

保持時間を表 2 に示した。

2. LC-TOF-MS における各物質の検出状況

標準溶液及び尿試料液中の各物質(濃度 0.5 ~10 ng/mL)の LC-TOF-MS における質量誤差を図 1 に示した。また、同様に安定同位体比の理論値との一致度 score を図 2 に示した。0.2 ng/mL の濃度においては、検出された物質はなかった。

スクリーニングに用いるカットオフ基準をピーク高さ・質量誤差・score について各 2 通り設定し、これらを組み合わせて合計 8 通りの基準を適用した場合の検出下限値(尿中濃度換算:試料液中濃度の 5 倍)を表 3 に示した。

3. LC-TOF-MS における尿由来の擬陽性物質

表 3 と同様の 8 通りの基準でボランティア尿 3 検体をスクリーニングした場合に何らかの指定薬物と一致する精密質量を与えたピークの本数を表 4 に示した。この際、複数の尿から保持時間・精密質量とも一致するピークが得られたものについて、その概要を表 5 に示した。表 5 に示したピーク以外のピーク(1 検体の尿のみから検出)を表 6 に示した。

4. GC-MS による確認分析

幅広い物質を抽出できる条件を探るため、pH8 ~pH11 の緩衝液に 10 物質を添加してヘキサンで抽出した。その回収率を図 3 に示した。pH10 の緩衝液において 4 種の溶媒の回収率を比較した結果を図 4 に示した。また、尿を pH9~10 に調整し、酢酸エチル及びヘキサノール酢酸エチル混液(1:1)で抽出した結果を図 5 に示した。最終的に設定した方法(実験方法の4に記載)での回収率及び GC-MS における検出下限を表 7 に示した。GC-MS における検出下限を探るため、尿 50 mL に薬物の混合メタノール溶液(200 µg/mL) 5 µL を添加(20 ng/mL)して試料液を 200 µL として GC-MS を行った結果、4-fluoromethcathinone 及び DOI はベースピークのイオンクロマトグラムで痕跡量が検出された。これら以外の薬物は明瞭に検出された。

D. 考察

1. 研究に用いた物質及びクロマトグラフィー条件

幅広い化学構造の指定薬物をスクリーニングする条件を探るため、本研究においては表 1 の通り、異なる化合物群(合成カンナビノイド以外)から 10 物質を選んだ。また、LC 及び GC にはすべての指定薬物を検出できる条件を採用した。この LC 条件において、当部が標準品を保有している指定薬物中最も遅く溶出する CB-13 の保持時間は 29.2 分、同じく、GC において最も溶出が遅い EG-018 の保持時間は 30.4 分である。

2. LC-TOF-MS における各物質の検出状況

図 1 に見る通り、標準溶液中の物質ごとの質量誤差は、methiopropamine(分子量 155)及び 4-fluoromethcathinone(分子量 181)は最大 10 ppm 程度と大きく、その他の物質(分子量 246~322)は 5 ppm 以内であった。分子量が小さい物質で質量誤差(ppm)が大きくなる傾向が示唆された。

尿中の物質の質量誤差は標準溶液中よりも大きく、また、濃度が低いほど誤差が大きくなる傾向があった。安定同位体比 score についても尿に添加した物質では低い傾向が見られた。尿由来の物質が精密質量及び安定同位体比の測定値に影響を与えようと考えられる。

ピーク高さ、質量誤差、score の 3 パラメータを変化させて検出下限を探った結果、最も厳しい条件(ピーク高さ 20,000 count 以上、誤差 5 ppm 以内、score 60 以上)での検出下限は 10~50 ng/mL であったのに対し、最も緩い条件(ピーク高さ 6,000 count 以上、誤差 10 ppm 以内、score 40 以上)での検出下限は 2.5~50 ng/mL であった。methiopropamine のように判定基準が異なっても検出下限が変わらないものがある一方で、ethylphenidate と acetylfentanyl のように 5 倍の差があるものもあった。

3. LC-TOF-MS における尿由来の擬陽性物質

異なる 3 名のボランティアから提供された尿について LC-TOF-MS によるスクリーニングを行った

結果、検出された擬陽性ピークの数、表4に示した通り、最も厳しい条件では1~6本、最も緩い条件では11~22本であった。判定基準によって擬陽性ピークの数、大きく異なった。

最も緩い基準によって検出された擬陽性ピークにつき、3検体の間で共通するものを精査した結果、表5に示した13本が一致していた。これらは尿に含まれる一般的な成分である可能性がある。一方、これら13ピークを除いたピークの概要は表6に示した通りであった。3検体の尿から3~10本が検出された。

これらのピークの候補物質の半数以上は包括指定のカチノン類であり、保持時間がほとんど不明であるため、LC-TOF-MSによる結果のみで指定薬物に該当するか否かを判断するのは困難である。しかし、平成25年度の厚生労働科学研究⁷⁾で報告した通り、包括指定のカチノン類のGC-MSスペクトルは予測が可能であり、GC-MSとの併用により判断できると考えられる。

また、包括指定のカチノン類以外の物質は個別指定の指定薬物であり、GC-MSの併用と共に、厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課長通知⁸⁾に記載されているLC保持時間と対照することでも判断が可能と考えられる。

上記の通り、最も緩い判定基準においても、指定薬物のスクリーニングは可能と考えられた。今後、ボランティアの人数及び検体数を増やして一般的な尿成分のリストを拡充することで、さらに擬陽性ピークを絞り込むことが可能になると考えられる。

なお、LC-TOF-MSによる血液及び尿中危険ドラッグ成分の判定基準として、Gualeら¹⁾は本研究と同じシリーズの機器(Agilent社6230)を用い、質量誤差15ppm以内、score 50以上を提案している。今回検討した判定基準は当部の保有機器及び尿検体から導き出されたものであり、最適な判断基準は、各試験室で検討して設定する必要がある。

4. GC-MSによる確認分析

GC-MS用の試料液の調製方法を検討した結果、水層の液性がpH8の場合は回収率が低かったが、図3の通りpH9~11の間には大きな差がなかった。カチノン類がアルカリ性で不安定であるとの報告があることから⁹⁾、水層はpH9~10の範囲に調整することとした。抽出溶媒として4種類を検討した結果、図4の通り酢酸エチルまたはヘキサン-酢酸エチル混液での結果が良好であった。尿に添加して2つの溶媒を比較したところ、図5の通り、酢酸エチルの回収率がやや高かったが、GCにおける妨害ピークの数・面積とも約1.5倍であったため、ヘキサン-酢酸エチル混液を用いることとした。

最終的に設定した試験法による添加回収率は、表7に示した通り、2 µg/mL添加で60.7~97.3%、0.4 µg/mL添加で35.3~61.9%であった。この試料液調製法は1回のみ抽出であり、尿量に対する有機溶媒量が少ないため、定量を目的とする分析には適さない。しかしながら、本研究においてGC-MS分析の目的はLC-TOF-MSによるスクリーニングで含有が疑われた指定薬物を確認することであり、操作の簡便さ及びコンタミネーションの可能性排除を優先して試験法を設定した。20 ng/mL添加で10物質が確認できたことから、感度面でも実用可能と考えられた。

5. 今後の課題

合成カンナビノイドは一般的に尿中に未変化体が排泄されることは稀であるが、重度中毒症例の尿から痕跡量のAB-CHMINACAが¹⁰⁾、同様に中毒症例の尿から0.084 ng/mLのAM-694が¹¹⁾検出された例がある。今回、LC-TOF-MSスクリーニングにおいて合成カンナビノイド(包括指定の物質除く)も検索しているが、添加回収試験は行わなかった。検出例がある合成カンナビノイド及びその構造類似物質については、同様の検討を行って検出限界等を把握する必要がある。

また、一般的な尿成分を検索したボランティア尿検体は3検体に留まったが、今後例数を増やす必要がある。

E. 結論

指定薬物 10 物質について LC-TOF-MS による尿からのスクリーニング分析を検討した結果, 正確な保持時間情報が無くても 2.5~50 ng/mL の濃度(尿中)まで検出できた. この条件において, 3 検体のボランティア尿から 11~22 本の擬陽性ピークが検出された. これらのピークのうち 13 本は一般的な尿成分であると推定され, 残るピークについても, GC-MS による分析及び LC 保持時間情報により, 指定薬物に該当するか否かの判定が可能であると考えられた.

F. 研究発表

1. 論文発表

津村ゆかり, 「危険ドラッグの分析」, ぶんせき, 印刷中 (2015).

