

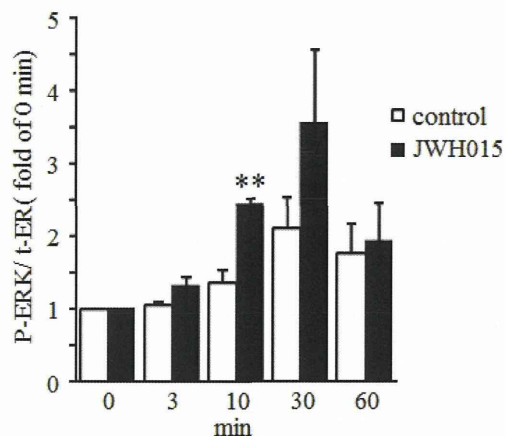
Fig.1 .

ラット初代培養マイクログリアにおけるCB1受容体、CB2受容体の発現検討。A、無刺激のマイクログリア(MG)、LPSで刺激したマイクログリア(LPS-MG)のウェスタンブロット解析。B、ウェスタンブロット解析を定量化した。CB1受容体に比べてCB2受容体の発現量が高い。C、マイクログリアの免疫染色画像。バーは50 μ m。

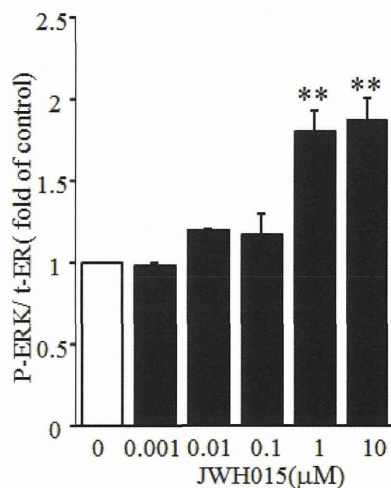
A, a



b



B



C

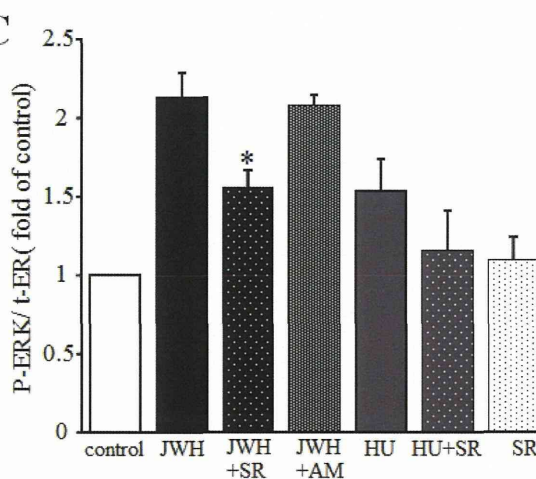


Fig.2.

CB2 受容体選択的アゴニストはミクログリアの ERK1、2 のリン酸化を誘導する。Aa, ラット初代培養ミクログリアを 10 μM の JWH015 で刺激し、各時点における ERK1、2 のリン酸化をウェスタンブロットで解析した。Ab, ウェスタンブロットの定量的解析結果。B, ラット初代培養ミクログリアを各濃度の JWH015 で 10 分間刺激したときの ERK1、2 のリン酸化。C, ラット初代培養ミクログリアを 1 μM の CB1 受容体選択的アゴニスト JWH015 (JWH)、HU-308 (HU) で刺激し、ERK1、2 のリン酸化をウェスタンブロットで解析した。1 μM の CB2 受容体選択的インバーシアゴニスト SR144528 (SR)、1 μM の CB1 受容体選択的アンタゴニスト AM251 (AM) は、CB2 受容体選択的アゴニスト刺激の 10 分前に前処置した。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ by Tukey test.

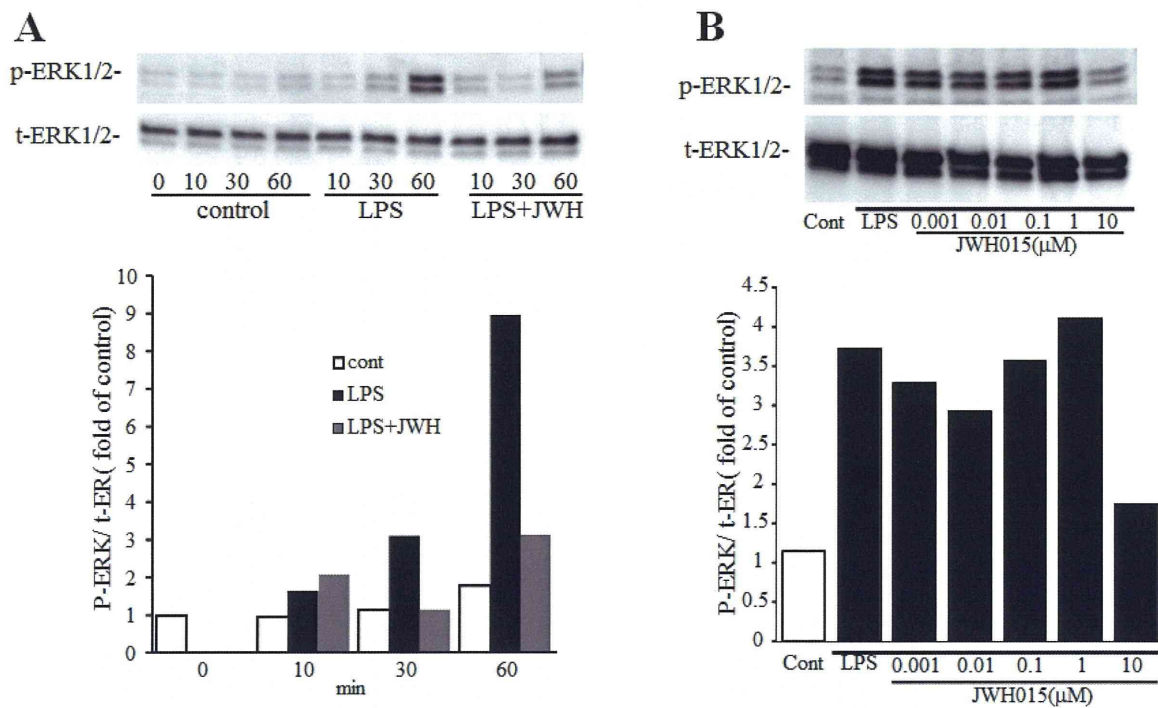


Fig. 3.

