

Table 1 測定に用いた規制区分別化合物数

(指定薬物のうち、2 化合物(3,4-Dichloromethylphenidate 及び Phthalimidopropiophenone)はジアステレオマーを分析し、それぞれ Peak 1 及び Peak 2 として情報を取得した。)

麻薬	50
覚醒剤. 覚醒剤原料	2
覚醒剤原料	2
指定薬物	326
向精神薬	10
医薬品	11
未規制	16
代謝物	29
合計	446

Table 2 測定に用いた構造別化合物数

(その他のうち、2 化合物(3,4-Dichloromethylphenidate 及び Phthalimidopropiophenone)はジアステレオマーを分析し、それぞれ Peak 1 及び Peak 2 として情報を取得した。)

合成カンナビノイド	130
カチノン類	107
フェネチルアミン	77
トリプタミン	28
ピペラジン類	12
代謝物	29
植物成分	6
その他	57
合計	446

1) カチノン類に、チオフエン(2 化合物)、ジヒドロベンゾフラン(1 化合物)タイプの化合物を含む。

2) フェネチルアミン類に、チオフエン(1 化合物)、インダン(4 化合物)、ベンゾフラン(6 化合物)、NBOMe(7 化合物)、NBF(2 化合物)タイプの化合物を含む。

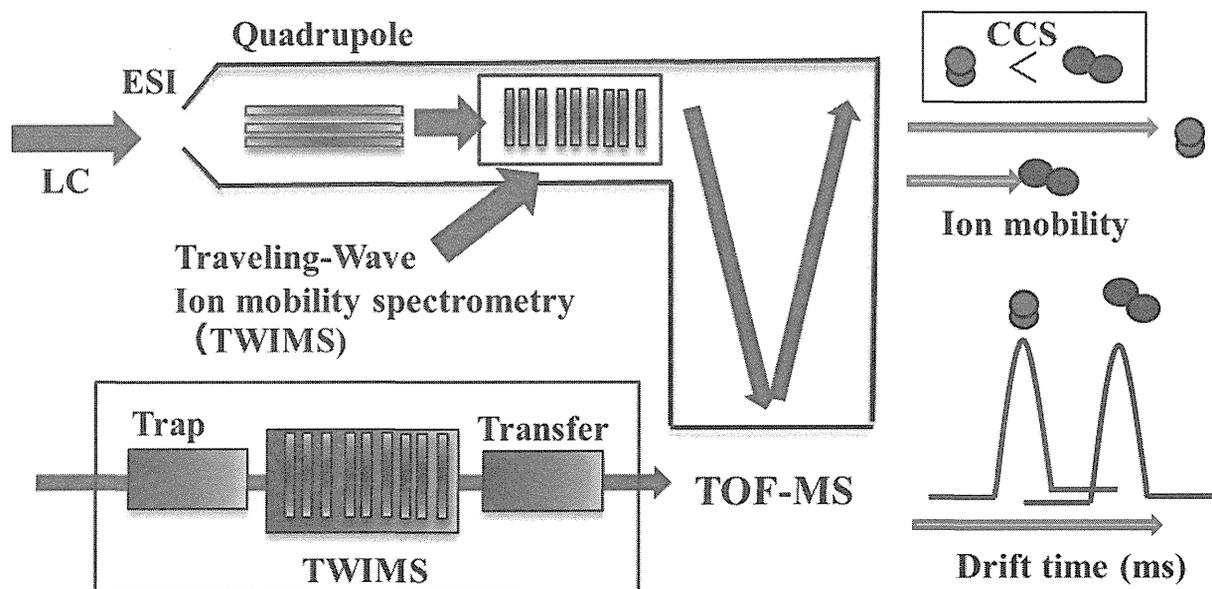


Fig. 1 イオンモビリティ分離模式図

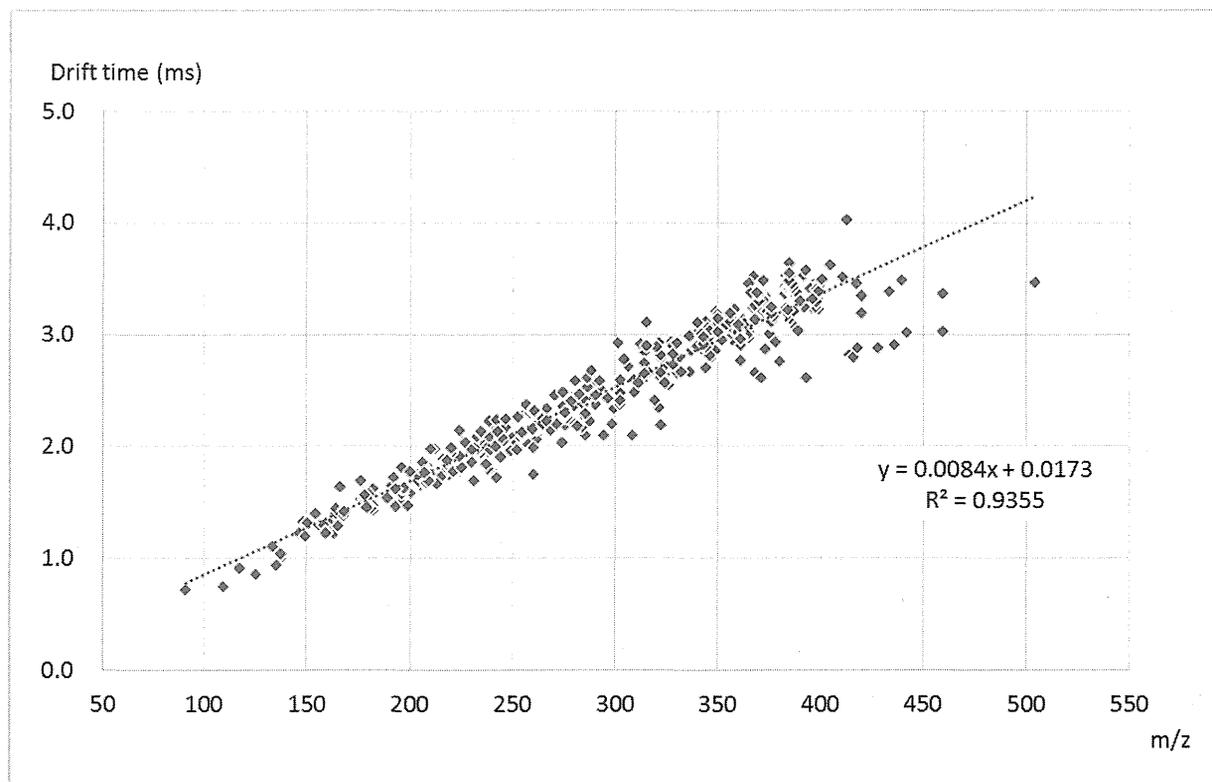


Fig. 2 スクリーニング対象 446 化合物の IMS-TOF-MS 分析による、
 実測質量値 (m/z) と Drift time (ms)プロット図

Table 3-1 危険ドラッグが起因した死亡事例1の血清中薬物 LC-MS/MS 定量分析結果及び、IMS 併用 LC-QTOF スクリーニング分析結果

Compounds	Concentration (ng/mL)	IMS 併用	LC-QTOF のみ
MDPPP	587.37 ± 30.07	○	○
AH-7921	235.52 ± 9.98	○	○
MPHP	114.17 ± 5.85	○	○
α-PHPP	92.88 ± 4.71	○	○
4F-α-PVP	30.06 ± 0.59	○	○
α-PBP	3.67 ± 0.09	○	○
α-Ethylaminopentiophenone	1.06 ± 0.03	ND	△
4MeO-α-PVP	0.60 ± 0.01	○	△
α-PVT	0.39 ± 0.01	△	△
α-PVP	0.33 ± 0.01	△	△
α-PHP	0.16 ± 0.01	△	△
Lorazepam	-	○	○
Benzhexol/Trihexyphenidyl	-	○	○