2. 学会発表

城克己, 津村ゆかり, 高木敏之, 「尿中危険ドラッグの抽出方法の検討」, 日本薬学会第 135 年会, 神戸 (2015. 3).

G. 知的所有権の取得状況

なし

参考文献

- 1) F. Guale, S. Shahreza, J. P. Walterscheid, H. Chen, C. Arndt, A. T. Kelly, A. Mozayani, *J. Anal. Toxicol.*, **37**, 17-24 (2013).
- 2) M. Sundström, A. Pelander, V. Angerer, M. Hutter, S. Kneisel, I. Ojanperä, *Anal. Bioanal. Chem.*, **405**, 8463-8474 (2013).
- 3) M. A. Elsohly, W. Gul, A. S. Wanas, M. M. Radwan, *Life Sci*, **97**, 78-90 (2014).
- 4) M. S. Castaneto, D. A. Gorelick, N. A. Desrosiers, R. L. Hartman, S. Pirard, M. A. Huestis, *Drug Alcohol Depend.*, **144**, 12-41 (2014).
- 5) K. Watanabe-Suzuki, H. Nozawa, O. Suzuki, A. Ishii, *J. Chromatogr. Sci.*, **41**, 63-66 (2003).
- 6) 高間雅志, 林田眞喜子, 吉澤智恵子, 佐藤由依, 國末容子, 植草協子, 大野曜吉, 日本法中毒学会第 33 年会講演要旨集, p.62 (2014).
- 7) 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 25 年度研究分担報告「包括指定により指定薬物として規制されるカチノン類の分析」(花尻(木倉)瑠理, 津村ゆかり, 近藤 勝)
- 8) 厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課長通知「指定薬物の分析法について」, 平成 19 年 5 月 21 日付け薬食監麻発第 0521002 号 (2007).
- 9) K. Tsujikawa, T. Mikuma, K. Kuwayama, H. Miyaguchi, T. Kanamori, Y. T. Iwata, H. Inoue, *Forensic Sci. Int.*, **220**, 103-110 (2012).
- 10) K. Maudens, F. Vandereyken, L. Patteet, N. Negreira, K. Meesschaert, N. Vrydags, P. Blanckaert, C. Erratico, C. Crunelle, A. van Nuijs, A. Covaci, P. Van Rossom, H. Neels, *Abstracts of the 52nd Annual Meeting of the International Association of Forensic Toxicologists (TIAFT 2014)*, pp.43-44 (2014).
- 11) E. Bertol, F. Vaiano, M. G. D. Milia, F. Mari, *Abstracts of TIAFT 2014*, p. 46 (2014).

表 1 実験に用いた指定薬物の概要

分類	名称(通称)	分子式	モノアイソトピック質量 (Da)
チオフェン類	Methiopropamine	C8H13NS	155.0769
カチノン類(短鎖)	4-Fluoromethcathinone	C10H12FNO	181.0903
トリプタミン類	5-MeO-MIPT	C15H22N2O	246.1732
アミノインダン類	5-IAI	C9H10IN	258.9858
その他	Diphenylprolinol	C17H19NO	253.1467
フェニデート類	Ethylphenidate	C15H21NO2	247.1572
ピペラジン類	2,3-DCPP	C10H12Cl2N2	230.0378
合成オピオイド	Acetylfentanyl	C21H26N2O	322.2045
フェネチルアミン類	DOI	C11H16INO2	321.0226
カチノン類(長鎖)	α -POP	C18H27NO	273.2093

表 2 各物質の保持時間

名称(通称)	LC-MS 保持時間*1 (min)	GC-MS 保持時間*2 (min)
Methiopropamine	3.30 (0.01)	4.20
4-Fluoromethcathinone	3.68 (0.02)	5.88
5-MeO-MIPT	5.90 (0.04)	15.66
5-IAI	6.56 (0.05)	10.17
Diphenylprolinol	7.15 (0.05)	15.15
Ethylphenidate	7.63 (0.05)	11.69
2,3-DCPP	7.82 (0.05)	12.32
Acetylfentanyl	7.99 (0.05)	19.72
DOI	8.39 (0.05)	13.06
α -POP	11.83 (0.04)	14.48

*1 10ng/mL の濃度の標準溶液(アセトニトリル-水 8:2)を3回注入した平均値, カッコ内は標準偏差

*2 10 μ g/mL の濃度の標準溶液(酢酸エチル-ヘキサン 1:1)を1回注入

図1 LC-TOF-MS における薬物の質量測定値と理論値の誤差(3回測定の平均値)

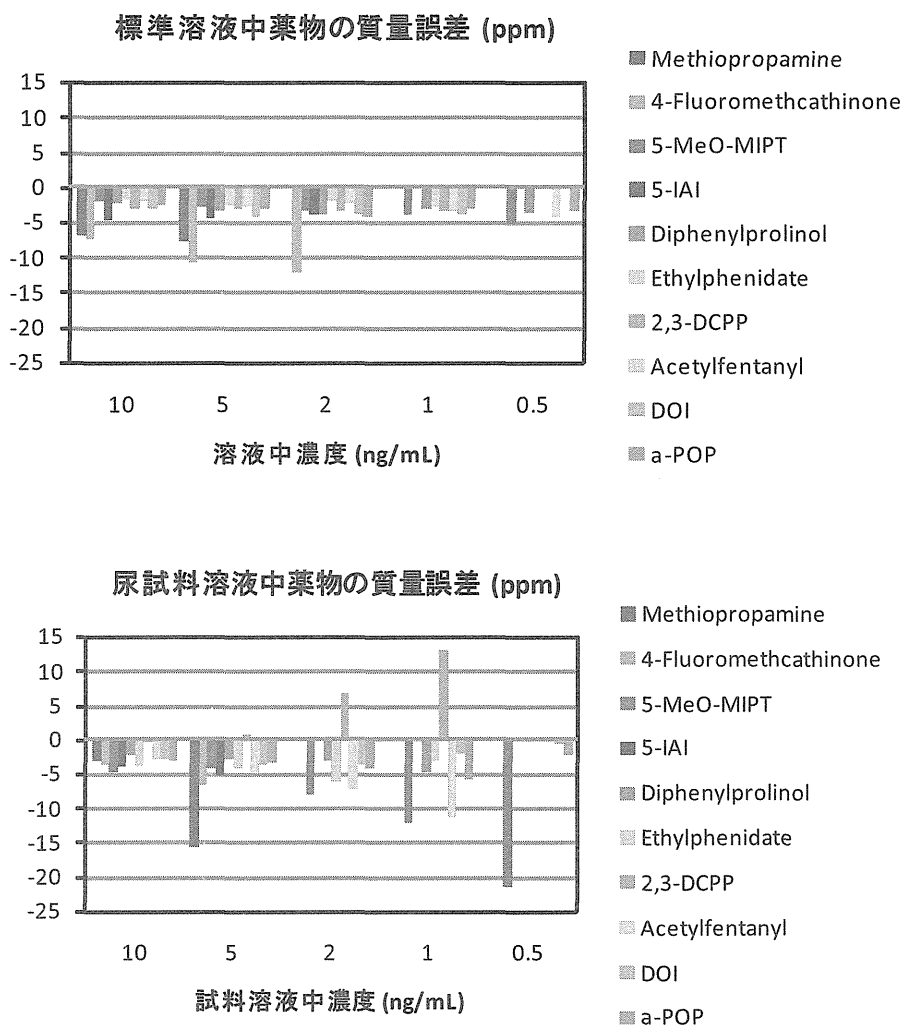
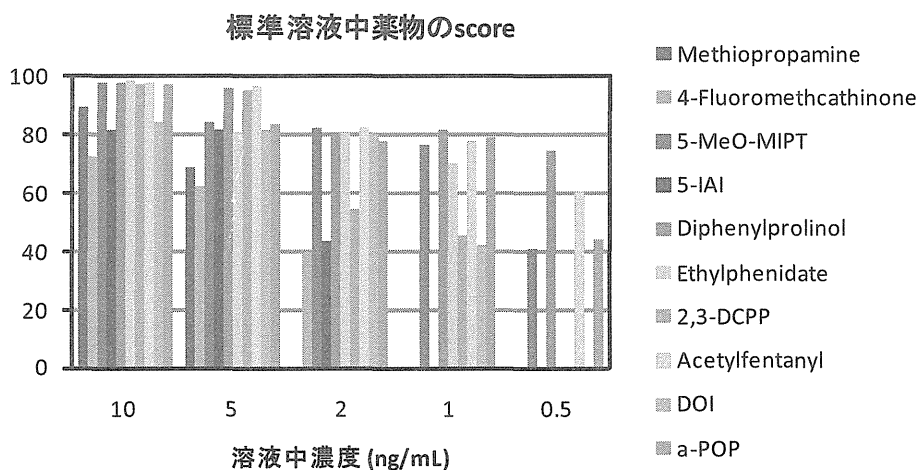