LPSで刺激したミクログリアのERK1、2のリン酸化はCB2受容体選択的アゴニストJWH015で抑制される。A、ラット初代培養ミクログリアをLPSで60分刺激した時のERK1、2のリン酸化。10 μMのJWH015 (JWH)はLPSと共に処置した。B、ラット初代培養ミクログリアのLPS処置によるERK1、2のリン酸化に対するJWH015を各濃度で共処置したときの作用の1例を示す。

分担研究課題:違法ドラッグ成分の脳波による作用評価

分担研究者:裏出良博 筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構 (IIS) 教授

研究協力者:内山奈穂子 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 主任研究官

—新規流通合成カンナビノイドの 5-Fluoro-ADB のマウス脳波に及ぼす作用—

研究要旨:我々は、危険ドラッグ成分の中枢神経系の興奮若しくは抑制又は幻覚等の作用を検出する方法として、動物実験用脳波解析システムを用いて、脳波の変化から薬物の薬理学的効果を判定する方法を検討している。今回、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。その結果、本化合物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。さらに、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。従って、今後詳細な解析、検討が必要であると考えられる。

研究協力者:

有竹浩介 筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構 (IIS)・准教授

A. 研究目的

乱用が懸念される危険ドラッグを迅速に規制するためには、その有害性を的確に把握し評価することが重要である。しかし、現状では危険ドラッグに関する科学的知見は少なく、また作用についても不明な点が多い。これまで我々は、危険ドラッグ成分の中枢神経系の興奮若しくは抑制又は幻覚作用を検出する方法として、動物実験用脳波解析システムを導入し、動物の脳波の変化から薬物の薬理学的効果を判定する方法を検討してきた [1-9]。

本研究では、平成 26 年度新規流通危険ドラ

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)(Fig. 1)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。

B. 研究方法

【使用動物】C57BL/6 系雄性マウス(9 週齢, 体重 21-24g)を日本エスエルシー株式会社より購入した。

【飼育方法】マウスは防音チャンバー内に設置したアクリル製ゲージで個別に管理した。12 時間ごとの明暗周期下で、飼料と水を自由に摂取させた。

【脳波・筋電位測定用電極の処理手術と測定装置への接続】マウスに脳波・筋電位測定用の電

極の留置手術を実施し、回復用チャンバーに 10 日間おいて回復させた。その後、記録用チャンバーに移して電極に測定用ケーブルを接続し、4 日間順応させた。

【薬物投与】5-Fluoro-ADB, JWH-018 は Cayman chemical 社製を使用した。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 (intraperitoneal administration: i.p.)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)。

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

【自発運動量測定】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。行動量は、動物から放出される赤外線を検出するセンサー (Biotex Japan 社)とソフトウェア Biotex 16CH Act Monitor BAI2216 (Biotex Japan 社)を用いて 1 分毎の行動量を 48 時間記録した。自発運動量は、投与後 1 時間毎の累積量と、各投与 0-3, 3-6, 6-9, 9-12 時間後の累積量を 1 日目のコントロールを 100%として算出し、化合物投与後のそれぞれの累積値と比較した。

(倫理面の配慮)

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。

C. 研究結果および考察

【自発運動量に及ぼす作用】5-Fluoro-ADB, JWH-018 をそれぞれ 2.5 mg/kg 投与後 1 時間毎の自発運動累積量の経時変化を、Fig. 2a, 2b に示した。5-Fluoro-ADB を投与した場合、投与直後(5 分以内)からマウスの自発運動量は減少し、この作用は投与 11 時間後まで持続した (Fig. 2a)。また、陽性対照である JWH-018 を投与した場合、投与から 8 時間後まで有意にマウスの自発運動量が減少した (Fig. 2b)。従って、5-Fluoro-ADB は、JWH-018 と比較してより長時間にわたり自発運動量の抑制作用が持続することが判明した。なお、5-Fluoro-ADB をマウスに投与した直後に痙攣及び挙尾反応がみられ、さらにその後、歩行失調、四肢の硬直及び無動状態などが観察された。また、投与後 10 分以内に、4 匹中 1 匹が死亡した。一方、陽性対照である JWH-018 投与後には、歩行失調、四肢の硬直及び無動状態などが観察されたが、痙攣や挙尾反応は観察されなかった。

次に、各薬物の投与 0-3, 3-6, 6-9, 9-12 時間後のマウスの累積自発運動量を比較した (Fig. 3)。縦軸は、1 日目のコントロールの累積運動量を 100 %とした化合物投与後の相対累積運動量を示す。5-Fluoro-ADB は、投与 3-6, 6-9 時間後まで、コントロールと比較して累積自発運動量を有意に減少させた (Fig. 3)。なお、投与 0-3, 9-12 時間後に有意差はみられなかったものの、投与 0-3, 3-6, 6-9, 9-12 時間後まで、コントロールと比較して 1~5%程度と顕著な自発運動量の抑制作用がみられた (Fig. 3)。一方、陽性対照の JWH-018 は、投与 0-3, 3-6, 6-9 時間後まで、コントロールと比較して累積自発運動量を 17-42%まで有意に減少させた (Fig. 3)。従って、5-Fluoro-ADB は JWH-018 と比較してより強力なマウスの自発運動量の抑制作用を示すと考えられた。

【各周波数における脳波のパワースペクトル変化】

次に、各薬物投与後の脳波の各周波数における強度変化を比較した。1日目のコントロールの0-35Hzの0.5Hz毎の各周波数強度を100%とした薬物投与後の値を相対強度として算出し、各周波数における比較を行った。投与6時間後までの1時間毎の周波数強度率の経時変化をFig. 4a, 4bに示した。

5-Fluoro-ADB投与群では、投与1時間後まで周波数4.0~5.5Hzの強度がコントロールに比べて157%増加した(Fig. 4a)。また、投与3時間および6時間後に、周波数12.0Hz及び24.0Hzの強度にそれぞれ145~165%程度の増加がみられた(Fig. 4b)。一方、JWH-018投与群では、投与1時間後まで周波数5.5Hzの強度がコントロールに比べて122%増加した(Fig. 4b)。また、投与2, 3, 4時間後に、周波数32.0Hz付近の強度がそれぞれ150~215%程度の増加した(Fig. 4b)。Fig. 2, 3に示した通り、5-Fluoro-ADB及びJWH-018投与後、それぞれ投与11時間後、8時間後まで有意に自発運動量を減少させた。しかし、脳波のスペクトルパターンの明らかな変化は5-Fluoro-ADBは投与1~6時間後、JWH-018は投与1~4時間後であり、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(Fig. 2, 4)。

次に、5-Fluoro-ADB及びJWH-018投与0-1時間後の周波数スペクトルパターンをFig. 5に示した。両化合物の脳波スペクトルに明らかに共通したパターンはみられなかった。

一方、これまで我々が報告した通り、JWH-018をラットに投与した場合、他の合成カンナビノイドCannabicyclohexanol (CCH), CP-47497投与時と類似のスペクトルパターンを示した。また、各化合物投与により、共通して5.0-6.0Hz付近の周波数強度率がコントロールと比較して、300-450%程度増加した[3]。しかし、マウスに投与した場合、Fig. 4, 5に示した通り、脳波スペクトルパターンに明ら

かな共通パターンはみられず、周波数の強度も150%程度と低く、ラットの場合とは異なる結果となった。現時点では、この理由は不明であるが、今後詳細に検討する予定である。また、他の合成カンナビノイドについてもマウス脳波に及ぼす作用についても検討する。

D. 結論

本研究により、合成カンナビノイド:5F-ADB(指定薬物)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することが明らかとなった。なお、5-Fluoro-ADB投与後、4匹中1匹が死亡した。さらに、5-Fluoro-ADB及びJWH-018はマウスの脳波パターンに若干の変化を与えたが、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[3, 4, 6-9]、マウスの場合、類似の脳波パターンはみられなかった。従って、今後詳細な解析、検討が必要であると考えられる。また、今後も引き続き、興奮薬、鎮静薬、幻覚薬等の中枢神経作用薬に関して脳波測定を実施し、薬物の中枢作用評価法を確立すべく検討を行う予定である。

