

令和5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)

精神活性物質の化学構造に基づく  
乱用危険性予測に関する研究

課題番号：(23KC1002)

総括研究報告書  
分担研究報告書

令和6年3月

研究代表者：船田正彦

# 目 次

令和5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: 23KC1002)

## 精神活性物質の化学構造に基づく 乱用危険性予測に関する研究

I. 令和5年度 総括研究報告書		
船田正彦 (湘南医療大学 薬学部)	-----	1
II. 令和5年度 分担研究報告書		
研究-1: 細胞を利用した薬理作用及び物質検出法に関する研究	-----	12
船田正彦 (湘南医療大学 薬学部)		
研究-2: 危険ドラッグ関連化合物の合成及びライブラリー構築に関する研究	-----	22
高橋秀依 (東京理科大学 薬学部)		
研究-3: ヒト iPS 細胞より作成した機能的神経細胞を用いた危険ドラッグ の有害作用の評価	-----	30
富山健一 (国立精神・神経医療研究センター 薬物依存研究部)		
研究-4: コンピュータシミュレーションを利用した薬物受容体活性予測	-----	36
栗原正明 (湘南医療大学 薬学部)		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	40

令和5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)  
精神活性物質の化学構造に基づく乱用危険性予測に関する研究(23KC1002)

総括研究報告書

精神活性物質の化学構造に基づく乱用危険性予測に関する研究

研究代表者 船田正彦  
(湘南医療大学 薬学部 教授)

【研究要旨】

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。新規に合成されたオピオイド化合物や合成カンナビノイドなどは、危険ドラッグの主要成分であり、欧米を中心に流通が続いている。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。オピオイド化合物については薬物依存性の問題も深刻であることから、新規オピオイド化合物の検出と有害作用を迅速に推測するための評価方法を確立することは重要な課題となっている。一方、合成カンナビノイドおよびオピオイド化合物に加えて、幻覚作用を示す LSD 誘導体およびセロトニン受容体作用薬なども登場しており、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、セロトニン受容体作用薬の検出と作用強度を予測するための受容体発現細胞の樹立と薬物検出器の作製を実施した。同様に、iPS 細胞由来のヒト培養神経細胞を使用して危険ドラッグの細胞毒性評価を行い、樹立安定細胞株とヒト神経細胞との毒性発現の比較を行い、培養細胞使用の妥当性を検証した。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。また、コンピュータシミュレーションによる LSD の活性予測に関する検討も行った。また、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。

【研究-1：細胞を利用した薬理作用及び物質検出法に関する研究】

本研究では、セロトニン受容体作用薬の薬理学的特性評価と検出および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有用性を検証した。フェネチルアミン系の危険ドラッグで、セロトニン受容体作用薬を示すとされる 2,5-Dimethoxy-4-chloroamphetamine (DOC) について、セロトニン受容体発現細胞を利用した薬理作用解析および行動薬理学的特性の発現に関する検討を行った。セロトニン受容体作用薬の薬理作用評価細胞の構築に関しては、CHO-5HT<sub>2A</sub> 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-5HT<sub>2A</sub>-GCaMP 細胞を構築した。本細胞を利用して、DOC と 2,5-dimethoxy-4-iodophenethylamine (2CI)、2,5-Dimethoxy-4-iodoamphetamine (DOI) および 3 種類の N-Methoxybenzyl-phenethylamines (NBOMes) : 25I-NBOMe、25B-NBOMe、25P-NBOMe について解析した。その結果、評価薬物は強力なセロトニン 5HT<sub>2A</sub> 受容体作用を示した。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作製した、持ち運び可能な小型蛍光検出器での検出を確認した。量販型の8連型PCRチューブを利用して、CHO-5HT<sub>2A</sub>-GCaMP細胞を培養した。チューブ内へDOIを添加したところ、蛍光発光を検出することが可能であった。小型蛍光検出器の実用化へ向けて、セロトニン系の薬物検出に関して、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。以上の結果から、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：危険ドラッグ関連化合物の合成及びライブラリー構築に関する研究]

中枢に作用する麻薬や指定薬物、及び、その類縁体が危険ドラッグとして市中に流通している。法的に未規制な化合物の中にも毒性や中毒性を示すものはとても多い。置換基を変更することにより増え続ける未規制の化合物は大変危険であり、社会的な問題になっている。本研究ではこれらの精神活性化作用を有すると予想される様々な化合物のうち、特にフェンタニルとLSDに注目し、未規制なそれらの誘導体を化学合成し、ライブラリー化を進めている。合成した化合物については、共同研究者と協働し、薬理作用や毒性を検討している。すでにフェンタニル誘導体については150種類を超える化合物を化学合成し、ライブラリー化している。特に、フェンタニルに含有されるアミド構造に着目し、軸不斉を表出させた誘導体を安定な化合物として単離し、各エナンチオマーの薬理活性や毒性を共同研究者に検討していただいた。その結果、エナンチオマーの一方がオピオイド $\mu$ 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ことがわかった。フェンタニル誘導体がオピオイド $\mu$ 受容体アンタゴニスト活性を示したのは初めての例であり、加えて、各エナンチオマーが受容体に対して互いに反対の生物活性を示すことは大変興味深い。LSDの誘導体については、化合物の物理化学的性質を調べつつ、誘導体の化学合成を進めている。初めに、LSD誘導体の化学合成経路を精査し、最適化した。続いてLSD誘導体の光安定性を調べ、光によって比較的容易に分解することがわかった。また、アミン化合物であることから、酸性塩形成による安定化が有効と考え、各種の酸との塩形成を検討した結果、酒石酸塩が最適とわかった。これらの知見を基に、置換基が異なるLSD誘導体を合成し、薬理活性や毒性を共同研究者に検討していただいた。インドール部位の窒素の置換基の種類によって安定性が異なることがわかった。この部位の置換基は生体内で化学的、もしくは酵素的に脱離する可能性があり、LSD誘導体はプロドラッグ化されている可能性が示唆された。

### [研究-3：ヒトiPS細胞より作成した機能的神経細胞を用いた危険ドラッグの有害作用の評価]

本研究では、安定したヒト由来のドパミン神経細胞を確保するために、iPS細胞からの誘導または市販の細胞を活用し、再現性のある危険ドラッグ評価系の確立を目的とした。ヒトiPS細胞株(HPS2478)より、神経前駆細胞並びにドパミン神経の誘導を行なった。陽性対象として、市販のiCellドパミン神経細胞(FUJIFILM Cellular Dynamics)を使用した。ヒトiPS細胞株は、StemXVivo Neural Progenitor Differentiation Kit (R&D Systems)のプロトコールに従い実践し、分化の培養7日目に神経前駆細胞のマーカーの一つであるSOX-1陽性を確認した。本細胞を用いたドパミン神経の誘導は、StemXVivo Human/Mouse Dopaminergic Neuron Differentiation Kit (R&D Systems, 販売中止)のプロトコールを再現し、ドパミン神経誘導15日目には、ドパミン神経マーカーであるtyrosine hydroxylase (TH) および神経マーカーであるmicrotubule associated proteins 2 (MAP-2)の発現並びに神経細胞の自立発火を多点電極アレイ(MEA)法で確認した。ヒトiPS由来ドパミン神経および

iCell ドパミン神経細胞を用いて、覚醒剤 (methamphetamine)、合成カチノンとして 3-CMC 並びに dipentylone の神経毒性発現を解析した。その結果、methamphetamine、3-CMC 並びに dipentylone は添加 24 時間後に、ヒト iPS 由来ドパミン神経細胞および iCell ドパミン神経細胞の細胞生存率を濃度依存的に低下させた。

#### [研究4：コンピュータシミュレーションを利用した薬物受容体活性予測]

本研究では、コンピュータを用いた化学計算によるインシリコ活性予測を行い、危険ドラッグの規制、特に包括指定の範囲を決めるデータを供することを目的とした。LSD 誘導体の包括指定を行うことを想定し、LSD 誘導体の包括範囲を考察する。現在までにすでに指定薬物あるいは麻薬原料になっている LSD 誘導体から包括指定の範囲の妥当性を検証した。現在までに麻薬、指定薬物あるいは麻薬原料に指定されている LSD 誘導体から包括指定の範囲をまとめた。LSD 誘導体の 2 部位 (R1、R4) に着目し包括的危険予測範囲の検証に利用するためのマトリックスを作成した。

**結論：**(1) 本研究では、セロトニン受容体作用薬の検出用細胞として CHO-5HT<sub>2A</sub>-GCaMP 細胞の樹立ならびに細胞と小型蛍光検出器での薬物検出が可能であることを確認した。本細胞はセロトニン受容体作用薬に関して、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。(2) 本研究では、フェンタニル誘導体及び LSD 誘導体を化学合成し、標準品として提供できる化合物ライブラリー化することができた。合成した各種誘導体の構造活性相関研究により、オピオイド  $\mu$  受容体に対するフェンタニル誘導体の薬理作用が明らかになった。合成した 100 種を超える軸不斉異性体のうち、いくつかの化合物において一方が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ことから、それぞれが異なる結合様式でオピオイド  $\mu$  受容体に結合していることが示唆された。また、本研究により、LSD 誘導体の最適な合成経路が確立された。加えて、LSD 誘導体の光安定性及び、酒石酸塩形成による安定化が明らかになった。さらに、本研究より、最近、多く流通している未規制の LSD 誘導体には化学的安定性が低いものがあり、体内に吸収された後に分解して LSD が生成する、いわゆるプロドラッグである可能性が示唆された。(3) ヒト iPS 由来ドパミン神経および市販のヒトドパミン神経細胞を用いて、覚醒剤である methamphetamine および危険ドラッグである合成カチノンの神経細胞毒性について検討し、いずれも濃度依存的に細胞毒性を発現することが明らかとなった。これまでの危険ドラッグの神経毒性の解析においては、マウスの胎児由来初代培養神経細胞や培養細胞株を用いる場合が多い。しかし、ヒトを想定した毒性発現の可能性の検討や動物愛護の観点から、ヒト由来の iPS 細胞から誘導した機能的神経細胞を用いることで、ヒトを反映した薬物特性の一端を収集可能になることが期待できる。(4) 包括指定を視野に入れて、LSD 誘導体の R1、R4 のバリエーションによって規制誘導体の見込み範囲のマトリックスを作成した。活性未知の誘導体のマトリックスを作成するために、QSAR によって活性予測を行うにあたり、活性が既知の類縁体のデータが必要である。文献、実験等より活性既知のデータの収集が重要である。

本研究成果から、危険ドラッグであるセロトニン受容体作用薬について、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合成カンナビノイド及びフェンタニル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。また、活性未知の誘導体のマトリックスを作成するために、

QSAR によって活性予測を行うにあたり、活性が既知の類縁体のデータが必要である。文献、実験等より活性既知のデータの収集が重要である。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。本研究より得られるデータを利用して、危険ドラッグの包括的危険予測のために誘導体のマトリックス作成の精度を上げていく予定である。

<p>研究代表者：船田正彦 湘南医療大学 薬学部 教授</p> <p>分担研究者：高橋秀依 東京理科大学 薬学部 教授</p> <p>富山健一 国立精神・神経医療研究センター 精神保健研究所 室長</p> <p>栗原正明 湘南医療大学 薬学部 教授</p>
--

#### A. 研究目的

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、100 種類を超える新規のフェンタニル誘導体が一覧アップされている。オピオイド化合物については薬物依存性の問題も深刻であることから、新規オピオイド化合物の検出と有害作用を迅速に推測するための評価方法を確立することは重要な課題となっている。

一方、合成カンナビノイドおよびオピオイド化合物に加えて、幻覚作用を示す LSD 誘導体およびセロトニン受容体作用薬なども登場しており、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。

同様に、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。本年度は、細胞を用いてセロトニン受容体作用薬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-セロトニン 5HT<sub>2A</sub> 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-5HT<sub>2A</sub>-GCaMP 細胞を構築した。近年の流通が問題となっている催幻覚作用を有するセロトニン受容体作用薬の評価を行った。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。また、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。

