

DMT が検出された植物片 10 試料の基原植物の同定を目的として、葉緑体 DNA 3 領域、核 DNA 1 領域の計 3 領域 (*trnL-trnF*, *rbcL*, ITS)を増幅後、各増幅産物の塩基配列を決定し、国際塩基配列データベース(DDBJ/EMBL/GenBank)に登録されている配列と比較した。

4) 分析依頼を受けた植物片の基原植物種の同定 III

LSA が検出された種子 1 粒(0.1097 g)を木槌で碎き、完全には分離できなかったが、1. 胚および貯蔵組織、2. 種皮、3. 1 および 2 の粉砕片、の 3 供試検体とし、その各検体より DNA の抽出をおこなった。葉緑体 DNA 上の 4 領域、核 DNA 上の 1 領域の計 5 領域 (*trnL-trnF*, *rbcL*, *matK*, *psbA-trnH*, ITS)を増幅後、各増幅産物の塩基配列を決定し、国際塩基配列データベース(DDBJ/EMBL/GenBank)に登録されている配列と比較した。

C. 結果及び考察

1. 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

1) GC-MS 及び LC-MS 分析で注意が必要な指定薬物について

①テトラメチルシクロプロピル基を有する合成カンナビノイドの GC-MS 分析による分解、②カルボン酸エステル構造を有する合成カンナビノイドの GC-MS 分析による分解、③一級アミンを有するフェネチルアミン類の GC-MS 分析によるホルミル体[M+18]⁺の形成、④NBOH シリーズ化合物の GC-MS 分析による 2C シリーズ化合物への分解、⑤3-MeO-PCP の GC-MS 分析による分解、⑥メチルフェニデート及びその構造類似化合物の GC-MS 分析による分解及び溶液中における異性化、⑦アミノプロピルベンゾフラン構造を有する危険ドラッグの各異性体識別法などに注意が必要であることが示された。また、BiPICANA 及び CHMINACA-BA のように、GC-MS では分析が困難な化合物も存在した。

2) 新規流通合成カンナビノイドの *in vitro* 活性(受容体結合親和性)評価について (2)

新規流通 26 化合物を測定した結果、methyl 1-(5-chloropentyl)-1*H*-indazole-3-carboxylate は CB₁, CB₂ 両受容体に対しほとんど結合親和性を

示さなかったが、その他 25 化合物については、高い親和性を示した。そのうち 16 化合物については、CB₁ 受容体に対し、ポジティブコントロールである(R)-(+)-WIN55212-2 よりも高い親和性を示し、特に 5F-ADB-PINACA は 70 倍近い受容体親和性を示した。一方、CB₂ 受容体に対しても、26 化合物のうち、9 化合物が(R)-(+)-WIN55212-2 よりも強い値を示し、特に 5F-ADB-PINACA と FUB-APINACA は 5 倍程度高い親和性を示した。また、過去に検討した合成カンナビノイドを含む 54 種類の化合物のカンナビノイド受容体親和性について、構造と IC₅₀ 値の関係について論じた結果、indole/indazole-carboxamide- methyl 3-methylbutanoate/methyl 3,3-dimethylbutanoate もしくは 3-methylbutanamide/3,3-dimethylbutanamide 構造、indole/indazol-carboxylate ester-naphthyl/quinolinyl 構造を有する化合物は、カンナビノイド CB₁ 受容体に対する結合親和性が極めて高いことが明らかとなった。また、インドールもしくはインダゾールの *N*-ペンチル基末端にフッ素が導入された化合物は、いずれの構造を有する化合物においてもより高い親和性を示した。さらに、アダマンチル構造を有する APICA/APINACA を除き、インドール構造よりインダゾール構造を有する化合物の方が、高い親和性を示す傾向にあった。

2. 違法ドラッグの流通実態調査及び新規流通化合物の同定

1) 平成 26 年度入手危険ドラッグ製品中の新規流通危険ドラッグ成分の同定 (1)

新規流通危険ドラッグ成分及びその関連化合物として 8 化合物を同定した。その内訳としては、4 つの合成カンナビノイド：FDU-PB-22, FDU-NNEI, AB-CHMINACA 2*H*-indazole analog, NNEI 2*H*-indazole analog, フェネチルアミン系化合物：*N*-OH-EDMA, カチノン系化合物：dimethoxy- α -PHP を同定した。さらに、合成カンナビノイド関連化合物として、2-methylpropyl

N-(naphthalen-1-yl) carbamate 及び isobutyl 1-pentyl-1*H*-indazole-3-carboxylate を検出した。2-methylpropyl *N*-(naphthalen-1-yl) carbamate は、1-pentyl-1*H*-indazole と化合物 isobutyl 1-pentyl-1*H*-indazole-3-carboxylate から NNEI indazole analog を合成する際の副生成物と考えられた。今回検出された 8 化合物のうち、2 化合物 (FDU-PB-22, dimethoxy- α -PHP) は、平成 26 年度に指定薬物として規制された。また、マイナー成分であるが、主成分である 1*H*-indazole 型の合成カンナビノイドの異性体として 2*H*-indazole 型の化合物：AB-CHMINACA 2*H*-indazole analog, NNEI 2*H*-indazole analog が新たに検出された。