E. 参考文献

- 1) 厚生労働科学研究補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)「違法ドラッグの依存性等に基づいた乱用防止対策に関する研究」平成19年度及び20年度研究分担報告「フッ素置換アンフェタミン誘導体のラットの脳波に及ぼす作用」及び「フッ素置換アンフェタミン誘導体のラットの脳波に及ぼす作用および血漿中薬物濃度に関する研究」(裏出良博, 内山奈穂子)

2) 厚生労働科学研究補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)「違法ドラッグの危害影響予測手法と分析に関する研究」平成 21 年度, 22 年度及び 23 年度研究分担報告「合成カンナビノイドのラットの脳波に及ぼす作用に関する研究」, 「合成カンナビノイドのラットの脳波に及ぼす作用に関する研究(2)」及び「麻薬成分ケタミン誘導體:メキセタミンのラット脳波に及ぼす作用に関する研究」(裏出良博, 内山奈穂子)

3) Uchiyama N., Kikura-Hanajiri R., Matsumoto N., Huang Z.L., Urade Y., Goda Y. Effects of synthetic cannabinoids on electroencephalogram power spectra in rats. *Forensic Sci. Int.* (2012) 215:179-183.

4) 厚生労働科学研究補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)「違法ドラッグに関する分析情報の収集及び危害影響予測に関する研究」平成 24 年度及び 25 年度研究分担報告「カチノン系化合物 α -PVP 及び合成カンナビノイド MAM-2201 のラットの脳波に及ぼす作用に関する研究」及び「新規流通合成カンナビノイド QUPIC, 5-Fluoro-QUPIC 及び NNEI indazole analog のラットの脳波に及ぼす作用に関する研究」(裏出良博, 内山奈穂子)

5) Uchiyama N., Kikura-Hanajiri R., Aritake K., Goda Y., Urade Y. Effects of MAM-2201 and α -PVP on electroencephalogram power spectra and locomotor activity in rats. *SOFT2013* (2013.10)

electroencephalogram power spectra and locomotor behavior in rat exposed to synthetic cannabinoids. 3rd International Conference on Novel Psychoactive Substances (NPS) (イタリア 2014.5.)

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし.

F. 健康危険情報
特になし.

G. 研究発表
学会発表

1) Uchiyama N., Kikura-Hanajiri R., Aritake K., Hakamatsuka T., Urade Y. Changes in

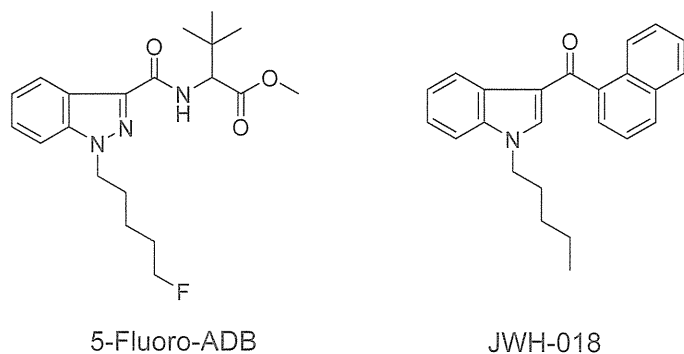


Fig. 1. Structures of synthetic cannabinoids

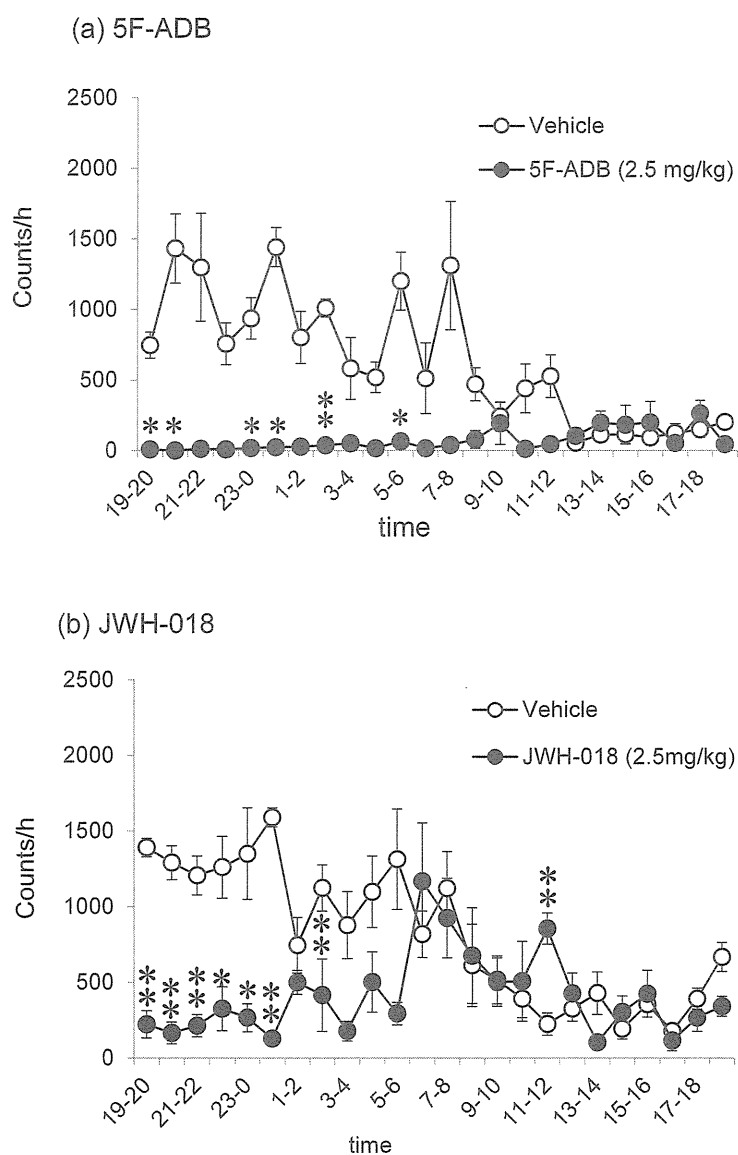


Fig. 2. Time courses of the locomotor activity after i.p. injections of 5F-ADB (a) and JWH-018 (b) at 2.5 mg/kg in mice. Each value is shown as the locomotor count for 1 h. Values are means \pm SEM ($n = 3-4$). *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$, significantly difference from the vehicle injection.

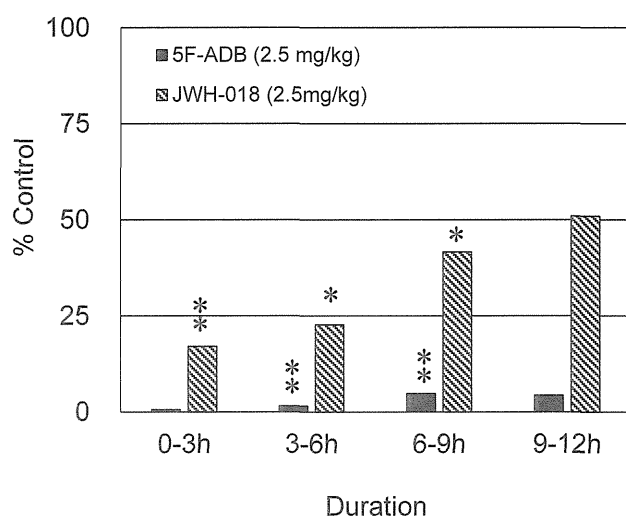


Fig. 3. Total amounts of locomotor activity during a 0-3-h, 3-6-h, 6-9-h and 9-12-h period after injection of 5F-ADB and JWH-018 at 2.5 mg/kg in mice. Each value is shown as percentage of the control value in animals treated with vehicle. *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$, significantly difference from the vehicle injection.

