

む):トリプタミン類 1 物質, フェネチルアミン類(チオフェン類, ベンゾフラン類, アミノインダン類, *N*-ベンジル誘導体を含む)26 物質, カチノン誘導体(チオフェン類含む)44 物質, ピペラジン類 2 物質, 合成カンナビノイド 79 物質, その他 16 物質を対象とした. 各物質の 0.1 mg/mL メタノールもしくはアセトニトリル溶液を分析に供した.

2. 分析方法

① GC-MS 測定条件

(監視指導・麻薬対策課長通知薬食監麻発第 0521002 号と同法, 注入口温度の変更あり.)

測定機器:GC-MS (6890N GC / 5975 MSD, Agilent 社製)

カラム:HP-1MS (30 m × 0.25 mm i.d., 膜厚 0.25 μm, Agilent 社製)

キャリアーガス:He, 0.7 mL/min

注入口温度:220°C (分析により 200~250°C に変更), スプリットレス, トランスファーライン温度:280°C, イオン化法:EI 法

カラム温度:80°C (1 min hold)-5°C/min-190°C (15 min hold)-10°C/min-310°C (10 min hold)

② LC-PDA-MS 測定条件 1

測定機器:LC-MS (ACQUITY UPLC/ SQD, Waters 社製)

カラム:ACQUITY HSS T3 (2.1 mm x 100 mm, 1.8 μm), Van Guard column (2.1 mm x 5 mm, 1.8 μm) (Waters 社製)

移動相:A 0.1%ギ酸, B 0.1%ギ酸アセトニトリル

A/B: 95/5-80/20 (20 min)-20/80 (30 min, 10 min hold), 流速:0.3 mL/min, 注入量:1 μL

検出:ダイオードアレイ検出器 (PDA, 検出波長 210-450 nm), 質量検出器 (MS)

質量分析条件:イオン化法:ESI 法, ポジティブモード, コーン電圧:30 V, キャピラリー電圧:2500 V, スキャン範囲 m/z 120-650

③ LC-MS 測定条件 2

LC 条件

カラム:ACQUITY BEH Phenyl (2.1×100 mm,

1.7 μm) (Waters)

移動相:A 10 mM 酢酸アンモニウム緩衝液, pH4.5), B アセトニトリル

A/B: 97/3 (0-25 min) - 65/35 (45 min)

MS 条件

質量分析条件:イオン化法:ESI 法, ポジティブモード, コーン電圧:30V, キャピラリー電圧:3000V, スキャン範囲 m/z 120-650

C. 結果及び考察

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

Shevyrin らは, 2,2,3,3-テトラメチルシクロプロパンカルボニル構造を有する合成カンナビノイドの GC-MS 分析における熱分解物について論じている[1]. これらの化合物は, GC-MS 分析において, トータルイオンクロマトグラム上, いずれも化合物ピークの直後に, マイナーピークが検出される. このマイナーピークは注入口温度を下げることで減少するが, 完全になくなることはない. 一方, UR-144 を 180°C に加熱すると熱分解物が検出されるが, この分解物は GC-MS 分析において検出されたマイナーピークと完全に一致する. NMR により構造を決定したところ, シクロプロピル基が開環した構造 (Fig. 2) であることが明らかとなっている[1].

Fig. 1 に, 麻薬もしくは指定薬物として規制されているテトラメチルシクロプロピル基を有する主な合成カンナビノイド類の構造を示した. これらの化合物を GC-MS 分析した際, いずれにおいても, 上述した通り, トータルイオンクロマトグラム上, 化合物ピークの直後に, シクロプロピル基が開環した分解物ピークが検出された. Fig. 2 に, UR-144 メタノール溶液を GC-MS で分析した際の TIC 及び UR-144 と分解物ピークのマススペクトルを示した. Fig. 3 には, XLR-11, FUB-144, A-834,735 の各化合物と分解物のマススペクトルを示した.

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

カルボン酸エステル構造を有する合成カンナビノイドは、特にメタノール等のアルコール系溶媒を用いると、GC-MS 分析において、8-キノリニルキ基やヒドロキシナフチル基が脱離した分解物のアルキルエステル体(メタノールを使用した場合はメチルエステル体)が主に検出される[2]。Fig. 4 に、麻薬もしくは指定薬物として規制されているカルボン酸エステル構造を有する合成カンナビノイド類の構造を記載した。また、Fig. 5 には QUPIC のメタノール溶液を GC-MS で分析した際の TIC 及び化合物と分解物のマススペクトルを示した。さらに Fig. 6 には 5F-QUPIC, QUCHIC, FUB-PB-22, FUB-NPB-22 及び各分解物のマススペクトルを示した。

通常、GC の注入口は高温に加熱され、かつシラノール基が存在する可能性が高いガラスインサートやガラスウールが存在するため、試料の熱分解が起こりやすい環境にある。辻川らは、QUPIC の GC-MS 分析による熱分解を検討し、熱分解抑制には、スプリットレス法からスプリット法への注入法の変更、ガラスインサートを不活性か処理済みの新品に交換すること、及び溶解溶媒をアルコール系ではなくアセトン等に変更することが有効であることを示している[3]。

いわゆる「ハーブ製品」から様々な物性を有する危険ドラッグ成分を抽出する際、溶解性が高いメタノールを用いることが多い。この抽出液をフィルターろ過して GC-MS の分析に用いると、上述した通り、分解物が主に検出される。逆に、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含有が疑われた場合は、分解物の確認をすることで、より確実な情報を得られる場合がある。しかし、特にメタノールを溶媒として使用すると、熱分解のみならず、保存時に分解が認められるため、保存には、溶解溶媒としてアセトニトリル等を用いることが重要である。

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の形成

一級アミンを有する一部のフェネチルアミン類は、GC-MS 分析において、メタノール溶液中、ホルミアルデヒド付加体を形成し、その後脱水がおき、 $[M+12]^+$ のイオンを有する化合物(ホルミル体)を生成することがある[4]。ホルムアルデヒドは、GC の注入口においてメタノールから熱により生成すると考えられている。指定薬物においても、2C-C 等の 2C シリーズ(2,5-ジメトキシフェネチルアミン類)や 4-APDB など一級アミンを有する化合物で確認されている(Fig. 7)。ホルミル体のピークは、Fig. 7 に示した通り、注入口温度を 20°C 上昇させただけで、主ピークとなるため、注意が必要である。

4. GC-MS では分析が困難な指定薬物

4-1. GC-MS では検出困難な化合物

指定薬物の中には、GC-MS で分析が困難な化合物が存在する。CHIMINACA-BA(平成 26 年 9 月 29 日より規制, Fig. 8)は、GC-MS 分析により化合物を確認することが可能なピークを得ることは困難であった。構造中にカルボン酸を有しているため、熱による脱炭酸等の反応が起きるものと考えられる。本化合物を GC-MS を用いて分析する場合には、適当な誘導体化を行う必要があると考えられる。また、BiPICANA(平成 26 年 8 月 25 日より規制, Fig. 8)については、GC-MS 分析において、注入口及びカラム温度を高くしてもピークは得られなかった。指定薬物の中では最も大きい質量を有する化合物のひとつであり、気化しにくいと考えられる。Fig. 8 に両化合物の構造及び LC-PDA-MS 分析における UV, ESI マススペクトルを示す。

4-2. NBOH 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

25I-NBOH や 25C-NBOH などの NBOH シリーズ化合物は、麻薬及び指定薬物である 2C-I や 2C-C の *N*-(2-ヒドロキシベンジル)誘導体で

ある。GC-MS 分析により完全に分解し、トータルイオンクロマトグラム上では、2C-I 及び 2C-C などの 2C シリーズ (2,5-ジメトキシフェネチルアミン類) の化合物のみが検出される。LC-MS 分析においては、それぞれの化合物が検出されるため問題はないが、GC-MS 分析においては、NBOH シリーズの化合物と 2C シリーズの化合物の識別は困難である。GC-MS 上で 2C シリーズの化合物が検出された場合は、LC-MS 等、その他の分離分析手法を用いて、NBOH シリーズの化合物か、2C シリーズの化合物かを確認する必要があると考えられる。

5. PCP メトキシ誘導体の GC-MS 分析による分解

平成 24 年度以降、NMDA 型グルタミン酸受容体に対しアンタゴニストとして働く化合物群:メキセタミン(平成 24 年 7 月 1 日より指定薬物として規制)、ジフェニジン(平成 26 年 8 月 25 日より規制)、2-メキシジフェニジン(平成 26 年 9 月 29 日より規制)、メキシケタミン、3-メキシフェンシクリジン(3-MeO-PCP, 平成 26 年 8 月 25 日より規制) 及び 3-メキシフェンシクリジン(4-MeO-PCP, 平成 26 年 9 月 29 日より規制)等が危険ドラッグ市場に流通している。これらの化合物は、NMDA 型グルタミン酸受容体に対し極めて強い結合親和性を有することが明らかになっており[5]、特にジフェニジンにおいては、日本において、本化合物が関与したことが示唆される死亡例も散見されている。