2) 平成 26 年度入手危険ドラッグ製品中の新規流通危険ドラッグ成分の同定 (2)

危険ドラッグ製品から 15 種類の新規流通化合物を同定した。内訳としては、9 種の合成カンナビノイド及び関連化合物 [2 種類の新規化合物：1-(cyclohexylmethyl)-*N*-(1-((cyclohexylmethyl)amino)-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)-1*H*-indazole-3-carboxamide, 5-fluoropentyl 1-(5-fluoropentyl)-1*H*-indole-3-carboxylate, 及び 7 種の合成カンナビノイド：5-fluoro ABICA, MMB2201, JWH-018 indazole analog (THJ-018), NM2201, SDB-005, 5-fluoro SDB-005, 5-fluoro NPB-22] を同定した。なお、2 種類の新規化合物は、それぞれ AB-CHMINACA 及び NM2201 を合成する際の副生成物の可能性が考えられた。さらに、幻覚剤フェンシクリジンの誘導体である 3-methoxy-PCP, 3 種のフェネチルアミン系化合物：allylescaline, 25B-NBF, 25C-NBF, チオフェン系化合物： α -PBT 及びカチノン系化合物 4-fluoro- α -piperidinopentiophenone (4-fluoro- α -PVP piperidine analog) を同定した。

3) 平成 26 年度入手危険ドラッグ製品中の新規流通危険ドラッグ成分の同定 (3)

危険ドラッグ製品から 27 種類の新規流通化合

物を同定した。内訳としては、6種の合成カンナビノイド [PX-1, 5-Fluoro ADB-PINACA, ADB-CHMINACA (MAB-CHMINACA), 5-Fluoro-ADB, SDB-006, MA-CHMINACA] を同定した。さらに、16種のカチノン系化合物 [α -PNP, 4-Fluoro-NPP, MDPH, 5-DBFPV, 4-Fluoro-POP, 4F- α -NEP, bk-IBP, bk-IVP, α -PHPP, 5-PPDI, 4F-Octedrone, 3,4-Dimethyl- α -ethylaminobutiophenone (3,4-Dimethyl- α -NEB), 3,4-Dimethylaminopentthiophenone, MOPPP, α -PHP indane analog (5-BPDI), 2-Methoxy-4,5-methylenedioxy methcathinone], 3種のフェネチルアミン系化合物 [30C-NBOMe, 25D-NBOMe, Prolintane], その他に、NMDA 受容体チャネルブロッカーであるジフェニジン(指定薬物)の誘導体 Methoxphenidine (2-Methoxy-diphenidine)及びトリプタミン系化合物 4-OH-MET を検出した。カチノン系化合物では、新たな骨格として、benzofuran 型や indane 型を有する化合物が検出された。また、フェネチルアミン系化合物では、カチノン系化合物かつ麻薬である α -PVP のデオキシ体である prolintane を同定した。

4) 合成カンナビノイド 5-fluoro-ADB および JWH-018 の神経活動マーカー遺伝子 (*c-fos* mRNA) 発現への影響

Δ^9 -THC, 5-fluoro-ADB, JWH-018 の投与は共通して扁桃体中心核 (CeA) の *c-fos* 発現の上昇を誘発した。扁桃体は情動を制御する最も重要であると考えられている中枢なので、これらの薬剤の投与は情動の異常を誘発する可能性がある。さらに、 Δ^9 -THC とは異なり、5-fluoro-ADB, JWH-018 の投与は室傍核 (PVN) や視索上核 (SO) における顕著な *c-fos* 発現の上昇も誘導した。従って、PVN や SO の *c-fos* 発現を指標にすることで、 Δ^9 -THC と 5-fluoro-ADB および JWH-018 の作用を区別できると考えられる。また、全脳活動マッピングの結果から、5-fluoro-ADB および JWH-018 は Δ^9 -THC よりも大きな影響を脳

活動に与えると推定される。さらに、5-fluoro-ADB および JWH-018 によって活性化される PVN や SO には、oxytocin や vasopression などのホルモンを分泌する神経細胞が存在するので、これら薬剤の投与はホルモンの過剰分泌による脳や心臓などの活動異常も引き起こし、重篤な行動異常を誘発する可能性がある。

3. 違法ドラッグの分析に関する研究

—超臨界流体クロマトグラフィー質量分析法によるカンナビノイド類の測定に関する研究—

はじめに BEH 2-EP カラムによる分離検出を実施した。グラジエント溶出条件下、8種類の合成カンナビノイド類を12分以内に分離・検出することができた。また、キラルカラム (Trefoil AMY1) による分離では、光学不活性な化合物のみならず、CCH の cis 体と trans 体の光学異性体を含めて4分以内の短時間で分離検出できた。本法を3種の実試料 (乾燥植物片) の測定に応用したところ、JWH-018 は、実試料 G と Y から検出され、JWH-073 は、実試料 A から低濃度検出された。一方、CCH では、cis 体、trans 体、それらの光学異性体の4種すべてが実試料 A と Y において検出された。しかし、実試料 G では、cis 体の2種のみで trans 体は検出されなかった。以上の結果から SFC-MS は、GC-MS や LC-MS に続く第三の方法となり得ることが示唆された。