Table 3-2 危険ドラッグが起因した死亡事例2の血清中薬物 LC-MS/MS 定量分析結果及び、IMS 併用 LC-QTOF スクリーニング分析結果

Compounds	Concentration (ng/mL)	IMS 併用	LC-QTOF のみ
5F-QUPIC	0.53 ± 0.02	○	○
5F-QUPIC carboxyindole	21.95 ± 1.07	○	○
QUPIC-OH carboxyindole	13.55 ± 0.52	○	○
QUPIC-COOH carboxyindole	104.28±6.26	○	○
QUPIC-N-OH	0.30±0.01	ND	ND
QUPIC-N-COOH	0.10±0.003	ND	ND
Lidocaine	-	○	○
Alprazolam	-	○	○
Sulpiride	-	○	○

Table 3-3 危険ドラッグが起因した死亡事例3の血清中薬物 LC-MS/MS 定量分析結果及び、IMS 併用 LC-QTOF スクリーニング分析結果

Compounds	Concentration (ng/mL)	IMS 併用	LC-QTOF のみ
α -POP	8.07±0.32	○	○
α -PHP	0.10±0.005	ND	ND
4F- α -PVP	0.33±0.02	△	△
5F-QUPIC	TR	△	ND
5F-QUPIC carboxyindole	0.84±0.03	△	ND
QUPIC-OH carboxyindole	0.25±0.02	ND	ND
QUPIC-COOH carboxyindole	2.13±0.09	△	ND
Olanzapine	-	○	○
Lidocaine	-	○	○

Table 3-4 危険ドラッグが起因した死亡事例4の血清中薬物 LC-MS/MS 定量分析結果及び、IMS 併用 LC-QTOF スクリーニング分析結果

Compounds	Concentration (ng/mL)	IMS 併用	LC-QTOF のみ
Diphenidine	217.61±5.06	○	○
α -PHP	90.15±1.34	○	○
4MeO- α -PHPP	19.49±0.35	○	○
4F- α -PHPP	15.65±0.27	○	△
5F-AB-PINACA	6.85±0.11	○	○
AB-PINACA N-OH	67.18±1.85	○	○
AB-PINACA N-COOH	48.61±2.11	○	○
5-APDB	5.80±0.17	△	○
4F- α -PVP	1.66±0.03	○	○
DL-4662	1.05±0.03	○	○
4-Methyl- α -ethylaminopentiophenone	0.89±0.01	○	△
α -POP	0.18±0.004	△	△
α -PHPP	0.15±0.002	△	△

Table 3-5. スクリーニング化合物 候補数(フラグメント未検出を含む)

サンプル名	IMS 併用	LC-QTOF のみ
control serum	14	52
serum-1	27	94
serum-2	12	48
serum-3	22	50
serum-4	29	84

15 Cathinone derivatives

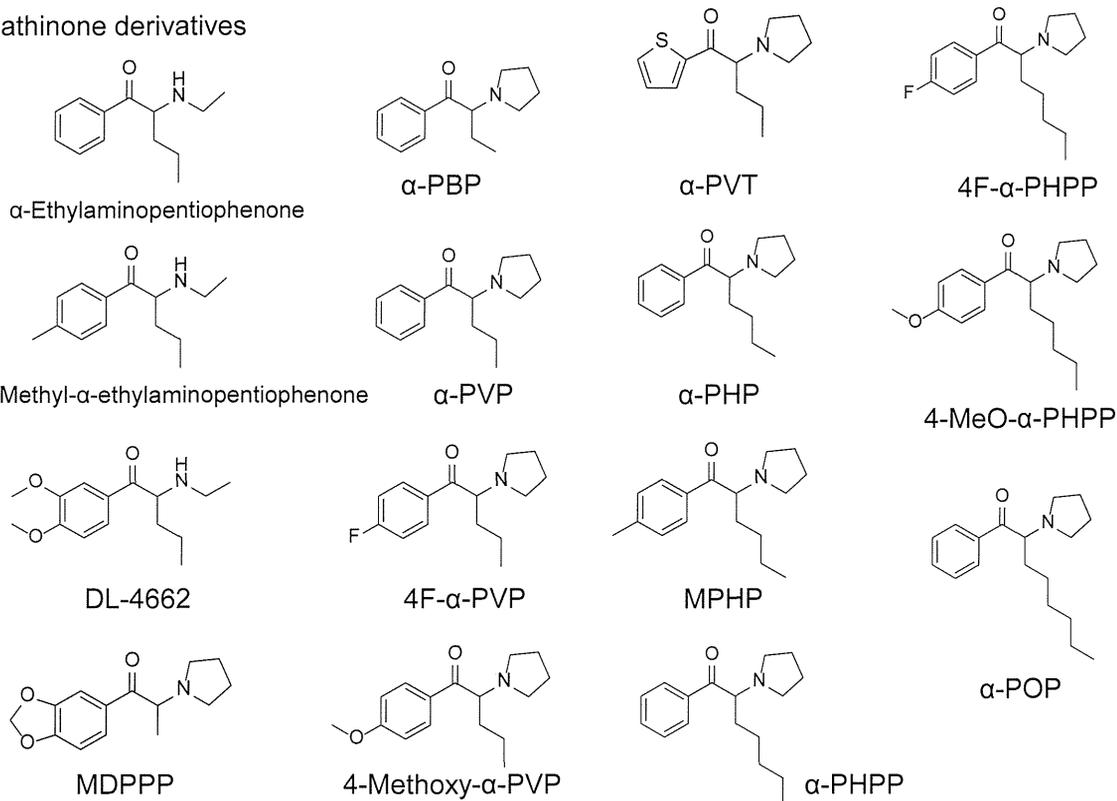
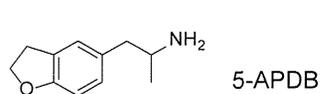
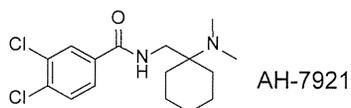


Fig. 3-1 危険ドラッグが起因した死亡 4 事例の血清中から検出された化合物の構造 (1)

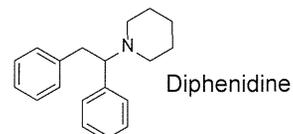
1 Phenethylamine



1 Opioid receptor agonist



1 NMDA receptor antagonist



2 Synthetic cannabinoids

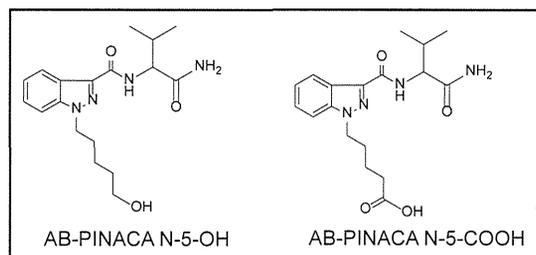
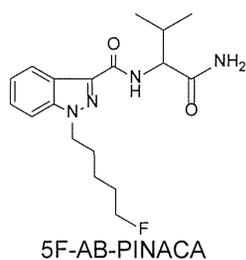
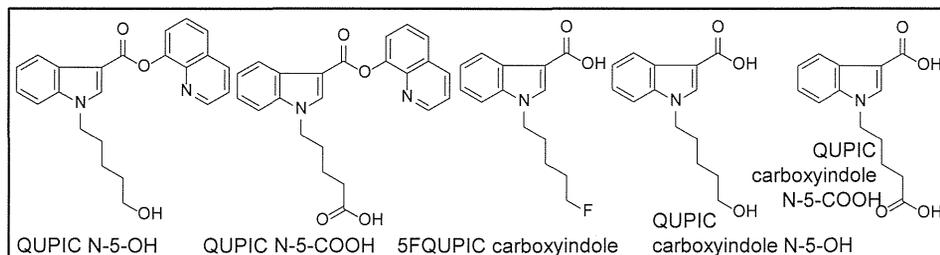
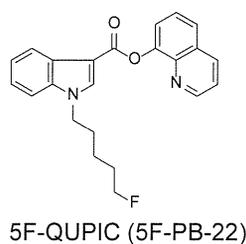
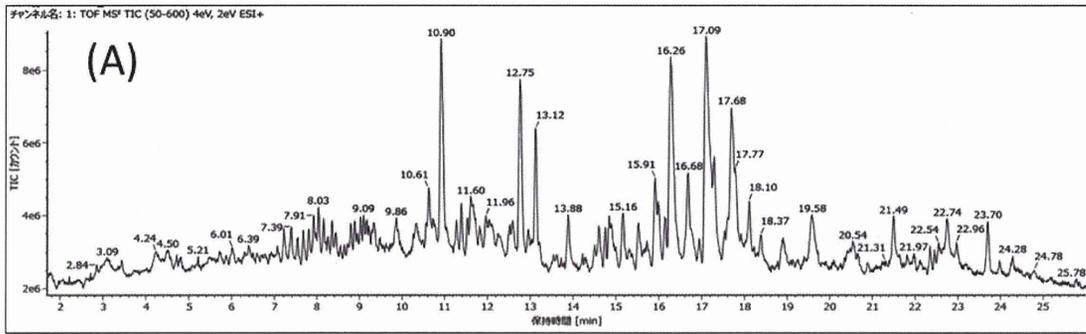


Fig. 3-2 危険ドラッグが起因した死亡 4 事例の血清中から検出された化合物の構造 (2)

*枠内は代謝物を示す.