3-MeO-PCP 及び 4-MeO-PCP について GC-MS 分析を行った結果、3-MeO-PCP においては化合物ピークのみが検出されるが、4-MeO-PCP については、化合物ピークとともに、ピペリジン環脱離体と推定される分解物が主ピークとして検出された (Fig. 10)。メキシ基の位置が異なるだけでも、熱による安定性が異なり、条件によっては、4-MeO-PCP のピークが検出されにくいため、注意が必要であると考えられる。

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

向精神薬メチルフェニデートは強い中枢興奮作用を有し、日本においては、麻薬及び向精神薬取締法別表第三の向精神薬(第一種向精神薬)として規制される薬物である。一方、リタリンの商品名でナルコレプシーの治療薬(錠剤及び散剤、ノバルティスファーマ)として、またコンサータの商品名で注意欠陥/多動性障害(AD/HD)の治療薬(徐放錠、ヤンセンファーマ)として処方される医療用医薬品でもある。リタリンは、過去にうつ病に対する効能効果が適用されていたが、長期多量摂取による依存症、また不正譲渡や不正販売による乱用が大きな社会問題となり、平成 19 年 10 月に、適応症から難治性・遷延性うつ病が削除された。近年、このメチルフェニデートの構造類似化合物が危険ドラッグ市場に流通している。平成 25 年 1 月にはエチルフェニデートが、平成 26 年 4 月には 3,4-ジクロロメチルフェニデートが、指定薬物として規制された。その後も、メチルナフチデート、イソプロピルフェニデート等、複数の構造類似化合物の流通が認められている(各構造については Fig 11 及び Fig. 12 を参照)。

メチルフェニデートについては、GC 分析時に一部が熱分解をおこし、ピペリジン環脱離体を生成することが報告されている[6]。そこで、メチルフェニデート及びその構造類似体計 4 化合物について、GC-MS 分析時における分解物の生成を検討した。Fig.11 に各化合物の GC-MS の TIC 及び検出されたピークのマススペクトルを示した。本分析条件においては、メチルフェニデート及びエチルフェニデートのピペリジン環脱離体と推定される分解物(ピーク 2)の生成は少なく、 m/z 84(ピペリジウムイオン)をベースピークとした各化合物が主ピーク(ピーク 1)であった。また、化合物ピークにおいては、ピペリジン環脱離体の m/z 150(メチルフェニデート)及び m/z 164(エチルフェニデート)とともに、[M-1]イオンである m/z 232 及び m/z 246 が弱いながらもそれぞれ認められた。

一方、メチルナフチデートにおいては、化合物ピーク(ピーク 1)は小さく、ピペリジン環脱離体と推定される分解物(ピーク 2)が主ピークであり、3, 4-ジクロロメチルフェニデートにおいては、化合物ピークは認められず、ピペリジン環脱離体と推定される分解物のみが認められた。

これらの化合物は、構造中に2つの活性中心を有し、それぞれ4種類の光学異性体が存在する。そのうち、スレオ体とエリスロ体はGCやLCのクロマトグラフィーにより、分離することが予測される。実際、3, 4-ジクロロメチルフェニデートのスレオ体とエリスロ体を合成し[7]、条件2においてLC-PDA-MS分析を行うと、それぞれUVスペクトル及びマススペクトルは一致するが、保持時間が異なる(Fig. 12)。なお、メチルフェニデートとエタノールを同時に摂取すると、エステル交換が起こり、ヒト生体内においてエチルフェニデートが生成することが報告されている[8]。エステル交換は、アルコール中でも進行し、この際に異性化が起こることが予想される。そこで、3,4-ジクロロメチルフェニデートのスレオ体について、メタノール中で6ヶ月以上保管した溶液をLC-MSで分析した。その結果、エリスロ体の生成が認められた(Fig. 13)。従って、これらフェニデート系の化合物の溶液状態における長期保存には注意が必要だと思われる。

7. アミノプロピルベンゾフラン(APB)構造を有する化合物の識別法

アミノプロピルベンゾフラン構造を有する化合物のひとつ5-APBは、「研究用試薬(research chemical)」として、2010年に最初に英国において流通が報告された。それ以来、その異性体が続々と危険ドラッグ市場に登場し、日本においても、2-APB及び6-APBが指定薬物として規制されている。APB類の5種類の異性体、2-, 4-, 5-, 6-, 7-APBにおいて、実験方法に記載されている条件で、GC-MS及びLC-MS分析を行った結果、ESIのフラグメントイオン強度比に多少の差はあ

ったものの、EIマススペクトル及びUVスペクトルにはほとんど差異が認められず、特に、5-APB及び6-APBについては、GC及びLC分析の双方で極めて近い保持時間を示した(Fig. 14)。同様のカラムを用いて、GCの昇温条件やLCのグラジエント条件を検討しても、完全分離は困難であった。Stanczuk A.らのグループも、GC-MS分析においては、特に5-と6-APBを識別することは困難であることを報告している。また、各化合物を誘導体化し、ヘプタフルオロ絡酸アミド(HFB)体とすると、7-APBの誘導体はその他の異性体の誘導体と、マススペクトルのフラグメントイオン強度比が異なること、また、誘導体においては、5-と6-APBも分離識別が可能であることを報告している[9]。さらに、LC分析において、フェニルヘキシルカラムを用いた場合、4-, 5-, 6-, 7-APBは保持時間が近いながらも分離可能であることを示している[9]。そこで、本研究においても、フェニルカラムを用いてLC-MS分析を検討した。その結果、分析条件2で5-APB(23.58 min)、6-APB(22.01 min)、7-APB(24.76 min)と、良好に分離した。上記の結果より、5-APBと6-APB(指定薬物)を確実に識別するためには、GC-MS分析においては誘導体化を行うこと、LC分離分析においては、フェニルカラム等を使用することが推奨された。

D. 結論

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、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。指定薬物総数は, 2015 年 2 月末時点で 1454 物質となり, その他にも未規制の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。

E. 参考文献

- 1) V. Shevyrin, V. Melkozerov, A. Nevero, O. Eltsov, Y. Morzherin, Y. Shafran, Identification and analytical properties of new synthetic cannabimimetics bearing 2,2,3,3-tetramethylcyclopropanecarbonyl moiety. *Forensic Sci. Int.* 226, 62–73 (2013).
- 2) N. Uchiyama, S. Matsuda, M. Kawamura, R. Kikura-Hanajiri, Y. Goda, Two new-type cannabimimetic quinolinyl carboxylates, QUPIC and QUCHIC, two new cannabimimetic carboxamide derivatives, ADB-FUBINACA and ADBICA, and five synthetic cannabinoids detected with a thiophene derivative α -PVT and an opioid receptor agonist AH-7921 identified in illegal products. *Forensic Toxicol.* 31, 223-240 (2013).
- 3) K. Tsujikawa, T. Yamamuro, K. Kuwayama, T. Kanamori, Y. T. Iwata, H. Inoue, Thermal degradation of a new synthetic cannabinoid QUPIC during analysis by gas chromatography–mass spectrometry. *Forensic Toxicol.* 32, 201-207 (2014).
- 4) C. Köppel, J. Tenczer, K. M. Peixoto-Menezes, Formation of formaldehyde adducts from various drugs by use of methanol in a toxicological screening procedure with gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. B*, 563, 73–81(1991).
- 5) B. L. Roth, S. Gibbons, W. Arunotayanun, Xi-P. Huang, V. Setola, R. Treble, L. Iversen, The Ketamine Analogue Methoxetamine and 3- and 4-Methoxy Analogues of Phencyclidine Are High Affinity and Selective Ligands for the Glutamate NMDA Receptor. *PLOS ONE*, 8(3), e59334 (2013).
- 6) B. L. Flamm and J. Gal, The thermal decomposition of methylphenidate in the gas chromatograph mass spectrometer. *Biomed Mass Spectrom.*, 2, 281-283 (1975).
- 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 年度研究分担報告「3,4-ジクロロメチルフェニデートの合成」(栗原正明, 出水庸介)
- 8) J. S. Markowitz, B. K. Logan, F. Diamond, K. Patrick, Detection of the novel metabolite ethylphenidate after methylphenidate overdose with alcohol coingestion, *J. Clin. Psychopharmacol.* 19, 362-366 (1999).
- 9) A. Stanczuk, N. Morris, E. A. Gardner, P. Kavanagh, Identification of (2-aminopropyl)benzofuran (APB) phenyl ring positional isomers in internet purchased products. *Drug Test Anal.*, 5, 270-276 (2013).

F. 健康危険情報
なし。

G. 研究発表

学会発表・講演

- 1) 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. 法医学中毒研究会(2014. 6. 18, 福岡)
- 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, 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～」(2014.7.18, 東京)

論文(総説含む)

- 1) 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).
- 2) 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).
- 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, 2014, P537-716.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし.

