

令和4年度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)

精神活性物質の迅速検出法ならびに
有害作用評価法開発に関する研究

課題番号：20KC1003

[3年間のまとめ]
総合研究報告書
分担研究報告書

令和5年3月

研究代表者：船田正彦

目 次

令和4年度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) (課題番号: 20KC1003)

精神活性物質の迅速検出法ならびに 有害作用評価法開発に関する研究

I. 令和2~4年度 総合研究報告書 [3年間のまとめ] 船田正彦 (湘南医療大学 薬学部)	-----	1
II. 令和2~4年度 分担研究報告書 [3年間のまとめ]		
研究-1: 細胞を利用した薬物の有害作用並びに検出法に関する研究 船田正彦 (湘南医療大学 薬学部)	-----	6
研究-2: 新規精神活性物質の合成とその微量分析に関する研究 高橋秀依 (東京理科大学 薬学部)	-----	11
III. 3年間の研究成果の刊行に関する一覧表	-----	16

令和2～令和4年度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：20KC1003)
精神活性物質の迅速検出法ならびに有害作用評価法開発に関する研究

総合研究報告書 [3年間のまとめ]

精神活性物質の迅速検出法ならびに有害作用評価法開発に関する研究

研究代表者 船田正彦

(国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所 薬物依存研究部 依存性薬物研究室長)

【研究要旨】

[研究-1：細胞を利用した薬物の有害作用並びに検出法に関する研究]

近年、世界各国で新しい合成物質が登場し、新規精神活性物質(New Psychoactive Substances)として流通が拡大しており、乱用に基づく死亡事例などの健康被害は大きな社会問題となっている。わが国では、危険ドラッグが代表的な精神活性物質であり、合成カンナビノイドの乱用に基づく健康被害が多発した。海外では、合成カンナビノイドに加えフェンタニル誘導体を中心としたオピオイド化合物の流通拡大が問題となっている。合成カンナビノイドおよびオピオイド化合物について、多くの類縁化合物が登場していることから、化学構造に依存する従来型の薬物検出法に加え、迅速かつ包括的な薬物検出法および有害作用の評価法の導入が必須となっている。本研究では、細胞を利用して、合成カンナビノイドおよびオピオイド化合物の薬物検出とその毒性を同時に検出する手法の開発を試みた。

[結果] 合成カンナビノイド検出細胞の構築に関しては、細胞毒性の発現と密接に関わるアポトーシスの誘導に着目し、アポトーシス誘導タンパク質 Bid もしくは caspase-3 の活性化を蛍光発光で検出できる細胞作出を実施した。本研究では、CHO-CB1-Bid 細胞および CHO-CB1-Casp3 細胞を作出し、本細胞における合成カンナビノイド添加後の蛍光値増加は、細胞毒性発現の指標になることが明らかになった。オピオイド化合物については、ヒト-オピオイド μ 受容体を発現する CHO(CHO- μ)細胞を利用して、オピオイド受容体活性化を蛍光指示薬フリーで蛍光検出できる CHO- μ -GCaMP 細胞を作出した。CHO- μ -GCaMP 細胞は、フェンタニルおよび新規合成フェンタニル化合物の検出が可能であった。また、CHO- μ -GCaMP 細胞を利用した検討において、新規に開発した小型蛍光検出器による検出結果は、据置型プレートリーダーによる解析結果と完全に一致した。

[考察] 本研究では、CHO-CB1-Bid 細胞および CHO-CB1-Casp3 細胞を作出し、本細胞における合成カンナビノイド添加後の蛍光値増加は、細胞毒性発現の指標になることが明らかになった。したがって、CHO-CB1-Bid 細胞および CHO-CB1-Casp3 細胞は、合成カンナビノイドによる細胞毒性発現の予測に使用可能であると考えられる。同様に、カンナビノイド CB1 受容体アゴニスト以外の薬物では蛍光値の増加が認められないことから、特に有害作用を示す危険性のある合成カンナビノイドの検出に利用できると考えられる。オピオイド化合物については、CHO- μ -GCaMP 細胞は、自立蛍光発光型の細胞としてフェンタニル類縁化合物の検出が可能であった。CHO- μ -GCaMP 細胞を利用した薬物検出法の実効性と利便性を高める目的で、持ち運び可能な小型蛍光検出器を作製し、 μ 受容体作用薬の選択的な検出が可能であった。小型蛍光検出器の実用化へ向けて、細胞の培養法、検出のためのプロトコールを作成することができた。

[結論] 本研究より薬物が作用する受容体の発現細胞は、作用強度の予測に利用可能である。同様に、受容体の発現細胞を利用した薬物の検出法は、薬物の化学構造特性に依存しない包括的検出法として有用である。また、小型検出器の利用により、省スペースでの利用も可能となり、危険ドラッグの発見や救急現場での原因薬物の検出などに応用が期待される。

[研究-2：新規精神活性物質の合成とその微量分析に関する研究]

精神活性化作用が期待される様々な化合物が市中に流通している。しかし、それらの多くは未規制であり、実際の薬理作用や毒性を明らかにするために、網羅的に化学合成し、ライブラリー化する必要がある。同様に、ライブラリーにおいて分析データを整備する必要がある。本研究では、有機合成化学の手法を用い、精神活性化作用が期待される様々な化合物を化学合成し、それらをラマン分光測定を利用して解析し、分析データをデータベース化することを目的とする。

[結果] 3-アロイルインドールを基本骨格にもつ化合物群の系統的な化合物ライブラリーを作製した。合計で 277 種 (2023 年 1 月 7 日現在) 誘導体を合成し、合成カンナビノイドの化合物ライブラリーを拡充することができた。これらの一部を研究代表者に供与し、生物活性を検討していただいた。また、最近、欧米で違法に使用されているフェンタニル誘導体についても網羅的な化学合成を行い 101 種 (2023 年 1 月 7 日現在) の化合物を作製し、化合物ライブラリー化した。このほか、3-FPE の誘導体合成や AB-FUBINACA の化学合成も行った。危険ドラッグ化合物ライブラリーについて、化合物ごとに NMR, IR, MS を測定し、キラルカラムを用いたキラル HPLC の分離条件について精査し、ジアステレオマーの分離・単離及びエナンチオマーの分離・単離を検討した。また、ラマン分光法による網羅的分析を行い、危険ドラッグ類の化合物ライブラリーデータベースに追加した。

[考察] 本研究で作製した危険ドラッグ化合物ライブラリー及びそのデータベースは世界に唯一であり、麻薬取締部の鑑識業務に活用できる。また、生物活性の検討にも役立つと考える。さらに、立体異性体や位置異性体分析にキラル HPLC を用いて行う方法やラマン分光法による簡便な微量分析法を確立したことは今後の危険ドラッグ関連化合物の分析及び同定の基盤となる。併に使用する培養細胞の選択には注意を要すると考えられる。カチノン系化合物、チオフェン誘導体、フェンタニル類似化合物については、それぞれの化学構造からの危険性予測が可能であると考えられる。

結論：

(1) 本研究より薬物が作用する受容体の発現細胞は、作用強度の予測に利用可能である。同様に、受容体の発現細胞を利用した薬物の検出法は、薬物の化学構造特性に依存しない包括的検出法として有用である。また、小型検出器の利用により、省スペースでの利用も可能となり、危険ドラッグの発見や救急現場での原因薬物の検出などに応用が期待される。