危険ドラッグとして流通する麻薬類似物質の中樞神経作用や報酬効果などは、動物を用いた行動薬理的な解析方法によって評価が可能となっている。一方で、ヒトに対する危険ドラッグの薬理(有害)作用の評価方法についてはまだ確立していない。特に、多数の薬物を一斉に評価する必要がある場合、ヒト由来の機能的培養細胞を用いた薬物スクリーニング法は、薬理作用や毒性の強度比較を同一条件下で迅速に実施することが可能である。そこで、本研究では、ヒト由来 iPS 細胞よりドパミン神経を誘導し、市販の樹立されたヒト由来ドパミン神経細胞と比較しながら、細胞の機能的応答または毒性発現を指標とする危険ドラッグの新しい有害作用評価方法の検討をする。

## B. 各研究の目的、方法、結果

### [研究-1: 細胞を利用した薬理作用及び物質検出法に関する研究]

船田正彦

湘南医療大学 薬学部 教授

フェネチルアミン系の危険ドラッグで、セロトニン受容体作用薬を示すとされる 2,5-Dimethoxy-4-chloroamphetamine (DOC) について、セロトニン受容体発現細胞を利用した薬理作用解析および行動薬理学的特性の発現に関する検討を行った。セロトニン受容体作用薬の薬理作用評価細胞の構築に関しては、CHO-5HT<sub>2A</sub> 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-5HT<sub>2A</sub>-GCaMP 細胞を構築した。本細胞を利用して、DOC と 2,5-dimethoxy-4-iodophenethylamine (2CI)、2,5-Dimethoxy-4-iodoamphetamine (DOI) および 3 種類の N-Methoxybenzyl-phenethylamines (NBOMes) : 25I-NBOMe、25B-NBOMe、25P-NBOMe について解析した。その結果、セロトニン 5HT<sub>2A</sub> 受容体作用活性化に基づく蛍光発光が確認された。3 種類の NBOMes については、2CI、DOI、DOC より強力であった。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作製した、持ち運び可能な小型蛍光検出器での検出を確認した。量販型の 8 連型 PCR チューブを利用して、CHO-5HT<sub>2A</sub>-GCaMP 細胞を培養した。チューブ内へ 25I-NBOMe、25B-NBOMe、25P-NBOMe を添加したところ、蛍光発光を検出することが可能であった。同様に、小型蛍光検出器の検出結果は、大型の据え置き式蛍光プレートリーダーでの結果と一致した。行動薬理学解析では、DOI および DOC は Head-twitch response (HTR) を誘発した。この HTR は、5-HT<sub>2</sub> 受容体拮抗薬 ketanserin の前処置により有意に抑制されたことから、セロトニン 5-HT<sub>2</sub> 受容体、特に、5-HT<sub>2A</sub> 受容体の

関与が示唆された。

**[研究-2: 危険ドラッグ関連化合物の合成及びライブラリー構築に関する研究]**

高橋秀依

東京理科大学 薬学部 教授

本研究では、精神活性化作用を有するフェンタニル、LSD の誘導体を化学合成し、ライブラリー化することを目的とした。

フェンタニル誘導体について、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い、合計で 150 種余の化合物を作製し、化合物ライブラリー化した。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。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。フェンタニルを超える高いオピオイド  $\mu$  受容体アゴニスト活性を示すものが見いだされているが、軸不斉を有するいくつかの化合物については、(+) -エナンチオマーがオピオイド  $\mu$  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た。最も活性の高い化合物はオピオイド  $\mu$  受容体アンタゴニストであるナロキソンよりも高活性であることがわかった。さらに、これらの(+) -エナンチオマー、及び、(-)-エナンチオマーの ECD 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を明らかにした。すなわち、アゴニスト活性を示すエナンチオマーは  $aR$  であり、アゴニスト活性を示すエナンチオマーは  $aS$  と決定された。一方のエナンチオマーがオピオイド  $\mu$  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  $\mu$  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。

また、LSD の誘導体については、インド

ール部の窒素をアシル化した誘導体の化学合成経路を確立した。この合成経路により、アシル基の異なる 3 種の LSD 誘導体を合成することができた。合成にあたって、LSD の光安定性が低いことを明らかにした。また、最終生成物である N-アシル化誘導体について、各種の酸との塩形成を検討した結果、酒石酸塩が最適とわかった。N-アシル化した LSD 誘導体は、化学的安定性がやや低いこともわかった。合成した LSD 誘導体を共同研究者に供与した。

以上のような化学合成した化合物については、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化合物については、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・単離を検討し、IR 測定、MS (HRMS) 測定とともにデータベース化を進め、化合物ライブラリーを拡充した。

**[研究-3: ヒト iPS 細胞より作成した機能的神経細胞を用いた危険ドラッグの有害作用の評価]**

富山健一

国立精神・神経医療研究センター  
精神保健研究所 室長

本研究では、安定したヒト由来のドパミン神経細胞を確保するために、iPS 細胞からの誘導または市販の細胞を活用し、再現性のある危険ドラッグ評価系の確立を目的とした。ヒト iPS 細胞株 (HPS2478) より、神経前駆細胞並びにドパミン神経の誘導を行なった。陽性対象として、市販の iCell ドパミン神経細胞 (FUJIFILM Cellular Dynamics) を使用した。ヒト iPS 細胞株は、StemXVivo Neural Progenitor Differentiation Kit (R&D Systems) のプロトコルに従い実践し、分化の培養 7 日

目に神経前駆細胞のマーカーの一つである SOX-1 陽性を確認した。本細胞を用いたドパミン神経の誘導は、StemXVivo Human/Mouse Dopaminergic Neuron Differentiation Kit (R&D Systems, 販売中止) のプロトコルを再現し、ドパミン神経誘導 15 日目には、ドパミン神経マーカーである tyrosine hydroxylase (TH) および神経マーカーである microtubule associated proteins 2 (MAP-2) の発現並びに神経細胞の自立発火を多点電極アレイ (MEA) 法で確認した。ヒト iPS 由来ドパミン神経および iCell ドパミン神経細胞を用いて、覚醒剤 (methamphetamine)、合成カチノンとして 3-CMC 並びに dipentylone の神経毒性発現を解析した。その結果、methamphetamine、3-CMC 並びに dipentylone は添加 24 時間後に、ヒト iPS 由来ドパミン神経細胞および iCell ドパミン神経細胞の細胞生存率を濃度依存的に低下させた

#### [研究-4: コンピュータシミュレーションを利用した薬物受容体活性予測]

栗原正明

湘南医療大学 薬学部 教授

本研究では、コンピュータを用いた化学計算によるインシリコ活性予測を行い、危険ドラッグの規制、特に包括指定の範囲を決めるデータを供することを目的とした。LSD 誘導体の包括指定を行うことを想定し、LSD 誘導体の包括範囲を考察する。現在までにすでに指定薬物あるいは麻薬原料になっている LSD 誘導体から包括指定の範囲の妥当性を検証した。現在までに麻薬、指定薬物あるいは麻薬原料に指定されている LSD 誘導体から包括指定の範囲をまとめた。

LSD 誘導体の 2 部位 (R1, R4) に着目し包括的危険予測範囲の検証に利用するためのマトリックスを作成した。

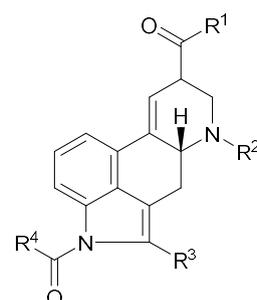


Fig A LSD 誘導体

### C. 考 察

#### 1. 細胞を利用した薬理作用及び物質検出法に関する研究

セロトニン受容体作用薬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-セロトニン 5HT<sub>2A</sub> 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-5HT<sub>2A</sub>-GCaMP 細胞を構築した。セロトニン受容体作用薬により、セロトニン 5HT<sub>2A</sub> 受容体作用活性化に基づく蛍光発光が確認された。行動薬理学解析では、セロトニン受容体作用薬は Head-twitch response (HTR) を誘発した。この HTR の発現はセロトニン 5-HT<sub>2</sub> 受容体の関与が示唆された。以上の結果から、受容体発現細胞を利用した解析によりターゲットとなる受容体を特定し、行動薬理学的実験へ反映させることで、迅速な中枢神経系の有害作用の予測に役立つと考えられる。一方、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、セロトニン受容体作用薬の検出用細胞の CHO-5HT<sub>2A</sub>-GCaMP 細胞の樹立ならびに小型検出の作製に成功した。本細胞はセロトニン受容体作用薬に関して、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。

## 2. 危険ドラッグ関連化合物の合成及びライブラリー構築に関する研究

本研究により合成された軸不斉を有するフェンタニル誘導体は、オピオイド $\mu$ 受容体に対して一方がアゴニスト活性、もう一方がアンタゴニスト活性を示した。現在の法規制においては、全ての立体異性体について一様に規制されているが、今後、立体化学を考慮すべきかもしれない。また、このように、立体異性体に配慮した化合物ライブラリーを作製し、供与することにより、より正確な生物活性及び毒性の検討を行えると考える。さらに、分析法については、NMR や質量分析 (MS)、IR について化合物ライブラリーのデータベースが拡充されており、今後、違法薬物鑑定に役立つと考える。LSD 誘導体については、インドール部位の置換基の種類によって安定性が異なることがわかった。生体内で化学的、もしくは酵素的にアシル基が脱離する可能性があり、市中に流通しているN-アシル化 LSD 誘導体はプロドラッグ化を意図して合成されている可能性が示唆された。

## 3. ヒト iPS 細胞より作成した機能的神経細胞を用いた危険ドラッグの有害作用の評価

本研究では、ヒト iPS 細胞よりドパミン神経細胞の誘導を試み、市販のヒトドパミン神経細胞と機能を比較しながら、危険ドラッグの新しい評価系の基礎検討を行なった。ヒト iPS 由来ドパミン神経細胞および iCell ドパミン神経細胞は、神経毒性を誘発することが知られている覚醒剤 (methamphetamine)、さらには毒性が未知の薬物である合成カチノンとして 3-CMC 並びに dipentylone を処理することで神経毒性を誘発することが確認できた。

本結果から、ヒト細胞株からのドパミン神経に対する依存性薬物の毒性評価が可能となり、引き続き毒性発現メカニズムを解析していくことで、マウスの胎児より採取する初代培養神経細胞の代替法として活用できると考えられる。依存性薬物の中でも methamphetamine や合成カチノン系化合物の標的タンパク質となるドパミントランスポーター (DAT) や vesicular monoamine transporter 2 (VMAT2) に対する影響やドパミン分泌への影響を検討することで、動物とヒトとのギャップを補う評価系の確立につながるものと考えられる。

## 4. コンピュータシミュレーションを利用した薬物受容体活性予測

LSD 誘導体の  $R^2$ 、 $R^3$  はバリエーションが少なく、 $R^1$ 、 $R^4$  のバリエーションによって範囲を指定することが重要であると考えられる。ただ、QSAR によって活性予測を行うにあたり、活性が既知の類縁体のデータが必要である。文献等より活性既知のデータの収集が重要である。

## D. 結 論

本研究では、オピオイド作用薬の検出用細胞として CHO-5 HT<sub>2A</sub>-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。受容体発現細胞を利用した解析によりターゲットとなる受容体を特定し、行動薬理学的実験へ反映させることで、迅速な中枢神経系の有害作用の予測に役立つと考えられる。また、本細胞はセロトニン受容体作用薬に関して、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。

化合物ライブラリーについては、フェンタ

ニル誘導体及び、LSD 誘導体の合成を行った。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は、これまで合成した化合物が合計で 150 種を超え、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。フェンタニル誘導体の軸不斉異性体のうち、絶対配置 aS のエナンチオマーがオピオイド  $\mu$  受容体拮抗薬であることは、今後、フェンタニルの薬理活性や毒性発現を明らかにするうえで非常に興味深く、今後のこの分野の発展に重要な情報となる。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、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、微量分析のための活用が期待される。

本研究では、ヒト iPS 由来ドパミン神経および市販の iCell ドパミン神経細胞を用いて、覚醒剤 (methamphetamine)、合成カチノンとして 3-CMC 並びに dipentylone の神経毒性発現を解析した。評価薬物として用いた methamphetamine、3-CMC 並びに dipentylone は添加 24 時間後に、濃度依存的に神経細胞毒性を示すことから、ヒトでの乱用により健康被害を示す危険性が示唆された。本解析データは、有害作用の推測に利用できる可能性が示唆された。