1: TOF MS⁺ IMS (50-600) 4eV, 2eV ESI⁺

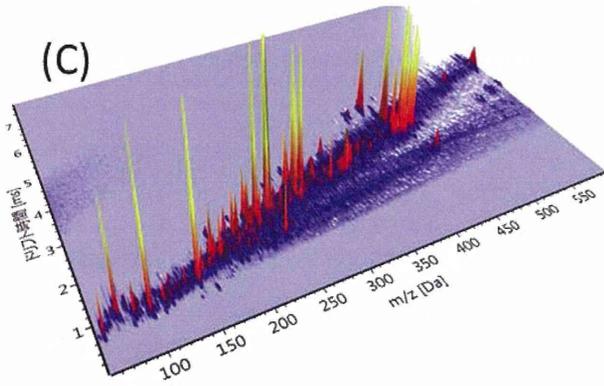
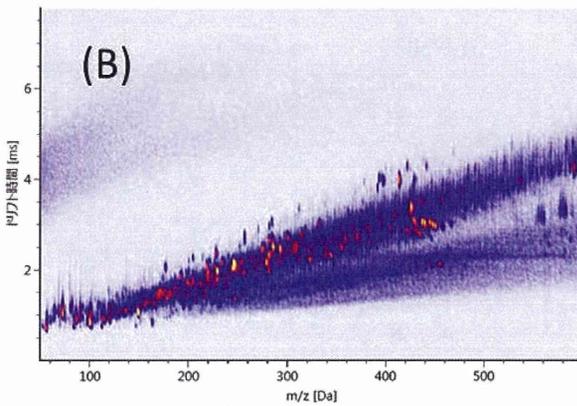


Fig.4 事例4 生体試料のLC-IMS-TOF-MS分析結果, (A) TOF-MS トータルイオンクロマトグラム, (B) x 軸を m/z, y 軸をドリフトタイムでプロットした IMS-TOF-MS 分析結果, (C) 同 3D 表示

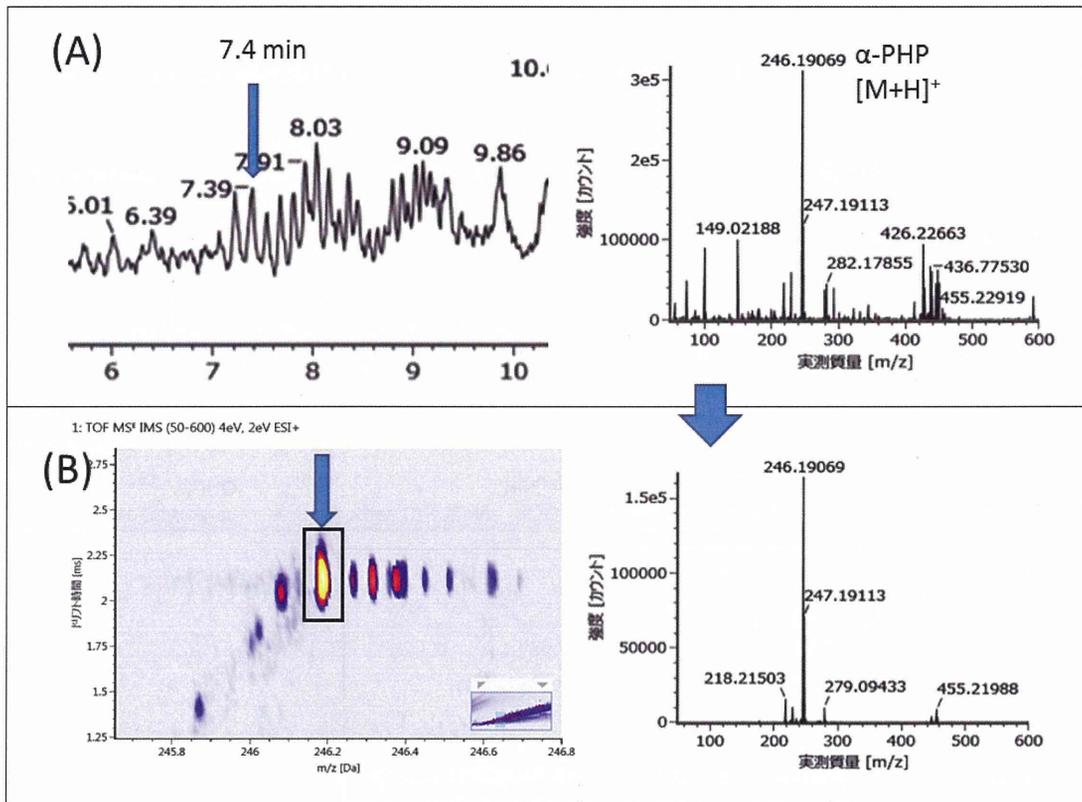


Fig.5 IMS を用いたピーク分離例, (A) 事例4 生体試料中に検出された α -PHP 保持時間 7.4 min のスペクトル, (B) ドリフトタイム (ms) を用いてピーク抽出を行ったスペクトル