(2) 本研究により、合成カンナビノイド、カチノン系及び FPE 誘導体、フェンタニル誘導体について、標準品として提供できる化合物ライブラリーを作製することができた。また、化合物の分析データも世界的に貴重であり、麻薬取締部等からの要請に応じて提供し、微量分析のために活用していただくことができる。特に、ラマン分光による分析データは、微量の化合物についても安全かつ簡便に取得することができることを明らかにした。今後、犯罪現場において本分析法及び分析データを装備したラマン分光測定機器を用いることができれば、現場の警察官等によっても、迅速かつ簡便に違法薬物を鑑定することが可能になる。

本研究成果から、危険ドラッグについて、細胞を利用した薬物検出システムは、迅速な薬物検出法として有用であり、小型蛍光検出器の併用により取り締まりや救急救命の場面での利用が期待できる。また、本研究で合成を進めた危険ドラッグの化合物ライブラリーは世界に唯一の「危険ドラ

ッグライブラリー」である。このような危険ドラッグライブラリーおよびそのデータベースは、危険ドラッグの法的な規制強化や薬理活性及び毒性の検討に役立つと考えられる。今後は、この危険ドラッグライブラリーを利用して、細胞を利用した危険ドラッグの有害作用評価および薬物検出システムを進展させていく予定である。

研究代表者：船田正彦 湘南医療大学 薬学部 教授
分担研究者：高橋秀依 東京理科大学 薬学部 教授

A. 研究目的

危険ドラッグの流通は世界的な広がりを見せており、その乱用が大きな社会問題となっている。海外では、新規精神活性物質(New psychoactive substances, NPS)として分類されるものであり、日本でも大きな問題となっている「いわゆる脱法ハーブ」などの製品が確認されている。薬物のタイプとしては、合成カンナビノイドやカチノン系化合物に加え、フェンタニル類縁化合物などのオピオイド系薬物の台頭が深刻である。

危険ドラッグ蔓延における最大の問題点は、国内で流通する段階では、その多くが「未規制化合物」である点である。しかしながら、その作用は麻薬や覚せい剤と類似した効果を示すのである。国内の最大問題事案としては、「いわゆる脱法ハーブ」と称される製品の流通拡大である。その乱用による健康被害が多数発生し、救急搬送される事例が増大した。脱法ハーブは乾燥した植物片に精神作用を示す薬物が混ぜ込まれており、この混在する薬物を乱用しているのが現状である。現在のところ、検出される化学物質の多くは、合成カンナビノイドである事が判明している。この合成カンナビノイドは多くの類縁体の存在が知られており、特定の薬物を規制しても、次々に新しい薬物が登場する状況が続いていた。こうした状況を打破するために、平成25年2月より、合成カンナビノイドの構造に着目し、類似したものを一括で規制す

るいわゆる「包括規制」が導入された。一方、危険ドラッグの原末や液状の製品からは、覚せい剤と類似の効果を示すカチノン系化合物が検出される場合が多い。カチノン系化合物についても、多種類の薬物が流通しており、平成25年12月より、カチノン系化合物の「包括規制」が導入された。一方、世界的な問題として、フェンタニル類縁化合物の流通の拡大が深刻であることから、フェンタニルの化学構造に着目して、「包括規制」の導入の妥当性を検証する必要がある。

一方、こうした新規合成薬物である危険ドラッグ使用により健康被害が発生した場合、救急医療現場では迅速な薬物検出が必要となっている。危険ドラッグは化学構造の一部が変化している類縁薬物が多数存在するため、一括で検出する手法の開発が必要となっている。同様に、引き続き新しい危険ドラッグが登場するなか、標準品として危険ドラッグのライブラリーを作製し、有害作用の評価や機器分析による微量分析法について検討することが急務である。

本研究では、危険ドラッグが作用する薬物受容体等の機能タンパク質に着目し、危険ドラッグ検出用細胞を作製ならびに持ち運び可能な小型検出機器の開発を目的とした。また、細胞を利用した薬物検出法の実効性と利便性を高める目的で、持ち運び可能な小型蛍光検出器の作製を試みた。

同様に、危険ドラッグの化合物ライブラリーを作製し、機器分析による微量分析法について検討した。本研究では、3-アロイルインドールを基本骨格にもつ合成カンナビノイド化合物、3-FPEに代表されるFPE誘導体及びカチノン系化合物、さらにフェンタニル誘導体についても化学合成を行い、化合物ライブラリーを作製した。さらにこれらの微量分析を行い、化合物ご

とに NMR, IR, MS を測定し、キラルカラムを用いたキラル HPLC の分離条件について精査し、ジアステレオマーの分離・単離及びエナンチオマーの分離・単離を検討した。また、ラマン分光法による網羅的分析を行い、危険ドラッグ類の化合物ライブラリーデータベースを作製した。

B. 各研究の目的、方法、結果

[研究-1: 細胞を利用した薬物の有害作用並びに検出法に関する研究]

船田正彦

湘南医療大学 薬学部 教授

[緒言] 精神活性物質 (Psychoactive Substances) は、中枢神経系に作用し、精神活動を調整する物質の総称である。近年、世界各国で新しい合成物質が登場し、新規精神活性物質 (New Psychoactive Substances) として流通が拡大しており、乱用に基づく死亡事例などの健康被害は大きな社会問題となっている。わが国では、危険ドラッグが代表的な精神活性物質であり、合成カンナビノイドの乱用に基づく健康被害が多発した。海外では、合成カンナビノイドに加えフェンタニル誘導体を中心としたオピオイド化合物の流通拡大が問題となっている。合成カンナビノイドおよびオピオイド化合物について、多くの類縁化合物が登場していることから、化学構造に依存する従来型の薬物検出法に加え、迅速かつ包括的な薬物検出法および有害作用の評価法の導入が必須となっている。本研究では、細胞を利用して、合成カンナビノイドおよびオピオイド化合物の薬物検出とその毒性を同時に検出する手法の開発を試みた。

[結果] 合成カンナビノイド検出細胞の構築に関しては、細胞毒性の発現と密接に関わるアポトーシスの誘導に着目し、アポトーシス誘導タンパク質 Bid もしくは caspase-3 の活性化を蛍光発光で検出できる細胞作出を実施した。本研究では、CHO-CB₁-Bid 細胞および CHO-CB₁-Casp3 細胞を作出し、本細胞における合成カン

ナビノイド添加後の蛍光値増加は、細胞毒性発現の指標になることが明らかになった。オピオイド化合物については、ヒト-オピオイド μ 受容体を発現する CHO(CHO- μ)細胞を利用して、オピオイド受容体活性化を蛍光指示薬フリーで蛍光検出できる CHO- μ -GCaMP 細胞を作出した。CHO- μ -GCaMP 細胞は、フェンタニルおよび新規合成フェンタニル化合物の検出が可能であった。また、CHO- μ -GCaMP 細胞を利用した検討において、新規に開発した小型蛍光検出器による検出結果は、据置型プレートリーダーによる解析結果と完全に一致した。

[研究-2: 新規精神活性物質の合成とその微量分析に関する研究]

高橋秀依

東京理科大学 薬学部 教授

[緒言]精神活性化作用が期待される様々な化合物が市中に流通している。しかし、それらの多くは未規制であり、実際の薬理作用や毒性を明らかにするために、網羅的に化学合成し、ライブラリー化する必要がある。このような化合物ライブラリーは、化合物を標準品として提供することができるだけでなく、基本的な分析データも備えている。中でも、迅速かつ簡便に検出できる新たな微量分析法としてラマン分光測定は有用であると考え、分析データを拡充している。