4. 違法ドラッグ成分の危害影響予測手法に関する研究

1) 違法ドラッグ成分の活性評価法の開発

新規7化合物を加えた35化合物から構築した QSAR 式を構築し、改めて QSAR 式によって35化合物の活性予測値を求めた。昨年度までに28化合物から構築した旧 QSAR 式によって求めた活性予測と比較した結果、35化合物から構築した QSAR 式を用いた場合の方がより、実測値と近い予測値を得られた。

2) 3,4-ジクロロメチルフェニデートの合成

3,4-Dichlorobenzyl cyanide を出発原料として4ステップで 3,4-dichloromethylphenidate を合成した。さらに、シリカゲルクロマトグラフィーで精製することで methyl (S)-2-(3,4-dichlorophenyl)-2-((S)-piperidin-2-yl)acetate (*threo-5*) (223mg, 13%) 及び methyl (S)-2-(3,4-dichlorophenyl)-2-((R)-piperidin-2-yl)acetate (*erythro-5*) (257mg, 15%) を得た。また、それぞれ得られた *threo-5* および *erythro-5* に 1M 塩酸メタノールで処理し、再結晶を行うことで、*threo-5* および *erythro-5* の塩酸塩を得た。

5. 違法ドラッグの中樞神経シナプス作用に関する薬理的評価法

—ラット初代培養ミクログリアを用いた合成カンナビノイド系危険ドラッグの薬理作用評価—

CB₂受容体選択的アゴニストである JHW015 および HU-308 はラット初代培養ミクログリアの ERK1, 2 のリン酸化を誘導し、このリン酸化は CB₂ 受容体選択的アンタゴニストである SR144528 で抑制された。ミクログリアを利用してウエスタンブロットイング法を用いて、合成カンナビノイドの CB₂ 受容体への作用を検出できることがわかった。

6. 違法ドラッグの脳波による作用評価に関する研究

1) 新規流通合成カンナビノイド 5-Fluoro-ADB のマウスの脳波に及ぼす作用に関する研究

5-Fluoro-ADB はマウスの自発運動量を有意に減少させ、その抑制作用は JWH-018 より強力であり、さらに長時間にわたり持続した。なお、5-Fluoro-ADB を投与後、4匹中1匹が死亡した。また、5-Fluoro-ADB 及び JWH-018 はマウスの脳波パターンに変化を与えたが、両化合物の脳波スペクトルに明らかな共通パターンはみられなかった。さらに、両化合物ともに、それぞれ自発運動量の抑制作用と脳波の周波数変化の発現時

間に相関はみられなかった。また、既報から、ラットの場合、合成カンナビノイドは、ある程度共通した脳波パターンの変化を起こすと考えられたが、マウスの場合、類似の脳波パターンはみられなかった。

2) 新規流通合成カンナビノイドの自発運動量に及ぼす作用に関する研究

測定 23 化合物中 15 化合物はマウスの自発運動量を有意に減少させ、アミドエステル類は、陽性対照である JWH-018 以上に強力または同程度の行動量抑制作用を示した。特に、MDMB-CHMINACA は投与後 4 匹中 2 匹が死亡した。これは、これまで検討を行った合成カンナビノイドの中で初めての死亡事例であった。また、今回検討した合成カンナビノイドの行動を観察したところ、アミドエステル類や NM-2201 など一部の化合物で投与後に痙攣、歩行失調、挙尾反応、四肢の硬直及び無動状態などが観察された。

7. 植物系違法ドラッグの基原種の特等に関する研究

1) 植物系危険ドラッグ製品のメタノール抽出残渣からの基原植物種の同定

「脱法ハーブ」製品のメタノール抽出残渣から、ダイレクトシーケンス、サブクローニング後のクローン・シーケンスにおいて、ラズベリー、アカクローバーが検出された。メタノール抽出残渣試料からの植物種の同定は可能であるが、これら製品群の特徴でもある複数種の植物の混合物という点では、主要な(植物材料として多く用いられている)植物種が優位に検出される傾向にあり、微量、少量の混入植物種の判定は困難であることが示唆された。

2) 分析依頼を受けた植物片の基原植物種の同定 I

メスカリンが検出された植物片の鑑定として葉緑体 DNA の 3 領域を分析し、塩基配列類似性を調査した。3 領域ともにサボテン科エキノプシス属

Echinopsis pachanoi (syn. *Trichocereus pachanoi*) “San Pedro”(和名なし) と高い類似性がみられたことから、本植物は上記植物であることが強く示唆された。また、本植物はメスカリン含有植物であることが知られている。なお、今回の分析では、各領域の電気泳動図で、いずれも単一のバンドが確認されている点、塩基配列の波形データにおいてピークの重なりなどが見られない点において、上記植物以外の植物種の DNA は増幅されなかったと考えられたことから、上記植物のみで構成されている製品であることも示唆された。