図2 LC-TOF-MS における薬物の安定同位体比一致度 score(3回測定 of 平均値)



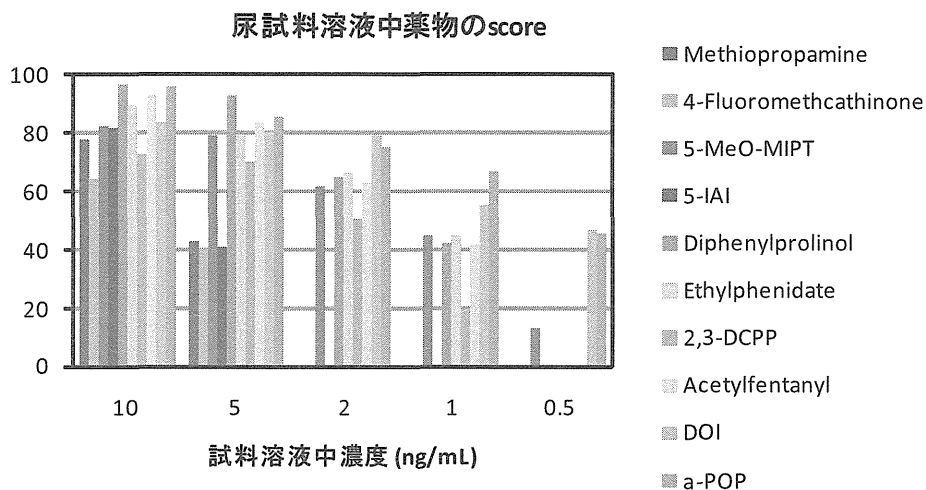


表 3 種々の検索条件における尿中薬物の検出下限(尿中濃度, ng/mL)

	ピーク高さ 20,000 以上				ピーク高さ 6,000 以上			
	誤差 5ppm 以内		誤差 10ppm 以内		誤差 5ppm 以内		誤差 10ppm 以内	
	Score 60 以上	Score 40 以上	Score 60 以上	Score 40 以上	Score 60 以上	Score 40 以上	Score 60 以上	Score 40 以上
Methiopropamine	50	50	50	50	50	50	50	50
4-Fluoromethcathinone	50	50	50	25	50	50	50	25
5-MeO-MIPT	25	25	10	10	25	25	10	10
5-IAI	50	50	50	25	50	50	50	25
Diphenylprolinol	10	5	10	5	10	5	10	5
Ethylphenidate	25	25	10	10	25	25	10	5
2,3-DCPP	25	25	25	25	25	25	25	10
Acetylfentanyl	25	25	10	10	25	25	10	5
DOI	10	10	10	10	10	2.5	10	2.5
α-POP	10	10	10	10	10	10	5	2.5

表 4 種々の検索条件における尿中擬陽性ピークの数

	ピーク高さ 20,000 以上				ピーク高さ 6,000 以上			
	誤差 5ppm 以内		誤差 10ppm 以内		誤差 5ppm 以内		誤差 10ppm 以内	
	Score 60 以上	Score 40 以上	Score 60 以上	Score 40 以上	Score 60 以上	Score 40 以上	Score 60 以上	Score 40 以上
尿 X	4	7	9	15	4	9	9	19
尿 Y	6	10	9	15	6	15	9	22
尿 Z	1	3	5	9	2	4	6	11

表 5 複数の尿から共通して検出された擬陽性物質(最も緩い判定基準)

候補物質名	分子式	RT (min)	m/z	Mass	尿 X	尿 Y	尿 Z
包括指定 01k 等	C10 H11 N O3	4.619	194.0816	193.0742	検出	検出	—
包括指定 02k 等	C11 H13 N O3	5.158	208.0961	207.0889	検出	検出	—
包括指定 02k 等	C11 H13 N O3	5.649	208.0957	207.0884	検出	検出	—
包括指定 02k 等	C11 H13 N O3	5.767	208.0962	207.0899	検出	検出	検出
5-Fluoro-AB-PINACA	C18 H25 F N4 O2	7.065	349.2007	348.1938	—	検出	検出
5F-ADB-PINACA	C19 H27 N4 O2 F	7.338	363.2164	362.2088	—	検出	検出
CHMINACA-BA	C20 H27 N3 O3	7.656	358.2091	357.2021	検出	検出	—
包括指定 10k 等	C13 H17 N O3	8.966	236.1277	235.1214	検出	検出	検出
BiPICANA	C38 H39 N3 O2	9.434	570.3086	569.3008	検出	—	検出
5F-ADB-PINACA	C19 H27 N4 O2 F	9.608	363.2162	362.2091	—	検出	検出
5-DBFPV	C17 H23 N O2	12.099	274.1828	273.175	検出	検出	—
5-DBFPV	C17 H23 N O2	12.374	274.1824	273.1748	検出	検出	検出
AB-FUBINACA	C20 H21 F N4 O2	14.986	369.1686	368.1616	検出	検出	検出

包括指定の物質の記号は平成 25 年度厚生労働科学研究報告書⁷⁾による。

表 6 各尿検体から検出された共通成分以外の物質(最も緩い判定基準)

候補物質名	分子式	RT	m/z	Mass
尿 X				
包括指定 10k 等	C13 H17 N O3	2.996	236.1271	235.1197
包括指定 01k 等	C10 H11 N O3	5.108	194.0815	193.0743
包括指定 02l 等	C11 H13 N O3	5.515	208.0961	207.0899
包括指定 01h 等	C10 H13 N O2	7.247	180.1019	179.0957
包括指定 02l 等	C11 H13 N O3	7.516	208.0963	207.0890
包括指定 02h 等	C11 H15 N O2	9.350	194.1168	193.1102
包括指定 12k 等	C14 H19 N O3	10.234	250.1435	249.1362
BiPICANA	C38 H39 N3 O2	10.498	570.3081	569.3010
Ethylphenidate	C15 H21 N O2	10.670	248.1673	247.1593
尿 Y				
包括指定 02l 等	C11 H13 N O3	5.223	208.0969	207.0896
包括指定 02l 等	C11 H13 N O3	6.138	208.0978	207.0905
包括指定 10k 等	C13 H17 N O3	6.908	236.1283	235.1213
3,4-Methylenedioxy- α -PHP	C17 H23 N O3	7.407	290.1767	289.1667
3,4-Dimethoxy- α -PVP	C17 H25 N O3	7.460	292.1917	291.1844
包括指定 01h 等	C10 H13 N O2	9.872	180.1010	179.0938
包括指定 21l 等	C16 H21 N O3	10.104	276.1601	275.1535
包括指定 01h 等	C10 H13 N O2	10.122	180.1010	179.0942
包括指定 12k 等	C14 H19 N O3	10.804	250.1437	249.1364
BMDP	C17 H17 N O3	11.106	284.1289	283.1216
尿 Z				
包括指定 04l 等	C12 H15 N O3	7.185	222.1121	221.1049
5F-ADB-PINACA	C19 H27 N4 O2 F	8.398	363.2161	362.2089
5F-ADB-PINACA	C19 H27 N4 O2 F	8.695	363.2155	362.2098

包括指定の物質の記号は平成 25 年度厚生労働科学研究報告書⁷⁾による。

図3 GC用試料液の抽出時の液性と回収率との関係(3試行の平均値)