[方法] 有機合成化学の手法を用い、精神活性化作用が期待される様々な化合物を化学合成し、それらを分析して分析データをデータベース化する。

[結果] 3-アロイルインドールを基本骨格にもつ化合物群の系統的な化合物ライブラリーを作製した。合計で 277 種 (2023 年 1 月 7 日現在) 誘導体を合成し、合成カンナビノイドの化合物ライブラリーを拡充することができた。これらの一部を研究代表者に供与し、生物活性を検討していただいた。また、最近、欧米で違法に使用されているフェンタニル誘導体についても網羅的な化学合成を行い 101 種 (2023 年 1 月 7

日現在)の化合物を作製し、化合物ライブラリー化した。このほか、3-FPEの誘導体合成やAB-FUBINACAの化学合成も行った。危険ドラッグ化合物ライブラリーについて、化合物ごとにNMR, IR, MSを測定し、キラルカラムを用いたキラルHPLCの分離条件について精査し、ジアステレオマーの分離・単離及びエナンチオマーの分離・単離を検討した。また、ラマン分光法による網羅的分析を行い、危険ドラッグ類の化合物ライブラリーデータベースに追加した。

C. 考察

1. 細胞を利用した薬物の有害作用並びに検出法に関する研究

本研究では、CHO-CB₁-Bid細胞およびCHO-CB₁-Casp3細胞を作出し、本細胞における合成カンナビノイド添加後の蛍光値増加は、細胞毒性発現の指標になることが明らかになった。したがって、CHO-CB₁-Bid細胞およびCHO-CB₁-Casp3細胞は、合成カンナビノイドによる細胞毒性発現の予測に使用可能であると考えられる。同様に、カンナビノイドCB₁受容体アゴニスト以外の薬物では蛍光値の増加が認められないことから、特に有害作用を示す危険性のある合成カンナビノイドの検出に利用できると考えられる。オピオイド化合物については、CHO- μ -GCaMP細胞は、自立蛍光発光型の細胞としてフェンタニル類似化合物の検出が可能であった。CHO- μ -GCaMP細胞を利用した薬物検出法の実効性と利便性を高める目的で、持ち運び可能な小型蛍光検出器を作製し、 μ 受容体作用薬の選択的な検出が可能であった。小型蛍光検出器の実用化へ向けて、細胞の培養法、検出のためのプロトコールを作成することができた。

2. 新規精神活性物質の合成とその微量分析に関する研究

本研究で作製した危険ドラッグ化合物ライ

ブラリー及びそのデータベースは世界に唯一であり、麻薬取締部の鑑識業務に活用できる。また、生物活性の検討にも役立つと考える。さらに、立体異性体や位置異性体分析にキラルHPLCを用いて行う方法やラマン分光法による簡便な微量分析法を確立したことは今後の危険ドラッグ関連化合物の分析及び同定の基盤となる。併に使用する培養細胞の選択には注意を要すると考えられる。カチノン系化合物、チオフェン誘導体、フェンタニル類似化合物については、それぞれの化学構造からの危険性予測が可能であると考えられる。

D. 結論

本研究より薬物が作用する受容体の発現細胞は、作用強度の予測に利用可能である。同様に、受容体の発現細胞を利用した薬物の検出法は、薬物の化学構造特性に依存しない包括的検出法として有用である。また、小型検出器の利用により、省スペースでの利用も可能となり、危険ドラッグの発見や救急現場での原因薬物の検出などに応用が期待される。

本研究により、合成カンナビノイド、カチノン系及びFPE誘導体、フェンタニル誘導体について、標準品として提供できる化合物ライブラリーを作製することができた。また、化合物の分析データも世界的に貴重であり、麻薬取締部等からの要請に応じて提供し、微量分析のために活用していただくことができる。特に、ラマン分光による分析データは、微量の化合物についても安全かつ簡便に取得することができることを明らかにした。今後、犯罪現場において本分析法及び分析データを装備したラマン分光測定機器を用いることができれば、現場の警察官等によっても、迅速かつ簡便に違法薬物を鑑定することが可能になる。

E. 健康危険情報

本研究は、危険ドラッグの中樞作用、毒性および乱用実態把握に関する研究であり、結果は

すべて健康危険情報に該当する。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Asanuma, M., Miyazaki, I. and Funada, M.: The neurotoxicity of psychoactive phenethylamines "2C series" in cultured monoaminergic neuronal cell lines. *Forensic Toxicol.*, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11419-020-00527-w>.
- 2) Funada M, Takebayashi-Ohsawa M, Tomiyama KI. Synthetic cannabinoids enhanced ethanol-induced motor impairments through reduction of central glutamate neurotransmission. *Toxicol Appl Pharmacol.* (2020) Dec 1;408:115283. doi: 10.1016/j.taap.2020.115283. Epub 2020 Oct 15. PMID: 33068620.
- 3) Tomiyama KI, Funada M. Synthetic cannabinoid CP-55,940 induces apoptosis in a human skeletal muscle model via regulation of CB1 receptors and L-type Ca²⁺ channels. *Arch Toxicol.* 95(2):617-630, (2021).
- 4) 船田 正彦, 三島 健一: 薬物乱用のトレンド: ポスト危険ドラッグとしての大麻問題を考える. *YAKUGAKU ZASSHI*, 140(2), 171-172, 2020.
- 5) 富山 健一, 船田 正彦: 米国における大麻規制の現状: 医療用途と嗜好品. *YAKUGAKU ZASSHI*, 140(2), 179-192, 2020.
- 6) 船田 正彦, 富山 健一: 大麻成分の依存性と細胞毒性. *YAKUGAKU ZASSHI*, 140(2), 205-214, 2020.
- 7) 山田理沙, 嶋根卓也, 船田正彦: レクリエーション・セッティングにおける危険ドラッグ使用パターンの男女別検討、日本アルコール・薬物医学会雑誌 54(6), 272-285, (2020).
- 8) 船田正彦, 富山健一: 大麻規制の現状と課題. *都薬雑誌*, 43: 4-7, 2021.
- 9) Tomiyama K, Funada M.: Synthetic cannabinoid CP-55,940 induces apoptosis in a human skeletal muscle model via regulation of

CB1 receptors and L-type Ca²⁺ channels. *Arch Toxicol.* 95(2): 617-630, 2021.

- 10) 船田正彦: 危険ドラッグの依存性. *精神科*, 41: 239-247, 2022.
- 11) 船田正彦: 海外の大麻規制変遷から考える国内の大麻規制再構築の意義. *医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス*, 54: 36-42, 2023.