3) 分析依頼を受けた植物片の基原植物種の同定 II

検体 1~4 については総合的に判断してマメ科 オジギソウ属 *Mimosa tenuiflora* “Jurema”ジュレマであることが強く示唆された。また、検体 5~10 については総合的に判断してアカネ科 ボチョウジ属(サイコトリア属) *Psychotria viridis* “Chacrana”チャクルーナであることが強く示唆された。両植物種ともに DMT の含有が報告されている植物であった。また、これら製品は“Ayahuasca”アヤワスカと呼ばれる南米の先住民の幻覚性のある伝統薬の材料として知られており、これら植物種とモノアミンオキシダーゼ阻害物質を含む植物種と混合して用いられる。また、*Mimosa tenuiflora* で使用される部位は root bark と記載されており、今回分析した試料も根皮であると示唆された。

4) 分析依頼を受けた植物片の基原植物種の同定 III

分析した種子は総合的に判断してヒルガオ科 オオバアサガオ属 *Argyreia nervosa* (Hawaiian baby woodrose, Elephant creeper, Woolly morning glory, 銀葉朝顔(ギンヨウアサガオ, ギンバアサガオ), オオバアサガオ, オオバウラジロアサガオ)であることが強く示唆された。また、これら植物は LSA を含有する植物として知られている。

D. 結論

指定薬物制度に対応し、具体的な化合物や植物を指定薬物として指定する際に考えられる問題点を科学的に解決し、規制化に必要な評価手法及び科学的データを監視指導・麻薬行政に提供することを目的として、合成系及び植物系違法ドラッグについて以下の研究を行った。

違法ドラッグ製品 241 製品を入手し、60 種類の新規流通違法ドラッグ成分(合成カンナビノイド及びその関連化合物 21, フェチルアミン系化合物 7, カチノン系及びチオフェン系 19, その他化合物 13)を同定した。同定した 50 化合物のうち、2 化合物は新規化合物であり、平成 26 年度内に 37 化合物が指定薬物に指定された。平成 26 年に指定薬物に指定された 3,4-ジクロロメチルフェニデートは 2 つの活性中心を有し、4 種類の光学異性体が存在する。トレオ体とエリスロ体は、LC や GC 等のクロマトグラフィーにおいて別ピークとして検出されるため、ジアステレオマーについて鑑定分析用標品を確保することを目的として合成を行った。平成 24 年度から平成 26 年度までに指定薬物に指定された計 168 化合物について分析データを検討した結果、いくつかの化合物群で GC-MS もしくは LC-MS 分析を用いた確認分析には注意が必要であることが明らかとなり、複数の分析手法により、分析用標準品との保持時間、スペクトルデータの一致をもって、確認を行うことが重要であることが示された。脂溶性化合物の分離分析法の一つとして近年注目されている超臨界流体クロマトグラフィー質量分析法(SFC-MS)による合成カンナビノイド類及び実試料の分析法を検討した結果、SFC-MS は、GC-MS や LC-MS に続く第三の方法となり得ることが示唆された。危険ドラッグを指定薬物に指定する際には、中枢神経系へ作用を及ぼす蓋然性に関するデータが必要とされるため、*in silico*, *in vitro*, *in vivo* による活性未知危険ドラッグの薬理的評価手法を検討した。*In silico* 活性予測手法としては、カチノン系化合物に対する包括規制導入前後に新たに出現した 7 種類の包括範囲外長鎖アルキル

基を有するカチン系化合物を含む合計 35 化合物の活性値を組み入れた QSAR モデル式を構築した。In vitro 評価手法としては、新規流通合成カンナビノイド 26 化合物について、カンナビノイド CB₁及びCB₂受容体に対する結合親和性を評価した。また、過去に測定済化合物も含め 54 化合物について、構造と結合親和性の関係について評価した。その結果、特に平成 26 年度内に流通が目立った idole/indazole-carboxamide-methyl 3-methyl butanoate/methyl 3,3-dimethylbutanoate もしくは 3-methylbutanamide/3,3-dimethyl butanamide 構造 (5-fluoro-ADB, MDMB-CHMINACA 等) 及び indole/indazol-carboxylate ester-naphthyl/quinolinyl 構造(5-fluoro-QUPIC, QUCHIC 等)を有する化合物群は、カンナビノイドCB₁受容体に対する結合親和性が極めて高く、健康被害が懸念された。In vitro 評価手法としては、まず、23 種類の合成カンナビノイド投与マウスの自発運動量変化を検討した結果、15 化合物において自発運動量を有意に減少させ、特に、MDMB-CHMINACAは投与後 4 匹中 2 匹が死亡した。また、アミドエステル類は、陽性対照である JWH-018 以上に強力または同程度の行動量抑制作用を示したが、この結果は、受容体親和性評価の結果に矛盾しないものであった。なお、一部の化合物で投与後に痙攣、歩行失調、挙尾反応、四肢の硬直及び無動状態などが観察され、これら薬物による健康被害が懸念された。合成カンナビノイド 5-fluoro-ADB および JWH-018, 大麻活性成分 Δ^9 -THC のマウス脳における神経活動マーカー遺伝子(*c-fos* m-RNA)発現への影響を検討した結果、共通して扁桃体中心核(CeA)の *c-fos* 発現の上昇を誘発した。また、 Δ^9 -THCとは異なり、5-fluoro-ADB, JWH-018 の投与は室傍核(PVN)や視索上核(SO)における顕著な *c-fos* 発現の上昇も誘導した。従って、PVN や SO の *c-fos* 発現を指標にすることで、 Δ^9 -THC と 5-fluoro-ADB および JWH-018 の作用を区別できると考えられた。さらに、全脳活動マッピングの結