Table 4 ヒトコントロール血清への検出化合物添加試験による各分析法における検出限界

化合物名	組成式	Mass (Da)	RT	Drift time (ms)	IMS-Q-TOF-MS			Q-TOF-MS		LC-MS-MS
					CCS平均(Å ²)	検出限界 (ng/mL)		検出限界 (ng/mL)		検出限界(S/N>3)
						△	○	△	○	(ng/mL)
5-APDB	C11H15NO	178.1232	4.31	ND	ND	-	>10	-	0.05	
5-APDB fragment (-NH3)	C11H12O	161.0966	4.31	1.31	135.74	0.5	2.5	1	2.5	-
MDPPP	C14H17NO3	248.1287	4.47	2.03	157.35	0.1	1	0.25	2.5	0.05
α-PBP	C14H19NO	218.1545	4.93	1.85	152.23	0.5	2.5	0.25	5	0.01
α-PVT	C13H19NOS	238.1266	5.31	1.96	155.29	0.25	2.5	0.25	2.5	0.01
α-Ethylaminopentiophenone	C13H19NO	206.1545	5.86	1.80	150.90	1	1	0.25	2.5	0.05
DL-4662	C15H23NO3	266.1756	5.99	2.36	168.38	0.25	0.25	0.25	2.5	0.01
α-PVP	C15H21NO	232.1701	6.12	2.00	156.88	0.1	0.5	0.25	2.5	0.01
4F-α-PVP	C15H20FNO	250.1607	6.58	2.09	159.48	0.25	0.5	0.25	2.5	0.01
4-MeO-α-PVP	C16H23NO2	262.1807	6.86	2.27	165.52	0.1	0.5	0.25	1	0.01
4-Methyl-α-ethylaminopentiophenone	C14H21NO	220.1701	7.23	1.97	156.50	1	1	1	2.5	0.01
α-PHP	C16H23NO	246.1858	7.36	2.17	162.34	0.25	1	0.25	5	0.05
diphenidine	C19H23N	266.1909	8.30	2.25	164.24	0.25	0.5	0.25	0.5	0.01
AH-7921	C16H22Cl2N2O	329.1187	8.48	2.73	179.40	0.1	0.25	0.25	1	0.01
MPHP	C17H25NO	260.2014	8.64	2.33	167.65	0.05	0.5	0.25	5	0.05
QUPIC-COOH carboxyindole fragment (-H2O)	C14H13NO3	244.0974	8.64	1.92	153.82	1	10	5	>10	0.5
α-PHPP	C17H25NO	260.2014	8.66	2.33	167.65	0.05	1	0.25	5	0.01
QUPIC-OH carboxyindole fragment (-H2O)	C14H15NO2	230.1181	8.74	1.88	152.83	5	5	5	10	0.01
AB-PINACA-COOH	C18H24N4O4	361.1876	8.97	2.91	185.00	>10	-	>10	-	0.1
AB-PINACA-COOH fragment (-NH3)	C18H21N3O4	344.1610	8.97	2.73	179.04	2.5	10	5	10	-
AB-PINACA-OH	C18H26N4O3	347.2083	9.02	2.91	185.09	10	10	>10	-	0.1
AB-PINACA N-OH fragment (-NH3)	C18H23N3O3	330.1818	9.02	2.68	177.55	5	10	5	5	-
4F-α-PHPP	C17H24FNO	278.1920	9.06	2.42	170.01	0.25	0.5	0.25	2.5	0.05
4-MeO-α-PHPP	C18H27NO2	290.2120	9.17	2.61	176.18	0.05	0.25	0.25	2.5	0.01
α-POP	C18H27NO	274.2171	9.90	2.51	173.28	0.05	0.25	0.25	2.5	0.01
5F-AB-PINACA	C18H25FN4O2	349.2040	12.02	2.86	183.49	>10	-	>10	-	0.05
5F-AB-PINACA fragment (-NH3)	C18H22FN3O2	332.1774	12.02	2.68	177.53	2.5	5	2.5	2.5	-
5-fluoro QUPIC 3-carboxyindole	C14H16FNO2	250.1243	12.03	2.01	156.71	2.5	10	5	>10	0.05
QUPIC-COOH	C23H20N2O4	389.1501	12.56	3.07	189.69	5	5	10	10	0.05
QUPIC-OH	C23H22N2O3	375.1709	12.76	3.02	188.34	2.5	2.5	2.5	2.5	0.05
5-fluoro QUPIC	C23H21FN2O2	377.1665	16.33	3.13	192.00	2.5	2.5	5	5	0.05
5-fluoro QUPIC fragment (-C9H7NO)	C14H14FNO	232.1122	16.33	1.87	152.16	0.25	1	0.5	1	-

分担研究課題: 危険ドラッグ等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
研究分担者: 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* 活性評価(受容体結合親和性)について —

研究要旨: 危険ドラッグ市場に新規に登場した合成カンナビノイド 3 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. 測定の結果, 3 化合物のうち, pyrazole 型の新規合成カンナビノイド AB-CHFUPYCA は, カンナビノイド CB₁ 及び CB₂ 受容体の両方に対しほとんど親和性を示さなかった. 一方, FU-PX-2 は CB₁ 及び CB₂ 受容体に対し, 麻薬である JWH-018 と同程度の強い結合親和性を示した(それぞれの受容体に対する IC₅₀ 値 2.85×10^{-7} 及び 1.83×10^{-7} mol/L). また, indazole-3-carboxamide タイプの合成カンナビノイド CUMYL-5F-PINACA は, CB₁ 及び CB₂ 受容体に対して麻薬 JWH-018 の約 100 倍 (1.70×10^{-9} 及び 2.42×10^{-9} mol/L) と, 極めて強い結合親和性を示した. 特に CB₁ 受容体に対しては, ポジティブコントロール (R)-(+)-WIN55212-2 よりも 10 倍程度強い親和性を示し, その危険性が憂慮された. 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, 化合物の標的受容体への親和性は, 中枢神経系へ影響を及ぼす蓋然性を示す有用な指標になると考えられる.

なお, AB-CHFUPYCA を除く, FU-PX-2 及び CUMYL-5F-PINACA の 2 化合物は, 平成 27 年度に指定薬物として規制された.

A. 研究目的

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, 製品によっては鎮静, 興奮, 幻覚など, 薬理作用が異なる複数の化合物が混在している場合も多い. 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が多い. 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

り変わりが早いと, 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.

昨年度の報告書¹⁾において我々は, 平成 24 年度以降に危険ドラッグ市場に出現した 54 種類の合成カンナビノイドについて, 構造とカンナビノイド受容体親和性 IC₅₀ 値の関係について検討した. その結果, indole/indazole-carboxamide-methyl 3-methylbutanoate/methyl 3,3-dimethylbutanoate もしくは 3-methylbutanamide/3,3-dimethylbutanamide 構造, indole/indazole-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¹⁾. 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、極めてカンナビノイド CB₁ 受容体親和性が強い化合物であることが明らかとなった¹⁾。

本研究では、平成 26 年度から 27 年度に、危険ドラッグ市場に新規に登場した合成カンナビノイド 3 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。

B. 研究方法

1. 試験物質

新規流通合成カンナビノイド 3 化合物 Fu-PX-2, AB-CHFUPYCA, CUMYL-5F-PINACA を測定に使用した。3 化合物のうち、AB-CHFUPYCA は、pyrazole 型の新規合成カンナビノイドとして、国立衛研において、危険ドラッグ製品中から分離・同定を行った化合物である^{2), 3)}。構造を Fig. 1 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した。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した(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した。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した(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 回測定した。

3)-1. Cannabinoid CB₁ (Human)

緩衝液: 5 mmol/L MgCl₂, 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 CB₂ (Human)

緩衝液: 5 mmol/L MgCl₂, 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」より算出した。

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した。Dose-response curve の回帰は、次の回帰式を用いた。

$$Y = aX + b$$

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

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

$$(X = \log x, x \text{ は被験物質の最終濃度})$$

$$(a, b = \text{定数})$$

得られた回帰式より、IC₅₀ 値を算出した。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 値を算出した。陽性物質に関しても被験物質と同様に IC₅₀ 値を算出した。

C. 結果

新規流通 3 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) を算出した結果を Table 1 に示した。過去に報告した JWH-018 (平成 24 年 8 月に麻薬として規制) の測定結果⁴⁾を、参考として、共に記載した。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 3 化合物において、新規合成カンナビノイド AB-CHFUPYCA は、カンナビノイド CB₁ 及び CB₂ 受容体の両方に対しほとんど親和性を示さなかった。一方、FU-PX-2 は CB₁ 及び CB₂ 受容体に対し、麻薬である JWH-018 と同程度の強い結合親和性を示した (それぞれの受容体に対する IC₅₀ 値 2.85×10⁻⁷ 及び 1.83×10⁻⁷ mol/L)。また、indazole-3-carboxamide タイプの合成カンナビノイド CUMYL-5F-PINACA は、CB₁ 及び CB₂ 受容体に対して JWH-018 の約 100 倍 (1.70×10⁻⁹ 及び 2.42×10⁻⁹ mol/L) と、極めて強い結合親和性を示した。特に CB₁ 受容体に対しては、ポジティブコン

トロールである (R)-(+)-WIN55212-2 よりも 10 倍程度強い親和性を示した。

D. 考察

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 Δ⁹-テトラヒドロカンナビノール (Δ⁹-THC) よりも強い親和性を有するものも多い。例えば、Δ⁹-THC は、カンナビノイド CB₁ 受容体に対し Ki 値が 41 nM であることが報告されているが⁵⁾、代表的な合成カンナビノイド JWH-018 (麻薬) は 9.0 nM⁶⁾、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 nM⁷⁾ である。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 CB₁ 受容体に対する親和性は、JWH-018 の 100 倍、Δ⁹-THC よりも 455 倍程度高いことになる。今回検討を行った 3 化合物のうち、CUMYL-5F-PINACA は、カンナビノイド CB₁ 及び CB₂ 受容体に対し、JWH-018 の 100 倍の極めて強い親和性を示し (MDMB-CHMINACA と同レベル)、その危険性が憂慮された。

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、化合物の標的受容体への親和性の強さは、中枢神経系へ影響を及ぼす蓋然性を示す有用な指標になると考えられる。