2. 学会発表

- 1) 船田正彦: 大麻を巡る国際社会の動向とわが国の現状. 「シンポジウム: 激動するわが国の薬物乱用・依存問題: 最近のトピックス」. 第116回日本精神神経学会学術総会, 宮城 (Web 開催), 2020年9月29日.
- 2) 船田正彦: 大麻の有害性: 細胞を利用した有害作用の評価. 「シンポジウム: 大麻についての基礎から臨床まで」. 第55回日本アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会, 福岡(Web 開催), 2020年11月23日.
- 3) Funada M, Tomiyama K: Effects of cannabinoids on ethanol-induced motor impairment using the rotarod performance test in mice. *CPDD 83th Annual Scientific Meeting, U.S.A.* June 22, 2021: Web Zoom.
- 4) 富山健一, 船田正彦: 北米における嗜好用大麻の使用実態について, 令和3年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会, 三重, 2021年12月17-19日.
- 5) 船田正彦: 危険ドラッグの最新海外事情, 第20回日本旅行医学会, Web 開催, 2022年5月21日.
- 6) 富澤宰菊、菊川俊太郎、有田浩暢、中村佳代、牧野宏章、田畑英嗣、忍足鉄太、夏苺英昭、船田正彦、高橋 秀依: フェンタニル誘導体の構造活性相関, 日本薬学会 第140年会, 札幌, 2022年3月25日.
- 7) 藤井ありあ、牧野宏章、荒木拓嗣、高橋秀依、久田浩史、小出達夫、深水啓朗: 携帯型ラマン分光計を用いた指定薬物異性体の識別、岡山、2020年6月5日
- 8) 有田浩暢、金瀬薫、牧野宏章、田畑英嗣、

- 忍足鉄太、夏苺英昭、高橋秀依：フェンタニル類縁体の合成と立体構造の解明、日本薬学会第 140 年会、京都、2020 年 3 月 25 日、
- 9) 高橋秀依：違法薬物と消毒薬の化学、栃木県女性薬剤師会 2020 年度研修会、栃木、2020 年 11 月 15 日
- 10) 有田浩暢、金瀬薫、牧野宏章、田畑英嗣、忍足鉄太、夏苺英昭、高橋秀依：フェンタニル誘導体の合成と構造活性相関、日本薬学会第 141 年会、広島、2021 年 3 月 29 日
- 11) Physicochemical property of fentanyl analogues. Arita Hironobu, Kanase Yuki, Makino Kosho, Tabata Hidetsugu, Oshitari Tetsuta, Natsugari Hideaki, Takahashi Hideyo, IRNI & IPOPS 2021, Sep. 28-29, 2021.
- 12) 菊川俊太郎、有田浩暢、金瀬薫、牧野宏章、田畑英嗣、忍足鉄太、夏苺英昭、高橋秀依：フェンタニル誘導体の合成とその構造活性相関、日本薬学会第 142 年会、オンライン、2022 年 3 月 26-28 日

令和2～令和4年度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：20KC1003)
精神活性物質の迅速検出法ならびに有害作用評価法開発に関する研究

分担研究報告書 [3年間のまとめ]

細胞を利用した薬物の有害作用並びに検出法に関する研究

研究分担者 船田正彦 (湘南医療大学 薬学部)

【研究概要】

[研究テーマ：細胞を利用した薬物の有害作用並びに検出法に関する研究]

[緒言] 精神活性物質 (Psychoactive Substances) は、中枢神経系に作用し、精神活動を調整する物質の総称である。近年、世界各国で新しい合成物質が登場し、新規精神活性物質(New Psychoactive Substances)として流通が拡大しており、乱用に基づく死亡事例などの健康被害は大きな社会問題となっている。わが国では、危険ドラッグが代表的な精神活性物質であり、合成カンナビノイドの乱用に基づく健康被害が多発した。海外では、合成カンナビノイドに加えフェンタニル誘導体を中心としたオピオイド化合物の流通拡大が問題となっている。合成カンナビノイドおよびオピオイド化合物について、多くの類縁化合物が登場していることから、化学構造に依存する従来型の薬物検出法に加え、迅速かつ包括的な薬物検出法および有害作用の評価法の導入が必須となっている。本研究では、細胞を利用して、合成カンナビノイドおよびオピオイド化合物の薬物検出とその毒性を同時に検出する手法の開発を試みた。

[結果] 合成カンナビノイド検出細胞の構築に関しては、細胞毒性の発現と密接に関わるアポトーシスの誘導に着目し、アポトーシス誘導タンパク質 Bid もしくは caspase-3 の活性化を蛍光発光で検出できる細胞作出を実施した。本研究では、CHO-CB₁-Bid 細胞および CHO-CB₁-Casp3 細胞を作出し、本細胞における合成カンナビノイド添加後の蛍光値増加は、細胞毒性発現の指標になることが明らかになった。オピオイド化合物については、ヒト-オピオイド μ 受容体を発現する CHO(CHO- μ)細胞を利用して、オピオイド受容体活性化を蛍光指示薬フリーで蛍光検出できる CHO- μ -GCaMP 細胞を作出した。CHO- μ -GCaMP 細胞は、フェンタニルおよび新規合成フェンタニル化合物の検出が可能であった。また、CHO- μ -GCaMP 細胞を利用した検討において、新規に開発した小型蛍光検出器による検出結果は、据置型プレートリーダーによる解析結果と完全に一致した。

[考察] 本研究では、CHO-CB₁-Bid 細胞および CHO-CB₁-Casp3 細胞を作出し、本細胞における合成カンナビノイド添加後の蛍光値増加は、細胞毒性発現の指標になることが明らかになった。したがって、CHO-CB₁-Bid 細胞および CHO-CB₁-Casp3 細胞は、合成カンナビノイドによる細胞毒性発現の予測に使用可能であると考えられる。同様に、カンナビノイド CB₁ 受容体アゴニスト以外の薬物では蛍光値の増加が認められないことから、特に有害作用を示す危険性のある合成カンナビノイドの検出に利用できると考えられる。オピオイド化合物については、CHO- μ -GCaMP 細胞は、自立蛍光発光型の細胞としてフェンタニル類縁化合物の検出が可能であった。CHO- μ -GCaMP 細胞を利用した薬物検出法の実効性と利便性を高める目的で、持ち運び可能な小型蛍光検出器を作製し、 μ 受容体作用薬の選択的な検出が可能であった。小型蛍光検出器の実用化へ向

けて、細胞の培養法、検出のためのプロトコールを作成することができた。

[結論] 本研究より薬物が作用する受容体の発現細胞は、作用強度の予測に利用可能である。同様に、受容体の発現細胞を利用した薬物の検出法は、薬物の化学構造特性に依存しない包括的検出法として有用である。また、小型検出器の利用により、省スペースでの利用も可能となり、危険ドラッグの発見や救急現場での原因薬物の検出などに応用が期待される。

緒言

精神活性物質 (Psychoactive Substances) は、中枢神経系に作用し、感情や認知などの精神活動を調整する物質の総称である。規制薬物の麻薬や覚醒剤、医薬品として利用される向精神薬に加え、嗜好品として使用されるタバコやアルコールなどが含まれる。近年、世界各国で新しい合成物質が登場し、新規精神活性物質(New Psychoactive Substances) として流通が拡大しており、乱用に基づく死亡事例などの健康被害は大きな社会問題となっている。

わが国では、危険ドラッグが代表的な精神活性物質であり、合成カンナビノイド、カチノン系化合物およびオピオイド化合物などが引き続き、指定薬物として規制が進んでいる。危険ドラッグ蔓延における最大の問題点は、国内で流通する段階では、その多くが「未規制化合物」である点である。しかしながら、その作用は麻薬や覚醒剤と類似した効果を示すのである。現在の危険ドラッグ流通に関しては、使用規制および厳格な流通規制を敷くことで、表面上は落ち着きを取り戻している。一方、世界に目を向けると依然として合成カンナビノイドやオピオイド化合物などは新規精神活性物質として流通が拡大しており、乱用に基づく死亡事例などの健康被害は大きな社会問題となっている。特に、オピオイド化合物については、欧米を中心に流通が続いており社会問題となっている。オピオイド化合物のなかでもフェンタニル誘導体は、多くの類縁化合物が流通している。米国では、新しい骨格を持つフェンタニル誘導体が流通拡大し、過量摂取による死亡事例が報告されており、「オピオイド・クライシス」として大きな社会問題となっている。