包括指定を視野に入れて、LSD 誘導体の R<sup>1</sup>、R<sup>4</sup> のバリエーションによって規制誘導体の見込み範囲のマトリックスを作成した。(Table 1) 活性未知の誘導体のマトリックスを作成するために、QSAR によって活性予測を行うにあたり、活性が既知の類縁体のデータが必要である。文献、実験等より活性既知のデータの収集が重要である。次年度の課題としたい。

本研究成果から、危険ドラッグであるセロトニン受容体作用薬について、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合成カンナビノイド及びフェンタニル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。また、活性未知の誘導体のマトリックスを作成するために、QSAR によって活性予測を行うにあたり、活性が既知の類縁体のデータが必要である。文献、実験等より活性既知のデータの収集が重要である。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。本研究より得られるデータを利用して、危険ドラッグの包括的危険予測のために誘導体のマトリックス作成の精度を上げていく予定である。

## E. 健康危険情報

本研究は、危険ドラッグの検出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) 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) Nakamura, Mari; Hojo, Motoki; Kawai, Ayaka; Ikushima, Kiyomi; Nagasawa, Akemichi; Takahashi, Hideyo; Makino, Kosho; Suzuki, Toshinari; Suzuki, Jin; Inomata, Akiko. An application of the magnetometer detection system to Crl:CD1 (ICR) mice for head twitch response induced

- by hallucinogenic 5-HT<sub>2A</sub> agonists. *Fundamental Toxicological Sciences*, 2023, 10 (5) 189-197.
- 3) 2) Chiba, Arisa; Tanaka, Ryoko; Hotta, Mayuno; Nakamura, Kayo; Makino, Kosho; Tabata, Hidetsugu; Oshitari, Tetsuta; Natsugari, Hideaki; Takahashi, Hideyo. Stereochemistry of N-Acyl-5H-dibenzo[b,d]azepin-7(6H)-ones. *Molecules*, 28 (12) 4734. DOI: 10.3390/molecules28124734
  - 4) 3) Nakagawa, Yoshio ; Suzuki, Jin; Suzuki, Toshinari; Takahashi, Hideyo; Makino, Kosho; Ono, Yasushi; Sakamoto, Miho; Inomata, Akiko. Cytotoxic effects of psychoactive isobutyrylfentanyl and its halogenated derivatives on isolated rat hepatocytes. *Journal of Applied Toxicology*, 2023, 43 (9) 1379-1392. DOI: 10.1002/jat.4472
  - 5) 4) Funaki, Kaoru; Tabata, Hidetsugu; Nakazato, Yusuke; Takahashi, Yuka; Tasaka, Tomohiko; Takahashi, Hideyo; Natsugari, Hideaki; Oshitari, Tetsuta. Atropodistereoselective 5N-acylation of 1,5-benzodiazepin-2-ones with (S)-2-phenylpropanoyl and (S)-2-phenylbutanoyl Chlorides. *Journal of Organic Chemistry*, 2022, 87 (22), 15289-15300.
  - 6) 5) Tanaka, Ryoko; Nabae, Ayana; Yamane, Koki; Makino, Kosho; Tabata, Hidetsugu; Oshitari, Tetsuta; Natsugari, Hideaki; Takahashi, Hideyo. Atropisomeric properties of N-alkyl/aryl 5H-dibenz[b,f]azepines. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 2022, 70, (8) 573-579.
  - 7) 6) Tanaka, Ryoko; Makino, Kosho; Tabata, Hidetsugu; Oshitari, Tetsuta; Natsugari, Hideaki; Takahashi, Hideyo. Axial chirality and affinity at the GABAA receptor of triazolobenzodiazepines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2022, 64, 116758.
  - 8) 8) Tanaka, Ryoko; Makino, Kosho; Tabata, Hidetsugu; Oshitari, Tetsuta; Natsugari, Hideaki; Takahashi, Hideyo. Atropisomeric properties of 9-methyl-1,4-benzodiazepin-2-ones. *Synthesis* 2021, 53 (24), 4682-4688.
  - 9) 9) Takuya Namba, Mayuno Hotta, Hidetsugu Tabata, Kosho Makino, Tetsuta Oshitari, Hideaki Natsugari, Hideyo Takahashi. Atropisomeric Properties of N-acyl/N-sulfonyl 5H-dibenzo[b,d]azepin-7(6H)-ones. *Journal of Organic Chemistry*, 2021, 86 (11), 7563-7578.
  - 10) 10) Kanase, Yuki; Makino, Kosho; Takashi Yoshinaga; Tabata, Hidetsugu; Oshitari, Tetsuta, Natsugari, Hideaki; Takahashi, Hideyo. Conformational properties and M1 antimuscarinic activity of 4-substituted pirenzepine/telenzepine analogues. *HETEROCYCLES*, 2020, 101, 273-283.
  - 11) Moriya S, Funaki K, Demizu Y, Kurihara M, Kittaka A, Sugiyama T.: Synthesis and properties of PNA containing a dicationic nucleobase based on N4-benzoylated cytosine.: *Bioorg Med Chem Lett*. 2023 May 15;88:129287.
  - 12) Ichimaru Y, Kato K, Kurihara M, Jin W, Koike T, Kurosaki H.: Bis(nitrato-κO)(1,4,8,11-tetra-aza-cyclo-tetra-decane-κ4 N)zinc(II) methanol monosolvate.: *IUCrdata*. 2022 Aug 31;7(Pt 8):x220854.
  - 13) Moriya S, Yoneta Y, Kuwata K, Imamura Y, Demizu Y, Kurihara M, Kittaka A, Sugiyama T: PreQ1 Facilitates DNA Strand Invasion by PNA: *Peptide Science* 2021, 2022, 111-112
- ## 2. 学会発表
- 1) 船田正彦. 危険ドラッグの有害作用の評価と包括規制に関する研究. 第 53 回日本神経精神薬理学会年会 シンポジウム (東京、2023 年 7 月 21 日)
  - 2) 富山健一, 船田正彦: 新規合成オピオイド

- ド isotonitazene の薬理学的特性の解析, 2023 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会, 岡山, 2023 年 10 月 13-15 日.
- 3) 船田正彦. 米国におけるオピオイド乱用・依存問題の現状. 2023 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会. (岡山, 2023 年 10 月 14 日)
  - 4) Tsukasa Tomizawa, Shuntaro Kikukawa, Hironobu Arita, Kayo Nakamura, Kosho Makino, Hidetsugu Tabata, Tetsuta Oshitari, Hideaki Natsugari, Masahiko Funada, Hideyo Takahashi. Synthesis and Structure-Activity Relationship of Opioid  $\mu$ -Receptor Antagonists The 11th Asian Association of Schools of Pharmacy (AASP) Conference (in Macao) Aug. 2023.
  - 5) 菊川俊太郎、有田浩暢、富澤宰、中村佳代、牧野宏章、田畑英嗣、忍足鉄太、夏苺英昭、船田正彦、富山健一、高橋秀依「フェンタニル骨格に由来する新規オピオイド  $\mu$  受容体アンタゴニストの創製」第 84 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム(東京、2023 年 5 月)
  - 6) 富澤宰、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 143 年会 (札幌、2023 年 3 月)
  - 7) 大環状ポリアミン-亜鉛錯体の単結晶 X 線結晶構造解析：市丸 嘉、加藤 紘一、小池 透、黒崎 博雅、栗原 正明：日本薬学会第 143 年会 (2023/03)
  - 8) 市丸嘉、加藤紘一、栗原正明、黒崎博雅：アントラセンを導入した Bis(2-picoly)amine 誘導体-亜鉛錯体の DNA 光切断活性：第 67 回日本薬学会関東支部大会 (2023/9/16, 東京)
  - 9) Shun-suke Moriya, Yosuke Demizu, Masaaki Kurihara, Atsushi Kittaka, Toru Sugiyama: Strand invasion by

- PNA containing preQ1: 第 50 回国際核酸化学シンポジウム (2023/11/1-3) 宮崎
- 10) Shun-suke Moriya, Mai Kiyosue, Yosuke Demizu, Masaaki Kurihara, Atsushi Kittaka, Toru Sugiyama: Properties of peptide nucleic acid containing n4 -bis(aminomethyl)-benzoylated cytosine for enhanced DNA binding: 第 60 回ペプチド討論会 (2023/11/8-10) 滋賀

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

特願 RKF-072PCT :

高橋秀依、牧野宏章、有田浩暢、菊川俊太郎、富澤宰、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 2021-158379 :

発明の名称「オピオイド受容体拮抗剤及び医薬組成物」、・特許出願人 学校法人東京理科大学, 国立精神・神経医療研究センター

分担研究報告書

細胞を利用した薬理作用及び物質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 薬理学研究室）

協力研究者：富山健一（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）

【研究要旨】

フェネチルアミン系の危険ドラッグで、セロトニン受容体作用薬を示すとされる 2,5-Dimethoxy-4-chloroamphetamine (DOC) について、セロトニン受容体発現細胞を利用した薬理作用解析および行動薬理学的特性の発現に関する検討を行った。セロトニン受容体作用薬の薬理作用評価細胞の構築に関しては、CHO-5HT<sub>2A</sub> 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-5HT<sub>2A</sub>-GCaMP 細胞を構築した。本細胞を利用して、DOC と 2,5-dimethoxy-4-iodophenethylamine (2CI)、2,5-Dimethoxy-4-iodoamphetamine (DOI) および 3 種類の N-Methoxybenzyl-phenethylamines (NBOMes) : 25I-NBOMe、25B-NBOMe、25P-NBOMe について解析した。その結果、EC<sub>50</sub> 値は 2CI : 9.9X10<sup>-8</sup>、DOI : 2.0X10<sup>-9</sup>、DOC : 8.8X10<sup>-8</sup>、25I-NBOMe : 5.42X10<sup>-11</sup>、25B-NBOMe : 3.30X10<sup>-13</sup>、25P-NBOMe : 7.1X10<sup>-10</sup> であった。3 種類の NBOMes については、2CI、DOI、DOC より強力であった。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作製した、持ち運び可能な小型蛍光検出器での検出を確認した。量販型の 8 連型 PCR チューブを利用して、CHO-5HT<sub>2A</sub>-GCaMP 細胞を培養した。チューブ内へ 25I-NBOMe、25B-NBOMe、25P-NBOMe を添加したところ、蛍光発光を検出することが可能であった。小型蛍光検出器の実用化へ向けて、セロトニン系の薬物検出に関して、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。行動薬理学解析では、DOI および DOC は Head-twitch response (HTR) を誘発した。この HTR は、5-HT<sub>2</sub> 受容体拮抗薬 ketanserin の前処置により有意に抑制されたことから、セロトニン 5-HT<sub>2</sub> 受容体、特に、5-HT<sub>2A</sub> 受容体の関与が示唆された。このように細胞を利用した解析によりターゲットとなる受容体を特定し、行動薬理学的実験へ反映させることで、迅速な中枢神経系の有害作用の予測に役立つと考えられる。

以上の結果から、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。

A. 目的

幻覚作用を示す薬物の乱用が広がっており、社会問題となっている。特に、セロトニン受容体に作用する薬物において、多くの新しい骨格を持つ化合物が流通拡大している<sup>1)</sup>。

N-Methoxybenzyl-phenethylamines (NBOMes) は、2C クラスのフェネチルアミンの置換誘導体である。米国では、複数の NBOMes が流通しており、2013 年には、3 つの化合物 25I-NBOMe、25C-NBOMe、25B-NBOMe が初めて、米国の規制薬物法でスケジュール I 化合物に分類された<sup>2)</sup>。

Suzuki らは 20 例の NBOMes 乱用による毒中毒症状を解析し、中枢神経系への影響を指摘している<sup>3)</sup>。一方、自律神経系への影響も強力で、頻脈 (85%)、高血圧 (65%)、発熱 (25%) が観察されている。同様に、クレアチンキナーゼの上昇 (45%) を伴う横紋筋融解症の発症も確認されている。

同様に、Lipow らの文献調査において救急搬送された 42 名の患者での中毒症状を解析している<sup>4)</sup>。その結果、中毒症状では、26 人 (62%) に頻脈、22 人 (52%) に高血圧、11 人 (26%) に 1 回以上の痙攣発作がみられた。34 人 (81%) が幻覚を経験し、22 人 (52%) が激しい衝動を経験した。また、13 例 (31%) で ICU レベルの治療が必要とされた。NBOMes は強力な幻覚作用に加え健康被害が深刻であることが示唆されている。