E. 結論

危険ドラッグ市場に新規に登場した合成カンナビノイド 3 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。測定の結果、3 化合物のうち、pyrazole 型の新規合成カンナビノイド AB-CHFUPYCA は、カンナビノイド CB₁ 及び CB₂ 受容体の両方に対しほとんど親和性を示さなかった。一方、FU-PX-2 及び indazole-3-carboxamide タイプの合成カンナビノイド CUMYL-5F-PINACA は、CB₁ 及び CB₂ 受容体に対し強い結合親和性を示し、特に

CUMYL-5F-PINACA はCB₁受容体に対して、ポジティブコントロールの(R)-(+)-WIN55212-2 よりも強い親和性を示した。

なお、AB-CHFUPYCA を除く、FU-PX-2 及び CUMYL-5F-PINACA の 2 化合物は、平成 27 年度に指定薬物として規制された。

F. 参考文献

- 1) 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」(H24-医薬-一般-009)」平成 27 年度分担研究報告「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
- 2) 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)「危険ドラッグ等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」(H27-医薬 A-一般-003)」平成 27 年度分担研究報告「平成 27 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)」内山奈穂子
- 3) Uchiyama N., Asakawa K., Kikura-Hanajiri Ruri, Tsutsumi T., Hakamatsuka T.: A new pyrazole-carboxamide type synthetic cannabinoid AB-CHFUPYCA [N-(1-amino-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)-1-(cyclohexylmethyl)-3-(4-fluorophenyl)-1H-pyrazole-5-carboxamide] identified in illegal products. *Forensic Toxicol.* 33, 367–373 (2015).
- 4) 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)「違法ドラッグの危害影響予測手法と分析に関する研究」(H21-医薬-一般-030)」平成 23 年度分担研究報告「新規流通違法ドラッグ成分の CB₁ 及び CB₂ レセプターに対する結合親和性評価に関する研究」花尻(木倉)瑠理
- 5) Compton D. R. *et al.*, Cannabinoid structure-activity relationships: Correlation of

receptor binding and in vivo activities. *J Pharmacol Exp Ther*, 265, 218-226 (1993).

- 6) Aung M. M. *et al.*, Influence of the N-1 alkyl chain length of cannabimimetic indoles upon CB₁ and CB₂ receptor binding. *Drug Alcohol Depen*, 60, 133-140 (2000).
- 7) Buchler I. P. *et al.*, WO 2009/106980 A2 (2009), PCT/IB2009/000409

G. 健康危険情報

なし

H. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) Kikura-Hanajiri R., Uchiyama N., Hakamatsuka T. Evaluation of the binding affinities of 54 newly-emerged Synthetic cannabinoids at the cannabinoid CB₁ and CB₂ Receptors. TIAFT2015 (Italy, Florence 2015.8)

I. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

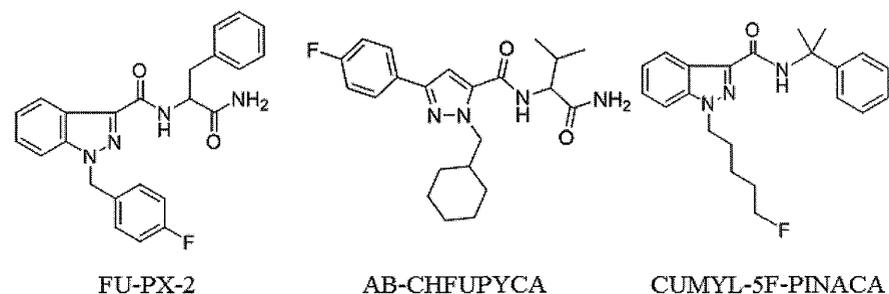


Fig. 1 Chemical structures investigated in this study.

Table 1 Inhibitory effects and IC₅₀ values of test substances on a radioligand binding to the cannabinoid CB₁ (Human) receptor

Assay system	Substance	Substance concentration (mol/L)										IC ₅₀ (mol/L)
		3×10 ⁻¹⁰	1×10 ⁻⁹	3×10 ⁻⁹	1×10 ⁻⁸	3×10 ⁻⁸	1×10 ⁻⁷	3×10 ⁻⁷	1×10 ⁻⁶	3×10 ⁻⁶	3×10 ⁻⁵	
		Inhibition (%)										
Cannabinoid CB ₁ (Human)	FU-PX-2	3.64	0.00	0.00	1.30	18.29	21.43	48.23	77.65	-	-	2.85×10 ⁻⁷
	AB-CHFUPYCA	0.00	1.92	0.00	1.31	0.00	0.00	1.82	1.83	-	-	>1×10 ⁻⁶
	CUMYL-5F-PINACA	23.90	42.08	54.62	76.13	90.39	98.52	95.55	99.67	-	-	1.70×10 ⁻⁹
	(R)-(+)-WIN55212-2	5.91	6.16	17.38	37.38	49.00	68.16	90.89	100.00	-	-	2.39×10 ⁻⁸
	JWH-018*	-	-	1.51	22.06	35.45	45.84	50.73	63.09	78.66	88.43	1.69×10 ⁻⁷
	(R)-(+)-WIN55212-2*	3.05	0	19.04	23.95	50.55	75.06	81.64	89.12	-	-	3.2×10 ⁻⁸
Cannabinoid CB ₂ (Human)	FU-PX-2	2.15	0.00	0.00	0.00	19.33	30.18	56.92	85.64	-	-	1.83×10 ⁻⁷
	AB-CHFUPYCA	1.31	0.00	2.35	0.25	0.60	0.00	1.36	1.05	-	-	>1×10 ⁻⁶
	CUMYL-5F-PINACA	14.31	40.09	55.77	67.02	89.87	98.75	99.52	91.91	-	-	2.42×10 ⁻⁹
	(R)-(+)-WIN55212-2	0.00	9.52	28.96	61.50	84.26	94.19	97.48	100.00	-	-	7.13×10 ⁻⁹
	JWH-018*	0	0	0	0	13.19	21.56	34.77	60.66	71.43	89.41	5.93×10 ⁻⁷
	(R)-(+)-WIN55212-2*	0.86	10.98	34.55	61.87	72.64	81.07	91.61	100	-	-	9.51×10 ⁻⁹

**; Data from reference 4).

-; Not determined.

分担研究課題:危険ドラッグ等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

研究分担者:花尻(木倉)瑠理 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 室長

—新規流通危険ドラッグの *in vitro* 活性評価(モノアミン再取り込み阻害活性)
について—

研究要旨:麻薬 Ethcathinone, 既報で報告した 11 化合物及び平成 25 年度以降に危険ドラッグ市場に出現した 14 化合物の計 26 化合物について, ラット脳シナプトソーム画分における Dopamine, Noradrenaline 及び Serotonin 再取り込み阻害活性 (IC_{50} 値) を測定した. その結果, 4-Methoxy-N,N-dimethylcathinone, 3C-E 及び Nitracaine はいずれのモノアミンに対しても再取り込み阻害活性を示さなかった. また, Dopamine, Noradrenaline 及び Serotonin に対して, それぞれ Methylnaphthidate, 3,4-Dimethyl- α -PVP, Methamnetamine が, 測定化合物中最も強い再取り込み阻害活性を示した. カチノン系化合物では, ベンゼン環上のメキシ基及びメチレンジオキシ基, テトラリン構造, ピロリジン構造の導入, またアルキル主鎖の長さにより, 3 種類のモノアミン再取り込み阻害活性パターンが異なることが示唆された. さらに, フェニデート系化合物においては, いずれも強い Dopamine 及び Noradrenaline の再取り込み阻害活性が認められたが, ナフタレン構造を有する化合物は, Serotonin に対しても比較的強い阻害活性を有していた. チオフェン構造を有する Methiopropamine 及び α -PVT, フェネチルアミン構造を有する β -Methylphenethylamine は比較的強い, そして Mephettetramine はやや弱い Dopamine 及び Noradrenaline の再取り込み阻害活性を有していたが, いずれも Serotonin 再取り込み阻害活性は認められなかった. フェントラジン系化合物は, いずれのモノアミンに対しても比較的強い再取り込み阻害活性を示した.