United Nations Office on Drugs and Crime

(UNODC, 国連薬物犯罪事務所) が注意を要する監視対象薬物として、150 種類を超える合成カンナビノイドおよびオピオイド化合物がリストアップされている。

こうした新規合成薬物である危険ドラッグ使用により健康被害が発生した場合、救急医療現場では迅速な薬物検出が必要となっている。危険ドラッグは化学構造の一部が変化している類縁薬物が多数存在するため、一括で検出する手法の開発が必要となっている

1) 合成カンナビノイド

合成カンナビノイド検出細胞の構築に関しては、細胞毒性の発現と密接に関わるアポトーシスの誘導に着目し、アポトーシス誘導タンパク質 Bid を蛍光発光で検出できる細胞作出を実施した。合成カンナビノイドの作用点であるカンナビノイドCB₁受容体発現細胞にアポトーシス誘導タンパク質 Bid と赤色蛍光タンパク質 DsRed2 を融合させた Bid-DsRed2 を導入し、CHO-CB₁-Bid 細胞を作成した。

CHO-CB₁-Bid 細胞に CP-55,940 を添加したところ、濃度依存的に Bid-DsRed2 由来の蛍光値が増加した。CP-55,940 (20 μM) の添加 10 分で有意に蛍光値が上昇し、時間の経過とともに減少が認められた。蛍光顕微鏡の観察結果から、Bid-DsRed2 は、正常時細胞質に均一に分布していた。一方、CP-55,940 (20 μM) 添加 120 分後の細胞質では、Bid-DsRed2 は凝集し、強い蛍光を発していた。また、CP-55,940 (20 μM) の添加 120 分後における細胞生存率を測定したところ、著明かつ有意な細胞生存率の減少が認められた。Bid-DsRed2 はアポトーシスが誘導されるとミトコンドリアに集積され、励起することで蛍光値が増加することが明らかとなった。

次に、CHO-CB₁-Bid 細胞の薬物選択性を確認するために、AM251、JWH-015、CBD および cocaine を添加して、Bid-DsRed2 の蛍光値の変化および細胞生存率を測定した。その結果、薬物添加 120 分の時点で、蛍光値の増加および細胞毒性の発現は認められなかった。CHO-CB₁-Bid 細胞では、カンナビノイド CB₁ 受容体アゴニスト以外の薬物は著明な効果を示さないことが判明した。

本研究では、CHO-CB₁-Bid 細胞を作出し、本細胞における合成カンナビノイド添加後の蛍光値増加は、細胞毒性発現の指標になることが明らかになった。したがって、CHO-CB₁-Bid 細胞は、合成カンナビノイドによる細胞毒性発現の予測に使用可能であると考えられる。同様に、カンナビノイド CB₁ 受容体アゴニスト以外の薬物では蛍光値の増加が認められないことから、特に有害作用を示す危険性のある合成カンナビノイドの検出に利用できると考えられる。

2) オピオイド化合物

合成カンナビノイドやオピオイド化合物は、危険ドラッグの主成分であり、欧米を中心に流通が続いており社会問題となっている。オピオイド化合物においては、多種類のフェンタニル類縁体および他の新しい化合物構造を有する化合物が流通しており、オピオイド化合物をターゲットとした迅速な薬物検出手法の確立が課題となっている。本研究では、オピオイド化合物の検出と作用強度を予測するための細胞樹立を試みた。更に、検出の機動性を高める目的で、持ち運び可能な細胞利用による薬物検出器の作製を実施した。

オピオイド化合物の作用評価細胞の構築に関しては、オピオイド化合物の作用点である μ 受容体発現細胞にカルシウムセンサータンパク質 GCaMP を導入して、自立蛍光検出細胞となる CHO- μ -GCaMP 細胞を構築した。また、細胞を利用した薬物検出法の実効性と利便性を高める目的で、持ち運び可能な小型蛍光検出器の作製を試みた。据え置き式の蛍光プレートリ

ーダーを利用して、標準薬のフェンタニルを使用して、CHO- μ -GCaMP 細胞による解析を実施したところ、オピオイド μ 受容体作用を示す蛍光発光が確認された。また、6 種類の新規フェンタニル誘導体について、CHO- μ -GCaMP 細胞による解析を実施したところ、蛍光発光を示す化合物と示さない化合物の存在が確認された。同様に、小型蛍光検出器を使用して、6 種類の新規フェンタニル誘導体について検討したところ、蛍光発光を示す化合物と示さない化合物の存在が確認され、この結果は、据え置き式の蛍光プレートリーダーでの結果と一致した。

オピオイド化合物をターゲットとして、オピオイド化合物の作用および検出用の細胞を作出するため、樹立安定株である CHO 細胞を利用して、ヒト-オピオイド μ 受容体およびカルシウムセンサータンパク質 GCaMP を導入して、自立蛍光検出細胞となる CHO- μ -GCaMP 細胞を構築した。機能評価には、近年の流通が問題となっているフェンタニル誘導体を使用した。6 種類のフェンタニル誘導体について、評価を実施したところフェンタニルと同様の強力な μ 受容体作用を示す化合物群とほとんど作用を示さない化合物群に分類された。2 つの群の化学構造の差異と作用の関連性を検証すると、フェンタニルのアリル部の炭素数が増加すると μ 受容体への作用強度が低下する傾向が認められた。以上の結果から、自立蛍光検出細胞となる CHO- μ -GCaMP 細胞による機能評価は、濃度依存性の解析から作用強度の比較が可能であり有害作用の比較に利用可能である。

一方、今回使用した 6 種類のフェンタニル誘導体では、作用の有無が明確であったにも関わらず、化学構造の差異は僅少であり、従来型の化学構造に対する抗原抗体反応を利用する検出手法では、作用比較は困難であると想定される。したがって、細胞を利用した検出法は、物質の存在の検出に加え、作用発現も予測できる点で有用な手法であると考えられる。次に、細胞を利用した薬物検出法の実効性と利便性を高める目的で、持ち運び可能な小型蛍光検出器の作製を試みた。製作した小型蛍光検出器の解

析データは、従来の大型蛍光プレートリーダーの検出結果と一致しており、薬物検出のための小型検出器として使用可能であることが確認された。

本研究では、オピオイド作用薬の検出用細胞のCHO- μ -GCaMP細胞の樹立ならびに小型検出の作製に成功した。本細胞はオピオイド化合物に関して、化学構造特性に依存しない包括的検出用に応用可能である。また、本研究で作製した小型検出器の利用により、危険ドラッグの発見や救急現場での原因薬物の検出などに応用が期待される。

【総括】

(1) 本研究では、CHO-CB1-Bid細胞を作成し、本細胞における合成カンナビノイド添加後の蛍光値増加は、細胞毒性発現の指標になることが判明した。CHO-CB1-Bid細胞は、合成カンナビノイドによる細胞毒性発現の予測に使用可能であると考えられる。同様に、カンナビノイドCB1受容体アゴニスト以外の薬物では蛍光値の増加が認められないことから、合成カンナビノイドの検出への応用も期待できる

(2) オピオイド作用薬の検出用細胞としてCHO- μ -GCaMP細胞の樹立ならびに小型蛍光検出器の作製に成功した。本細胞はオピオイド化合物に関して、化学構造特性に依存しない包括的検出用に応用可能である。また、本研究で作製した小型検出器の利用により、機動性の向上と省スペースでの利用も可能となり、危険ドラッグの発見や救急現場での原因薬物の検出などに応用が期待される。