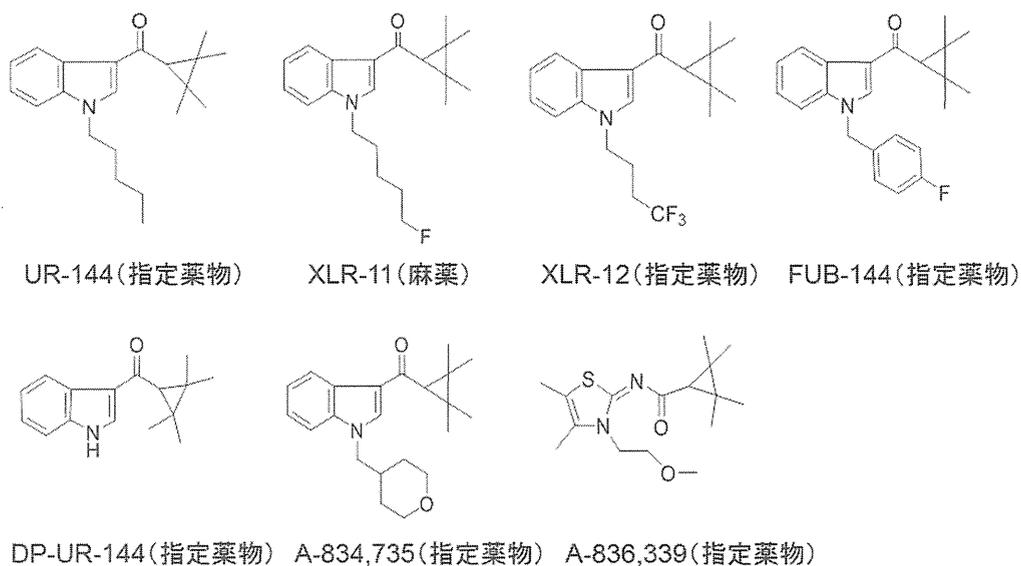


Fig. 1 テトラメチルシクロプロピル基を有する主な合成カンナビノイド類の構造

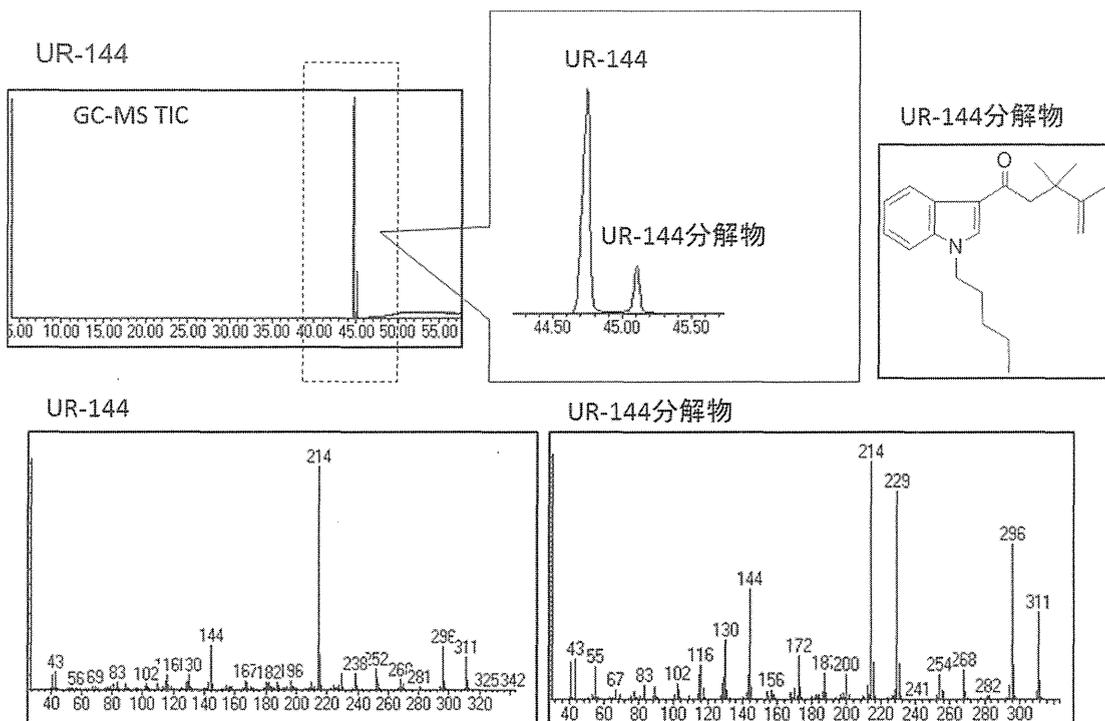


Fig. 2 テトラメチルシクロプロピル基を有する合成カンナビノイド UR-144 メタノール溶液(0.1 mg/mL)の GC-MS トータルイオンクロマトグラム及び UR-144 とその分解物のマススペクトル