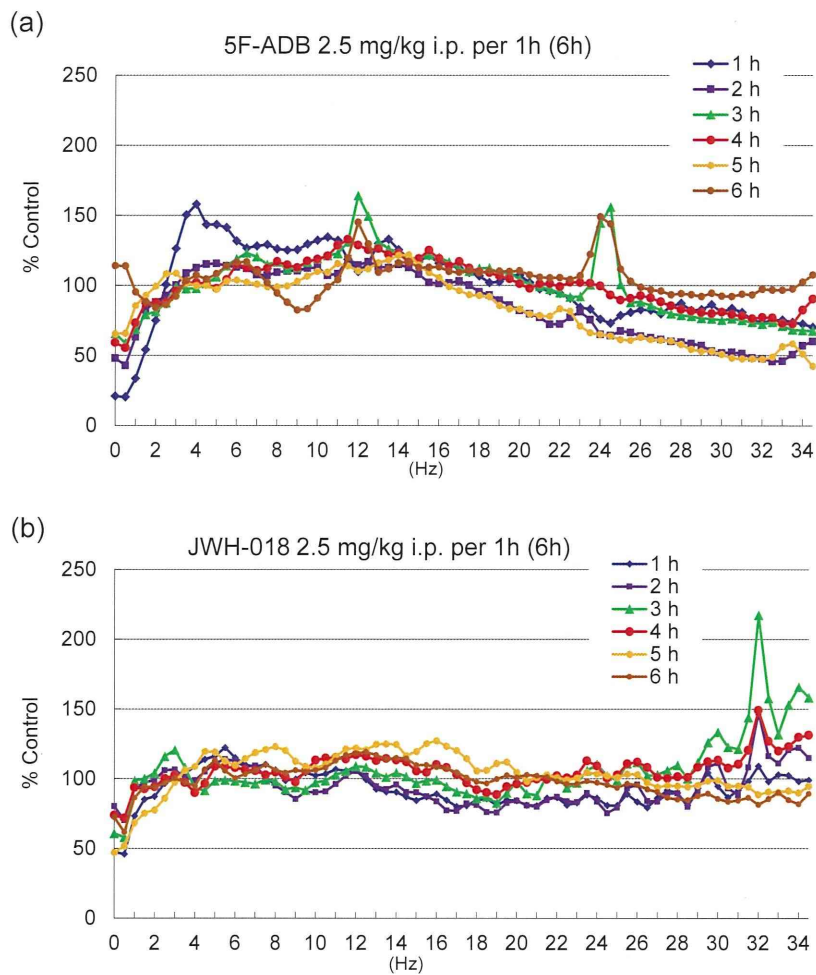


Fig. 4. Time course of changes in EEG power density after i.p. injection of 5-Fluoro--ADB (a) and JWH-018 (b) at 2.5 mg/kg during a 0 to 6 h period, respectively, in mice. Each value is shown as percentage of the control value in animals obtained with the vehicle treatment.

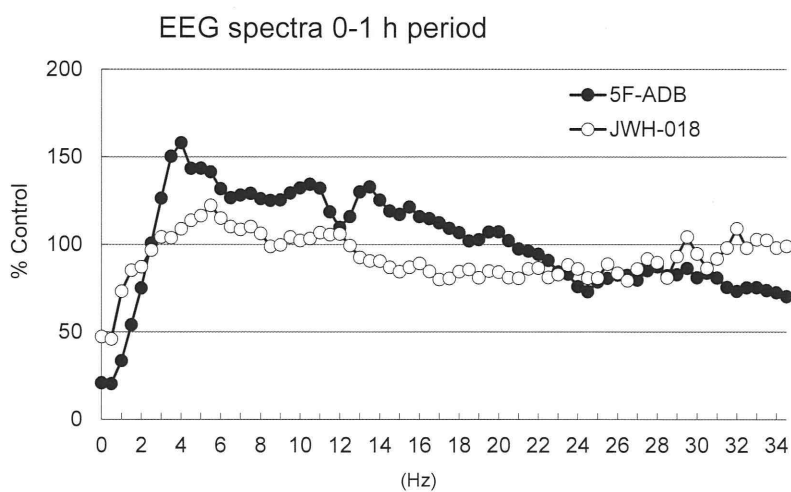


Fig. 5. EEG power density after i.p. injection of 5-Fluoro--ADB (a) and JWH-018 (b) at 2.5 mg/kg a 0-1 h period in mice.

分担研究課題:違法ドラッグ成分の脳波による作用評価

分担研究者:裏出良博 筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構 (IIS) 教授

—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—

研究協力者:内山奈穂子 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 主任研究官

研究要旨:最近の危険ドラッグ市場において、多くの製品中から合成カンナビノイドが検出されており、これら合成カンナビノイドが原因と考えられる健康被害が多数報告されている。しかし、これら合成カンナビノイドの薬理作用、特に行動に関する詳細についてはほとんど報告されていない。そこで本研究では、平成 25 年度に引き続き、主に平成 26 年度に国内(外)で流通した危険ドラッグ製品から新たに検出された合成カンナビノイドについてマウスの自発運動量に及ぼす作用を検討した。化合物の内訳としては、指定薬物 18 化合物、未規制化合物 4 化合物の計 22 化合物(化合物 2-23)を用い、陽性対照として麻薬(JWH-018)を用いた。その結果、15 化合物はいずれもマウスの自発運動量を有意に減少させ、特に、アミドエステル類(化合物 14-18)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(化合物 15)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(化合物 14-18)や NM-2201(化合物 3)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。以上の結果から、これら新規流通合成カンナビノイドの摂取により重篤な健康被害が生じる可能性が危惧された。なお、本結果の一部は、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た。

研究協力者:

有竹浩介 筑波大学・国際統合睡眠医科学研究
機構 (IIS)・准教授

A. 研究目的

最近の危険ドラッグ市場において、多くの製品中から合成カンナビノイドが検出されており、これら合成カンナビノイドが原因と考えられる健康被害も多数報告されている。これまで我々は、危険ドラッグ成分の中樞神経系の興奮若しくは抑制又は幻覚作用を検出する方法として、動物実験用脳波解析システムを導入し、動物(ラット)の脳波

の変化から薬物の薬理学的効果を判定する方法を検討してきた [1-5]。しかし、次々と新たな合成カンナビノイドが検出される現状において、行動量解析のような、より簡便な薬理作用の評価法が必要である。ところが、これら化合物の薬理作用、特に行動に関する詳細については非常に報告が少ない。そこで本研究では、平成 25 年度に引き続き、主に平成 26 年度に国内(外)で流通した危険ドラッグ製品から新たに検出された合成カンナビノイドについて、マウスの自発運動量に及ぼす作用を調べた。化合物の内訳としては、指定薬物 18 化合物(化合物 3-7, 9-20, 22, Fig. 1)、未規

制化合物 4 化合物(化合物 2, 8, 21, 23, Fig. 1) の計 22 化合物を用い, 陽性対照として麻薬 (JWH-018)を用いた(化合物 1, Fig. 1).