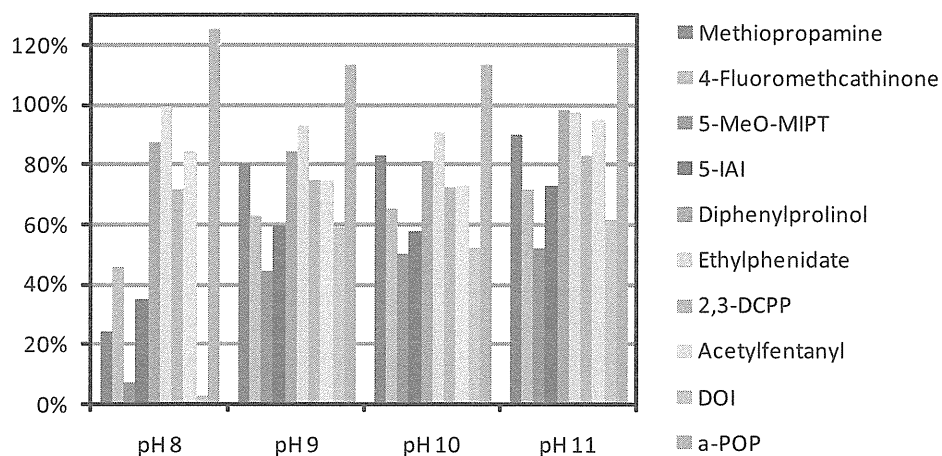
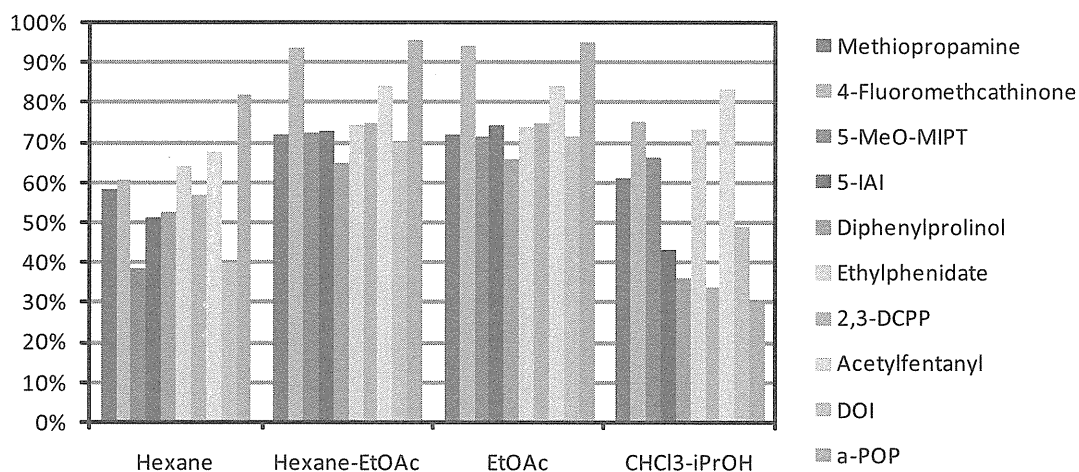
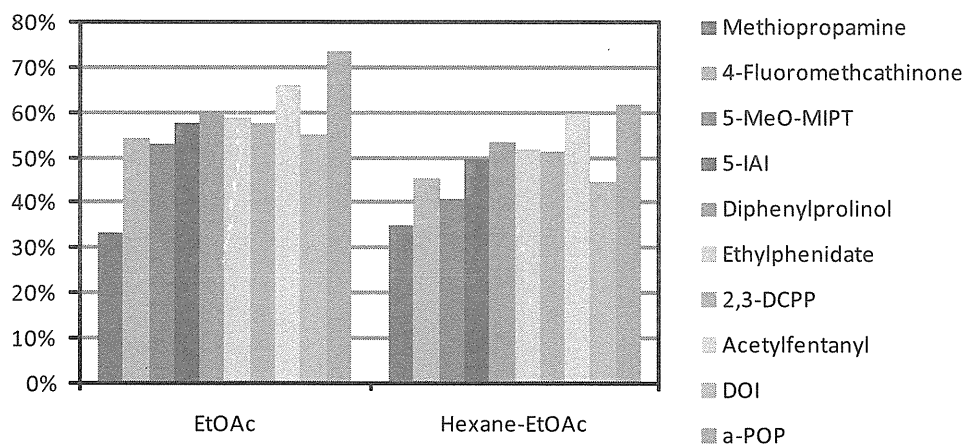


図4 各種溶媒による抽出率(pH10の緩衝液, 1試行)



混合溶媒の比率 ヘキサンー酢酸エチル 1:1 クロロホルムーイソプロパノール 3:1

図5 尿からの抽出時の溶媒と回収率(pH9~10に調整した尿 25 mL に 10 µg 添加)



混合溶媒の比率 ヘキサンー酢酸エチル 1:1

表 7 尿に対する添加回収率

名称(通称)	回収率(%)	
	尿量 5 mL (2 µg/mL 添加)	尿量 25 mL (0.4 µg/mL 添加)
Methiopropamine	64.4 (4.1)	45.0 (2.3)
4-Fluoromethcathinone	71.5 (7.7)	41.2 (6.4)
5-MeO-MIPT	61.8 (8.7)	51.8 (3.3)
5-IAI	74.2 (9.6)	35.3 (7.7)
Diphenylprolinol	66.7 (8.7)	53.4 (3.4)
Ethylphenidate	73.4 (8.6)	49.8 (2.8)
2,3-DCPP	68.7 (10.2)	45.5 (2.2)
Acetylfentanyl	83.7 (10.2)	61.9 (5.2)
DOI	60.7 (9.7)	51.3 (3.0)
α-POP	97.3 (10.3)	59.7 (5.0)

3 試行の平均値. カッコ内は標準偏差.

各 10 µg を添加し, 酢酸エチルーヘキサン混液(1:1) 10 mL で抽出した

分担研究課題:コンピュータモデリングによる法規制薬物の代謝物予測に関する研究

分担研究者:出水 庸介 国立医薬品食品衛生研究所有機化学部第二室 室長
—コンピュータモデリングによる合成カンナビノイドの代謝物予測に関する研究(2)—

研究要旨:乱用が懸念される違法ドラッグ(合成カンナビノイドなど)を迅速に規制するためには、その有害性を把握し評価することが重要である。本研究では、コンピュータモデリングによる合成カンナビノイドの代謝予測を行うことを目的とした。本年度は、ホモロジーモデリングにより立体構造を構築した CB1 受容体と様々な CB1 リガンド(69 種類)のドッキングシミュレーションを行うことでリガンドの受容体に対する結合様式の解析を行った。

A. 研究目的

近年、カンナビノイド受容体(CB1 受容体)に強い活性を示す合成カンナビノイド含有製品(違法ドラッグ、脱法ハーブ)による健康被害が急増して深刻な社会問題となっている。乱用が懸念される違法ドラッグを迅速に規制するためには、その有害性を把握し評価することが重要である。しかしながら、規制化に伴い、従来流通していた化合物にはない新しいタイプの構造を有する活性未知の化合物が次々と出現し、分析鑑定現場を混乱させている。本研究では、これらの製品から単離・同定される新規カンナビノイド化合物と CB1 受容体との結合様式をコンピュータモデリングにより予測し、さらにそれらの化合物代謝構造を予測することで、違法薬物の鑑別法におけるコンピュータシミュレーションの妥当性について検証することを目的とした。本年度は、ホモロジーモデリングにより立体構造を構築した CB1 受容体と様々な CB1 リガンド(69 種類)のドッキングシミュレーションを行うことでリガンドの受容体に対する結合様式の解析を行った。

B. 研究方法

1. CB1 受容体とリガンドとの結合様式解析

MOE(Molecular Operating Environment; CCG 社)Site Finder を用いて CB1 受容体のリガンド結合領域を検出した。さらに検出したリガンド結合領域に対して各 CB1 リガンド(69 種類)とのドッキングシミュレーション(力場: MMFF94X)を行うことで、受容体に対するリガンドの最安定構造の予測と結合様式の解析を行った。

C. 研究結果

(1)CB1 受容体とリガンドとの結合様式解析

CB1 受容体に対して、Site Finder を用いたリガンド結合領域の検出を行った。Alpha 球の疎水性部位を白球、親水性部位を赤球で Fig. 1 に示した。その結果、CB1 受容体のリガンド結合領域は、アミノ酸(PHE174 LEU193 VAL196 THR197 PHE200 THR201 VAL204 ILE247 PRO251 TRP255 GLU258 VAL263 CYS264 SER265 ASP266 ILE267 THR274 TYR275 LEU276 PHE278 TRP279 VAL282 THR283 TRP356 LEU359 LEU360 MET363 VAL364 VAL367 SER383 CYS386 LEU387)から構成される広い疎水性空間を持っていることが示唆された。続いて、CB1 受容体リガンド結合領域と 69 種類の CB1 リガンド(Fig. 2)とのドッキングシミュレーション

ン(リガンドと Alpha 球との一致や, タンパク質との衝突をガウス型の確率密度分布の重なりから評価)によりスコアリングし, 各リガンドの安定結合エネルギー (E_{refine}) 上位 30 個の構造を抽出した. 下記 2 式のスコーリング関数によりドッキングの ΔG を推算した.