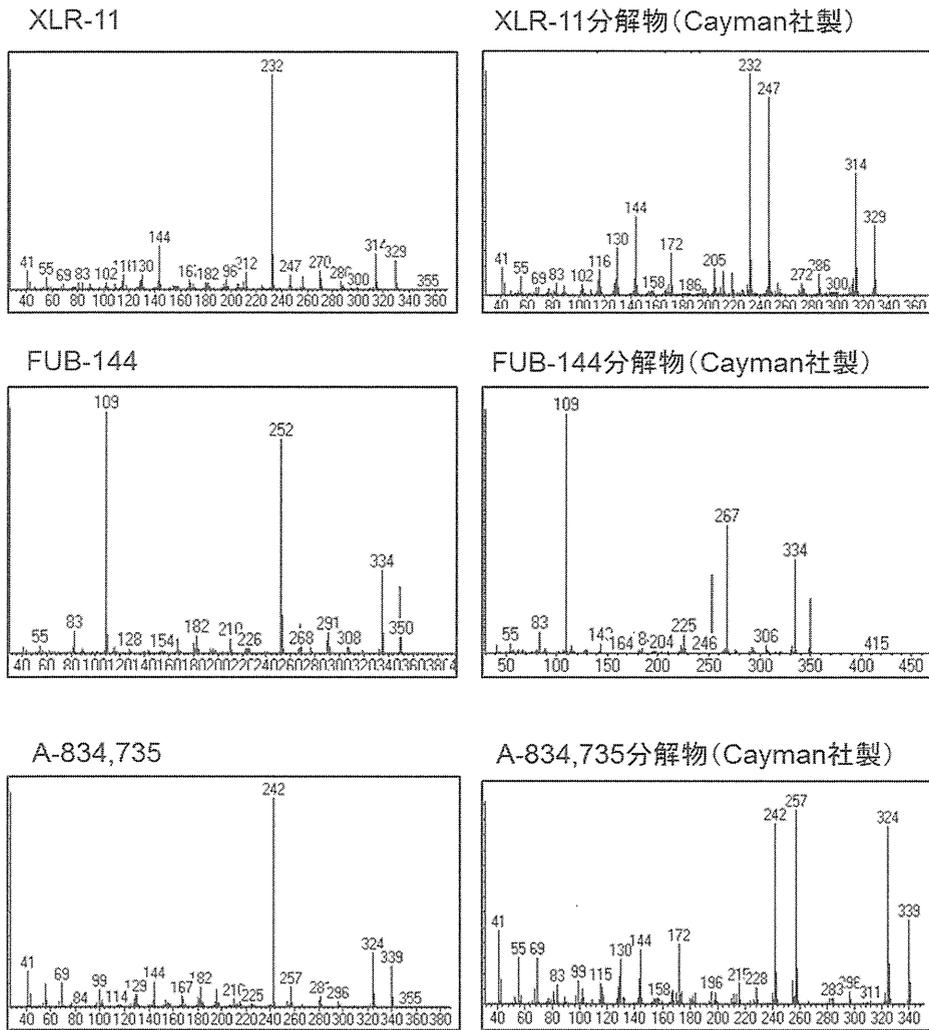


Fig. 3 テトラメチルシクロプロピル基を有する主な合成カンナビノイド 3 化合物及びその分解物の GC-MS マススペクトル

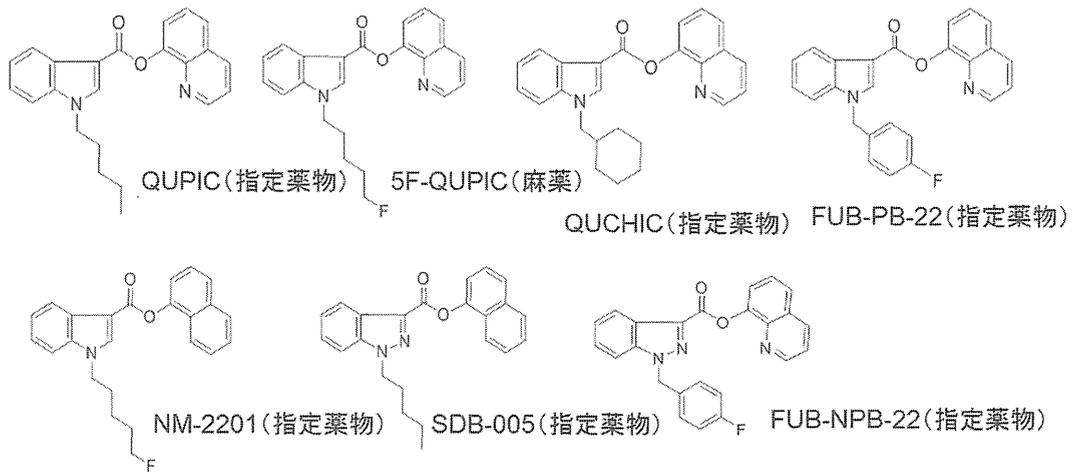


Fig. 4 カルボン酸エステル構造を有する主な合成カンナビノイド類の構造

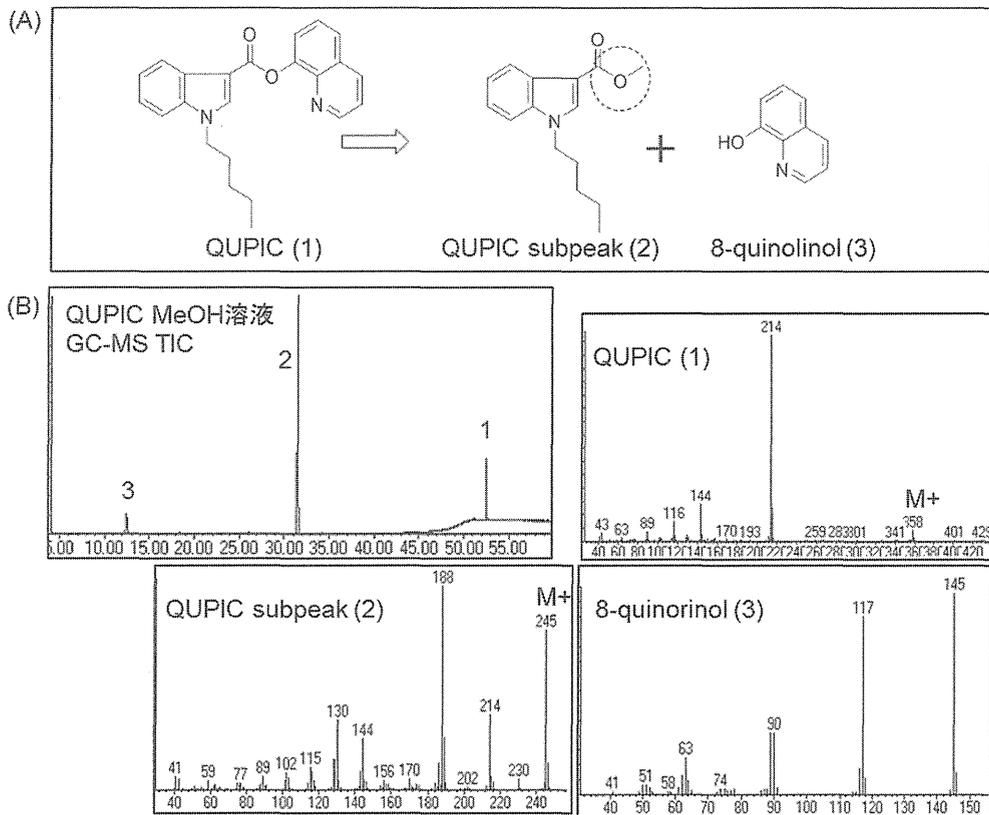
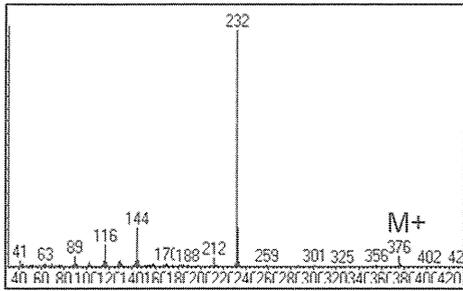
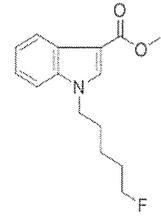
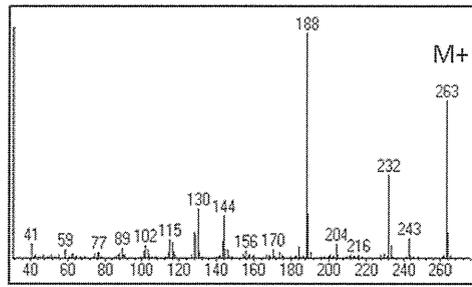


Fig. 5 QUPIC メタノール溶液の GC-MS 分析による分解物 (A) 及びトータルイオンクロマトグラムと各ピークのマススペクトル (B)

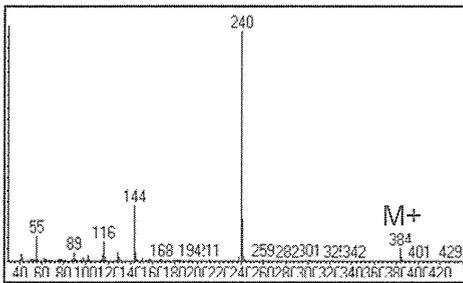
5F-QUPIC



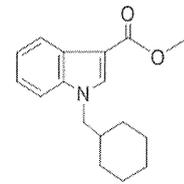
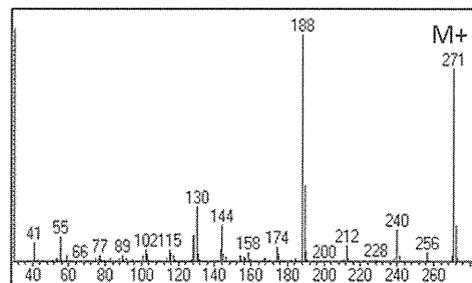
5F-QUPIC 分解物 (Cayman社)



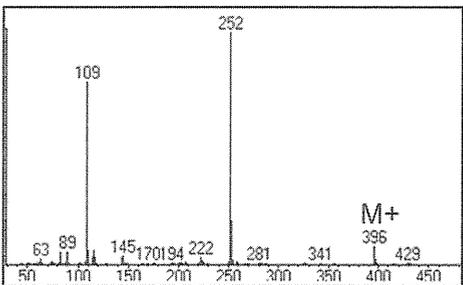
QUCHIC



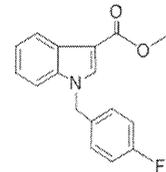
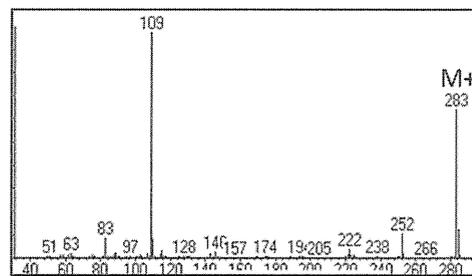
QUCHIC 分解物 (Cayman社)



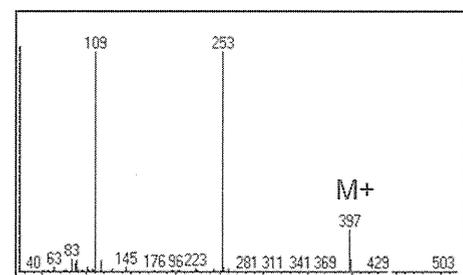
FUB-PB-22



FUB-PB-22 分解物 (推定)



FUB-NPB-22



FUB-NPB-22 分解物 (推定)

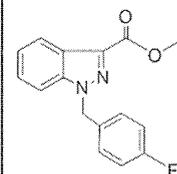
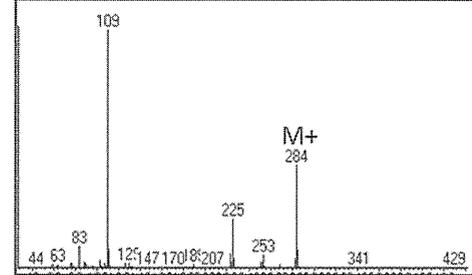