果から、5-fluoro-ADB および JWH-018 は Δ^9 -THC よりも大きな影響を脳活動に与えると推定された。CB₂受容体選択的アゴニストである JHW-015 及び HU-308 はラット初代培養ミクログリアの ERK1, 2 のリン酸化を誘導し、このリン酸化はCB₂受容体選択的アンタゴニストである SR144528 で抑制された。ミクログリアを利用してウエスタンブロッティング法を用いて、合成カンナビノイドの CB₂ 受容体への作用を検出できることがわかった。5-Fluoro-ADB 及び JWH-018 を、マウスの腹腔内に投与し、脳波および自発運動量の変化について検討した結果、5-Fluoro-ADB は投与後、マウスの自発運動量を有意に減少させ、4 匹中 1 匹が死亡した。その抑制作用は JWH-018 より強力であり、さらに長時間にわたり持続した。また、5-Fluoro-ADB 及び JWH-018 はマウスの脳波パターンに変化を与えたが、両化合物の脳波スペクトルに明らかな共通パターンはみられず、それぞれ自発運動量の抑制作用と脳波の周波数変化の発現時間に相関はみられなかった。

植物系危険ドラッグ製品については、遺伝子分析による植物基原種同定に関する検討を行い、微量・少量の混入植物種の判定は困難であるが、化学分析に用いた製品のメタノール抽出残渣試料を用いても植物種の同定は可能であることを示した。また、向精神活性を有する植物成分、メスカリン、DMT, LSA が各々検出された植物製品から植物の基原種を同定し、同定した植物種にはそれぞれの成分の含有が報告されていることを確認した。

上記の研究結果の一部は、平成 27 年 3 月 24 日、2 月 17 日、1 月 29 日、平成 26 年 12 月 25 日、11 月 17 日、10 月 23 日、9 月 16 日及び 7 月 31 日及びに厚生労働省が開催した薬事・食品衛生審議会の指定薬物部会において、また 7 月 25 日緊急施行された特例指定において、問題となる薬物を指定薬物に指定するための判断根拠となる科学的データとして提示された。また、その審議結果をうけ、薬事法第 2 条第 14 項

に規定する指定薬物及び同法第 76 条の 4 に規定する医療等の用途を定める省令の一部を改正する省令により新たに指定薬物として合計 95 物質(平成 26 年 4 月 5 日施行分を含む, 平成 27 年 3 月 24 日審議分を除く)が新たに指定薬物として追加された。また, 上記新規指定薬物について, 本研究において検討した分析データを参照して国立衛研が取りまとめ, 厚生労働省監視指導・麻薬対策課長通知として, 標準分析法 9 報を全国に発出した。(平成 26 年 7 月 7 日厚生労働省監視指導・麻薬対策課長通知薬食監麻発 0707 第 1 号, 平成 26 年 8 月 25 日薬食監麻発 0825 第 2 号, 平成 26 年 10 月 20 日薬食監麻発 1020 第 3 号, 平成 26 年 10 月 20 日薬食監麻発 1020 第 4 号, 平成 26 年 11 月 27 日薬食監麻発 1127 第 1 号, 平成 26 年 11 月 27 日薬食監麻発 1127 第 3 号, 平成 27 年 1 月 6 日薬食監麻発 0106 第 4 号, 平成 27 年 2 月 9 日薬食監麻発 0209 第 3 号, 平成 27 年 3 月 3 日薬食監麻発 0303 第 7 号「指定薬物の測定結果等について」)。

さらに, 研究成果の一部については, 平成 27 年 1 月 16 日に, 厚生労働省の依頼により国立衛研で開催した「平成 26 年度指定薬物分析研修会議」(全国 46 都道府県の地方衛生研究所から 60 名が参加)において説明を行った。また, 厚生労働省を通じて, 地方衛生研究所及び科学捜査研究所等各検査機関へ分析用標品を交付した。その他, 厚生労働省を通して正式な依頼を受け, 地方衛生研究所等の公的分析機関から送付された違法ドラッグ製品について含有成分分析を実施した。さらに, 平成 26 年度は, 本研究をもとに測定した GC-MS, LC-PDA-MS の分析データを使用して, 国立医薬品食品衛生研究所違法ドラッグデータ閲覧システムを構築し, 公的分析機関に公開した。本データベースを使用して, 化合物名(一般名, 通称, IUPAC 名等), CAS No., 分子式, 分子量, モノアイソトピック質量, GC-EI-MS の代表的なフラグメントイオン,

LC-ESI-MS のプロトン付加分子イオン及び代表的なフラグメントイオン等から化合物情報が検索可能であり, 含有製品検索も可能となっている。平成 27 年 2 月 28 日の時点で, 国立衛研で分析を行った 656 化合物(PDE5 阻害剤を含む)及び 1980 製品に関する情報を収載しており, 平成 26 年 12 月末時点で, 国内機関 260, 国外機関 17 機関(部署)が登録している。