このように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。

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。本年度は、細胞を用いてセロトニン受容体作用薬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-セロトニン 5-HT<sub>2A</sub> 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-5-HT<sub>2A</sub>-GCaMP 細胞を構築した。幻覚作用が発現するとされるセロトニン受容体作用薬の評価を行った。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での検出可否についても検討した。

## B. 方法

使用薬物：

- 2,5-Dimethoxy-4-chloroamphetamine (DOC)

- 2,5-dimethoxy-4-iodophenethylamine (2CI)
- 2,5-Dimethoxy-4-iodoamphetamine (DOI)
- N-Methoxybenzyl-phenethylamines (NBOMes) : 25I-NBOMe、25B-NBOMe、25P-NBOMe

を使用した(Fig. 1)。

### 1. 新規セロトニン作用薬のセロトニン受容体作用

Chinese Hamster Ovary (CHO)チャイニーズハムスター卵巣細胞にヒト-セロトニン 5-HT<sub>2A</sub> 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-5-HT<sub>2A</sub>-GCaMP 細胞を樹立した。この細胞を使用して、細胞内カルシウム濃度を測定した。96 穴ブラックプレート (Greiner)に 5×10<sup>4</sup> cells/well となるように播種し、37°C・5.0% CO<sub>2</sub> 条件下で培養した。24 時間後、2CI、DOI、DOC、25I-NBOMe、25B-NBOMe および 25P-NBOMe 添加による蛍光強度の変化を、Flexstation 3 により測定した。データは蛍光強度 (Relative Fluorescence Units, RFU)として解析した。

### 2. 小型蛍光検出器の作製

蛍光検出部として、光ファイバプローブ式蛍光検出器 (日本板硝子)を利用した。PCR チューブの保持部分は、チューブごとにプローブが直下で検出できるように保持ボックスを作成した (Fig. 2)。

自立蛍光検出細胞の CHO-5-HT<sub>2A</sub>-GCaMP 細胞を PCR 用チューブ (FastGene 0.2mL, 8 連チューブ, 日本ジェネティクス)に 1×10<sup>4</sup> cells/tube となるように播種し、37°C・5.0% CO<sub>2</sub> 条件下で 1 時間静置した。その後、DOI、25I-NBOMe、25B-NBOMe および 25P-NBOMe (1 μM)を添加し、蛍光量の変化を測定した。

### 3. Head-twitch の評価

薬物投与による head-twitch response (HTR)の誘発を測定した。DOC により誘発される HTR を Miyata らの手法に従って測定した<sup>5)</sup>。また、HTR の誘発性薬物として DOI を使用した。DOI および DOC により誘発される HTR に対する 5-HT<sub>2</sub>受容

拮抗薬 ketanserin (試験薬投与の 30 分前投与)の効果を検討した。マウスをプラスチック製個別ケージ(22cm×12.5cm×15cm)に移し、DOI および DOC 投与 10 分間の HTR の誘発回数を測定した。

## C. 結果

### 1. セロトニン受容体作用

CHO-5-HT<sub>2A</sub>細胞を利用して、2CI、DOI および DOC の 5-HT<sub>2A</sub> 受容体作用を解析した。2CI、DOI および DOC の添加により、濃度依存的な蛍光量の増加が確認された(Fig.3A)。2CI (0.25, 1 μM)、DOI (0.25, 1 μM)および DOC (1, 4 μM)による蛍光強度の増加作用は、選択的 5-HT<sub>2</sub> 受容体拮抗薬 ketanserin (Ket, 10 μM) の前処置により完全に抑制された(Fig.3B)。2CI、DOI および DOC は 5-HT<sub>2A</sub> 受容体を介して薬理作用を示すことが明らかになった。

### 2. 新規小型蛍光検出器の機能評価

PCR チューブ内で CHO-5-HT<sub>2A</sub>-GCaMP 細胞を維持し DOI、25I-NBOMe、25B-NBOMe および 25P-NBOMe 添加 (すべて 1μM)による蛍光発光強度の解析を行った。薬物の添加によって、シャープなピークが得られ、蛍光量の増加が確認された (Fig. 4)。

### 3. Head-twitch に対する影響

Head-twitch response (HTR)の誘発薬物として用いられている DOI (1mg/kg, i.p.)によって有意な HTR の誘発を確認した。さらに DOI によって誘発される HTR は、5-HT<sub>2</sub> 受容体拮抗薬 ketanserin (0.6 mg/kg)の前処置により有意に抑制された(Fig. 5A)。本手法を用いて DOC (4 mg/kg, i.p.)による HTR の誘発を解析したところ、有意な HTR 誘発作用を有することが明らかになった。DOC (4 mg/kg, i.p.)によって誘発される HTR 誘発作用は 5-HT<sub>2</sub>受容体拮抗薬 ketanserin (0.6 mg/kg)の前処置により有意に抑制された (Fig.5B)。

## D. 考察

オピオイド化合物、合成カンナビノイド、セロトニン受容体作用薬は、危険ドラッグの主成分であり、欧米を中心に流通が拡大しており、世界規模での社会問題となっている。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、危険ドラッグの確実な検出とその作用を迅速に評価するシステムを構築することが望まれる。

本研究では、危険ドラッグが作用する薬物受容体に着目し、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器の開発を試みた。

セロトニン受容体作用薬をターゲットとして、薬理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-セロトニン 5HT<sub>2A</sub>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-5-HT<sub>2A</sub>-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セロトニン受容体作用薬を使用した。評価したセロトニン受容体作用薬は、強力なセロトニン 5HT<sub>2A</sub>受容体刺激作用を有することが明らかになった。また、行動薬理的解析より、セロトニン受容体作用薬である DOI および DOC は Head-twitch response (HTR)を誘発した。この HTR は、5-HT<sub>2</sub>受容体拮抗薬 ketanserin の前処置により有意に抑制されたことから、セロトニン 5-HT<sub>2</sub>受容体、特に、5-HT<sub>2A</sub>受容体の関与が示唆された。このように細胞を利用した解析によりターゲットとなる受容体を特定し、行動薬理的実験へ反映させることで、迅速な中枢神経系の有害作用の予測に役立つと考えられる。

以上の結果から、自立蛍光検出細胞となる CHO-5-HT<sub>2A</sub>-GCaMP 細胞による機能評価は、ターゲットとなる受容体を特定し、薬理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と考えられる。

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。セロトニン受容体作用薬の精神

作用の発現では、脳内セロトニン受容体の活性化が必須であることから、CHO-5-HT<sub>2A</sub>-GCaMP 細胞は新規オセロトニン受容体作用薬において精神作用の発現予測に役立つと考えられる。

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。細胞が発する蛍光の測定には、プレートリーダー等の検出機器が必要である。機能評価をする場合は、薬物添加からの正確な経時的変化を解析する必要がある。一方、物質の検出を主たる目的とする場合、一定時間後の蛍光強度を測定することで対応は可能となる。従来利用されている蛍光プレートリーダー等の精密検出器では、移動のたびに測定のセンサー部分の軸補正などが必要であり、モバイル使用は想定されていない。そこで、本研究では、持ち運び可能とするため、明視野での使用可能な1チャンネルの検出センサーを利用して定点測定が可能となる小型蛍光検出装置を作製した。

8連PCRチューブにCHO-5-HT<sub>2A</sub>-GCaMP細胞を静置後、セロトニン受容体作用薬を使用して、小型蛍光検出装置の検出機能を評価したところ、薬物の処置により蛍光発光を検出できることが判明した。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、セロトニン受容体作用薬の検出用細胞のCHO-5-HT<sub>2A</sub>-GCaMP細胞の樹立ならびに小型検出の作製に成功した。本細胞はセロトニン受容体作用薬に関して、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。

## E. 結論

本研究では、セロトニン受容体作用薬の検出用細胞としてCHO-5-HT<sub>2A</sub>-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

セロトニン受容体作用薬に関して、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。

## F. 参考文献

1. Morini, L., Bernini, M., Vezzoli, S., Restori, M., Moretti, M., Crenna, S., ... & Groppi, A. (2017). Death after 25C-NBOMe and 25H-NBOMe consumption. *Forensic science international*, 279, e1-e6.
2. Drug Enforcement Administration. Department of Justice. Schedules of controlled substances: temporary placement of three synthetic phenethylamines into schedule I. Final order. *Fed Regist.* 2013;78(221):68716-68719.
3. Suzuki J, Dekker MA, Valenti ES, et al. Toxicities Associated With NBOMe Ingestion—A novel class of potent hallucinogens: A review of the literature. *Psychosomatics.* 2015;56(2):129-139.
4. Lipow M, Kaleem SZ, Espiridion E. NBOMe Toxicity and Fatalities: A Review of the Literature. *Transformative Medicine (T-Med).* 2022; 1(1):12-18. doi: <https://doi.org/10.54299/tmed/most8578>.
5. Miyata S, Hirano S, Kamei J.: Diabetes inhibits the DOI-induced head-twitch response in mice. *Psychopharmacology (Berl).* 177: 224-229, 2004.

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 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

- 11) 船田正彦. 危険ドラッグの有害作用の評価と包括規制に関する研究. 第 53 回日本神経精神薬理学会年会 シンポジウム (東京、2023 年 7 月 21 日)
- 12) 船田正彦. 米国におけるオピオイド乱用・依存問題の現状. 2023 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会. (岡山、2023 年 10 月 14 日)
- 13) Tsukasa Tomizawa, Shuntaro Kikukawa, Hironobu Arita, Kayo Nakamura, Kosho Makino, Hidetsugu Tabata, Tetsuta Oshitari, Hideaki Natsugari, Masahiko Funada, Hideyo Takahashi. Synthesis and Structure-Activity Relationship of Opioid  $\mu$ -Receptor Antagonists The 11th Asian Association of Schools of Pharmacy (AASP) Conference (in Macao) Aug. 2023.
- 14) 菊川俊太郎、有田浩暢、富澤宰、中村佳代、牧野宏章、田畑英嗣、忍足鉄太、夏苺英昭、船田正彦、富山健一、高橋秀依「フェンタニル骨格に由来する新規オピオイド  $\mu$  受容体アンタゴニストの創製」第 84 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム(東京、2023 年 5 月)
- 15) 富澤宰、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 143 年会 (札幌、2023 年 3 月)
- 16) 富澤宰、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合成と構造活性相関」第 66 回日本薬学会関東支部大会 (横浜、2022 年 9 月)

## H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得、実用新案登録、その他

特になし

## 健康危険情報

本事業成果は、危険ドラッグの細胞毒性および依存性に関する評価解析であり、結果はすべて健康危険情報に該当する。

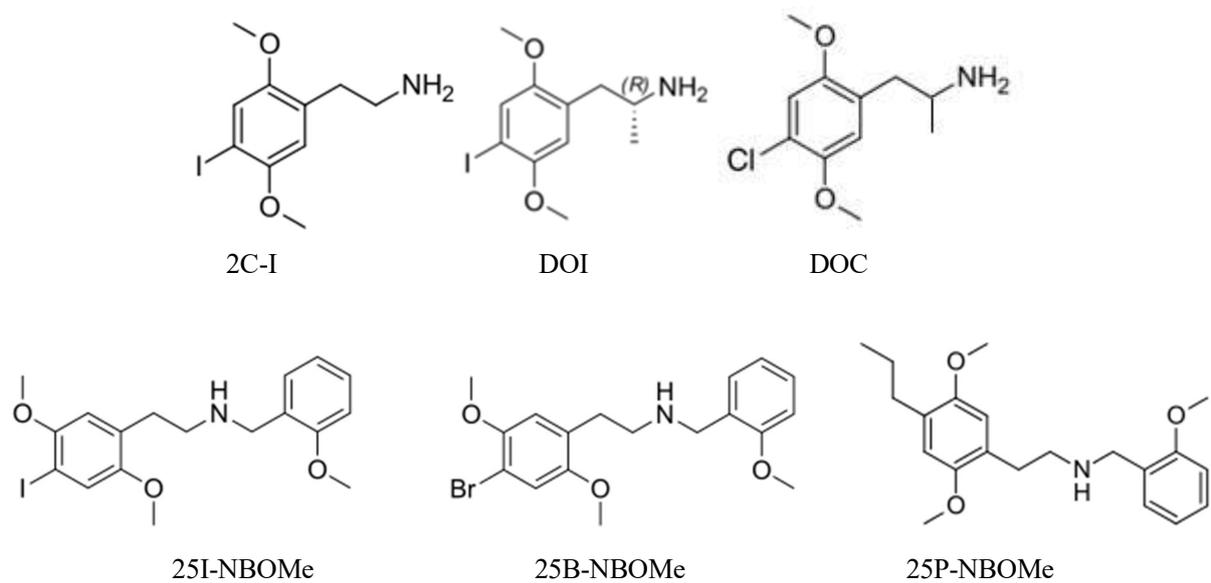


Fig.1. Chemical structure of phenylethylamines.