Fig. 6 カルボン酸エステル構造を有する主な合成カンナビノイド 4 化合物及びその分解物の GC-MS マススペクトル

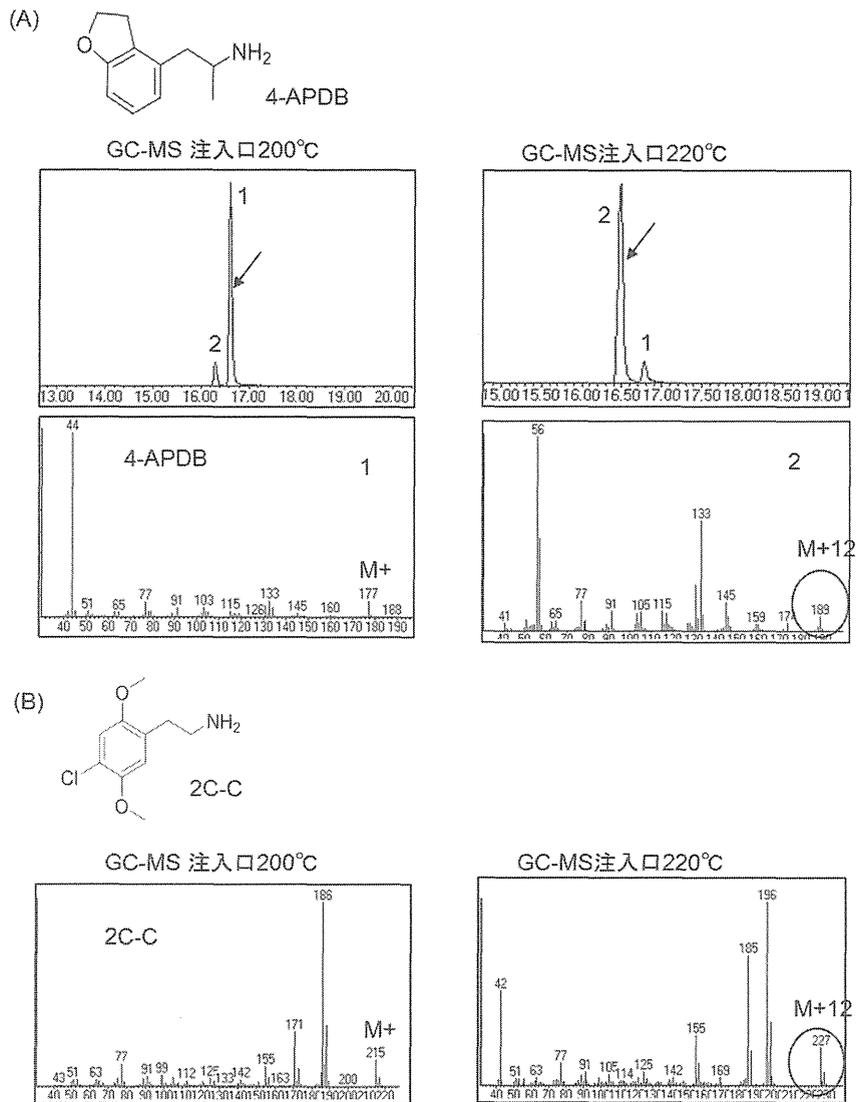


Fig. 7 注入口温度 200°C 及び 220°C における 4-APDB (A), 2C-C (B) の GC-MS マスペクトル

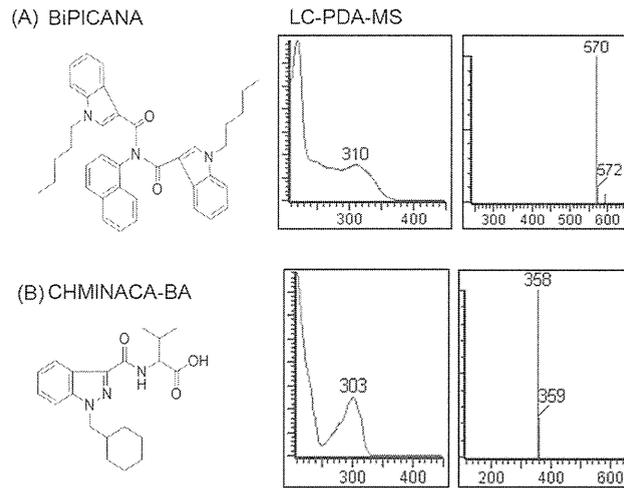


Fig. 8 BiPICANA (A) 及び CHMINACA-BA (B)の LC-PDA-MS UV 及びマスペクトル

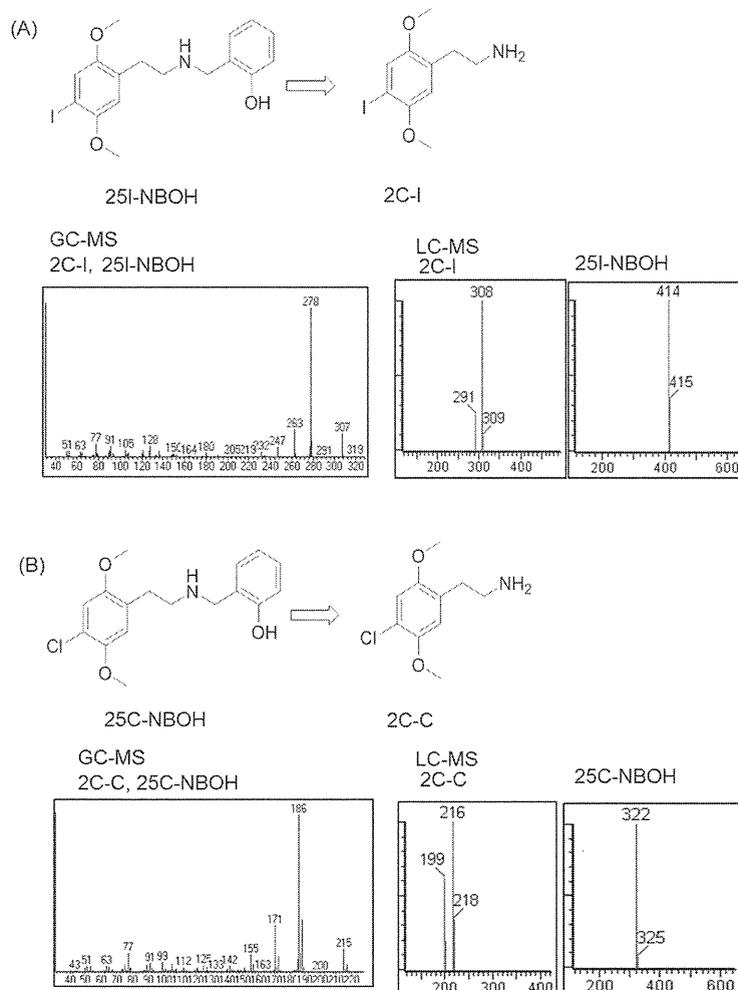


Fig. 9 25I-NBOH/2C-I(A)及び 25C-NBOH/2C-C(B)の GC-MS 及び LC-MS マスペクトル

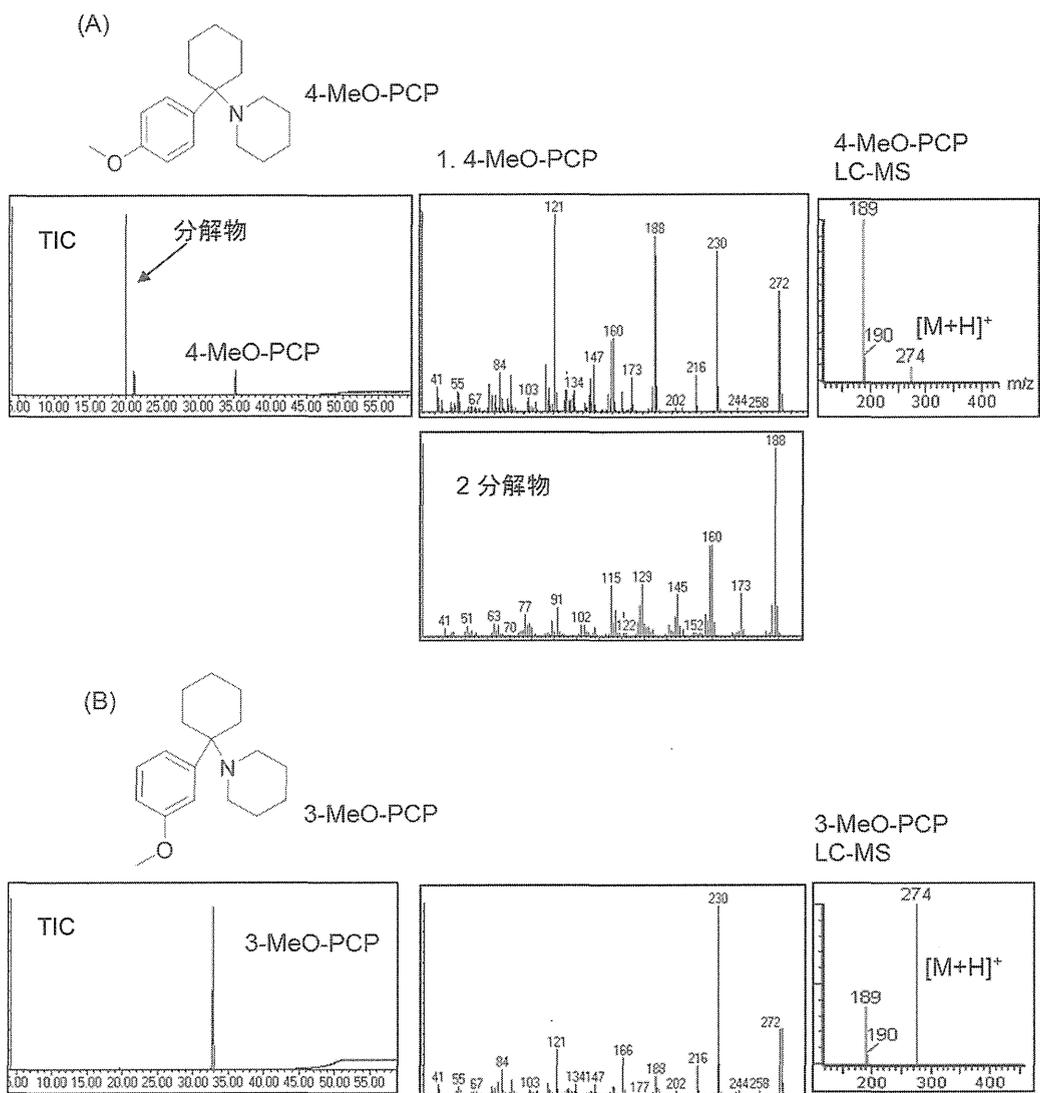


Fig. 10 4-MeO-PCP/分解物(A)及び 3-MeO-PCP(B)の GC-MS 及び LC-MS マスペクトル