以上, 本研究結果は, 厚生労働省の監視指導行政に直接貢献する研究であり, 国の違法ドラッグ対策に即したものと考えられる。

E. 健康危機情報

5F-ADB や MDMA-CHIMINACA などに代表される idole/indazole-carboxamide-methyl 3-methylbutanoate/methyl 3,3-dimethylbutanoate もしくは 3-methylbutanamide/3,3-dimethylbutanamide 構造, 5F-QUPIC などに代表される indole/indazol-carboxylate ester-naphthyl/quinolinyll 構造を有する化合物群は, 極めてカンナビノイド CB₁ 受容体に対する結合親和性が高い。また, 5F-ADB や MDMA-CHIMINACA においては, 薬物投与マウスの死亡が確認され, これら化合物群のヒトへの健康被害が懸念された。

F. 研究発表

1. 学会・講演発表

- 1) Kikura-Hanajiri R: Changes in the prevalence of new psychoactive substances before and after the introduction of the generic scheduling of synthetic cannabinoids in Japan. NEW DRUGS 2014, Scientific and Technical Update on New Psychoactive Substances, (14th-15th May 2014, Rome, Italy)
- 2) Kikura-Hanajiri R., Uchiyama N., Hakamatsuka T.: Studies on binding affinities of newly emerging synthetic cannabinoids at the cannabinoid CB₁ and CB₂ receptors. The III International Conference on Novel

- Psychoactive Substances (15-16th May 2014, Rome, Italy).
- 3) Uchiyama N., Kikura-Hanajiri R., Aritake K., Hakamatsuka T., Urade Y. Changes in electroencephalogram power spectra and locomotor behaviour in rats exposed to synthetic cannabinoids. 3rd International Conference on Novel Psychoactive Substances. (15th-16th May 2014, Italy, Rome).
 - 4) 花尻(木倉)瑠理:違法ドラッグ(いわゆる脱法ドラッグ)の流通実態と分析法について. 法医中毒研究会(2014. 6, 福岡)
 - 5) Ruri Kikura-Hanajiri: The Emergence of New Psychoactive Substances in Japan. ISALM2014 (20th June 2014, Fukuoka)
 - 6) 花尻(木倉)瑠理:海外の脱法ドラッグ事情と日本における流通実態, 社会安全フォーラム「我が国の薬物対策の今とこれから～脱法ドラッグの脅威への対処に向けて～」(2014.7, 東京).
 - 7) Sato K., Shigemoto-Mogami Y., Hoshikawa K., Goldman J.E., Sekino Y.: The Discovery of a Population of Microglia Which Enhance Neurogenesis and Oligodendrogenesis in the Early Postnatal SVZ, 9th FENS forum of neuroscience, (2014.7, Milan, Italy) .
 - 8) Kikura-Hanajiri R., Uchiyama N., Hakamatsuka T.: The binding affinities of synthetic cannabinoids newly emerged as alternatives to marijuana at the cannabinoid CB₁ and CB₂ receptors. 50th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2014) (7th- 10th September 2014, Edinburgh, UK).
 - 9) Shigemoto-Mogami Y., Hoshikawa K., Sekino Y., Sato K.: Development of in vitro blood-brain barrier model including microglia, Neuroscience2014, (2014.9, Yokohama).
 - 10) Kasahara Y., Fujimori K., Miura M., Mogami Y., Sekino Y., Sato K., Suzuki T.: Comparison of the effects of antidepressants on the microglial activation in LPS-inflammation model, Neuroscience2014, (2014.9, Yokohama).
 - 11) 入江智彦, 花尻(木倉)瑠理, 宇佐見誠, 内山奈穂子, 合田幸広, 関野祐子: 新規違法ドラッグ MAM-2201 は CB1 受容体を介して神経伝達を強力に抑制し, 複雑スパイク誘発性の細胞内 Ca²⁺上昇を減弱させる, Neuro2014 (2014.9, 神奈川)
 - 12) Sato K., Takahashi K., Shigemoto-Mogami Y., Ohtsu K., Kanemura Y., Shofuda T., Fukusumi H., Okada Y., Okano H., Shirao T., Sekino Y., Sato K.: Search for the human induced pluripotent stem cell-derived neurons capable of detecting the CNS-specific toxicity, SPS 14th annual meeting, (2014.10 Washington D.C., USA).
 - 13) Kikura-Hanajiri R., Kawamura M., Maebashi K., Matsumoto S., Iwadate K., Hakamatsuka T.: Screening and quantitative analyses of newly-emerged psychoactive substances in 4 fatal cases using UPLC-MS/MS. TIAFT2014 (9th-13th November 2014, Buenos Aires, Argentina)
 - 14) Uchiyama N., Shimokawa Y., Aritake K., Kikura-Hanajiri R., Hakamatsuka T., Urade Y. Six newly-distributed synthetic cannabinoids, including FDU-NNEI, in illegal products and their effects on locomotor activity in mice. TIAFT2014 (9th-13th November 2014, Buenos Aires, Argentina).
 - 15) 河村麻衣子, 内山菜穂子, 花尻(木倉)瑠理, 袴塚高志:平成 25 年度危険ドラッグ製品の全国買い上げ調査について. 第 51 回全国衛生化学技術協議会年会(2014. 11, 別府)
 - 16) 村田さつき, 新谷依子, 高橋浩司, 堀就英,