B. 研究方法

【使用動物】C57BL/6 系雄性マウス(9 週齢, 体重 21-24g)を日本エスエルシー株式会社より購入した.

【飼育方法】マウスは 12 時間ごとの明暗周期下で, 飼料と水を自由に摂取させた.

【薬物投与】使用した 23 化合物は, Cayman chemical 社製もしくは国立衛研において調製したものをを用いた. 各化合物は, DMSO/emurphor® EL-620 (GAF Chemical, Wayne, NJ)/生理食塩水 (1/1/18)の溶媒に溶解或いは懸濁させ, マウスに各 5 mg/kg の用量で腹腔内投与 (intraperitoneal administration: i.p.)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).

【自発運動量測定】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. 行動量は, 動物から放出される赤外線を検出するセンサー (Biotex Japan 社)とソフトウェア Biotex 16CH Act Monitor BAI2216 (Biotex Japan 社)を用いて 1 分毎の行動量を 48 時間記録した. 自発運動量は, 投与後 1 時間毎の累積量と, 投与 0-6 時間後及び 6-12 時間後の累積量を 1 日目のコントロールを 100%として算出し, 化合物投与後のそれぞれの累積値と比較した.

(倫理面の配慮)

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.

C. 研究結果および考察

今回検討を行った化合物を, その構造から以下の 7 種類に分類した (Fig. 1).

1. カルボニル類(化合物 1)
2. エステル類(化合物 3-6, 23)
3. アミド類(化合物 2, 19, 21)
4. ジアミド類(化合物 7-13)
5. アミドエステル類(化合物 14-18)
6. シクロプロピル類(化合物 20)
7. カルバゾール類(化合物 22)

【自発運動量の経時変化】

各薬物をそれぞれ 5 mg/kg 投与した場合の, 投与後 1 時間毎の自発運動累積量の経時変化を, Fig. 2a-w に示した.

エステル類(化合物 3-6, 23)を投与した場合, インドール骨格を持つ化合物 3 (NM-2201)のみ投与 13 時間後まで有意にマウスの自発運動量を減少させた (Fig. 2c). 一方, その他のインダゾール骨格を持つ化合物 (4-6, 23)では有意な自発運動量の抑制作用はみられなかった (Fig. 2d-2f, 2w). 従って, これらエステル類のうち, インドール骨格はマウス行動抑制作用を示し, インダゾール骨格の化合物は抑制作用を示さないと考えられた.

アミド類(化合物 2, 19, 21)を投与した場合, ナフタレン骨格をもつ化合物 2, およびアダマンチル骨格をもつ化合物 19 は, それぞれ 5, 6 時間後まで有意にマウスの自発運動量を減少させた (Fig. 2b, 2s). 一方, ベンジル骨格をもつ化合物 21 は有意な自発運動量の抑制作用はみられなかった (Fig. 2u).

次に, ジアミド類(化合物 7-13)を投与した場合の結果を Fig. 2g-2m に示した. 1*H*-インダゾール骨格をもつ化合物(化合物 7, 9, 10, 11)は, それぞれ投与の 12, 3, 1, 6 時間後まで有意に自発運動量を減少させた (Fig. 2g, 2i-2k). 一方, 2*H*-インダゾール骨格をもつ化合物(化合物 8)及び 1*H*-インダゾール骨格をもち且つベンジル基をもつ化合物(化合物 12, 13)は有意な(自発運動

量の)抑制作用はみられなかった (Fig. 2h, 2l, 2m).

アミドエステル類(化合物 14-18)を投与した場合の結果を Fig. 2n-2r に示した. 化合物 14-18 は, それぞれ投与の 15, 22, 13, 13, 15 時間後まで有意に自発運動量を減少させた (Fig. 2n-2r). 従って, これらアミドエステル類は, 陽性対照の JWH-018(投与 16 時間後まで有意に減少, Fig. 2a)と同程度かまたはそれ以上の長時間にわたり作用が持続することが示された. 化合物 15 (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.

シクロプロピル類(化合物 20)及びカルバゾール類(化合物 22)を投与した場合の結果を Fig. 2t, 2v に示した. シクロプロピル類(化合物 20)は, 投与 3 時間後まで有意に自発運動量を減少させた (Fig. 2t). 一方, カルバゾール類(化合物 22)を投与した場合, 有意な(自発運動量の)抑制作用はみられなかった (Fig. 2v).

【累積自発運動量】

各薬物投与 0-6 時間後及び 6-12 時間後におけるマウスの累積自発運動累積量を, コントロールを 100%として算出し, Fig. 3 に示した. 左側に投与 0-6 時間後(a), 右側に投与 6-12 時間後(b)の累積量を示した. また, Table 1 に, 各化合物の部分構造(A-E 部分)を分類したものと, 投与 0-6 時間後の%コントロールを 0~10%未満, 10~25%未満, 25~50%未満, 50~100%未満, 100%以上(いずれも有意差有り)及び有意差なしに色分けし, 表に示した. さらに, 平成 25 年度に検討を行った化合物の一部(化合物 24-30, Fig. 1)の結果を比較として同時に示した (Fig. 3, Table 1).

<投与 0-6 時間後の累積自発運動累積量の%コントロール>

- 0~10%未満:化合物 3, 14-18, (29)
- 10~25%未満:化合物 1, 19, (24, 27)
- 25~50%未満:化合物 7, 11, (25, 26, 28, 30)

- 50~100%未満:化合物 2, 9, 20
- 100%以上:化合物 4, 8
- 有意差なし:化合物 5, 6, 10, 12, 13, 21-23

以上の結果から, 投与 0-6 時間後までの行動累積量を比較すると, 下記に示す結果が得られた.

○アミドエステル類(化合物 14-18):最も顕著な行動抑制作用を示し, 陽性対照 JWH-018(1)以上または同程度の長時間にわたり作用が持続することが示された.

○ジアミド類:化合物 7, 9, 11 は顕著な行動抑制作用を示した. しかし, さらにベンジル基を有する化合物(12, 13)では抑制作用は見られなかった. また, 1*H*-インダゾール(7)は抑制作用を示すが, 2*H*-インダゾール(8)では示さなかった.

○ナフタレン骨格を有するアミド類とエステル類:行動抑制作用は, エステル類(25)>アミド類(2)の順であった.

○ナフタレン骨格を有するインドール類とインダゾール類:行動抑制作用は, インドール類(3)>>インダゾール類(5, 有意差なし)であった.

○ナフタレン骨格とキノリン骨格:行動抑制作用は, ナフタレン骨格(3)≥キノリン骨格(24)の順であった.

○Fig. 4 の C 部分がベンジル基を有する化合物(12, 13, 21)では抑制作用は見られなかった.

○カルバゾール類(22)では抑制作用は見られなかった.

○ジアミド類のアルキル側鎖 (N-(CH₂)₄-CH₃, N-(CH₂)₅-F, N-(CH₂)₅-Cl):行動抑制作用は, N-(CH₂)₄-CH₃(26)> N-(CH₂)₅-F(28)>> N-(CH₂)₅-Cl(10, 有意差なし)の順であった. また, N-(CH₂)₄-CH₃(27)> N-(CH₂)₅-F(11)の順であった.