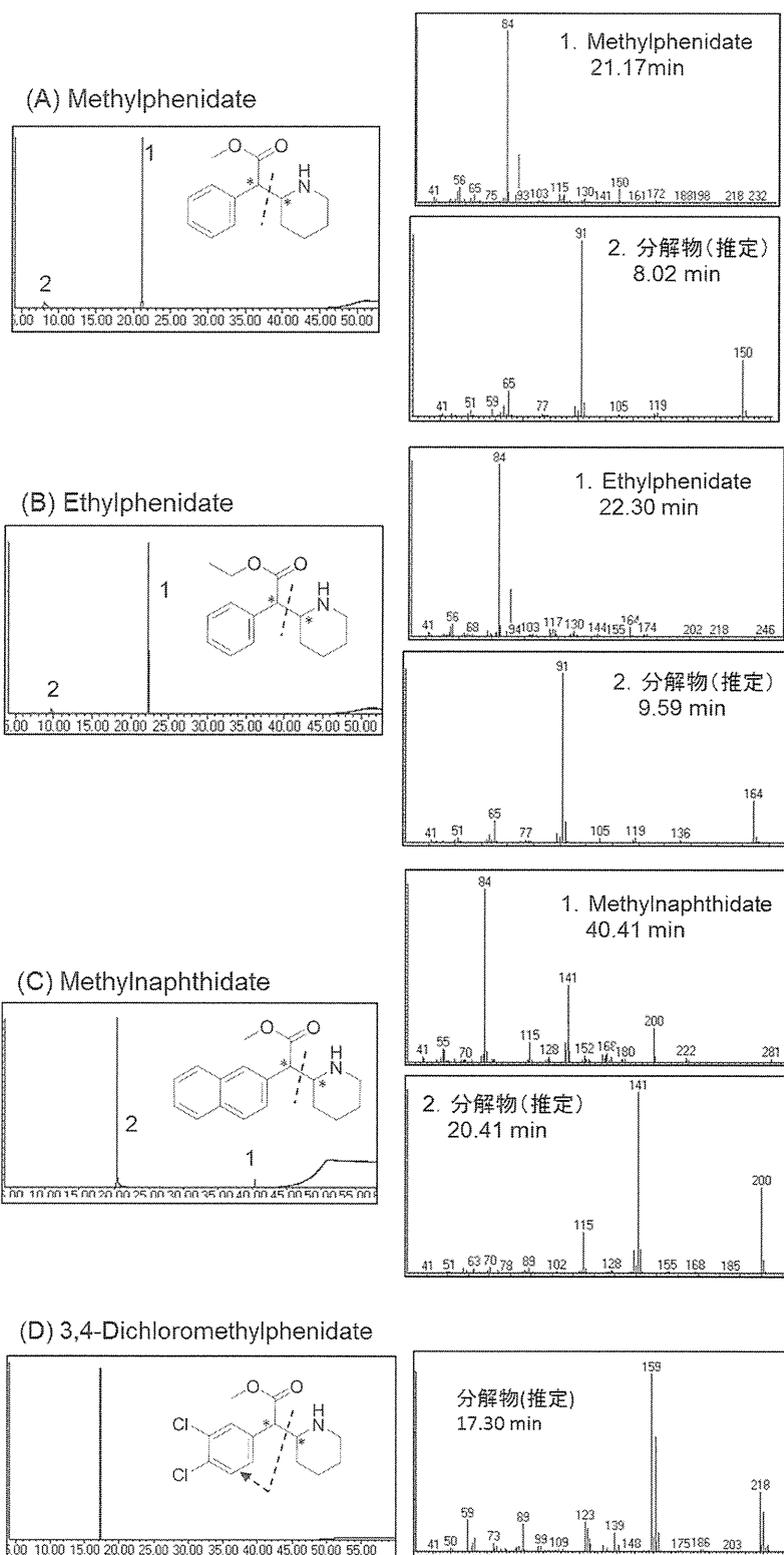
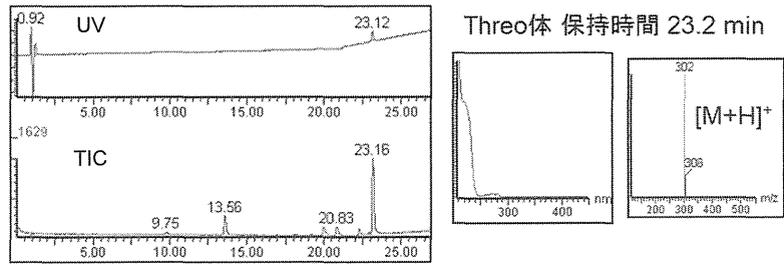


Fig. 11 メチルフェニデート(A), エチルフェニデート(B), メチルナフチデート(C)及び3,4-ジクロロメチルフェニデート(D)の GC-MS トータルイオンクロマトグラム及びマススペクトル

(A) Threo体 (MeOH溶液)



(B) Erythro体 (MeOH溶液)

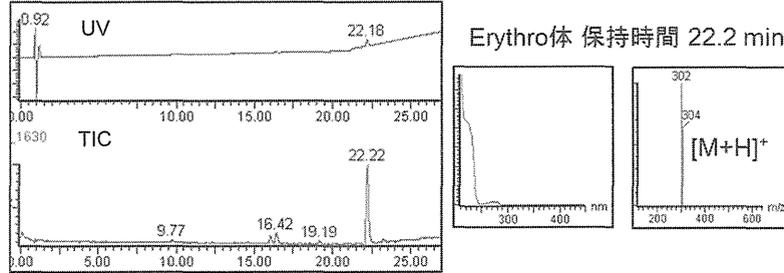


Fig. 12 3,4-ジクロロメチルフェニデートのスレオ体(A)及びエリスロ体(B)のメタノール溶液の LC-PDA-MS クロマトグラム及び UV, マスペクトル

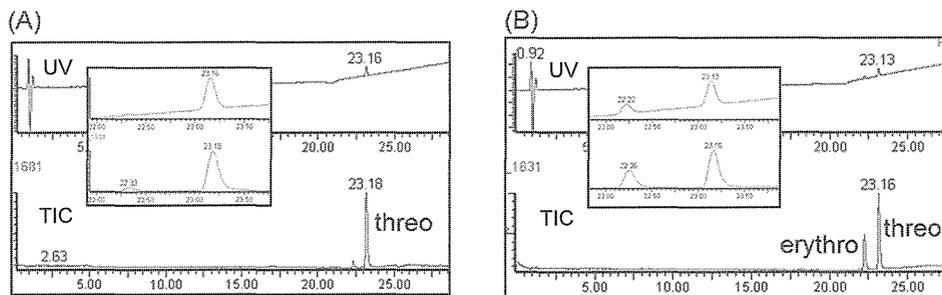


Fig. 13 3,4-ジクロロメチルフェニデートスレオ体のメタノール溶液調製直後の LC-PDA-MS クロマトグラム (A)及び調製 6 ヶ月後のクロマトグラム(B)