- 小木曾俊孝, 梶原淳睦, 花尻(木倉)瑠理:
平成 24-25 年度福岡県における危険ドラッグ
製品の買い上げ調査結果. 第 51 回全国衛
生化学技術協議会年会 (2014. 11, 別府)
- 17) Sato K., Shegemoto-Mogami Y, Hoshikawa
K., Sekino Y.: Microglia accelerate the
maturation of barrier function of blood brain
barrier, SfN2014, (2014.11 Washington D.C.,
USA).
- 18) 豊岡利正, 花尻(木倉)瑠理, 池田日高: 超
臨界流体クロマトグラフィー質量検出法
(SFC-MS)による危険ドラッグの分析, 第 25
回クロマトグラフィー科学会議, (2014.12, 京
都).
- 19) 入江智彦, 花尻(木倉)瑠理, 宇佐見誠, 内
山奈穂子, 合田幸広, 関野祐子: 新規違法
ドラッグ MAM-2201 は CB1 受容体を介して
神経伝達を強力に抑制し, 複雑スパイク誘発
性の細胞内 Ca^{2+} 上昇を減弱させる, 生理研
究学会「シナプス・神経ネットワークの機能
ダイナミクス」(2014.12, 愛知)
- 20) 花尻(木倉)瑠理: 日本における危険ドラッグ
の流通実態. 第 5 回日本中毒学会九州地方
会 (2015.1, 福岡)
- 21) 河村麻衣子, 花尻(木倉)瑠理, 前橋恭子,
杉本紗里, 岩楯公晴, 袴塚高志: LC-MS/MS
を用いたヒト生体試料中危険ドラッグ成分の
スクリーニングおよび定量分析. 日本薬学会
第 135 年会 (2015.3, 神戸).
- 22) 内山奈穂子, 河村麻衣子, 花尻(木倉)瑠理,
合田幸広, 袴塚高志 2014 年度危険ドラッグ
製品流通実態調査により検出された新規流
通成分の同定 日本薬学会第 135 年会
(2015.3, 神戸).
- 23) 豊岡利正, 花尻(木倉)瑠理, 轟木堅一郎,
井之上浩一, 関俊哲, 池田 日高: 超臨界流
体クロマトグラフィー質量検出法 (SFC-MS)
による合成カンナビノイド類の分析と実試料
への応用, 日本薬学会第 135 年会, 神戸
(2015. 3, 神戸).
- 24) 最上(重本)由香里, 干川和枝, 関野祐子,
佐藤薫: ミクログリアの活性状態に依存した血
液脳関門のバリア機能への影響, 日本薬学
会 第 135 年会, (2015.3, 神戸).
2. 論文発表
1. Kikura-Hanajiri R., Uchiyama N., Kawamura
M., Goda Y.: Changes in the prevalence of
new psychoactive substances before and after
the introduction of the generic scheduling of
synthetic cannabinoids in Japan. *Drug Test.
Anal.*, 6(7-8), 832-839 (2014).
2. 花尻(木倉)瑠理: 海外の脱法ドラッグ事情と
日本における流通実態. 警察学論集,
67(12), 129-148 (2014).
3. 花尻(木倉)瑠理, 内山奈穂子: 「薬毒物情
報インデックス」鈴木修, 大野洋吉, 須崎伸
一郎, 花尻(木倉)瑠理監修, 日本医事新報
社, 東京, P537-716 (2014).
4. Uchiyama N., Shimokawa Y., Kawamura M.,
Kikura-Hanajiri R., Hakamatsuka T.:
Chemical analysis of a benzofuran
derivative,
2-(2-Ethylaminopropyl)benzofuran
(2-EAPB), eight synthetic cannabinoids, five
cathinone derivatives and five other designer
drugs newly detected in illegal products.
Forensic Toxicol. 32(2), 266-281 (2014).
5. Takayama T., Suzuki M., Inoue K., Todoroki
K., Min J. Z., Kikura-Hanajiri R., Goda Y.,
Toyo'oka T.: UPLC-ESI-MS/MS based
determination of metabolism of several new
designated substances, ADB-FUBINACA,
AB-FUBINACA, AB-PINACA, QUPIC,
5F-QUPIC and α -PVT, by human liver
microsome. *Biomed. Chromatogr.*, 28(6),
831-838 (2014).
6. Shigemoto-Mogami Y., Hoshikawa K.,