スコアリング関数 1 (GBVI/WSA)

$$\Delta G \approx c + \alpha[2/3(\Delta E_{coul} + \Delta E_{sol}) + \Delta E_{vdw} + \beta \Delta SA_{weighted}]$$

c : エントロピーの増減

α, β : 力場 MMFF94X の定数

E_{coul} : クーロン静電項. 誘電率は 1 で計算

E_{sol} : 溶媒和エネルギー

E_{vdw} : van der Waals 項

$SA_{weighted}$: 溶媒露出度で重みづけした接触表面積

スコアリング関数 2 (London dG)

$$\Delta G \approx c + E_{flex} + \Sigma_{CHBFHB}(H-bonds) + \Sigma_{CMFM}(m-lig) + \Sigma \Delta D_i(atoms i)$$

E_{flex} : リガンドの自由度エネルギー

$\Sigma_{CHBFHB}(H-bonds)$: 水素結合エネルギー

$\Sigma_{CMFM}(m-lig)$: 配位結合エネルギー

$\Sigma \Delta D_i(atoms i)$: 脱溶媒和エネルギー

D. 考察

CB1 受容体のリガンド結合領域は広い疎水性空間(空間 A, B, C)が存在しており(Fig. 3), それぞれのリガンドは空間 A-B(リガンド 1, 3-9, 12-14, 16-19, 21-23, 26, 28-38, 40-42, 45, 47-53, 55, 57-61, 63-66, 68, 69), あるいは, 空間 A-C(リガンド 2, 10, 11, 15, 20, 24, 25, 27, 39, 43, 44, 46, 54, 56, 62, 67)に配置している構造が最安定構造として得られた(Fig. 4). 特に, 多くのリガンドが CB1 の LEU360, MET363 と疎水性相互作用していることが示唆された. また, 各リガンドの E_{refine} を比較した結果, ほとんどが

-26~-22 間に収まっていたが(Fig. 5), これらリガンドの結合エネルギーと活性の間に顕著な相関を見出すには至っていない.

E. 結論

違法薬物の鑑別法におけるコンピュータシミュレーションの妥当性について検証することを目的し, 本年度は, ホモロジーモデリングにより立体構造を構築した CB1 受容体と様々な CB1 リガンド(69 種類)のドッキングシミュレーションを行うことで, リガンドの受容体に対する結合様式の解析を行った. その結果, これらのリガンドは CB1 リガンド結合領域中に存在する広い疎水性空間において疎水性相互作用することで安定化していることが示唆された. さらに, それぞれのリガンドの受容体に対する結合エネルギーと活性の相関関係評価を行ったが, 結合エネルギーと活性の間に顕著な相関を見出すには至っていないことから, ①ホモロジーモデリングに用いる GPCR テンプレートの検討を行うことで CB1 受容体の立体構造の再構築を行う. さらに, ②リガンドのドッキングシミュレーションの力場の検討を行い結合エネルギーと活性との相関関係評価を行うことで, 引き続きコンピュータシミュレーションの妥当性について検証する.

F. 参考文献

1) Montero, C., Campillo, N. E., Goya, P., Paez, J. A., *Eur. J. Med. Chem.*, **40**, 75-83 (2005).

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Uchiyama, N., Shimokawa, Y., Kikura-Hanajiri, R., Demizu, Y., Goda, Y., Hakamatsuka, T. A Synthetic Cannabinoid FDU-NNEI, Two 2*H*-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., in press.

2. 学会発表

1. 出水庸介, 三澤隆史, 内山奈穂子, 花尻瑠理, 袴塚高志, 栗原正明: 合成カンナビノイドの CB1 受容体に対する結合様式解析に関する研究, 第 58 回日本薬学会関東支部大会, 東京 (2014. 10).