本研究成果は、新規化学構造を有する危険ドラッグが次々に登場する状況に対応するための、総合的な薬物有害作用評価システムおよび検出システムとして、重要な役割を果たすと考えられる。

【研究業績】

1. 論文発表

- 1) Asanuma, M., Miyazaki, I. and Funada, M.: The neurotoxicity of psychoactive phenethylamines "2C series" in cultured monoaminergic neuronal cell lines. *Forensic Toxicol.*, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11419-020-00527-w>.
- 2) Funada M, Takebayashi-Ohsawa M, Tomiyama KI. Synthetic cannabinoids enhanced ethanol-induced motor impairments through reduction of central glutamate neurotransmission. *Toxicol Appl Pharmacol.* (2020) Dec 1;408:115283. doi: 10.1016/j.taap. 2020. 115283. Epub 2020 Oct 15. PMID: 33068620.
- 3) Tomiyama KI, Funada M. Synthetic cannabinoid CP-55,940 induces apoptosis in a human skeletal muscle model via regulation of CB1 receptors and L-type Ca²⁺ channels. *Arch Toxicol.* 95(2):617-630, (2021).
- 4) 船田 正彦, 三島 健一: 薬物乱用のトレンド: ポスト危険ドラッグとして的大麻問題を考える. *YAKUGAKU ZASSHI*, 140(2), 171-172, 2020.
- 5) 富山 健一, 船田 正彦: 米国における大麻規制の現状: 医療用途と嗜好品. *YAKUGAKU ZASSHI*, 140(2), 179-192, 2020.
- 6) 船田 正彦, 富山 健一: 大麻成分の依存性と細胞毒性. *YAKUGAKU ZASSHI*, 140(2), 205-214, 2020.
- 7) 山田理沙, 嶋根卓也, 船田正彦: レクリエーション・セッティングにおける危険ドラッグ使用パターンの男女別検討、日本アルコール・薬物医学会雑誌 54(6), 272-285, (2020).
- 8) 船田正彦, 富山健一: 大麻規制の現状と課題. *都薬雑誌*, 43: 4-7, 2021.
- 9) Tomiyama K, Funada M: Synthetic cannabinoid CP-55,940 induces apoptosis in a human skeletal muscle model via regulation of CB₁ receptors and L-type Ca²⁺ channels. *Arch Toxicol.* 95(2): 617-630, 2021.
- 10) 船田正彦: 危険ドラッグの依存性. *精神科*, 41: 239-247, 2022.

- 11) 船田正彦: 海外の大麻規制変遷から考える国内の大麻規制再構築の意義. 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 54: 36-42, 2023.

2. 学会発表

- 1) 船田正彦: 大麻を巡る国際社会の動向とわが国の現状. 「シンポジウム: 激動するわが国の薬物乱用・依存問題: 最近のトピックス」. 第116回日本精神神経学会学術総会, 宮城 (Web 開催), 2020年9月29日.
- 2) 船田正彦: 大麻の有害性: 細胞を利用した有害作用の評価. 「シンポジウム: 大麻についての基礎から臨床まで」. 第55回日本アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会, 福岡 (Web 開催), 2020年11月23日.
- 3) Funada M., Tomiyama K: Effects of cannabinoids on ethanol-induced motor impairment using the rotarod performance test in mice. CPDD 83th Annual Scientific Meeting, U.S.A. June 22, 2021: Web Zoom.
- 4) 富山健一, 船田正彦: 北米における嗜好用大麻の使用実態について, 令和3年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会, 三重, 2021年12月17-19日.
- 5) 船田正彦: 危険ドラッグの最新海外事情, 第20回日本旅行医学会, Web 開催, 2022年5月21日.
- 6) 富澤幸菊、菊川俊太郎、有田浩暢、中村佳代、牧野宏章、田畑英嗣、忍足鉄太、夏莉英昭、船田正彦、高橋 秀依: フェンタニル誘導体の構造活性相関, 日本薬学会 第140年会, 札幌, 2022年3月25日.

3. 知的財産権の出願・登録状況

高橋秀依、牧野宏章、有田浩暢、菊川俊太郎、富澤幸、船田正彦、富山健一. オピオイド受容体拮抗剤及び医薬組成物. 特願 RKF-072PCT

実用新案登録: 特になし
その他: 特になし

令和2～令和4年度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：20KC1003)
精神活性物質の迅速検出法ならびに有害作用評価法開発に関する研究

分担研究報告書 [3年間のまとめ]

新規精神活性物質の合成とその微量分析に関する研究

研究分担者 高橋秀依 (東京理科大学 薬学部)

【研究概要】

[研究テーマ：新規精神活性物質の合成とその微量分析に関する研究]

[緒言]精神活性化作用が期待される様々な化合物が市中に流通している。しかし、それらの多くは未規制であり、実際の薬理作用や毒性を明らかにするために、網羅的に化学合成し、ライブラリー化する必要がある。このような化合物ライブラリーは、化合物を標準品として提供することができるだけでなく、基本的な分析データも備えている。中でも、迅速かつ簡便に検出できる新たな微量分析法としてラマン分光測定は有用であると考え、分析データを拡充している。

[方法] 有機合成化学の手法を用い、精神活性化作用が期待される様々な化合物を化学合成し、それらを分析して分析データをデータベース化する。

[結果] 3-アロイルインドールを基本骨格にもつ化合物群の系統的な化合物ライブラリーを作製した。合計で277種(2023年1月7日現在)誘導体を合成し、合成カンナビノイドの化合物ライブラリーを拡充することができた。これらの一部を研究代表者に供与し、生物活性を検討していただいた。また、最近、欧米で違法に使用されているフェンタニル誘導体についても網羅的な化学合成を行い101種(2023年1月7日現在)の化合物を作製し、化合物ライブラリー化した。このほか、3-FPEの誘導体合成やAB-FUBINACAの化学合成も行った。危険ドラッグ化合物ライブラリーについて、化合物ごとにNMR, IR, MSを測定し、キラルカラムを用いたキラルHPLCの分離条件について精査し、ジアステレオマーの分離・単離及びエナンチオマーの分離・単離を検討した。また、ラマン分光法による網羅的分析を行い、危険ドラッグ類の化合物ライブラリーデータベースに追加した。

[考察] 本研究で作製した危険ドラッグ化合物ライブラリー及びそのデータベースは世界に唯一であり、麻薬取締部の鑑識業務に活用できる。また、生物活性の検討にも役立つと考える。さらに、立体異性体や位置異性体分析にキラルHPLCを用いて行う方法やラマン分光法による簡便な微量分析法を確立したことは今後の危険ドラッグ関連化合物の分析及び同定の基盤となる。併に使用する培養細胞の選択には注意を要すると考えられる。カチノン系化合物、チオフェン誘導体、フェンタニル類似化合物については、それぞれの化学構造からの危険性予測が可能であると考えられる。

[結論] 本研究により、合成カンナビノイド、カチノン系及びFPE誘導体、フェンタニル誘導体について、標準品として提供できる化合物ライブラリーを作製することができた。また、化合物の分析データも世界的に貴重であり、麻薬取締部等からの要請に応じて提供し、微量分析のために活用していただくことができる。特に、ラマン分光による分析データは、微量の化合物についても安全かつ簡便に取得することができることを明らかにした。今後、犯罪現場において本分析法