2C-I (2,5-Dimethoxy-4-iodophenethylamine)

DOI (2,5-Dimethoxy-4-iodoamphetamine)

DOC (2,5-Dimethoxy-4- chloroamphetamine)

N-Methoxybenzyl-phenethylamines (NBOMes) : 25I-NBOMe, 25B-NBOMe, 25P-NBOMe

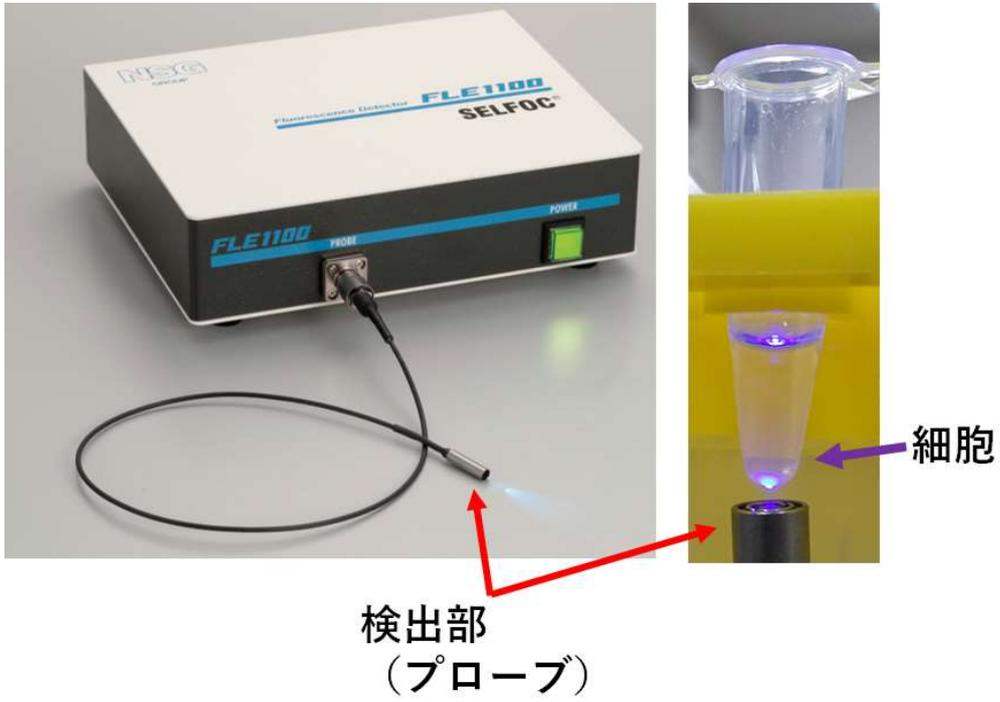
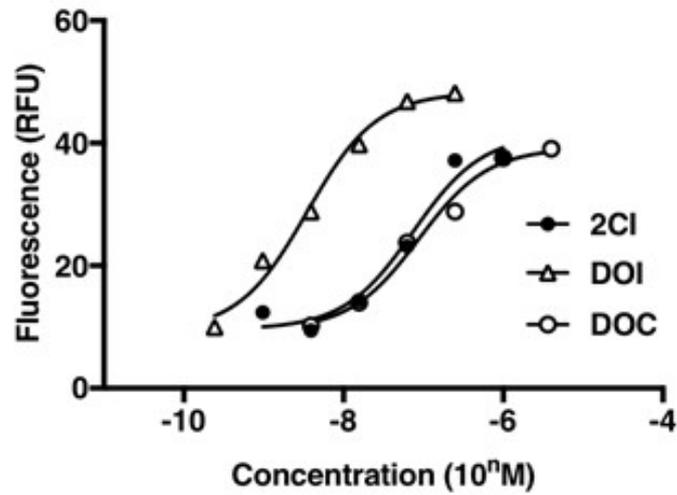


Fig.2. Compact fluorescence detector for mobile use using probes of optical fiber.

(A)



(B)

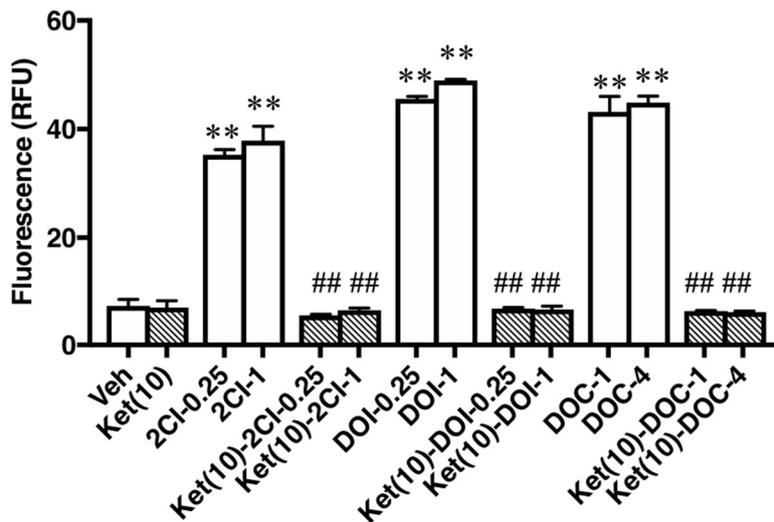


Fig.3. Effect of serotonin receptor agonists on intracellular Ca<sup>2+</sup> level in the CHO-5HT<sub>2A</sub>-GCaMP cells.

(A) Changes in intracellular Ca<sup>2+</sup> levels were detected as changes in fluorescence in the Flexstation 3. Results are expressed as mean (n=3). (B) Effect of pretreatment with 5HT<sub>2</sub> receptor antagonist ketanserin (Ket) on 2CI, DOI or DOC-induced elevation of intracellular Ca<sup>2+</sup> levels in CHO-5HT<sub>2A</sub>-GCaMP cells. Changes in intracellular Ca<sup>2+</sup> levels were detected as changes in fluorescence in the Flexstation 3. Each column represents the mean with S.E.M. of three independent experiments.

\*\*P<0.01 vs Veh-treated group. ##P<0.01 vs. 2CI, DOI or DOC-treated group.

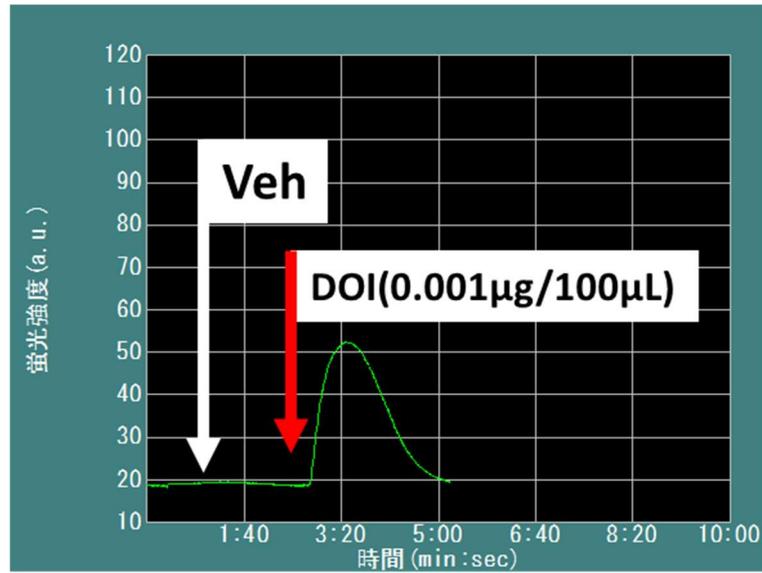


Fig.4. Effect of serotonin receptors agonistic actions of DOI in the CHO-5HT<sub>2A</sub>-GCaMP cells using probes of optical fiber. Changes of fluorescence were observed after treated with DOI or vehicle (Veh).

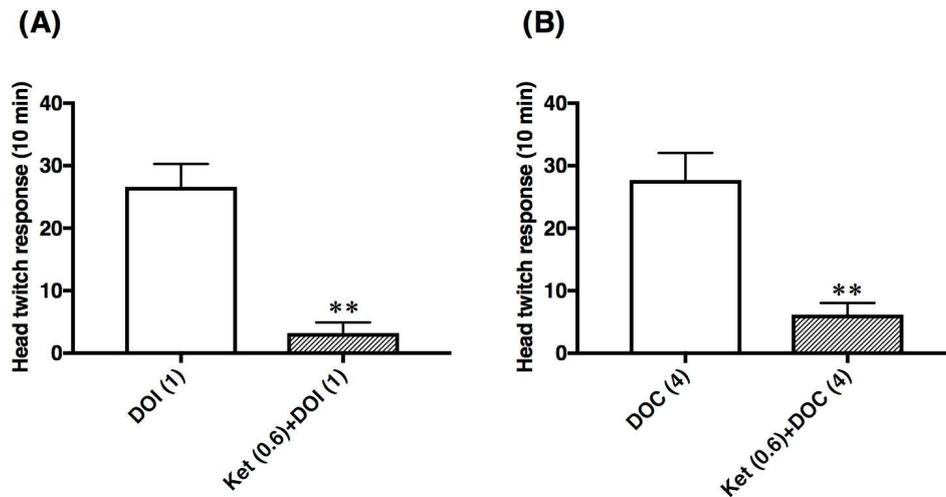


Fig. 5. (2,5-Dimethoxy-4-chloroamphetamine の head twitch に対する影響)

Effect of acute treatment with 2,5-Dimethoxy-4-chloroamphetamine on the head twitch response in mice. (A) Total head twitch response changes after acute administration of 2,5-Dimethoxy-4-iodoamphetamine (DOI, 1 mg/kg, i.p.) in mice. Effect of pretreatment with a 5-HT<sub>2</sub> receptor antagonist ketanserin (Ket, 0.6 mg/kg, pre 30 min) on the DOI (1 mg/kg)-induced head twitch response in mice. Each point represents the total head twitch response counts with S.E.M. for 10 min (n=5). (B) Total head twitch response changes after acute administration of 2,5-Dimethoxy-4-chloroamphetamine (DOC, 4 mg/kg, i.p.) in mice. Effect of pretreatment with a 5-HT<sub>2</sub> receptor antagonist ketanserin (Ket, 0.6 mg/kg, pre 30 min) on the DOC (4 mg/kg)-induced head twitch response in mice. Each column represents the total head twitch response counts with S.E.M. for 10 min (n=6). Dunnet's posttest was also applied on each graph. \*\*P<0.01 vs. DOI, DOC-treated group.