○Fig. 4 の C 部分が isopropyl 基または *tert*-butyl 基を有する化合物:行動抑制作用は, *tert*-butyl (11)≅ isopropyl (28), また *tert*-butyl (17)≅ isopropyl(29)の順であった.

○インダゾール骨格を有するエステル類:化合物 4-6, 23) では抑制作用は見られなかった。

なお、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(化合物 14-18)や NM-2201(化合物 3)など一部の化合物を投与後に痙攣、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。また、特に、化合物 15(MDMB-CHMINACA)投与マウスは上記の症状が観察された後、4 匹中 2 匹が死亡した。

D. 結論

本研究では、平成 25 年度に引き続き、主に平成 26 年度に国内(外)で危険ドラッグ成分として流通した合成カンナビノイド 22 化合物及び陽性対照 1 化合物(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。その結果、15 化合物はいずれもマウスの自発運動量を有意に減少させ、特にアミドエステル類(化合物 14-18)は、陽性対照 JWH-018(1)以上または同程度の長時間にわたり作用が持続した。また、化合物 15(MDMB-CHMINACA)投与マウスは、4 匹中 2 匹が死亡した。なお、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(化合物 14-18)や NM-2201(化合物 3)など一部の化合物を投与後に痙攣、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。従って、これら合成カンナビノイドの摂取により重篤な健康被害が生じる可能性が危惧された。

以上本結果は、薬理作用がほとんど不明である新規流通合成カンナビノイドについての有用なデータである。なお、本結果の一部は、未規制であった危険ドラッグ成分が、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た。

E. 参考文献

1) 厚生労働科学研究補助金(医薬品・医療機器

等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)「違法ドラッグの依存性等に基づいた乱用防止対策に関する研究」平成 19 年度及び 20 年度研究分担報告「フッ素置換アンフェタミン誘導体のラットの脳波に及ぼす作用」及び「フッ素置換アンフェタミン誘導体のラットの脳波に及ぼす作用および血漿中薬物濃度に関する研究」(裏出良博, 内山奈穂子)

2) 厚生労働科学研究補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)「違法ドラッグの危害影響予測手法と分析に関する研究」平成 21 年度, 22 年度及び 23 年度研究分担報告「合成カンナビノイドのラットの脳波に及ぼす作用に関する研究」「合成カンナビノイドのラットの脳波に及ぼす作用に関する研究(2)」及び「麻薬成分ケタミン誘導体:メトキセタミンのラット脳波に及ぼす作用に関する研究」(裏出良博, 内山奈穂子)

3) Uchiyama N., Kikura-Hanajiri R., Matsumoto N., Huang Z.L., Urade Y., Goda Y. Effects of synthetic cannabinoids on electroencephalogram power spectra in rats. *Forensic Sci. Int.* (2012) 215:179-183.

4) 厚生労働科学研究補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)「違法ドラッグに関する分析情報の収集及び危害影響予測に関する研究」平成 24 年度, 25 年度研究分担報告「カチノン系化合物 α -PVP 及び合成カンナビノイド MAM-2201 のラットの脳波に及ぼす作用に関する研究」及び「新規流通合成カンナビノイド QUPIC, 5-Fluoro-QUPIC 及び NNEI indazole analog のラットの脳波に及ぼす作用に関する研究」(裏出良博, 内山奈穂子)

5) Uchiyama N., Kikura-Hanajiri R., Aritake K., Goda Y., Urade Y. Effects of MAM-2201 and α -PVP on electroencephalogram power spectra and locomotor activity in rats. *SOFT2013* (2013.10)

F. 健康危険情報

特になし.

G. 研究発表(学会発表)

特になし.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし.