A. 研究目的

平成 20 年頃から, 特定の受容体に対し高い活性を有する化合物が危険ドラッグ市場に次々と登場した. 特に, カンナビノイド受容体に強い活性を示す化合物群(合成カンナビノイド類)を乾燥植物細片に混合した「脱法ハーブ」や, 「アロマリキッド」(液体), 「パウダー」(粉末)等として販売される興奮性アミン類(カチノン類)含有製品による健康被害が急増して深刻な社会問題となった. これらは, 含有成分が指定薬物に指定されると, 速やかに構造類似化合物に置換して販売されるために, 流通と規制との「いたちごっこ」が続いた. この状

況を打破すべく, 薬事法下で初めて包括規制が導入され, 特定の構造を有する合成カンナビノイド(平成 25 年 3 月施行)及びカチノン類(平成 26 年 1 月及び平成 27 年 5 月施行)が包括的に規制された. しかし, 包括指定に伴い, 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危険ドラッグが出現し, 分析鑑定現場を混乱させている.

本研究では, 平成 25 年度以降平成 27 年前半までに危険ドラッグ市場(海外を含む)に登場した活性未報告の化合物を中心に, 合計 26 化合物のラット脳シナプトソーム画分における Dopamine,

Noradrenaline 及び Serotonin 再取り込み阻害活性 (IC₅₀ 値)を測定した。また、構造が各モノアミンの再取り込み阻害活性に及ぼす影響を検討した。

B. 研究方法

1. 試験物質

平成 24 年度の厚生労働科学研究費補助金事業で測定結果を報告した 11 化合物¹⁾及びその後新規に危険ドラッグ市場に出現した活性未知 14 化合物, また Ethcathinone (活性既知, 平成 25 年 3 月 1 日より麻薬として規制)を測定に使用した。各化合物の構造を Fig. 1 に示した。

2. 試験方法

1) 測定系

I. Dopamine uptake

緩衝液: 118 mmol/L NaCl, 4.7 mmol/L KCl, 2.5 mmol/L CaCl₂, 1.2 mmol/L MgSO₄, 1.2 mmol/L KH₂PO₄, 25 mmol/L NaHCO₃, 11.7 mmol/L glucose, 0.57 mmol/L アスコルビン酸及び 0.04 mmol/L Na₂EDTA を含む水溶液

置換物質: GBR12909 dihydrochloride

陽性物質: GBR12909 dihydrochloride

トレーサー:

Dihydroxyphenylethylamine

3,4-[ring-2,5,6-³H]-Dopamine

シナプトソーム画分: ラット線条体

反応条件: 37°C, 10 min

II. Noradrenaline uptake

緩衝液: 119 mmol/L NaCl, 3.9 mmol/L KCl, 0.51 mmol/L CaCl₂, 0.65 mmol/L MgSO₄, 15.6 mmol/L Na₂HPO₄, 3.4 mmol/L NaH₂PO₄, 10 mmol/L glucose, 0.57 mmol/L アスコルビン酸及び 0.0156 mmol/L iproniazid を含む水溶液 (pH 7.4)

置換物質: Desipramine hydrochloride

陽性物質: Desipramine hydrochloride

トレーサー: Noradrenaline Hydrochloride,

DL-[7-³H(N)]-

シナプトソーム画分: ラット視床下部

反応条件: 37°C, 5 min

III. Serotonin uptake

緩衝液: 119 mmol/L NaCl, 3.9 mmol/L KCl, 0.51 mmol/L CaCl₂, 0.65 mmol/L MgSO₄, 15.6 mmol/L Na₂HPO₄, 3.4 mmol/L NaH₂PO₄, 10 mmol/L glucose, 0.57 mmol/L アスコルビン酸及び 0.0156 mmol/L iproniazid を含む水溶液 (pH 7.4)

置換物質: Imipramine hydrochloride

陽性物質: Imipramine hydrochloride

トレーサー: Hydroxytryptamine Creatinine Sulfate, 5-[1,2-³H(N)]-

シナプトソーム画分: ラット橋延髄

反応条件: 37°C, 5 min

2) 各溶液の調製

① 試験物質溶液の調製

試験物質を秤量し, DMSO で溶解, DMSO で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)。

試験物質 (最終濃度): 6 濃度 (1×10⁻¹⁰, 1×10⁻⁹, 1×10⁻⁸, 1×10⁻⁷, 1×10⁻⁶, 1×10⁻⁵ mol/L)

② 陽性物質溶液の調製

陽性物質を秤量し, DMSO で溶解することにより, 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): 6 濃度 (1×10⁻¹⁰, 1×10⁻⁹, 1×10⁻⁸, 1×10⁻⁷, 1×10⁻⁶, 1×10⁻⁵ mol/L)

③ 置換物質溶液の調製

置換物質を秤量し, DMSO で溶解することにより, 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置換物質溶液を調製する (用

時調製)。

置換物質(最終濃度): 1×10^{-5} mol/L

④トレーサー溶液の調製

トレーサーを緩衝液で希釈することにより、トレーサー溶液を調製する(用時調製)。

トレーサー(最終濃度): 1 濃度

⑤シナプトソーム液の調製

ラット脳各部位のシナプトソーム画分を緩衝液で希釈することにより、シナプトソーム液を調製する。(用時調製)。

シナプトソーム(最終濃度): 1 濃度

3) 測定法

以下の順序に従い測定を実施する。各測定は $n=2$ で行った。

①非特異的結合算出用チューブには置換物質溶液を、総結合算出用チューブには 10% DMSO を、試験物質あるいは陽性物質の阻害率算出用チューブには試験物質溶液あるいは陽性物質溶液をそれぞれ 25 μ L 添加する。

②緩衝液 75 μ L を添加する。

③トレーサー溶液 100 μ L を添加する。

④シナプトソーム液 50 μ L を添加する。

⑤インキュベート(37°C, 5min)する。

⑥セルハーベスターにより濾過 (GF/C ; Whatman) し、緩衝液で洗浄。

⑦濾紙を測定バイアルビンに移し、液体シンチレーター (PICO-FLUOR™ PLUS) 5 mL を添加し、液体シンチレーションカウンターで測定(測定時間 2 min)する。

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)

B_0 : 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) 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 ($B_0 - N$) との比 ($(B - N) / (B_0 - N)$) を logit 変換した後、試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。

$$Y = aX + b$$

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

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

$$(X = \log x, x \text{ は被験物質の最終濃度})$$

$$(a, b = \text{定数})$$

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阻害率を算出する。被験物質及び陽性物質の 2 例の阻害率が、阻害率平均値の $\pm 10\%$ 以内であった場合に測定値を採用する。

C. 結果

本研究において測定対象とした 26 化合物の、ラット脳シナプトソーム画分における Dopamine, Noradrenaline 及び Serotonin 再取り込み阻害活性 (IC₅₀ 値) を Table 1 に示した。測定の結果、以下のことが明らかとなった。

1) ベンゼン環上にメキシ基を有するカチノン系化合物及びフェネチルアミン系化合物 (アンフェタミン類) である 4-Methoxy-N,N-dimethylcathinone 及び 3C-E は、いずれのモノアミンに対しても取り込み阻害活性が認められなかった。また、コカイン様の中樞興奮/局所麻酔作用を期待して乱用される Nitracaine についても、いずれのモノアミンに対しても再取り込み阻害活性が認められなかった。

2) 測定化合物中、インドールアミン構造/フェネチルアミン構造を有する 5-IT (5-API) 及び Methylnaphthidate が最も強い Dopamine 再取り込み阻害活性が、3,4-Dimethyl- α -PVP が最も強い Noradrenaline 再取り込み阻害活性が認められた。

3) メタンフェタミンのベンゼン環がナフタレン環に置換した化合物 Methamnetamine は、比較的強い同レベルの Dopamine 及び Noradrenaline の再取り込み阻害活性と共に、測定化合物中、最も強い Serotonin 再取り込み阻害が認められた。

4) カチノン系化合物において、4-Methoxy-*N,N*-dimethylcathinone 以外は、Dopamine 及び Noradrenaline の再取り込み阻害活性が認められた。4-Methoxy-*N,N*-dimethylcathinone については、3 種のモノアミン、いずれも阻害活性が認められなかった。bk-MDDMA、4-Methyl-*N*-methyl buphedrone のように、*N,N*-dimethyl 基を有する他の化合物においては Dopamine 及び Noradrenaline の再取り込み阻害活性が認められているため、ベンゼン環上のメキシ基がモノアミン再取り込み阻害に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