及び分析データを装備したラマン分光測定機器を用いることができれば、現場の警察官等によっても、迅速かつ簡便に違法薬物を鑑定することが可能になる。

緒言

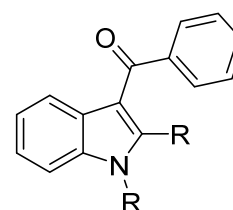
危険ドラッグの流通は、規制強化にもかかわらず、依然として終息しておらず、流通薬物の種類も多様化している。最大の原因は、特定の薬物を規制しても、次々に新しい薬物が登場する状況が続いている点である。こうした状況を打破するために、危険ドラッグの「合成カンナビノイドおよびカチノン系化合物」の化学構造に着目し、類似したものを一括で規制するいわゆる「包括規制」の導入が進んでいる。一方、危険ドラッグの種類は合成カンナビノイドやカチノン系化合物以外の、チオフェン誘導体やオピオイド系薬物のフェンタニル類似化合物などが登場している。こうした危険ドラッグの迅速な規制のためには、包括的な有害作用の評価法を構築することが望まれる。

本研究では、3-アロイルインドールを基本骨格にもつ合成カンナビノイド化合物、3-FPE に代表される FPE 誘導体及びカチノン系化合物、さらにフェンタニル誘導体についても化学合成を行い、化合物ライブラリーを作製した。さらにこれらの微量分析を行い、化合物ごとに NMR, IR, MS を測定し、キラルカラムを用いたキラル HPLC の分離条件について精査し、ジアステレオマーの分離・単離及びエナンチオマーの分離・単離を検討した。また、ラマン分光法による網羅的分析を行い、危険ドラッグ類の化合物ライブラリーデータベースを作製した。いかに3年間で合成した化合物を以下にまとめる。

1) 合成カンナビノイド類

合成カンナビノイドには多くの種類があるが、JWH-018 に代表される 3-アロイルインドールを基本骨格にもつ化合物群は特に構造の多様性に富み、非常に多くの異性体や類縁体が存在する。そこで、その構造を大きく三つのパ-

ートに分け、インドール部、アロイル部、及び N-アルキル部の異なる系統的な化合物ライブラリーを作製した。すなわち、インドール誘導体に対して塩化ジエチルアルミニウム (Et_2AlCl) 存在下、様々な塩化アロイルを用いて Fridel-Crafts アシル化反応を行い、合成カンナビノイドの基本骨格である 3-アロイルインドール誘導体を 51 種類合成した。これを N-アルキル化することにより、合計で 277 種 (2023 年 1 月 7 日現在) の誘導体を合成し、合成カンナビノイドの化合物ライブラリー¹⁾を拡充することができた。これらは研究代表者に供与し、生物活性を検討していただいた。

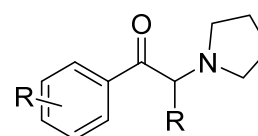


合成カンナビノイド類

その他、大麻成分の Δ^9 -tetra-hydrocannabinol (THC) よりも高いカンナビノイド CB1 受容体親和性を示す合成カンナビノイドである AB-FUBINACA の化学合成も行った。

2) カチノン類及び FPE 誘導体

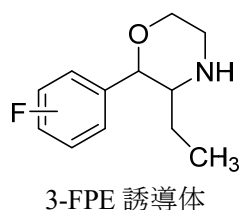
カチノン類の合成及び 3-FPE の誘導体合成を行った。



カチノン類

3-FPE 誘導体の合成も行った。フッ素置換基の位置が異なる位置異性体の化学合成、及び、anti/syn 異性体の立体選択的な化学合成を検討

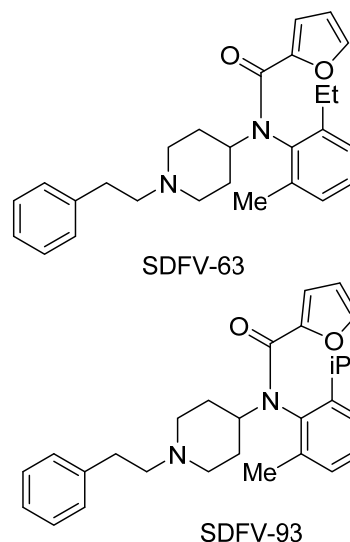
した。特に、3-FPE を立体選択的に与えるジアステレオ選択的な Henry 反応を用いることとし、今年度は溶媒効果を中心に検討した。その結果、誘電率の異なる溶媒を用いることで立体選択性の制御が可能となることがわかった。各エナンチオマーをキラル HPLC によって分離・単離した。それぞれの絶対配置は、化合物 4 の段階で、X 線結晶構造解析と CD スペクトルの測定を行い、決定した。Syn 体については、パラ置換体の一方のエナンチオマーの単結晶化に成功したため、X 線結晶構造解析を行い (5*R*,6*S*)-5-ethyl-6-(4-fluorophenyl)-3-morpholinone であると決定した。オルト置換体、メタ置換体の絶対配置に関しては、それぞれのエナンチオマーの CD スペクトルを測定し、絶対配置が確定したパラ置換体の CD スペクトルに基づき構造を決定した。Anti 体については、オルト置換体の一方のエナンチオマーの単結晶化に成功したため、X 線結晶構造解析を行い、(5*S*,6*S*)-5-ethyl-6-(2-fluorophenyl)-3-morpholinone と決定した。



3) フェンタニル誘導体

フェンタニル誘導体については、その構造中のアシル部、及びアリアル部に関して網羅的な化学合成を行っている。今年度はさらに数を増やし、合計で 101 種 (2023 年 1 月 7 日現在) の化合物を作製し、化合物ライブラリー化した。フェンタニル誘導体には三級アミドが含まれるため、これに由来するジアステオレマー (E/Z 異性体) が存在するが、分離はできず、溶液中で平衡状態にある。また、十分な立体障害をもつフェンタニル誘導体には軸不斉が安定に存在し、その多くは室温で単離可能である (図 4)。昨年度に引き続き、これらフェンタニル誘導体を研究代表者に供与し、生物活性を検討してい

ただいた。



すでに SDFV-63F については、(+)-エナンチオマーがオピオイド μ 受容体アンタゴニスト活性を、(-)-エナンチオマーがアゴニスト活性を示すことを明らかにしている。この (+)-エナンチオマーは既存のオピオイド μ 受容体拮抗薬であるナロキソンよりも IC₅₀ 値が低く、非常に強力なオピオイド受容体拮抗薬である。今年度は SDFV-63F をリード化合物として構造活性相関研究を展開し、SDFV-63F より活性は低下するが、同様に (+)-エナンチオマーがオピオイド μ 受容体アンタゴニスト活性を示す SDFV-93F を見出すことができた。この SDFV-93F の CD スペクトルを測定し、計算化学によって導かれた ECD スペクトルと比較することにより、絶対配置が aS であることを明らかにした。この結果に基づき、SDFV-63F の CD スペクトル測定により、SDFV-63F の絶対配置も aS であることが明らかになった。これにより、アゴニスト活性を示すエナンチオマーは aR と決定された。一方のエナンチオマーがオピオイド μ 受容体アゴニスト活性を示し、もう一方がアンタゴニスト活性を示すという結果は大変興味深く、計算化学を用いてオピオイド μ 受容体とのドッキングスタディを行い、それぞれのエナンチオマーの結合様式が異なることを示唆する結果を得た。