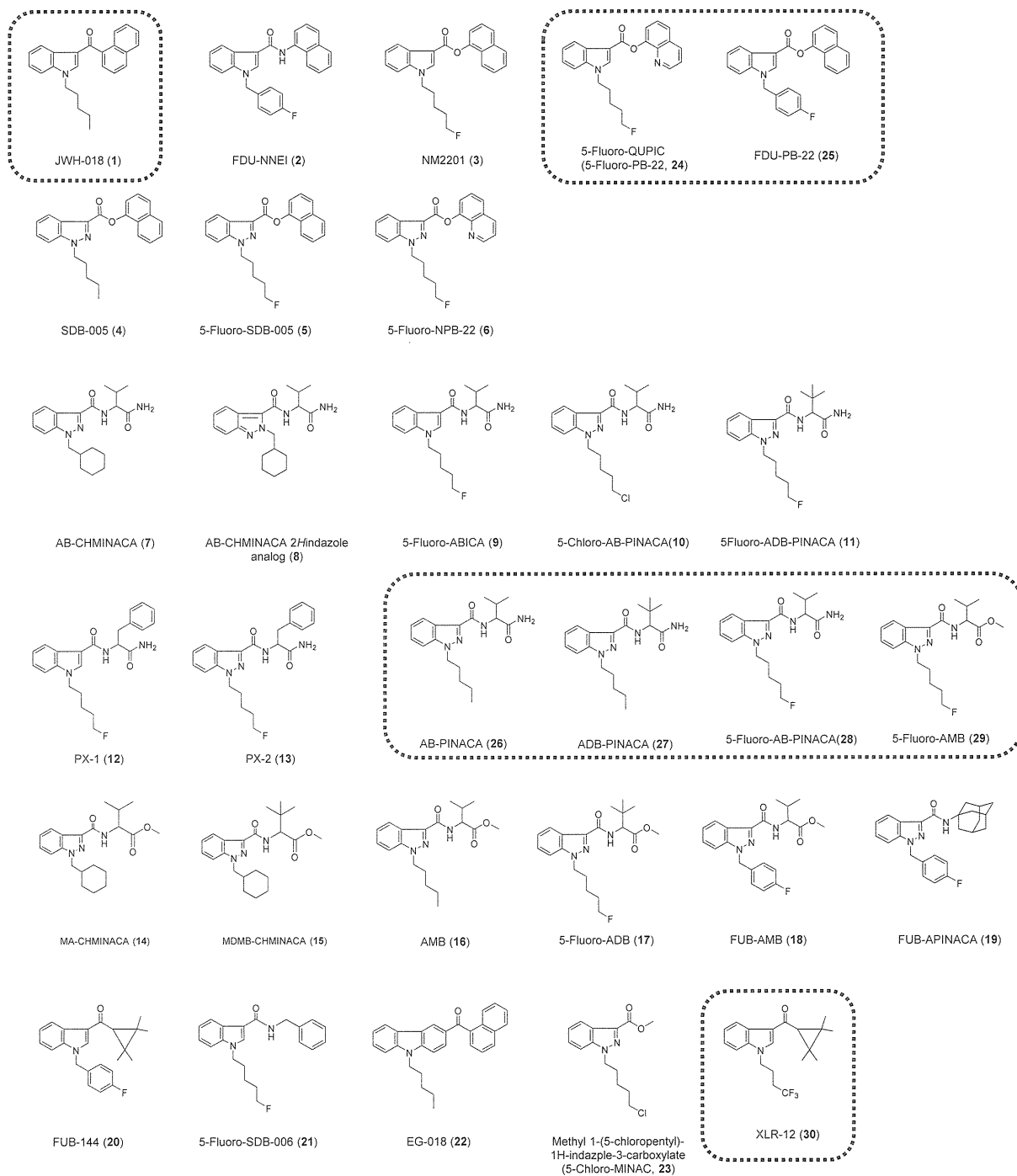


Fig. 1. Structures of tested synthetic cannabinoids

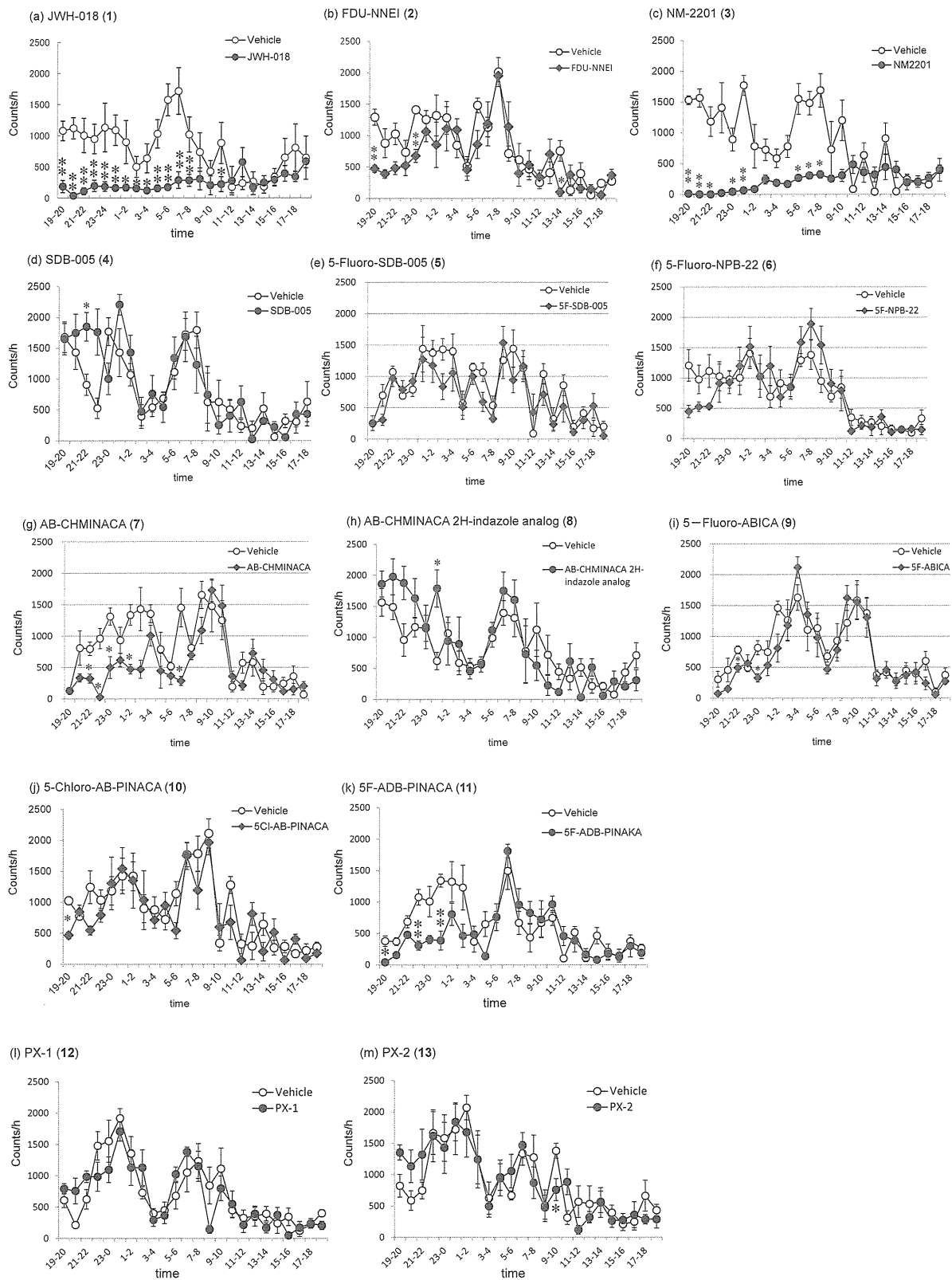


Fig. 2 Time courses of the locomotor activity after i.p. injections of compounds 1-13 (a-m) at 5 mg/kg in mice. Each value is shown as the locomotor count for 1 h. Values are means \pm SEM ($n = 4$). *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$, significantly difference from the vehicle injection.