令和5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)  
精神活性物質の化学構造に基づく乱用危険性予測に関する研究(23KC1002)

分担研究報告書

危険ドラッグ関連化合物の合成及びライブラリー構築に関する研究

分担研究者：高橋秀依（東京理科大学 薬学部）

【研究要旨】

[緒言] 中枢に作用する麻薬や指定薬物、及び、その類縁体が危険ドラッグとして市中に流通している。法的に未規制な化合物の中にも毒性や中毒性を示すものはとても多い。置換基を変更することにより増え続ける未規制の化合物は大変危険であり、社会的な問題になっている。本研究ではこれらの精神活性化作用を有すると予想される様々な化合物のうち、特にフェンタニルと LSD に注目し、未規制なそれらの誘導体を化学合成し、ライブラリー化を進める。合成した化合物については、共同研究者と協働し、薬理作用や毒性を検討する。

[結果] フェンタニル誘導体については 150 種類を超える化合物をライブラリー化した。特に、フェンタニルに含有されるアミド構造に着目し、軸不斉を表出させた誘導体を安定な化合物として単離し、各エナンチオマーの薬理活性や毒性を共同研究者に検討していただいた。その結果、これまでと同様にエナンチオマーの一方がオピオイド $\mu$ 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ものがあることがわかった。フェンタニル誘導体がオピオイド $\mu$ 受容体アンタゴニスト活性を示し、加えて、各エナンチオマーが受容体に対して互いに反対の生物活性を示すのは世界で初めての例である。LSD の誘導体については、化学合成経路を確立し、光安定性が低いことを明らかにした。また、各種の酸との塩形成を検討した結果、酒石酸塩が最適とわかった。これらの知見を基に、置換基が異なる LSD 誘導体 3 種を合成し、共同研究者に提供した。

[考察] フェンタニル誘導体については、いくつかの化合物において一方が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ことから、それぞれが異なる結合様式でオピオイド $\mu$ 受容体に結合していることが示唆された。また、LSD 誘導体については、インドール部位の窒素の置換基の種類によって安定性が異なることがわかった。この部位の置換基は生体内で化学的、もしくは酵素的に脱離する可能性があり、市中に流通している LSD 誘導体はプロドラッグ化されている可能性が示唆された。

A. 研究目的

中枢に作用する麻薬や指定薬物、及び、その類縁体が危険ドラッグとして市中に流通している。法的に未規制な化合物の中にも毒性や中毒性を示すものはとても多い。置換基を変更することにより増え続ける未規制の化合物は大変危険であり、社会的な問題になっている。本研究ではこれらの精神活性化作用を

有する様々な化合物を化学合成し、ライブラリー化する。合成した化合物について共同研究者と協働し、薬理作用や毒性を明らかにする。すでにフェンタニル誘導体についてはライブラリー化を進めているが、さらに化合物数を増やす。加えて、LSD の誘導体網羅的な合成を行い、化合物ライブラリーを作成する。

B. 研究方法および結果

フェンタニル誘導体について、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い、合計で 150 種余の化合物を作製し、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 1)。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。フェンタニルを超える高いオピオイド  $\mu$  受容体アゴニスト活性を示すものが見いだされているが、軸不斉を有するいくつかの化合物については、(+)-エナンチオマーがオピオイド  $\mu$  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た (図 2)。最も活性の高い化合物である (+)-**1a** はオピオイド  $\mu$  受容体アンタゴニストであるナロキソンよりも高活性であることがわかったが、アシル部をフラン環から変更したり、アリアル部の置換基をよりかさ高くすることにより、(+)-エナンチオマーのアンタゴニスト活性が低下することがわかった。さらに、これらの(+)-エナンチオマー、及び、(-)-エナンチオマーの ECD 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を明らかにした。すなわち、アゴニスト活性を示すエナンチオマーは **aR** であり、アゴニスト活性を示すエナンチオマーは **aS** と決定された。一方のエナンチオマーがオピオイド  $\mu$  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  $\mu$  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 (図 3)。

また、LSD の誘導体については、インドール部の窒素をアシル化した誘導体の化学合

成経路を確立した。この合成経路により、アシル基の異なる 3 種の LSD 誘導体を合成することができた (図 4)。合成にあたって、LSD の光安定性が低いことを明らかにした。LSD 誘導体の化学合成では、できる限り遮光をすることが収率向上のために必要である。また、最終生成物である N-アシル化誘導体について、各種の酸との塩形成を検討した結果、酒石酸塩が最適とわかった。さらに、LSD 誘導体の酒石酸塩について、NMR 解析により、1/2 塩であることが分かった。N-アシル化した LSD 誘導体は、化学的安定性がやや低いこともわかった。合成した LSD 誘導体を共同研究者に供与した。

以上のような化学合成した化合物については、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化合物については、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・単離を検討し、IR 測定、MS (HRMS) 測定とともにデータベース化を進め、化合物ライブラリーを拡充した。

### C. 考察

フェンタニルの化合物ライブラリーの作製に関し、多くの多様な構造を持つ化合物を化学合成することができた。特に、フェンタニル誘導体の化学合成では、フェンタニルを超える高いオピオイド  $\mu$  受容体アゴニスト活性を示すものが見いだされた。一方で、オピオイド  $\mu$  受容体アンタゴニスト活性を示し、既存のアンタゴニストであるナロキソンを超えるものも見出されている。現在の法規制においては、立体化学に関する記述がなく、すべての立体異性体について一様に規制されている。しかし、フェンタニル誘導体については

軸不斉異性体の一方がアゴニスト活性、もう一方がアンタゴニスト活性を示すことから、今後の医薬品候補化合物として有用になる可能性がある。今後、薬物動態解析を検討する必要があるが、法規制においても立体化学を考慮すべきかもしれない。このように、立体異性体(ジアステレオマーやエナンチオマー)に配慮した化合物ライブラリーを作製し、供与することにより、より正確な生物活性及び毒性の検討を行えると考える。また、分析法については、NMR や質量分析 (MS)、IR について化合物ライブラリーのデータベースが拡充されており、今後、違法薬物鑑定に役立つと考える。

また、LSD 誘導体については、インドール部位の窒素の置換基の種類によって安定性が異なることがわかった。この部位の置換基は生体内で化学的、もしくは酵素的に脱離する可能性があり、市中に流通しているN-アシル化 LSD 誘導体はプロドラッグ化を意図して合成されている可能性が示唆された。

#### E. 結論

フェンタニル誘導体及び、LSD 誘導体の合成を行った。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は、これまで合成した化合物が合計で 150 種を超え、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。フェンタニル誘導体の軸不斉異性体のうち、絶対配置 aS のエナンチオマーがオピオイド  $\mu$  受容体拮抗薬であることは、今後、フェンタニルの薬理活性や毒性発現を明らかにするうえで非常に興味深く、今後のこの分野の発展に重要な情報となる。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、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。

#### F. 参考文献

- 1) (1) Stanley, T. H. The History and Development of the Fentanyl Series. *J. Pain Symptom Manage.* 1992, 7 (3 SUPPL.), 3–7. [https://doi.org/10.1016/0885-3924\(92\)90047-L](https://doi.org/10.1016/0885-3924(92)90047-L).

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Nakamura, Mari; Hojo, Motoki; Kawai, Ayaka; Ikushima, Kiyomi; Nagasawa, Akemichi; Takahashi, Hideyo; Makino, Kosho; Suzuki, Toshinari; Suzuki, Jin; Inomata, Akiko. An application of the magnetometer detection system to Crl:CD1 (ICR) mice for head twitch response induced by hallucinogenic 5-HT<sub>2A</sub> agonists. *Fundamental Toxicological Sciences*, 2023, 10 (5) 189-197.
- 2) Nishimoto-Kusunose, Shoichi; Hirakawa, Ayaka; Tanaka, Asuka; Yoshizawa, Kazumi; Makino, Kosho; Takahashi, Hideyo; Higashi, Tatsuya. Drugs possessing aryloxypropanamine pharmacophore, duloxetine, dapoxetine and propranolol, increase allopregnanolone in rat brain: Possible involvement of allopregnanolone in their central nervous system effects. *Steroids*, 2023, 198, 109272. DOI: 10.1016/j.steroids.2023.109272
- 3) Chiba, Arisa; Tanaka, Ryoko; Hotta, Mayuno; Nakamura, Kayo; Makino, Kosho; Tabata, Hidetsugu; Oshitari, Tetsuta; Natsugari, Hideaki; Takahashi, Hideyo. Stereochemistry of N-Acyl-5H-dibenzo[b,d]azepin-7(6H)-ones. *Molecules*, 28 (12) 4734. DOI: 10.3390/molecules28124734
- 4) Nakagawa, Yoshio ; Suzuki, Jin; Suzuki, Toshinari; Takahashi, Hideyo; Makino, Kosho; Ono, Yasushi; Sakamoto, Miho; Inomata, Akiko.

Cytotoxic effects of psychoactive isobutyrylfentanyl and its halogenated derivatives on isolated rat hepatocytes. *Journal of Applied Toxicology*, 2023, 43 (9) 1379-1392. DOI: 10.1002/jat.4472

5) Funaki, Kaoru; Tabata, Hidetsugu; Nakazato, Yusuke; Takahashi, Yuka; Tasaka, Tomohiko; Takahashi, Hideyo; Natsugari, Hideaki; Oshitari, Tetsuta Atropodistereoselective 5N-acylation of 1,5-benzodiazepin-2-ones with (S)-2-phenylpropanoyl and (S)-2-phenylbutanoyl Chlorides. *Journal of Organic Chemistry*, 2022, 87 (22), 15289-15300.

6) Tanaka, Ryoko; Nabae, Ayana; Yamane, Koki; Makino, Kosho; Tabata, Hidetsugu; Oshitari, Tetsuta; Natsugari, Hideaki; Takahashi, Hideyo. Atropisomeric properties of N-alkyl/aryl 5H-dibenz[b,f]azepines. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 2022, 70, (8) 573-579.

7) Tanaka, Ryoko; Makino, Kosho; Tabata, Hidetsugu; Oshitari, Tetsuta; Natsugari, Hideaki; Takahashi, Hideyo. Axial chirality and affinity at the GABAA receptor of triazolobenzodiazepines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2022, 64, 116758.

8) Tanaka, Ryoko; Makino, Kosho; Tabata, Hidetsugu; Oshitari, Tetsuta; Natsugari, Hideaki; Takahashi, Hideyo. Atropisomeric properties of 9-methyl-1,4-benzodiazepin-2-ones. *Synthesis* 2021, 53 (24), 4682-4688.

9) Takuya Namba, Mayuno Hotta, Hidetsugu Tabata, Kosho Makino, Tetsuta Oshitari, Hideaki Natsugari, Hideyo Takahashi. Atropisomeric Properties of N-acyl/N-sulfonyl 5H-dibenzo[b,d]azepin-7(6H)-ones. *Journal of Organic Chemistry*, 2021, 86 (11), 7563-7578.

10) Kanase, Yuki; Makino, Kosho; Takashi Yoshinaga; Tabata, Hidetsugu; Oshitari, Tetsuta, Natsugari, Hideaki; Takahashi, Hideyo. Conformational properties and M1 antimuscarinic activity of 4-substituted pirenzepine/telenzepine analogues, *HETEROCYCLES*, 2020, 101,

273-283.

## 2. 学会発表

17) Tsukasa Tomizawa, Shuntaro Kikukawa, Hironobu Arita, Kayo Nakamura, Kosho Makino, Hidetsugu Tabata, Tetsuta Oshitari, Hideaki Natsugari, Masahiko Funada, Hideyo Takahashi. Synthesis and Structure-Activity Relationship of Opioid  $\mu$ -Receptor Antagonists The 11th Asian Association of Schools of Pharmacy (AASP) Conference(in Macao) Aug. 2023.