- Goldman JE., Sekino Y., Sato K.: Microglia enhance neurogenesis and oligodendrogenesis in the early postnatal subventricular zone, *J. Neurosci.*, 34(5), 2231-2243 (2014).
7. Irie T., Matsuzaki Y., Sekino Y., Hirai H.: Kv3.3 channels harboring a mutation of spinocerebellar ataxia type 13 alter excitability and induce cell death in cultured cerebellar Purkinje cells. *J. Physiol.*, 592(Pt1), 229-247 (2014).
 8. Kikura-Hanajiri R.: The detection of mitragynine and its analogs. Edited by Raffa, Robert B, Kratom and Other Mitragynines (2015), 153-165.
 9. 花尻(木倉)瑠理: 危険ドラッグの規制と流通実態について. *薬剤学*, 75(2), 121-127 (2015).
 10. 花尻(木倉)瑠理: 危険ドラッグの流通実態の把握と流通予測. *公衆衛生*, 79(4), 255-258 (2015).
 11. Uchiyama N., Shimokawa Y., Kikura-Hanajiri R., Demizu Y., Goda Y., Hakamatsuka T.: A synthetic cannabinoid FDU-NNEI, two 2H-indazole isomers of synthetic cannabinoids AB-CHMINACA and NNEI indazole analog (MN-18), a phenethylamine derivative N-OH-EDMA, and a cathinone derivative dimethoxy- α -PHP, newly identified in illegal products, *Forensic Toxicol.* Online available, DOI 10.1007/s11419-015-0268-7 (2015).
 12. Fujieda T., Koganezawa N., Ide Y., Shirao T., Sekino Y.: An inhibitory pathway controlling the gating mechanism of the mouse lateral amygdala revealed by voltage-sensitive dye imaging, *Neurosci. Lett.*, 590, 126-131 (2015).
 13. Fujimori K., Takaki J., Miura M., Shigemoto-Mogami Y., Sekino Y., Suzuki T., Sato K.: Paroxetine prevented the down-regulation of astrocytic L-Glu transporters in neuroinflammation, *J. Pharamcol. Sci.*, 127(1), 145-149 (2015).
 14. Fuchigami Y., Fu X., Ikeda R., Kawakami S., Wada M., Kikura-Hanajiri R., Kuroda N., Nakashima K.: Evaluation of the neurochemical effects of methoxetamine using brain microdialysis in mice, *Forensic Toxicol.* Online available, DOI 10.1007/s11419-015-0267-8 (2015).
 15. Irie T., Kikura-Hanajiri R., Usami M., Uchiyama N., Goda Y., Sekino Y.: MAM-2201, a synthetic cannabinoid drug of abuse, suppresses the synaptic input to cerebellar Purkinje cells via activation of presynaptic CB1 receptors. *Neuropharmacology.*, in press (2015).
- G. 知的所有権の取得状況
1. 特許取得
特になし
 2. 実用新案登録
特になし
 3. その他
特になし

分担研究課題:違法ドラッグ製品の分析法の開発,成分分析,分析標準品の調製

分担研究者:花尻(木倉)瑠理 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 室長

—GC-MS 及び LC-MS 分析で注意が必要な指定薬物について—

研究要旨: 主に平成 24 年度以降に指定薬物に指定された 168 化合物を中心に,分析上注意が必要な化合物(群)について分析データの検討を行った。その結果,①テトラメチルシクロプロピル基を有する合成カンナビノイドの GC-MS 分析による分解,②カルボン酸エステル構造を有する合成カンナビノイドの GC-MS 分析による分解,③一級アミンを有するフェネチルアミン類の GC-MS 分析によるホルミル体[M+18]⁺の形成,④NBOH シリーズ化合物の GC-MS 分析による 2C シリーズ化合物への分解,⑤ 3-MeO-PCP の GC-MS 分析による分解,⑥メチルフェニデート及びその構造類似化合物の GC-MS 分析による分解及び溶液中における異性化,⑦アミノプロピルベンゾフラン構造を有する危険ドラッグの各異性体識別法などに注意が必要であることが示された。また, BiPICANA 及び CHMINACA-BA のように, GC-MS では分析が困難な化合物も存在した。指定薬物総数は, 2015 年 2 月末時点で 1454 物質となり, その他にも未規制構造類似体や異性体が多く存在する。複数の分析手法により, 分析用標準品との保持時間, スペクトルデータの一致をもって, 化合物の確認を行うことが重要であると思われる。

協力研究者

河村麻衣子 国立医薬品食品衛生研究所
生薬部

田中理恵 国立医薬品食品衛生研究所
生薬部 主任研究官

最所和宏 国立医薬品食品衛生研究所
生薬部 主任研究官

析データを整備し, 厚生労働省監視指導・麻薬対策課長通知として, 国内の公的分析機関へ情報提供を行っている。しかし, 1454 種類にも及ぶ指定薬物の物性は多岐多様にわたり, 中には従来の GC-MS や LC-MS では分析が困難な化合物(群)も存在する。

本研究では, 平成 24 年度から平成 26 年度(2 月)までに指定薬物に指定された計 168 化合物(麻薬に指定された物質を含む, 包括指定化合物数を除く)に焦点をあて, GC-MS もしくは LC-MS 分析において, 分解が認められる, 異性体との識別が困難である等, 注意が必要な化合物群の分析データをまとめた。

A. 研究目的

平成 24 年度以降, 指定薬物数も増大し, 平成 27 年 2 月末時点で, 1454 物質(麻薬に指定された化合物を除く, 包括指定化合物数を除く)にも及ぶ。特に, 平成 26 年 6 月末に危険ドラッグが関与した自動車暴走事件以後, 指定薬物指定化が加速し, 7 月から平成 27 年 2 月末までの 8 ヶ月間で指定薬物として規制された物質は 85 物質にも及ぶ。国立衛研では, 新規に指定薬物に指定された物質について, GC-MS 及び LC-MS の分

B. 研究方法

1. 測定物質

平成 24 年度以降に指定薬物として個別に指定された 168 物質(麻薬に指定された化合物を含