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

無し

2. 実用新案登録

無し

3. その他

無し

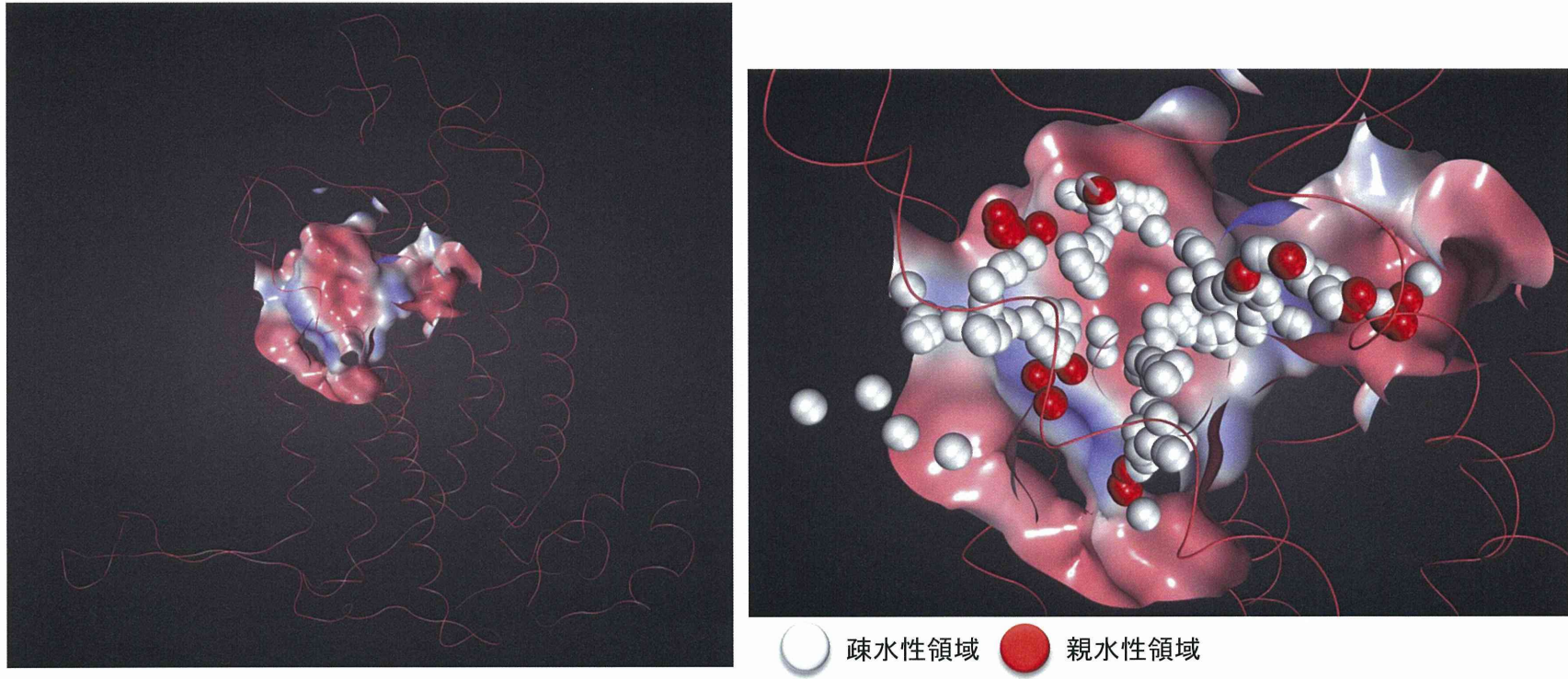
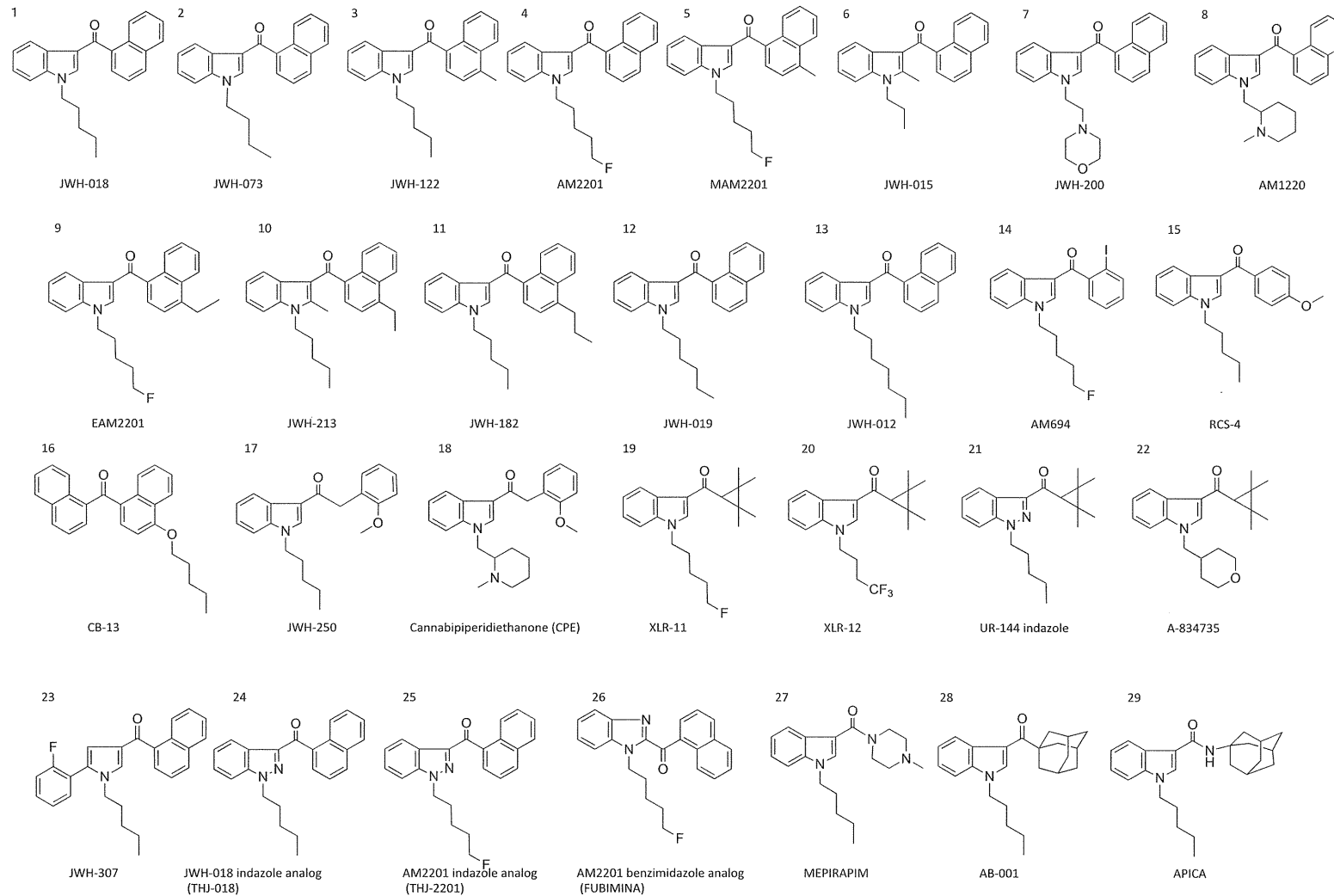
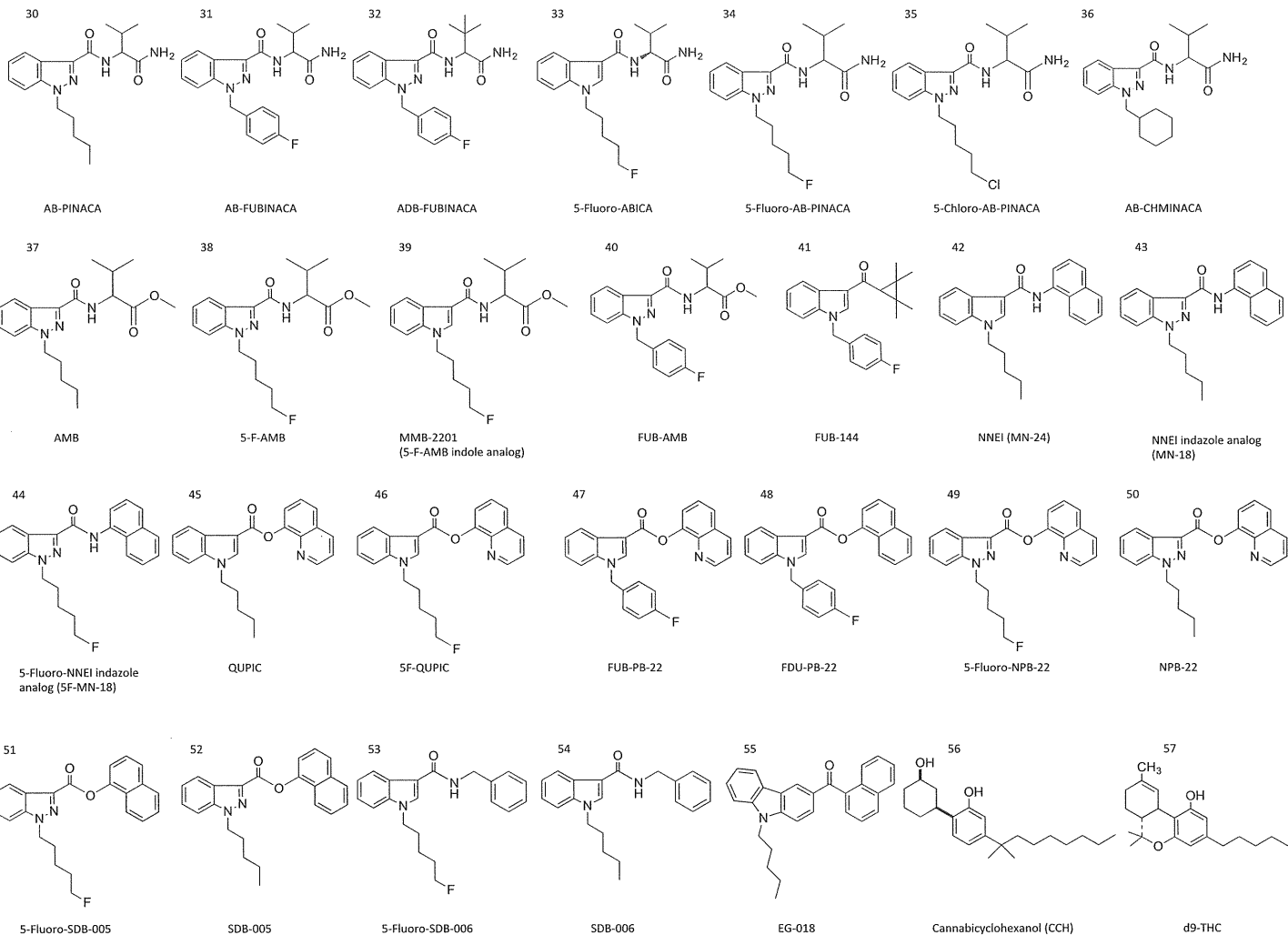
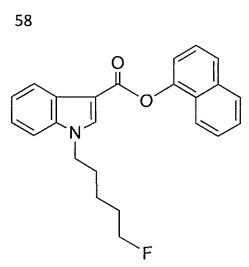


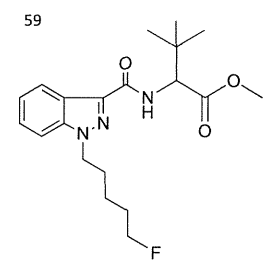
Fig.1 CB1 受容体とリガンド結合領域(白球:疎水性空間, 赤球:親水性空間).



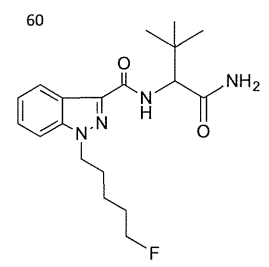




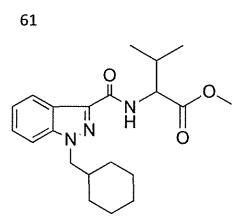
NM-2201



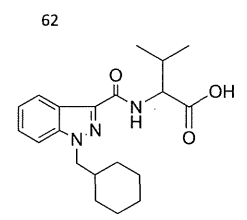
5-Fluoro-ADB



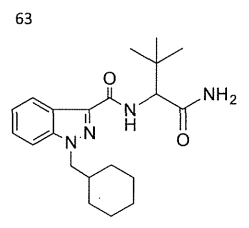
5-Fluoro-ADB-PINACA



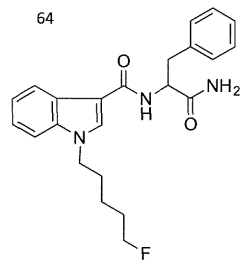
MA-CHMINACA



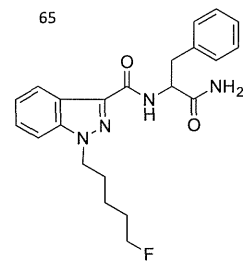
MA-CHMINACA-COOH



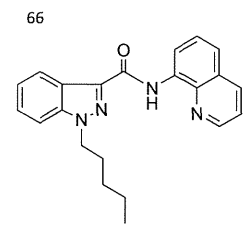
ADB-CHMINACA



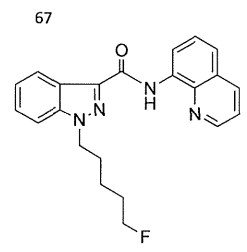
PX-1



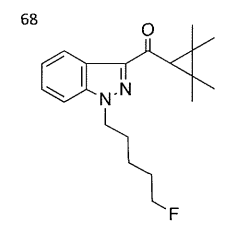
PX-2



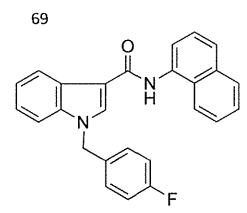
THJ



5-Fluoro-THJ



FAB-144



FDU-NNEI

Fig. 2 ドッキングを行った 69 種類の CB1 受容体リガンド.