18) 菊川俊太郎、有田浩暢、富澤宰、中村佳代、牧野宏章、田畑英嗣、忍足鉄太、夏莉英昭、舩田正彦、富山健一、高橋秀依「フェンタニル骨格に由来する新規オピオイド $\mu$ 受容体アンタゴニストの創製」第84回有機合成化学協会関東支部シンポジウム(東京、2023年5月)

19) 富澤宰、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、舩田正彦、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143年会(札幌、2023年3月)

20) 富澤宰、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、舩田正彦、高橋秀依「フェンタニル誘導体の合成と構造活性相関」第66回日本薬学会関東支部大会(横浜、2022年9月)

21) 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構造活性相関」日本薬学会第142年会(オンライン、2022年3月)

## H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得、実用新案登録、その他

・PCT/JP2022/ 34681、・・発明の名称「オピ  
オイド受容体拮抗剤及び医薬組成物」、高橋秀  
依、牧野宏章、有田浩暢、菊川俊太郎、富沢  
宰、船田正彦、富山健一

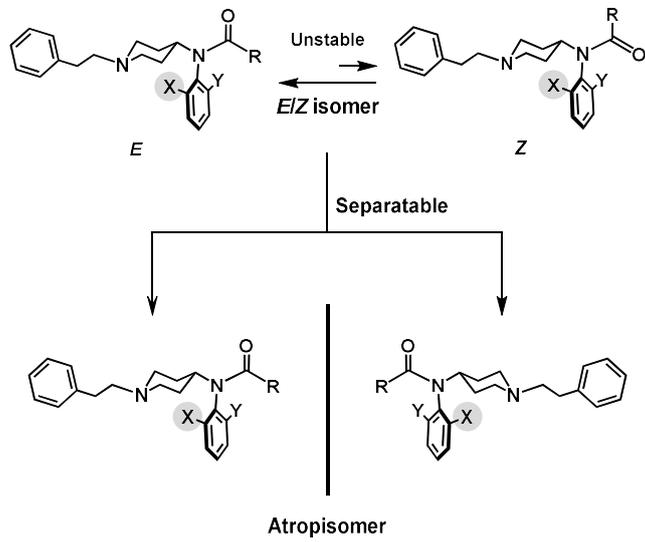
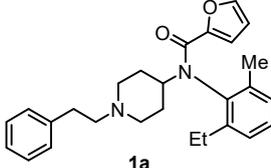
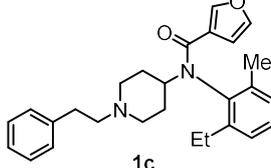
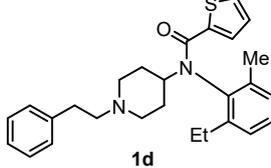


図1 フェンタニルの立体化学

### MOR作動活性評価

	<b>1a</b>	<b>1c</b>	<b>1d</b>
			
	EC <sub>50</sub> (nM)	EC <sub>50</sub> (nM)	EC <sub>50</sub> (nM)
(±)- <b>1a</b>	24.5	(±)- <b>1c</b> 40000	(±)- <b>1d</b> 32300
(+)- <b>1a</b>	–	(+)- <b>1c</b> –	(+)- <b>1d</b> –
(–)- <b>1a</b>	14.0	(–)- <b>1c</b> 1550	(–)- <b>1d</b> 12300

### MOR拮抗活性評価

	naloxone	(+)- <b>1a</b>	(+)- <b>1c</b>	(+)- <b>1d</b>
IC <sub>50</sub> (nM)	165	<b>32.5</b>	1550	3030

図2 オピオイドμ受容体に対する作用

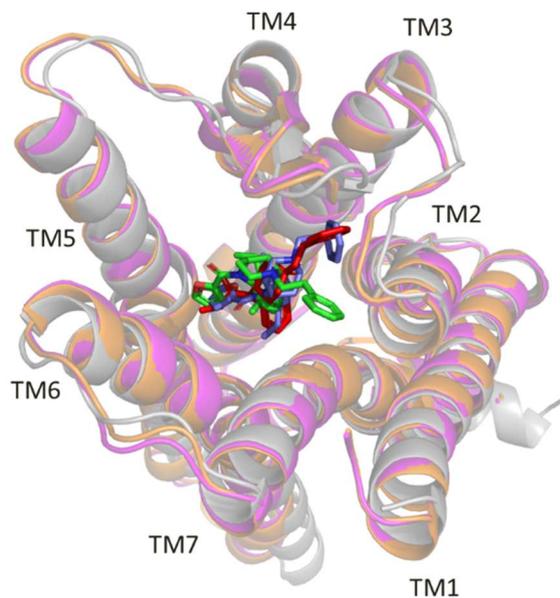


図3 オピオイドμ受容体に対する結合様式

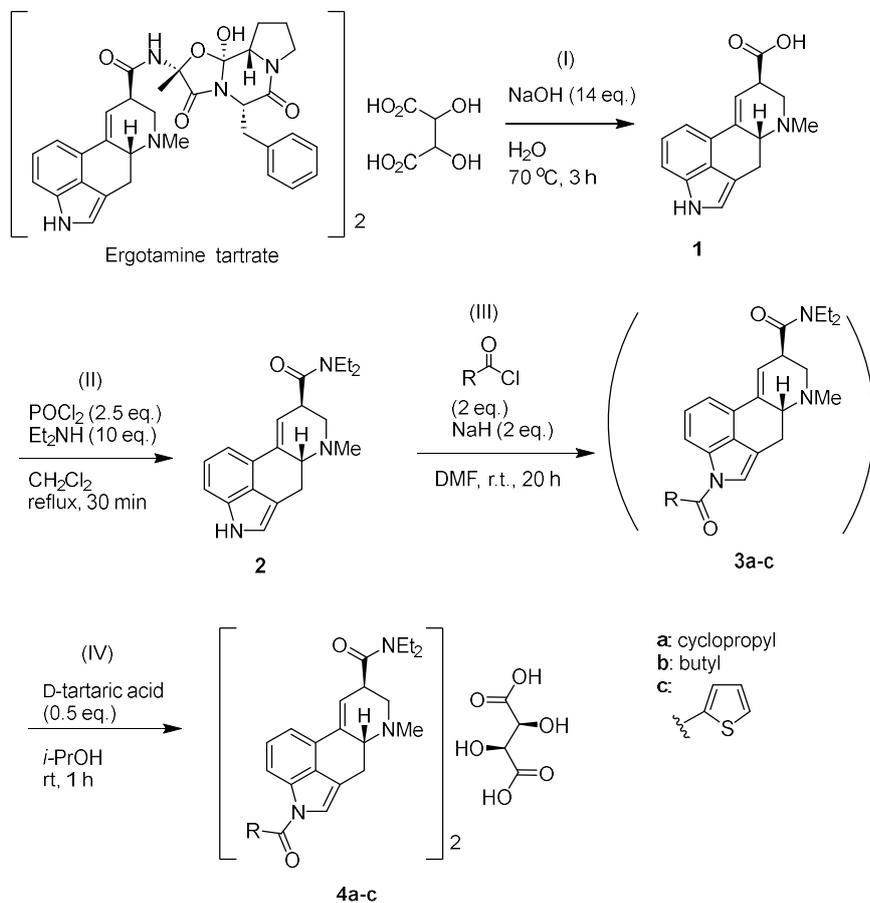


図4 LSD誘導体の合成経路

分担研究報告書

## ヒト iPS 細胞より作成した機能的神経細胞を用いた危険ドラッグ の有害作用の評価

分担研究者：富山 健一（国立精神・神経医療研究センター）

協力研究者：船田正彦（湘南医療大学 薬学部 薬理学研究室）

### 【研究要旨】

[緒言] 危険ドラッグとして流通する麻薬類似物質の中樞神経作用や報酬効果などは、動物を用いた行動薬理的な解析方法によって評価が可能となっている。一方で、ヒトに対する危険ドラッグの薬理(有害)作用の評価方法についてはまだ確立していない。特に、多数の薬物を一斉に評価する必要がある場合、ヒト由来の機能的培養細胞を用いた薬物スクリーニング法は、薬理作用や毒性の強度比較を同一条件下で迅速に実施することが可能である。そこで、本課題1年目では、ヒト由来ドパミン神経を用いて、細胞の機能的応答または毒性発現を指標とする危険ドラッグの新しい有害作用評価方法の確立を行う。

[結果] ヒト iPS 由来ドパミン神経および市販のヒトドパミン神経細胞を用いて、覚醒剤である methamphetamine および危険ドラッグである合成カチノンの神経細胞毒性について検討した。Methamphetamine および危険ドラッグである合成カチノンの添加によりヒト iPS 由来ドパミン神経および市販のヒトドパミン神経細胞は、いずれも濃度依存的に細胞毒性を発現した。

[考察] ヒト由来ドパミン神経を用いた神経細胞毒性評価は、感度が良くドパミン神経系を標的とする薬物の毒性評価に適していることが確認された。引き続き、危険ドラッグの薬理(有害)作用の評価に適したヒト由来ドパミン神経細胞の培養方法を検証していくことで、神経毒性だけでなく薬物の薬理作用に基づく機能評価にも応用可能であると考えられる。

### A. 研究目的

危険ドラッグ（未規制物質）として、中樞興奮作用を有する合成カチノン系化合物等の新規化合物の流通が確認されている<sup>1,2)</sup>。麻薬や覚醒剤と類似の作用を示すと考えられる未規制物質の中樞神経作用や報酬効果などは、動物を用いた行動薬理的な解析方法によって評価が可能となっている。一方で、ヒトに対する危険ドラッグの薬理(有害)作用の評価方法についてはまだ十分に確立していない。特に、危険ドラッグの毒性発現については、

生物個体よりも培養細胞を用いる方が、動物愛護の観点と迅速なスクリーニング法の観点から望ましい。そこで、本課題では、新たにヒト iPS 細胞より麻薬類似物質の主要な標的細胞であるドパミン神経を作成し、細胞の機能的応答または毒性発現を指標とする危険ドラッグの新しい有害作用評価方法の確立を行う。

### B. 研究方法

#### 1. 細胞培養

ヒト iPS 細胞株 (HPS2478) は、理化学研究所バイオリソース研究センターより購入し、Easy iMatrix-511 (1.6  $\mu$ g/mL, Takara)を用いてコーティングした dish 上にて StemFit AK02N (Takara) で培養した。iCell ドパミン神経細胞 (FUJIFILM Cellular Dynamics) はプロトコルに従って培養した。

## 2. ヒト iPS 由来 dopaminergic neuron の誘導

StemXVivo Neural Progenitor Differentiation Kit (R&D Systems) のプロトコルに従い、ヒト iPS 細胞株 (HPS2478) より神経前駆細胞を作成した。Poly-L-ornithine と fibronectin でコーティングした 96 well plate を作成し、ヒト iPS 由来神経前駆細胞は、 $5.0 \times 10^4$  で培養した。ドパミン神経の誘導は、StemXVivo Human/Mouse Dopaminergic Neuron Differentiation Kit (R&D Systems, 販売中止) のプロトコルを再現し、BrainPhys™ Neuronal Medium (STEMCELL Technologies) を基礎として、NeuroCult™ SM1 Neuronal Supplement (STEMCELL Technologies)、hFGF (100 ng/mL, Miltenyi Biotec)、hFGF8 (100 ng/mL, Miltenyi Biotec)、hBDNF (10 ng/mL, Miltenyi Biotec)、hSHH (200 ng/mL, FUJIFILM Wako Pure Chemical) および ascorbic acid (200  $\mu$ M/mL, Sigma-Aldrich) を添加した。2 日間ごとに培地を交換し、15 日間培養した。ヒト iPS 由来ドパミン神経細胞は、4%PFA にて固定し、anti-TH (sc-7847, 1:100) および anti-MAP2 (MAB3418, 1:100) にて蛍光免疫染色を行った。

## 3. ヒト由来ドパミン神経細胞の毒性発現解析

ヒト iPS 由来ドパミン神経細胞および iCell ドパミン神経細胞を用いて覚醒剤 (methamphetamine, METH) および合成カチノンとして 3-CMC 並びに dipentylone の神経毒性発現を比較した。それぞれの細胞は、培養 15 日目に BrainPhys™ Neuronal Medium+ SM1 に置き換え、培養条件を揃え 24 時間培養した。

翌日 methamphetamine を指定の濃度で添加して 24 時間培養した。細胞毒性の評価は、CellTiter-Glo™ Cell Viability Assay kit (Promega) を使用した。薬物添加 24 時間後の細胞生存率を細胞毒性のマーカーとして解析した。

## C. 研究結果

### 1. ヒト iPS 由来 dopaminergic neuron の誘導

StemXVivo Neural Progenitor Differentiation Kit およびヒト iPS 細胞株 (HPS2478) を用いて神経前駆細胞の分化を行なった。培養 7 日目に SOX-1 陽性細胞を確認した (図 1)。本 NPC を用いてドパミン神経細胞の誘導を行い、培養 15 日目にドパミン神経マーカーである tyrosine hydroxylase (TH) および神経マーカーである microtubule associated proteins 2 (MAP-2) の発現を確認した (図 2)。

### 2. ヒト由来ドパミン神経細胞毒性発現

METH、3-CMC 並びに dipentylone 処理 24 時間後にヒト iPS 由来ドパミン神経細胞および iCell ドパミン神経細胞の細胞生存率を評価した。METH、3-CMC 並びに dipentylone は、それぞれの細胞に対して濃度依存的に細胞生存率の低下を示した (図 3)。

## D. 考察

本研究では、ヒト iPS 細胞よりドパミン神経細胞の誘導を試み、市販のヒトドパミン神経細胞と機能を比較しながら、危険ドラッグの新しい評価系の基礎検討を行なった。ヒト iPS 細胞から神経前駆細胞を分化したところ、神経前駆細胞の主要なマーカーである SOX-1 陽性の細胞を得ることができた。この神経前駆細胞を用いてドパミン神経細胞の分化誘導を行ったところ、培養 15 日目でのヒト iPS 由来ドパミン神経細胞および iCell ドパミン神経細胞の自立発火を多点電極アレイ (MEA) 法で確認した (data not shown)。本細胞を用