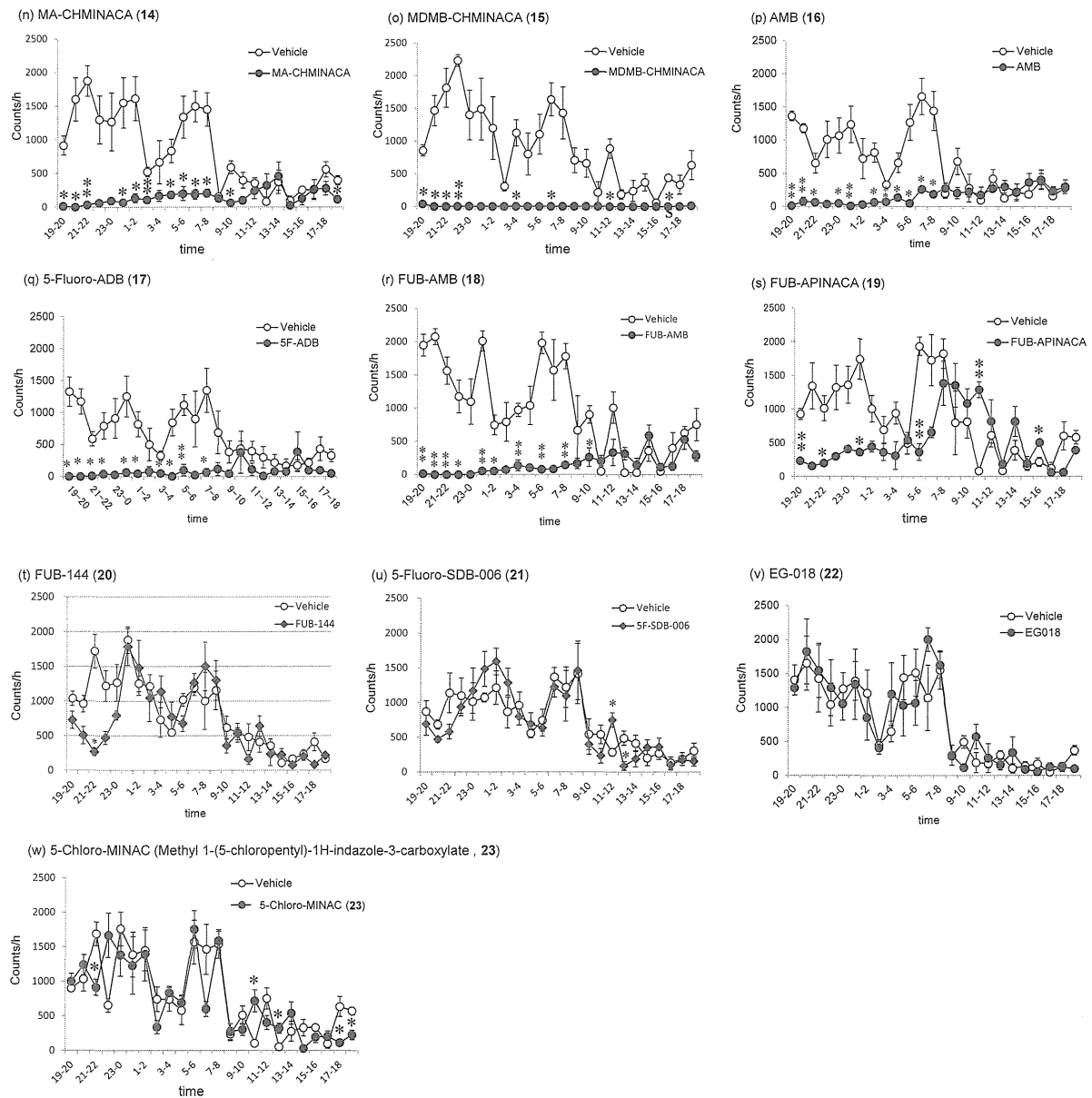


Fig. 2 (Continued) Time courses of the locomotor activity after i.p. injections of compounds 14-23 (n-w) at 5 mg/kg in mice. Each value is shown as the locomotor count for 1 h. Values are means \pm SEM ($n = 4$). *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$, significantly difference from the vehicle injection.

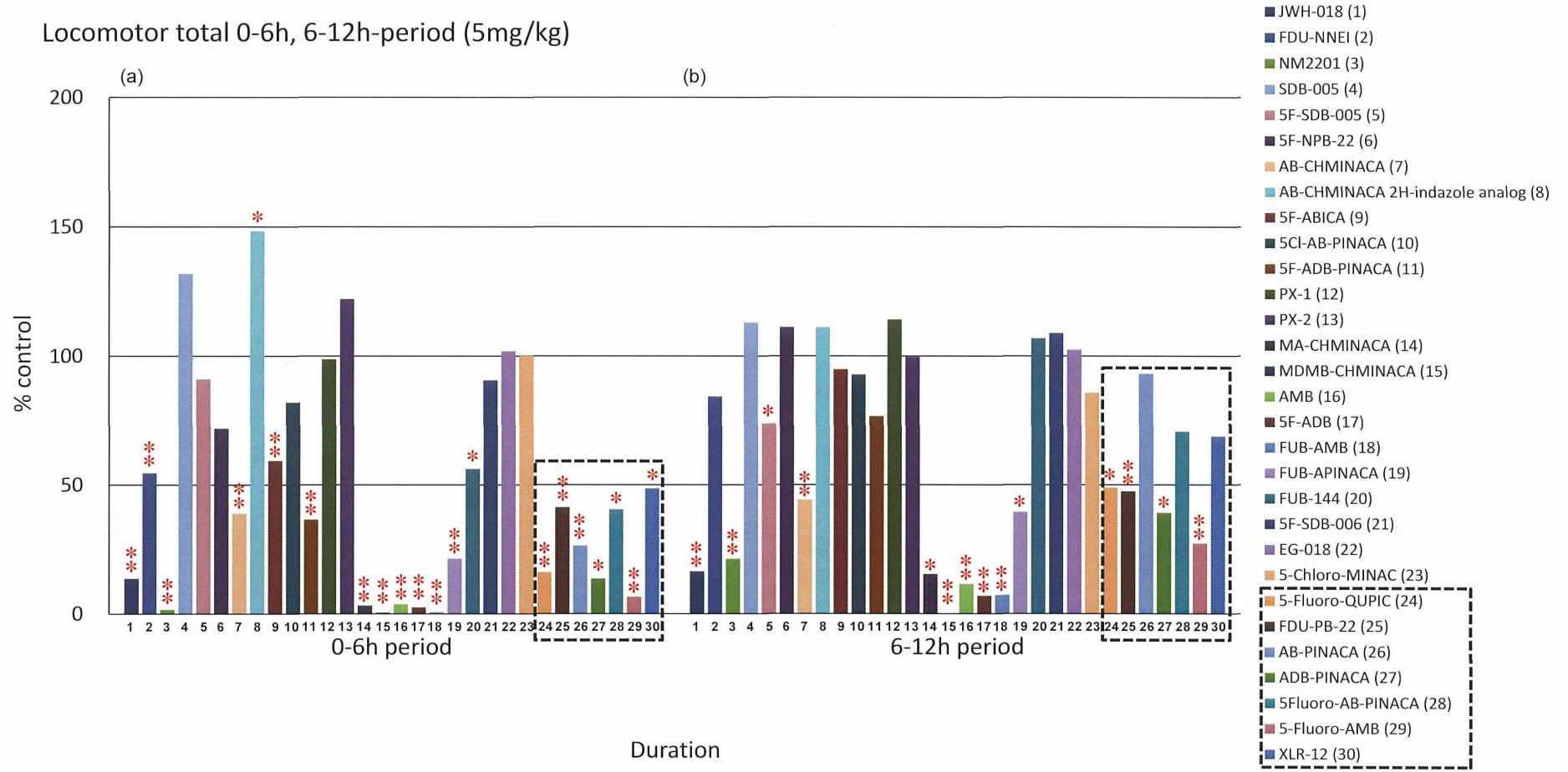


Fig. 3 Total amounts of locomotor activity during a 0-6-h (a) and 6-12-h period (b) after injections of synthetic cannabinoids (1–30) at 5 mg/kg in mice. Each value is shown as percentage of the control value in animals treated with vehicle. *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$, significantly difference from the vehicle injection.

Table 1 Structure-locomotor activity relationship of synthetic cannabinoids (1–30)

Type		A				B			C			D		E											
		1H-indole	1H-indazole	benzimidazole	2H-indazole	9H-carbazole	carbonyl	carboxylamide	carboxylester	naphthalene	quinoline	isopropyl	tert-butyl	adamantyl	2,2,3,3-tetramethylcyclopropyl	4-methylpiperazinyl	benzyl	perityl	5-fluoropentyl	5-chloropentyl	4,4,4-trifluorobutyl	cyclohexylmethyl	4-fluorobenzyl	carboxylamide	carboxylester
No.	Group																								
1	BAH-018 (1)																								
2	FDU-RNEI (2)																								
3	MGZ-01 (3)																								
4	SDB-005 (4)																								
5	5F-SDB-005 (5)																								
6	5F-NPB-22 (6)																								
7	AB-CHMINACA (7)																								
8	AB-CHMINACA 2H-indazole analog (8)																								
9	5F-ABICA (9)																								
10	5CI-AB-PNACA (10)																								
11	5F-ADB-PNACA (11)																								
12	PX-1 (12)																								
13	PX-2 (13)																								
14	AB-CHMINACA (14)																								
15	ADAB-CHMINACA (15)																								
16	AMB (16)																								
17	5F-ADB (17)																								
18	5F-AB (18)																								
19	5F-AB-PNACA (19)																								
20	5F-AB-144 (20)																								
21	5F-SDB-006 (21)																								
22	EG-018 (22)																								
23	5-Chloro-MNAC (23)																								
24	5-Fluoro-DUPIC (24)																								
25	FDU-FB-22 (25)																								
26	AB-PNACA (26)																								
27	SDB-PNACA (27)																								
28	5F-fluoro-AB-PNACA (28)																								
29	5F-fluoro-AMB (29)																								
30	XLR-12 (30)																								

■ 5-10% 未満
■ 10-25% 未満
■ 25-50% 未満
■ 50-100% 未満
■ 100%