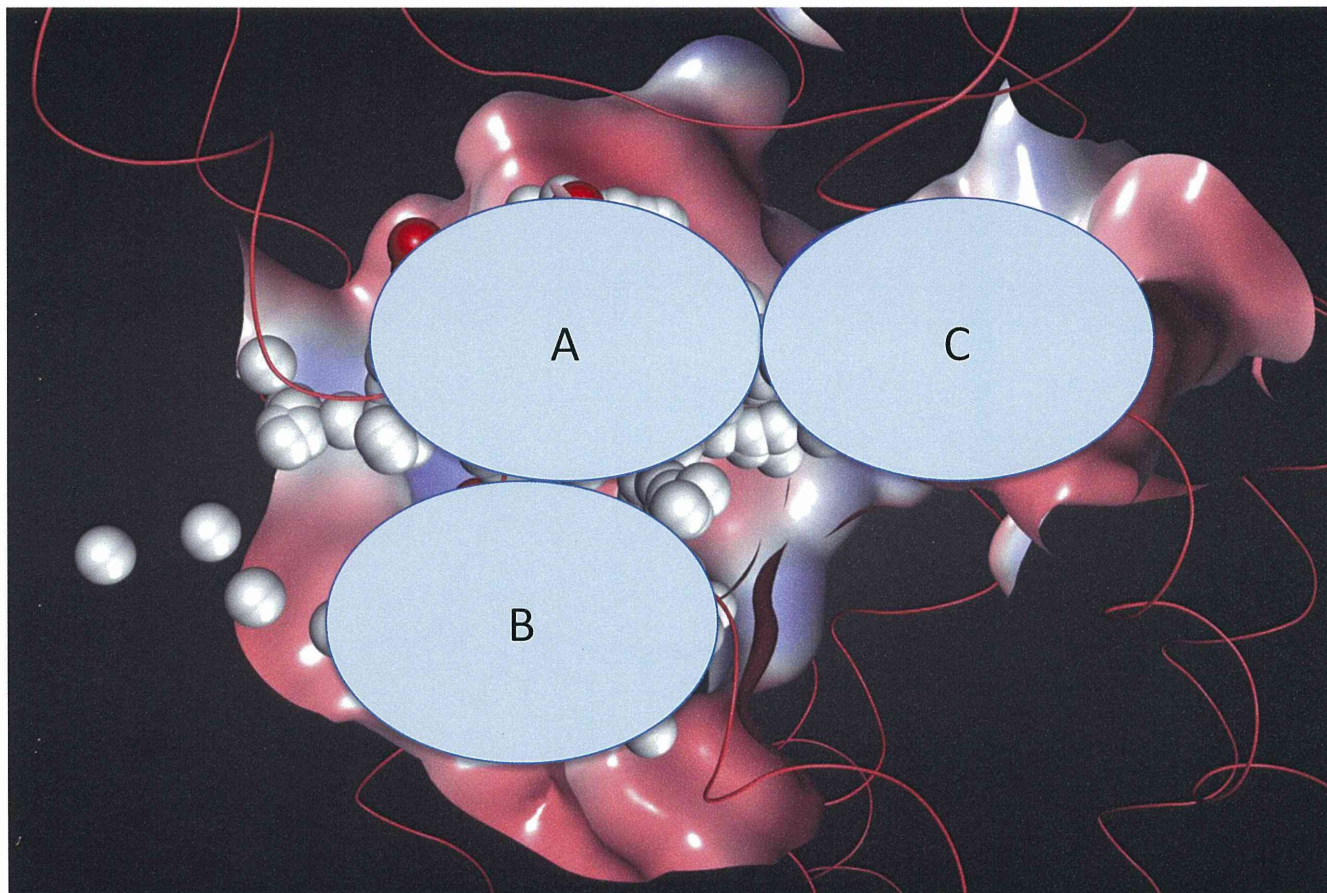
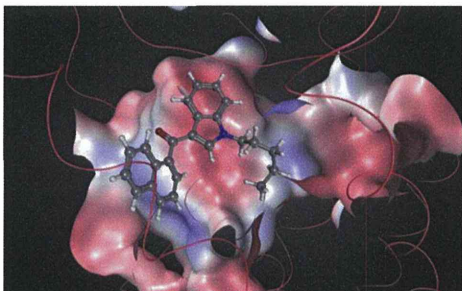
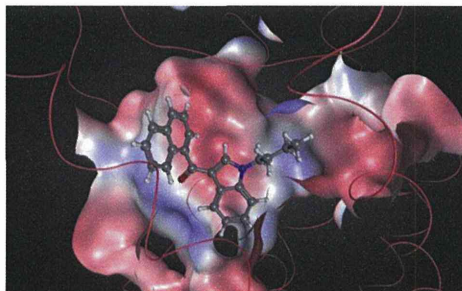


Fig. 3 CB1リガンド結合領域の疎水性空間.