5) カチノン系化合物において、アルキル主鎖の長さが C4 よりも短い化合物は、(弱いながらも認められた 4-Methylbuphedrone を除き)、いずれも Serotonin 再取り込み阻害が認められなかったが、C5 よりも長い化合物については、いずれもセロトニン再取り込み阻害が認められた。アルキル主鎖の長さが、セロトニン再取り込み阻害に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

6) カチノン系化合物において、メチレンジオキシ基もしくはテトラリン構造を有する化合物は、Dopamine 及び Noradrenaline の再取り込み阻害活性は同レベルであったが、その他化合物については、Noradrenaline の再取り込み阻害活性の方が強く認められた。特に、3,4-Dimethyl- α -PVP については、100 倍程度 Noradrenaline の再取り込み阻害活性が強い結果となった。

7) カチノン系化合物において、ピロリジン骨格を有する化合物の方が強い Dopamine 及び Noradrenaline の再取り込み阻害活性を示す傾向にあった(テトラリン構造を有する化合物を除く)。

8) フェニデート系化合物において、いずれも比較的強い Dopamine 及び Noradrenaline の再取り込み阻害活性が認められたが、Serotonin 再取り込み阻害活性については、ナフタレン環を有する Methylnaphthidate のみ認められた。

9) チオフェン構造を有する Methiopropamine 及び α -PVT、フェネチルアミン構造を有する β -Methylphenethylamine は比較的強い、そして Mephetetramine はやや弱い Dopamine 及び Noradrenaline の再取り込み阻害活性が認められたが、いずれも Serotonin 再取り込み阻害活性は認められなかった。これらの中で、 β -カルボニル基を有する α -PVT と Mephetetramine は、Dopamine の再取り込み阻害活性が Noradrenaline の再取り込み阻害活性と同レベルの値を示したが、チオフェニルエチルアミン、フェネチルアミン構造を有する Methiopropamine と β -Methylphenethylamine は Noradrenaline の再取り込み阻害活性の方が強い結果となった。

10) フェンメトラジン系化合物 Mephenmetrazine 及び 3-Fluorophenmetrazine は、いずれのモノアミンに対しても比較的強い再取り込み阻害活性を示した。

D. 考察

覚せい剤等の作用は、神経終末からのモノアミンの遊離促進と、モノアミントランスポーターにおける神経終末への再取り込み阻害作用によるシナプス間隙におけるアミン類の濃度上昇が重要な要因となる。その際、興奮作用は Dopamine 濃度が大きく関与する。また、抗うつ薬として知られる選択的セロトニン再取り込み阻害薬(SSRI)は、セロトニンを放出するシナプスのセロトニントランスポーターに選択的に作用し、セロトニン再取り込みを阻害することによって結果的にシナプス間隙の

セロトニン濃度を上昇させる。本研究では神経終末からのモノアミンの遊離促進作用については検討していないが、本研究で認められた、各化合物におけるモノアミン再取り込み阻害作用のプロファイルの違いは、*in vivo* における行動薬理学的な差異に関与すると考えられる。実際、カチノン系化合物において、置換基やアルキル主鎖の長さなどの違いにより、Dopamine 再取り込み阻害が優位となる化合物、Serotonin 再取り込み阻害が優位となる化合物があるが、わずかな構造の違いで、ヒトに対する薬理学的作用が異なる可能性も考えられた。

E. 結論

麻薬 Ethcathinone, 既報で報告した 11 化合物及び平成 25 年度以降に危険ドラッグ市場に出現した 14 化合物の計 26 化合物について、ラット脳シナプトソーム画分における Dopamine, Noradrenaline 及び Serotonin 再取り込み阻害活性 (IC_{50} 値) を測定した。その結果、4-Methoxy-*N,N*-dimethylcathinone, 3C-E 及び Nitracaine はいずれのモノアミンに対しても再取り込み阻害活性を示さなかった。また、Dopamine, Noradrenaline 及び Serotonin に対して、それぞれ Methyl-naphthidate, 3,4-Dimethyl- α -PVP, Methamnetamine が、測定化合物中最も強い再取り込み阻害活性を示した。カチノン系化合物では、ベンゼン環上のメキシ基及びメチレンジオキシ基、テトラリン構造、ピロリジン構造の導入、またアルキル主鎖の長さにより、3 種類のモノアミン再取り込み阻害活性パターンが異なることが示唆された。さらに、フェニデート系化合物においては、いずれも強い Dopamine 及び Noradrenaline の再取り込み阻害活性が認められたが、ナフタレン構造を有する化合物は、Serotonin に対しても比較的強い阻害活性を有していた。チオフェン構造を有する Methiopropamine 及び α -PVT, フェネチルアミン構造を有する β -Methylphenethylamine は比較的強い、そして Mephedetramine はやや弱い

Dopamine 及び Noradrenaline の再取り込み阻害活性が認められたが、いずれも Serotonin 再取り込み阻害活性は認められなかった。フェンメトラジン系化合物は、いずれのモノアミンに対しても比較的強い再取り込み阻害活性を示した。

本研究で検討した 25 化合物 (麻薬 Ethcathinone を除く) において、Nitracaine 及び β -Methylphenethylamine を除く 23 化合物が指定薬物として規制された。そのうち、10 化合物は平成 27 年度に規制された。

F. 参考文献

- 1) 厚生労働科学特別研究補助金(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 年度研究分担報告「新規流通違法ドラッグの *in vitro* 活性評価について」(花尻(木倉)瑠理)。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