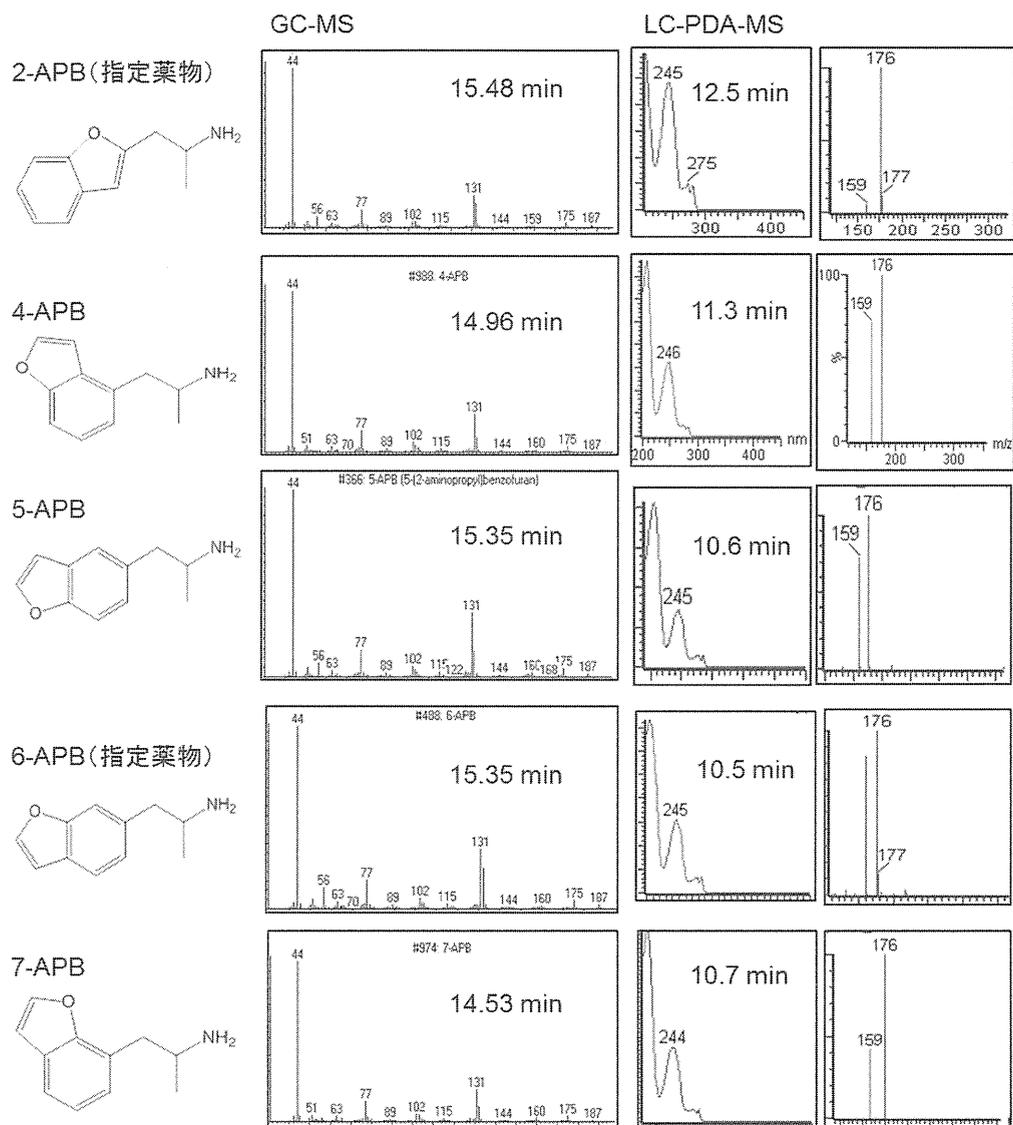


Fig. 14 アミノプロピルベンゾフラン構造を有する5化合物のGC-MS及びLC-PDA-MSのマススペクトル

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

—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)—

研究要旨: 近年, 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 受容体への結合能を測定し, 中枢神経系へ影響を及ぼす蓋然性について検討した. 測定の結果, methyl 1-(5-chloropentyl)-1H-indazole-3-carboxylate は CB₁ 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, ポジティブコントロールである(R)-(+)-WIN55212-2 よりも高く, 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, methyl 1-(5-chloropentyl)-1H-indazole-3-carboxylate 以外はいずれも高い親和性を示した. 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, 過去に我々が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. その結果, indole/indazole-carboxamide- methyl 3-methylbutanoate/methyl 3,3-dimethylbutanoate もしくは 3-methylbutanamide/3,3-dimethyl butanamide 構造, indole/indazol-carboxylate ester-naphthyl/quinolinyl 構造を有する化合物は, 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ことが明らかとなった. また実際に, 合成カンナビノイドの包括規制後に広く流通が認められた化合物や, 事故や健康被害に関与したと考えられる化合物は, これらの構造を有する化合物であった. 化合物の受容体親和性の強さが, 必ずしもヒトに対する薬理活性の強さを直接反映するわけではないが, 中枢神経系へ影響を及ぼす蓋然性を示すものとして有用な指標となる. 過去に特許や論文等で報告されていない新しい化合物が次々と違法ドラッグ市場に出現しているが, 上述の通り, ヒトに対し強い薬理作用を有する恐れがある化合物も多く, 今後も継続して新規流通化合物調査を行っていく必要がある. 本結果は, 平成 26 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, 今年度検討した 26 化合物のうち, methyl 1-(5-chloropentyl)-1H-indazole-3-carboxylate を除いた 25 化合物は, 平成 26 年度内に指定薬物に指定された.

A. 研究目的

警察庁の調査では, 平成 26 年の 1 年間に, 危険ドラッグ摂取が原因と見られる死亡者が 112 名であることが発表されている. しかし, 明確に報告されていない事例も含めると, その件数はさらに増大すると考えられる. 危険ドラッグにおいては, 製品中に実際にどのような化合物が含まれてい

るか不明であることが多く, 同じ名称, 同じ包装形態の製品でも, 含有化合物の種類や量が異なる場合が少なくない. また, 製品によっては複数の化合物を含有しており, 鎮静, 興奮, 幻覚など, 薬理作用が異なる複数の薬物が混在している場合も多い. さらに, 近年流通する合成カンナビノイドは, 標的部位であるカンナビノイド CB₁ 受容

体に対し、大麻の活性成分 Δ^9 -テトラヒドロカンナビノール(Δ^9 -THC)よりも強い親和性を有するものも多い。例えば、 Δ^9 -THC は、カンナビノイド CB_1 受容体に対し K_i 値が 41 nM であることが報告されているが[1]、代表的な合成カンナビノイド JWH-018(平成 24 年 8 月に麻薬として規制)は 9.0 nM [2]、平成 27 年 1 月 5 日から指定薬物として規制された MDMB-CHMINACA は 0.09 nM である[3]。測定条件が異なるため単純には比較できないが、MDMB-CHMINACA のカンナビノイド CB_1 受容体に対する親和性は、JWH-018 の 100 倍、 Δ^9 -THC よりも 455 倍程度高いことになる。一方、新規に検出される危険ドラッグ成分の中には、薬理活性が未知である化合物も多い。規制を逃れるために化学構造を一部修飾しているうちに、予想外の薬理活性を有する化合物が登場する可能性も考えられる。また、合成原料、合成副生成物や反応生成物、分解物などが製品から検出される場合もあるが、それらの薬理作用はまったく予測できない。さらに、流通化合物の移り変わりが早いため、危険ドラッグによる健康被害に対し、病院側で原因化合物を特定することが困難であり、治療法も存在していない。依存性が確認されている化合物も多い。

本研究では、近年、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 CB_1 及び CB_2 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。また、過去に報告した値[4]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 IC_{50} 値の関係について論じた。

B. 研究方法

1. 試験物質

新規流通合成カンナビノイド 26 化合物を測定に使用した。また、平成 24 年度から 26 年度まで本研究班で、カンナビノイド受容体 CB_1 及び CB_2

に対する親和性を検討した全 54 化合物(methyl 1-(5-chloropentyl)-1*H*-indazole-3-carboxylate を除く)の構造を Fig. 1-1~1-3 に示した。

2. 試験方法

1) 試験物質溶液の調製

被験物質を秤量し、DMSO で溶解し、DMSO で段階希釈することにより、最終濃度の 100 倍濃度の溶液を調製する。更に、調製した各濃度の溶液を、Milli-Q 水で 10 倍希釈することにより被験物質溶液を調製する(用時調製)。

被験物質(最終濃度):8 濃度

2) 陽性物質溶液の調製

陽性物質を秤量し、DMSO で溶解し、DMSO で段階希釈することにより、最終濃度の 100 倍濃度の溶液を調製する。更に、調製した各濃度の溶液を、Milli-Q 水で 10 倍希釈することにより陽性物質溶液を調製する(用時調製)。

陽性物質(最終濃度):8 濃度

3) 測定系

以下の試験条件に従い測定する。各濃度 2 例で 1 回測定する。

3)-1. Cannabinoid CB_1 (Human)

緩衝液:5 mmol/L $MgCl_2$, 2.5 mmol/L EDTA 及び 0.05% BSA を含む 50 mmol/L Tris-HCl (pH 7.4)

置換物質:(*R*)-(+)-WIN55212-2 mesylate salt, Sigma, Cat No. W-102

陽性物質:(*R*)-(+)-WIN55212-2 mesylate salt, Sigma, Cat No. W-102

トレーサー:CP-55,940, [side chain-2,3,4(N)- 3H]-PKI, Cat No. NET1051

レセプター:Human recombinant, PKI, Cat No. ES-110-M

反応条件:30°C, 90 min

3)-2. Cannabinoid CB_2 (Human)

緩衝液:5 mmol/L $MgCl_2$, 2.5 mmol/L EDTA 及び 0.05% BSA を含む 50 mmol/L Tris-HCl (pH 7.4)

置換物質:(*R*)-(+)-WIN55212-2 mesylate salt,

Sigma, Cat No. W-102

陽性物質: (R)-(+)-WIN55212-2 mesylate salt,

Sigma, Cat No. W-102

トレーサー: CP-55,940, [side chain-2,3,4(N) -³H]-,

PKI, Cat No. NET1051

レセプター: Human recombinant, PKI, Cat No.