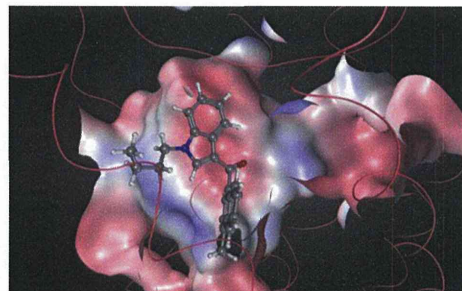
1



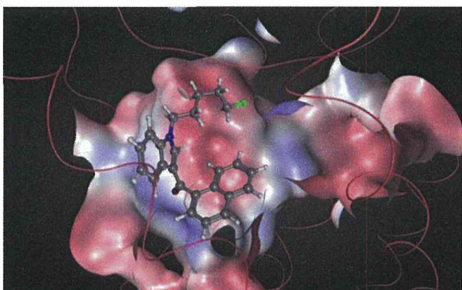
2



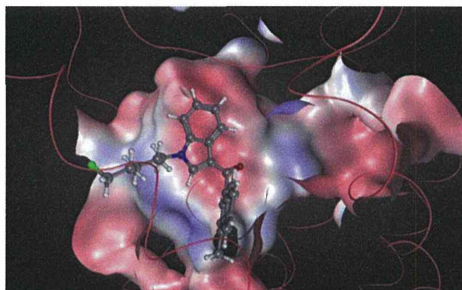
3



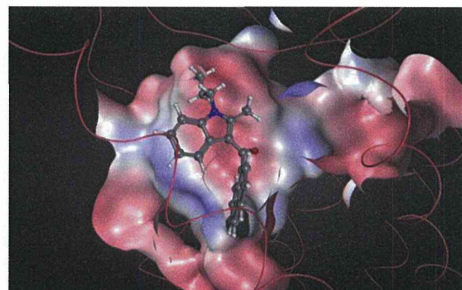
4



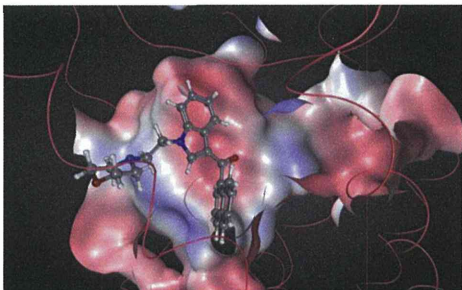
5



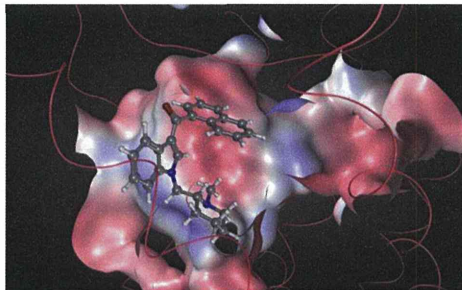
6



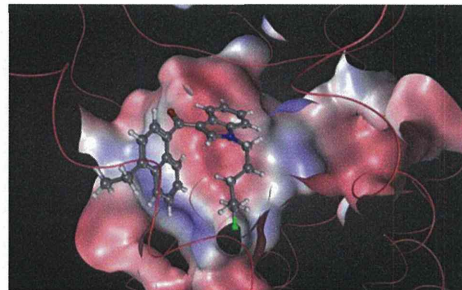
7



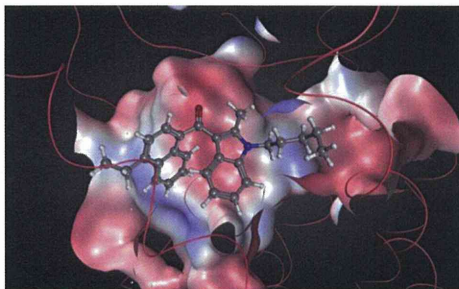
8



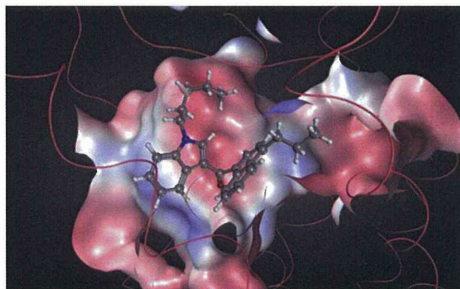
9



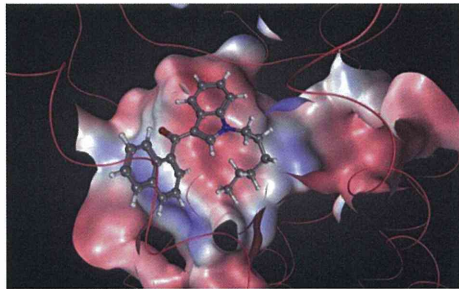
10



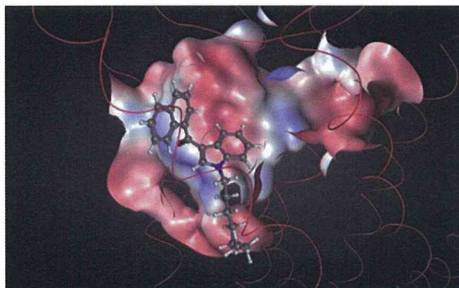
11



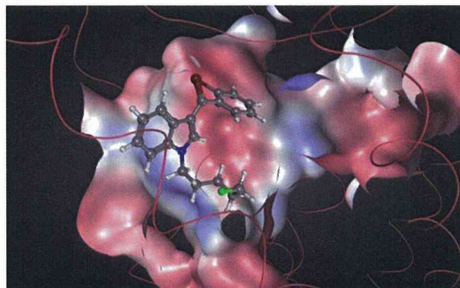
12



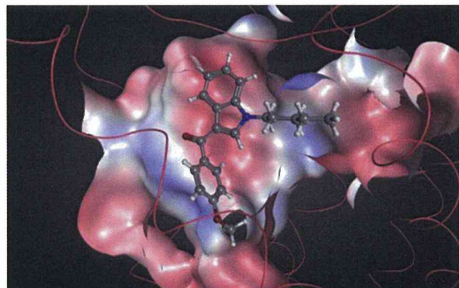
13



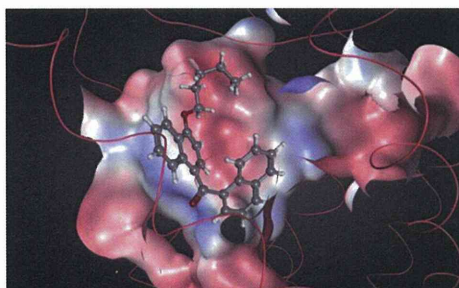
14



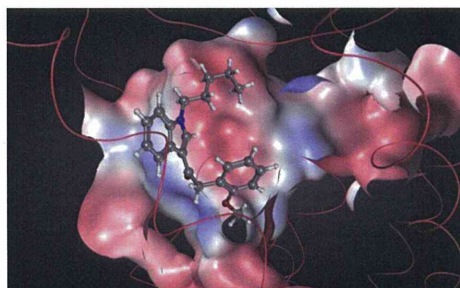
15



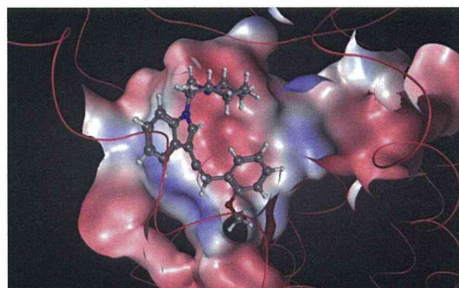
16



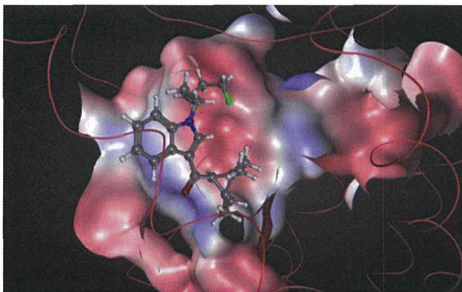
17



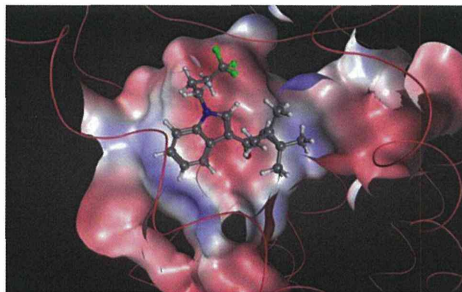
18



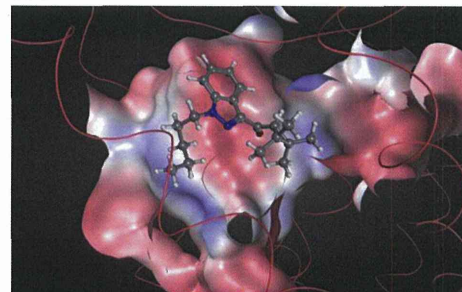
19



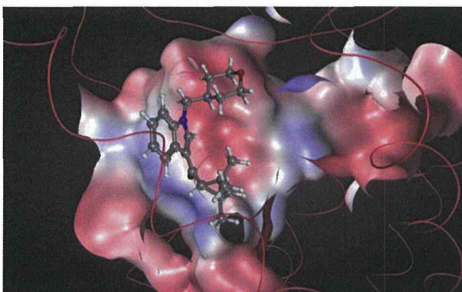
20



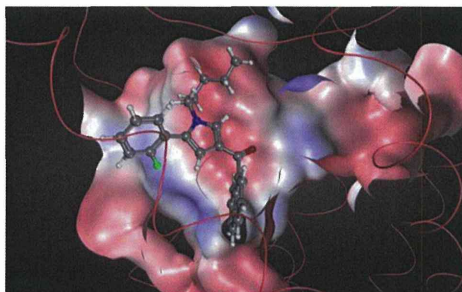
21



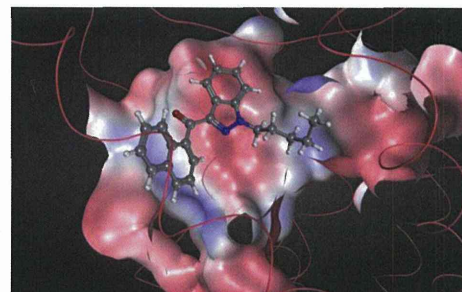
22



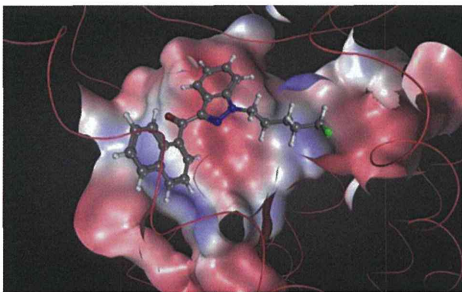
23



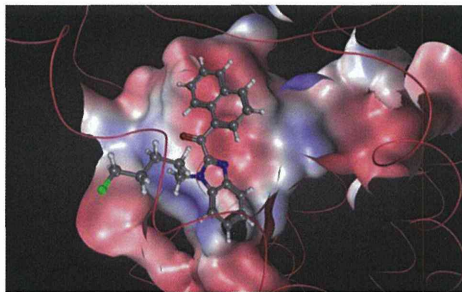
24



25



26



27