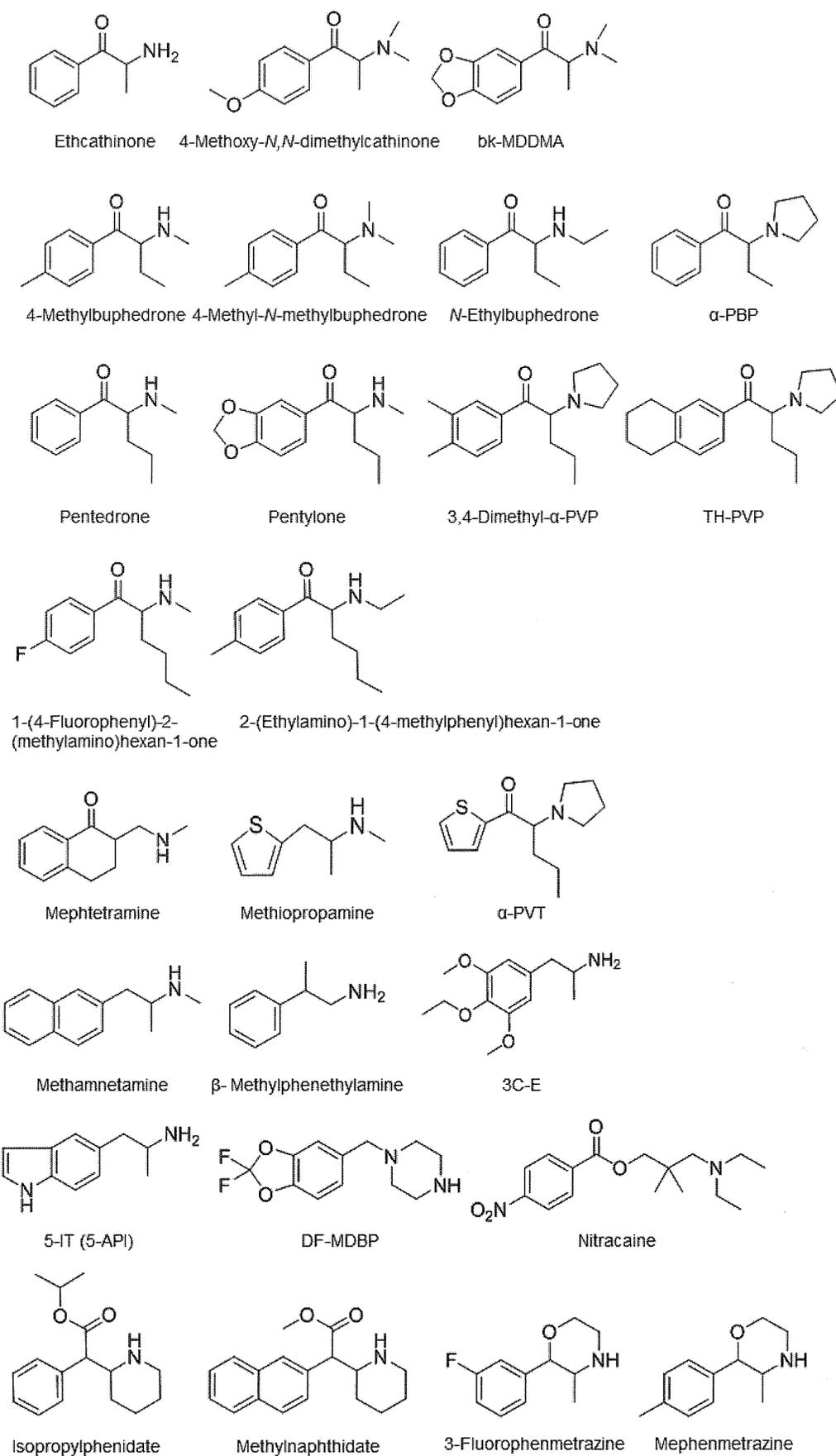


Fig. 1 Chemical structures investigated in this study.

Table 1 IC50 values of test substances on radioligand binding to monoamine uptake

Types	Substances	IC ₅₀ Values		
		Dopamine	Noradrenaline	Serotonin
Cathinones	Ethcathinone*	2.10×10^{-6}	4.31×10^{-7}	$>1 \times 10^{-5}$
	4-Methoxy- <i>N,N</i> -dimethylcathinone*	$>1 \times 10^{-5}$	$>1 \times 10^{-5}$	$>1 \times 10^{-5}$
	bk-MDDMA*	4.04×10^{-6}	1.41×10^{-6}	$>1 \times 10^{-5}$
	4-Methylbuphedrone*	6.92×10^{-6}	6.85×10^{-7}	1.19×10^{-6}
	4-Methyl- <i>N</i> -methylbuphedrone*	6.36×10^{-6}	4.97×10^{-7}	$>1 \times 10^{-5}$
	<i>N</i> -Ethylbuphedrone (NEB)*	1.21×10^{-6}	3.61×10^{-7}	$>1 \times 10^{-5}$
	α -PBP*	1.38×10^{-7}	4.62×10^{-8}	$>1 \times 10^{-5}$
	Pentedrone*	1.27×10^{-6}	3.25×10^{-7}	5.01×10^{-6}
	Pentylone*	8.74×10^{-7}	2.79×10^{-7}	9.23×10^{-7}
	3,4-Dimethyl- α -PVP	6.86×10^{-7}	6.82×10^{-9}	3.01×10^{-7}
	α -PVP tetralin analog	2.83×10^{-6}	4.13×10^{-6}	2.91×10^{-7}
	1-(4-Fluorophenyl)-1-(methylamino)hexan-1-one	1.92×10^{-6}	5.99×10^{-7}	1.04×10^{-6}
	2-(Ethylamino)-1-(4-methylphenyl)hexan-1-one	5.83×10^{-7}	2.70×10^{-8}	5.73×10^{-7}
		Mephetetramine	2.64×10^{-6}	5.16×10^{-6}
Thiophenes	Methiopropamine*	1.51×10^{-6}	1.70×10^{-7}	$>1 \times 10^{-5}$
	α -PVT*	2.99×10^{-7}	1.13×10^{-7}	$>1 \times 10^{-5}$
Phenethylamines	Methamnetamine	3.57×10^{-7}	3.09×10^{-7}	9.04×10^{-8}
	β -Methylphenethylamine	4.52×10^{-6}	4.74×10^{-7}	$>1 \times 10^{-5}$
	3C-E	$>1 \times 10^{-5}$	$>1 \times 10^{-5}$	$>1 \times 10^{-5}$
Indole/ Phenethylamines	5-IT (5-API)*	7.01×10^{-8}	3.79×10^{-8}	4.53×10^{-7}
	DF-MDBP	$>1 \times 10^{-5}$	$>1 \times 10^{-5}$	6.85×10^{-6}
	Nitracaine	$>1 \times 10^{-5}$	$>1 \times 10^{-5}$	$>1 \times 10^{-5}$
Phenidates	Isopropylphenidate	5.35×10^{-7}	5.74×10^{-7}	$>1 \times 10^{-5}$
	Methylnaphthidate	9.16×10^{-8}	2.48×10^{-8}	3.67×10^{-7}
Phenmetrazines	Mephenmetrazine	2.92×10^{-6}	6.23×10^{-7}	5.41×10^{-7}
	3-Fluorophenmetrazine	6.09×10^{-7}	1.91×10^{-7}	6.45×10^{-6}
	Positive Control**	GBR12909	Desipramine	Imipramine
		1.91×10^{-8}	2.11×10^{-9}	3.58×10^{-8}

*平成 24 年度厚生労働科学研究費補助金事業報告書¹⁾で報告した測定値

** 3 回 (n=2) の測定の平均値

分担研究課題: 危険ドラッグ等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

研究分担者: 花尻(木倉)瑠理 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 室長

—新規流通危険ドラッグ成分の Aequorin/GPCRs cell-based Ca^{2+} functional assay を用いた
セロトニン受容体活性評価—

研究協力者: 曾我 慶介 国立医薬品食品衛生研究所生化学部

研究協力者: 蜂須賀 暁子 国立医薬品食品衛生研究所生化学部 室長

研究協力者: 最上 知子 国立医薬品食品衛生研究所生化学部 部長

研究要旨: ヒトセロトニン(5HT_{2A})受容体と Aequorin を安定的に共発現する市販の組換え細胞を用い、活性既知化合物に加え、活性未知の新規流通危険ドラッグ成分である化合物など計 24 種(フェネチルアミン・カチノン系またはトリプタミン系化合物)について、5HT_{2A} 受容体を介したアゴニスト活性を相対的に評価した。その結果、今回測定した新規流通化合物について、いずれも 5HT_{2A} 受容体に対するアゴニスト活性が認められた。トリプタミン系化合物では、AcO 基誘導体より OH 基誘導体のほうが、アゴニスト活性が強い傾向が認められた。また、トリプタミン骨格の末端アミンや 5 位の付加基が長く嵩高い化合物では、5HT_{2A} 受容体との結合活性が低下することが示唆された。以上より、危険ドラッグ成分に関して、構造活性相関の新規知見を蓄積した。

A. 研究目的

Aequorin は、発光クラゲ *Aequorea aequorea* より単離された発光タンパク質で、アポタンパク質 Apoaequorin、発光基質 Coelenterazine、分子状酸素の複合体として存在する。カルシウムイオンと反応して発光(470 nm)する性質を有し、蛍光よりも感度が高く、また、バックグラウンドも低いことから、生理的条件下の細胞内カルシウムイオン濃度変化の検出法として使用されている。G タンパク質結合型受容体(GPCRs) 関連では、標的となる GPCR、G タンパク質及び Ca^{2+} 感受性発光タンパク質 Aequorin の発現ベクターを CHO 細胞等にトランスフェクションして安定的に共発現させ、リガンド結合により誘導された細胞内カルシウム濃度上昇を発光として検出するアッセイ系が報告されており、すでに危険ドラッグ成分や危険ドラッグ製

品の抽出物の活性評価にも適用されている¹⁾⁴⁾(Figure. 1)。本年度ではセロトニン(5HT_{2A})受容体とエクオリンを安定的に共発現する組換え細胞株を用いて、多数の活性既知及び新規流通活性未知危険ドラッグ成分の 5HT_{2A} 受容体に対する薬理活性を測定し、各化合物のアゴニスト活性を相対的に評価することを目的とする。

B. 研究方法

1) 測定対象化合物

使用した化合物は、市販品もしくは国立衛研において調製したものをを用いた。5HT_{2A} 受容体アゴニストの陽性コントロールとして、TCB-2 [4-Bromo-3,6-dimethoxybenzocyclobuten-1-yl)methylamine] (Tocris) 及び活性既知の麻薬 DOI (Cayman chemical) を用いた。フェネチルア