4) 分析データの拡充

以上のような化学合成した化合物については、引き続き、化合物ごとに NMR、IR、MS を測定し、データベースを作成した。立体異性体を有する危険ドラッグは、それぞれ、ジアステレオマーやエナンチオマーの薬理活性及び毒性が異なることが予想されるが、それらの効率よい分析法は確立されていない。そのため、キラルカラムを用いたキラル HPLC の分離条件について精査し、ジアステレオマーの分離・単離及びエナンチオマーの分離・単離を引き続き検討し、IR 測定、MS (HRMS) 測定とともにデータベース化を進めた。

また、ラマン分光法による網羅的な分析を引き続き行った。ラマンスペクトルはサンプル容器の中に保存された化合物についてもガラス越しに分析することが可能である。簡便で安全な汎用性の高い分析法であり、それぞれの化合物の同定にも有効である。ラマンスペクトルの分析データについては、これまでの他の分光学的分析データと併せて危険ドラッグ類の化合物ライブラリーデータベースとした。興奮作用を示し、高濃度では細胞毒性を示すことから、乱用により健康被害を示す危険性があると考えられる。フェンタニル類縁化合物はオピオイド μ 受容体に作用することから、CHO- μ 細胞を利用した蛍光強度解析データは、有害作用の推測に利用できる可能性が示唆された。

【総括】

本研究により、合成カンナビノイド、カチノン類、及び、フェンタニルの化合物ライブラリーを拡充することができた。このような化合物ライブラリーは世界に唯一の貴重な化合物ライブラリーである。標準品として麻薬取締部や公的な研究機関からの要望に応じて提供可能であり、危険ドラッグ類の法的な規制強化や薬理活性及び毒性の検討に役立つと考える。また、本研究によって構築された危険ドラッグ化合

物ライブラリーのデータベースも世界的に貴重であり、麻薬取締部等からの要請に応じて提供し、微量分析のために活用していただくことができる。特に、ラマン分光による分析データは、微量の化合物についても安全かつ簡便に取得することができる。今後、犯罪現場において本分析法及び分析データを装備したラマン分光測定機器を用いることができれば、現場の警察官等によっても、迅速かつ簡便に違法薬物を鑑定することが可能になると考える。

【研究業績】

1. 論文発表

- 1) Koji Araki, Kosho Makino, Hidetsugu Tabata, Hiroshi Nakayama, Kei Zaitu, Tetsuta Oshitari, Hideaki Natsugari, Hideyo Takahashi*, "Synthesis of 3-aryloxyindoles as intermediates of cannabimimetics and elucidation of their physicochemical properties" *Heterocycles* 2018, 96 (5), 910-920.
- 2) Koji Araki, Hidetsugu Tabata, Kosho Makino, Ryohei Ujiie, Kohei Sezaki, Hiroshi Nakayama, Tetsuta Oshitari, Hideaki Natsugari and Hideyo Takahashi, "Elucidation of the conformational properties of 3-pyridinoyl indoles as intermediates of cannabimimetics" *Heterocycles*, 2019, 98(10), 1423-1435

2. 学会発表

- 1) 有田浩暢、金瀬薫、牧野宏章、田畑英嗣、忍足鉄太、夏莉英昭、高橋秀依：フェンタニル誘導体の合成と立体構造の解析、日本薬学会関東支部大会、東京、2019年9月14日
- 2) 藤井ありあ、高橋秀依、小出達夫、久田浩史、深水啓朗：携帯型ラマン分光計による危険ドラッグ異性体識別法の検討、東京、2019年9月14日
- 3) 藤井ありあ、牧野宏章、荒木拓嗣、高橋秀依、久田浩史、小出達夫、深水啓朗：携帯型ラマン分光計を用いた指定薬物異性体の

識別、岡山、2020年6月5日

- 4) 有田浩暢、金瀬薫、牧野宏章、田畑英嗣、忍足鉄太、夏莉英昭、高橋秀依：フェンタニル類縁体の合成と立体構造の解明、日本薬学会第140年会、京都、2020年3月25日
- 5) 高橋秀依：違法薬物と消毒薬の化学、栃木県女性薬剤師会 2020年度研修会、栃木、2020年11月15日
- 6) 有田浩暢、金瀬薫、牧野宏章、田畑英嗣、忍足鉄太、夏莉英昭、高橋秀依：フェンタニル誘導体の合成と構造活性相関、日本薬学会第141年会、広島、2021年3月29日
- 7) Physicochemical property of fentanyl analogues. Arita Hironobu, Kanase Yuki, Makino Kosho, Tabata Hidetsugu, Oshitari Tetsuta, Natsugari Hideaki, Takahashi Hideyo, IRNI & IPOPS 2021, Sep. 28-29, 2021.
- 8) 菊川俊太郎、有田浩暢、金瀬薫、牧野宏章、田畑英嗣、忍足鉄太、夏莉英昭、高橋秀依：フェンタニル誘導体の合成とその構造活性相関、日本薬学会第142年会、オンライン、2022年3月26-28日
- 9) 富澤 幸、菊川俊太郎、有田浩暢、中村佳代、牧野宏章、田畑英嗣、忍足鉄太、夏莉英昭、船田正彦、高橋秀依：フェンタニル誘導体の構造活性相関、第66回日本薬学会第142年会、オンライン、2022年3月26-28日

3. 知的財産権の出願・登録状況

高橋秀依、牧野宏章、有田浩暢、菊川俊太郎、富澤幸、船田正彦、富山健一。オピオイド受容体拮抗剤及び医薬組成物。特願 RKF-072PCT

実用新案登録：特になし

その他：特になし

3年間の研究成果の刊行に関する一覧表

雑 誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Asanuma, M., Miyazaki, I. and Funada, M.	: The neurotoxicity of psychoactive phenethylamines "2C series" in cultured monoaminergic neuronal cell lines.	Forensic Toxicol. doi.org/10.1007/ s11419-020- 00527-w.			2020.
Funada M, Takebayashi- Ohsawa M, Tomiyama KI.	Synthetic cannabinoids enhanced ethanol-induced motor impairments through reduction of central glutamate neurotransmission.	Toxicol Appl Pharmacol. doi: 10.1016/j.taap. 2020. 115283. Epub 2020 Oct 15. PMID: 33068620.	408:11 5283.		2020
船田正彦, 三島健一	薬物乱用のトレンド：ポスト危険ドラッグとしての大麻問題を考える.	YAKUGAKU ZASSHI	140(2)	171-172	2020
富山健一, 船田正彦	米国における大麻規制の現状：医療用途と嗜好品.	YAKUGAKU ZASSHI	140(2)	179-192	2020
船田正彦, 富山健一	大麻成分の依存性と細胞毒性.	YAKUGAKU ZASSHI,	140(2)	205-214	2020
山田理沙, 嶋根卓也, 船田正彦	レクリエーション・セッティングにおける危険ドラッグ使用パターンの男女別検討	日本アルコール・薬物医学会雑誌	54(6)	272-285	2020
船田正彦, 富山健一	大麻規制の現状と課題.	都薬雑誌	43	4-7	2021
Tomiyama KI, Funada M.	Synthetic cannabinoid CP-55,940 induces apoptosis in a human skeletal muscle model via regulation of CB1 receptors and L-type Ca ²⁺ channels.	Arch Toxicol.	95(2)	617-630	2021
船田正彦	危険ドラッグの依存性.	精神科	41	239-247	2022
船田正彦	海外の大麻規制変遷から考える国内の大麻規制再構築の意義.	医薬品医療機器 レギュラトリー サイエンス	54	36-42	2023