ES-111-M

反応条件: 30°C, 90 min

4) 阻害率の算出

阻害率は、「100 - 結合率」より算出する。

結合率: $[(B - N) / (B_0 - N)] \times 100 (\%)$

B: 被験物質存在下での結合放射能量 (個別値)

B₀: 被験物質非存在下での総結合放射能量 (平均値)

N: 非特異的結合放射能量 (平均値)

陽性物質に関しても被験物質と同様に阻害率を算出する。

5) Dose-response curve の作成 (IC₅₀ 値の算出)

Dose-response curve は、被験物質存在下での特異的結合放射能 (B - N) と非存在下での総結合放射能 (B₀ - N) との比 $((B - N) / (B_0 - N))$ を logit 変換した後、被験物質の最終濃度の常用対数値に対してプロットする logit-log モデルにあてはめ作成する。Dose-response curve の回帰は、次の回帰式を用いる。

$$Y = aX + b$$

$$(Y = \text{logit } y = \ln(y / (1 - y))),$$

$$y = (B - N) / (B_0 - N)$$

(X = log x, x は被験物質の最終濃度)

(a, b = 定数)

得られた回帰式より、IC₅₀ 値を算出する。また、回帰の際、被験物質最終濃度の阻害率平均が 5% ~ 95% の範囲を超えたものについては採用せず、範囲内の測定値を用いて IC₅₀ 値を算出する。陽性物質に関しても被験物質と同様に IC₅₀ 値を算出する。

C. 結果及び考察

1. 新規流通 26 化合物のカンナビノイド受容体親和性

新規流通 26 化合物について、カンナビノイド CB₁ 及び CB₂ 受容体の結合親和性を検討した。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。その結果を Table 1 及び Table 2 に示した。表中、IC₅₀ 値が小さい値を示す方が高い親和性を表す。

測定した 26 化合物において、methyl 1-(5-chloropentyl)-1H-indazole-3-carboxylate は CB₁ 受容体に対しほとんど親和性を示さなかったが、その他 25 化合物については、強い親和性を示した。そのうち 16 化合物については、ポジティブコントロールである (R)-(+)-WIN55212-2 よりも高く、特に 5F-ADB-PINACA は (R)-(+)-WIN55212-2 よりも 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、methyl 1-(5-chloropentyl)-1H-indazole-3-carboxylate 以外はいずれも高い親和性を示した。26 化合物のうち、9 化合物が (R)-(+)-WIN55212-2 よりも高い値を示し、特に 5F-ADB-PINACA と FUB-APINACA は 5 倍程度高い親和性を示した。

2. 合成カンナビノイド 54 化合物の構造とカンナビノイド CB₁ 受容体親和性

本研究班では、平成 24 年度から、新規流通合成カンナビノイドのうち活性未知化合物について、カンナビノイド CB₁ 及び CB₂ 受容体の結合親和性を検討している [4]。Fig. 1-1~3 に、検討した 54 種類の合成カンナビノイドの構造 (ほとんど親和性を示さなかった methyl 1-(5-chloropentyl)-1H-indazole-3-carboxylate を除く) を、(1)~(12) のタイプ別に記載した。また、Fig. 2 に、ポジティブコントロール (R)-(+)-WIN55212-2 の CB₁ 受容体に対する IC₅₀ 値を 1 とした場合の、各化合物の相対 IC₅₀ 値 (RIC₅₀) を、Fig. 3 に、CB₂ 受容体に対する RIC₅₀ 値をそれぞれ図示した。

今回検討した手法においては、代表的な合成カンナビノイドである JWH-018 の RIC₅₀ 値は 5.28 であった。一方、検討した 54 種類の化合物の中で、RIC₅₀ 値が 1/10 以下の化合物(親和性がポジティブコントロール(R)-(+)-WIN55212-2 の 10 倍以上高い化合物)は、5F-ADB-PINACA (RIC₅₀ 0.01), 5F-QUPIC (RIC₅₀ 0.02), MBMD-FUBINACA (RIC₅₀ 0.03), FUB-APINACA (RIC₅₀ 0.04), MDMB-CHMINACA (RIC₅₀ 0.06), FUB-PB-22 (RIC₅₀ 0.07), MDMB-CHMICA (RIC₅₀ 0.08)であった。また、構造別に見ると、indole/indazole-carboxamide- methyl 3,3-dimethylbutanoate 構造(9)が極めて高い親和性を示し、検討した 4 化合物の相対 IC₅₀ 値 (RIC₅₀)の平均値は 0.09 となり、JWH-018 の 57 倍以上もの値を示した。

さらに、 indole/indazole-carboxamide-methyl 3-methylbutanoate 構造(8) の 4 化合物の平均は 0.62, indole/indazole-carboxylate-naphthyl 構造 (10) の 4 化合物の平均値は 1.1, indole/indazole-carboxylate-quinolinyl 構造(11) の 4 化合物 (QUPIC carboxylic acid を除く)の平均値は 3.2, indole/indazole-carboxamide-3,3-dimethylbutanamide 構造(7) の 3 化合物の平均値は 7.0 と、いずれも JWH-018 (RIC₅₀ 5.82)と同等、またはそれ以上の強い親和性を示した。

Table 3 にその他の部分構造が同等で indole もしくは indazole 構造部分のみが異なる化合物の CB₁ 受容体に対する RIC₅₀ 値を比較した。APINACA/APINACA に代表される Indole/indazole-carboxamide-adamantyl 構造(5)のみ、indole 構造より、indazole 構造を有する化合物の方が強い親和性を示したが、その他のタイプの構造では、概ね indazole 構造を有する化合物の方が親和性が高かった。特に、JWH-018/THJ-018 の Indole/indazole-carbonyl- naphthyl 構造(1), 5F-ABICA/5F-AB-PINACA, 5F-ADBICA/5F-ADB-PINACA 等の

Indole/indazole-carboxamide-3-methylbutanamide 構造(6) については、indazole 構造を有する化合物の親和性は高い値を示した。

Table 4 に、indole/indazole 構造の *N*-置換基の違いによる CB₁ 受容体に対する RIC₅₀ 値の違いを比較した。いずれの構造を有する化合物においても、indole/indazole 構造の *N*-pentyl 基にフッ素が導入されることにより、CB₁ 受容体に対する親和性は上昇し、特に AB-PINACA/5F-AB-PINACA, ADBICA/5F-ADBICA, QUPIC/5F-QUPIC については、50~200 倍以上上昇した。また、*N*-pentyl 基の代わりに methylcyclohexyl 基、4-fluorobenzyl 基が導入された化合物についても、親和性は大きく上昇した。

平成 24 年に包括規制が導入されてから出現した合成カンナビノイドのほとんどは、Fig. 4 に示した A~D の 4 部分を組み合わせた構造を有する。これらの A~D 部分の組み合わせにより、どのような親和性の変化が表れるかを検討した結果を、Table 5 (CB₁ 受容体に対する RIC₅₀ 値)及び Table 6 (CB₂ 受容体に対する RIC₅₀ 値)にまとめた。

上述した通り、合成カンナビノイドのうち、indole/indazole-carboxamide-methyl 3-methylbutanoate/methyl 3,3-dimethylbutanoate 構造、もしくは 3-methylbutanamide/3,3-dimethylbutanamide 構造、indole/indazole-carboxylate ester-quinolinyl 構造を有する化合物は、極めてカンナビノイド CB₁ 受容体に対する結合親和性が強く、健康被害が懸念される。実際、平成 24 年 3 月に naphthoylindole 構造を有する一部の合成カンナビノイドが包括的に規制された後、平成 25 年度において最も流通が認められた 5F-QUPIC (RIC₅₀ 0.02), QUCHIC (RIC₅₀ 0.14), FUB-PB-22 (RIC₅₀ 0.07)は[5]、いずれも上述のタイプの構造を有している。また、平成 26 年 6 月に起きた池袋における自動車暴走事故においては、AB-CHIMINACA (RIC₅₀ 0.07)及び 5F-AMB (RIC₅₀ 0.18)が関与している可能性が考えられて