いて、ドパミン神経細胞に対して細胞毒性を引き起こす依存性薬物の覚醒剤 (methamphetamine) および評価薬物として合成カチノンとして 3-CMC 並びに dipentylone の細胞毒性評価を行った。その結果、methamphetamine および 3-CM 並びに dipentylone は添加 24 時間後に、ヒト iPS 由来ドパミン神経細胞および iCell ドパミン神経細胞の細胞生存率を濃度依存的に低下させた。本結果から、ヒト細胞株からのドパミン神経に対する依存性薬物の毒性評価が可能となり、引き続き毒性発現メカニズムを解析していくことで、マウスの胎児より採取する初代培養神経細胞の代替法として活用できる可能性がある。依存性薬物の中でも methamphetamine や合成カチノン系化合物は、ドパミントランスポーター (DAT) の働きを阻害する<sup>3)</sup>。そこで iPS 由来ドパミン神経細胞の DAT 機能について、予備的に選択的阻害剤 GBR-12909 による DAT 取込み阻害作用を検討した。その結果、GBR-12909 による DAT 取込み阻害作用を確認した (data not shown)。引き続き、DAT 機能の評価方法を検討するとともに、今後は、ヒト iPS 由来ドパミン神経細胞および iCell ドパミン神経細胞からのドパミン分泌や vesicular monoamine transporter 2 (VMAT2) の発現も解析し、動物実験でモノアミンを測定するマイクロダイアリス法<sup>4)</sup>の補助または代替となり得るか検討する。また、危険ドラッグにおいては、セロトニン神経に作用して薬理作用を発現する薬物も存在する。最近、ヒト iPS 細胞から選択的なセロトニン神経の誘導方法が報告されてきた<sup>4)</sup>。引き続き、危険ドラッグ (未規制薬物) 評価のためのヒト由来ドパミン神経の最適な培養方法を探索するとともに、セロトニン神経においても培養を検討してく。

薬物の薬理作用を評価する上で、生体(個体)の行動薬理学評価は必須である。しかし、ヒトを対象とした未規制薬物の評価は現実的でなく、動物実験による評価が重要な役割を果たす。しかし、動物とヒトとの種間の差が

あることから、麻薬類似物質の主要な標的細胞であるドパミン神経を用いた評価系を確立することで、ヒトを反映した薬物特性の一端を収集可能になることが期待できる。

## F. 参考文献

- 2) Kuroepka P, Zawadzki M, Szpot P. A review of synthetic cathinones emerging in recent years (2019-2022). *Forensic Toxicol.* 41: 25-46, 2023.
- 3) Barenholtz E, Krotulski AJ, Morris P, Fitzgerald ND, Le A, Papsun DM, Logan BK, Hahn WE, Goldberger BA, Cottler LB, Palamar JJ. Online surveillance of novel psychoactive substances (NPS): Monitoring Reddit discussions as a predictor of increased NPS-related exposures. *Int J Drug Policy.* 2021 Dec;98:103393. doi: 10.1016/j.drugpo.2021.103393. Epub 2021 Aug 5. PMID: 34365124; PMCID: PMC8671170.
- 4) Banks ML, Worst TJ, Rusyniak DE, Sprague JE. Synthetic cathinones ("bath salts"). *J Emerg Med.* 46: 632-42, 2014.
- 5) Lu J, Zhong X, Liu H, Hao L, Huang CT, Sherafat MA, Jones J, Ayala M, Li L, Zhang SC. Generation of serotonin neurons from human pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol.* 34: 89-94, 2016.
- 6) Nakatsuka N, Heard KJ, Faillétaz A, Momotenko D, Vörös J, Gage FH, Vadodaria KC. Sensing serotonin secreted from human serotonergic neurons using aptamer-modified nanopipettes. *Mol Psychiatry.* 26: 2753-2763, 2021.
- 7) Holmes J, Lau T, Saylor R, Fernández-Novel N, Hersey M, Keen D, Hampel L, Horschitz S, Ladewig J, Parke B, Reed MC, Nijhout HF, Best J, Koch P, Hashemi P. Voltammetric Approach for Characterizing the Biophysical and

Chemical Functionality of Human Induced  
Pluripotent Stem Cell-Derived Serotonin  
Neurons. Anal Chem. 94: 8847-8856, 2022.

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

- 22) 富山健一, 船田正彦：新規合成オピオイド isotonitazene の薬理学的特性の解析,  
2023 年度アルコール・薬物依存関連学  
会合同学術総会, 岡山, 2023 年 10 月  
13-15 日.

## I. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得、実用新案登録、その他  
特になし

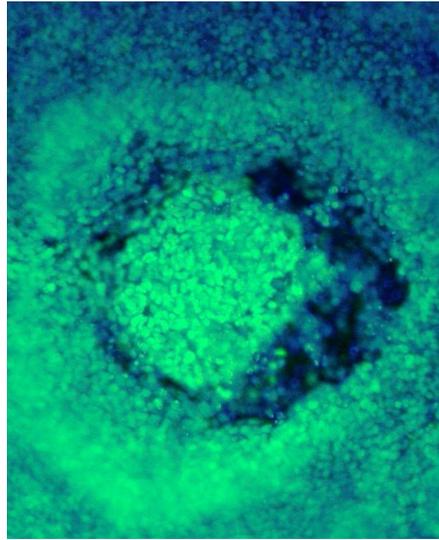


Fig. 1. Differentiation of induced pluripotent stem cells into neural progenitor cells. After 7 days of differentiation, cells were imaged using a microscope Biozero (Keyence). The human induced pluripotent stem cells were differentiated into neural progenitor cells using the media supplements included in this kit. After 7 days of differentiation, cells were imaged using brightfield microscopy. Cells demonstrate rosette formation characteristic of neural progenitor cells in culture. To evaluate lineage commitment, the cells were stained with the anti-Human SOX1 antibody (green).

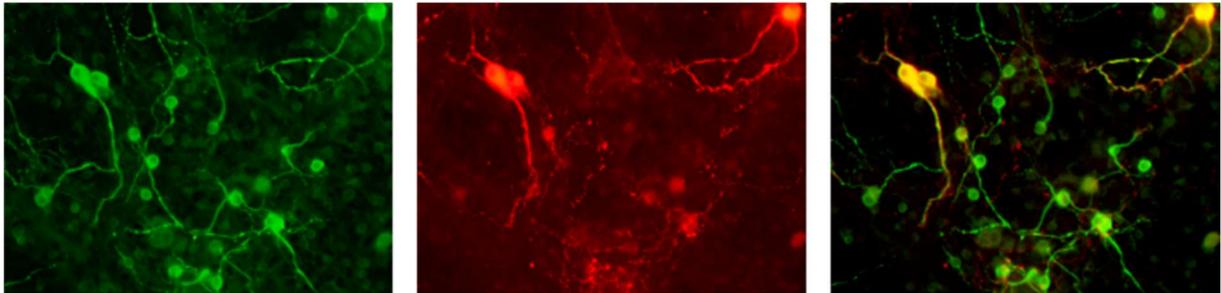


Fig. 2. Characterization of Dopaminergic Neurons Generated from Human Pluripotent Stem Cells. Dopaminergic neurons were generated from human pluripotent stem cells as described methods. MAP-2 was detected using Anti-MAP2 Monoclonal Antibody (Merck, Catalog # MAB3418, 1:100; green). Tyrosine Hydroxylase was detected using Mouse Anti-Human Tyrosine Hydroxylase Monoclonal Antibody (Santa Cruz, Catalog # sc-7847, 1:100; red).

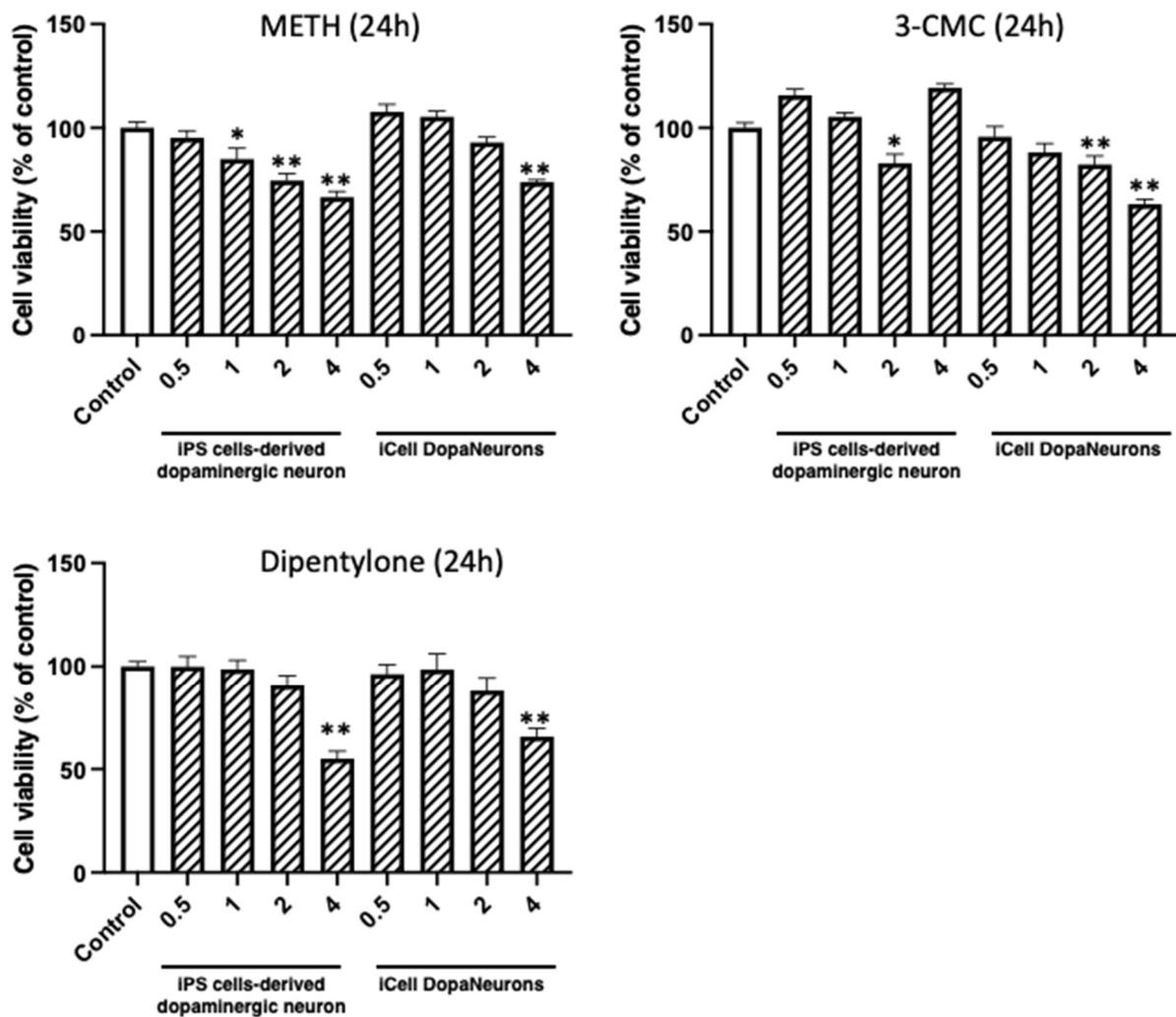


Fig.3. Cell viability in iPS cells-derived dopaminergic neurons and iCell DopaNeurons after treatment with methamphetamine, 3-CMC and dipentylone.

The relative value of cell viability compared to the baseline value for control and iPS cells-derived dopaminergic neurons/iCell DopaNeurons treated with methamphetamine (METH, 0.5-4 mM), 3-CMC (0.5-4 mM) and dipentylone (0.5-4 mM) for 24 h. Mean percent changes  $\pm$  S.E.M. are shown. Statistical significance was evaluated with one-way analysis of variance. The Dunnett's multiple comparison test was used to determine significant differences in the percentage of cells showing cell viability from that observed in controls at the 24 h time point. \* $p$ <0.05, \*\* $p$ <0.01 vs. control.

分担研究報告書

コンピュータシミュレーションを利用した薬物受容体活性予測

分担研究者：栗原正明（湘南医療大学 薬学部）  
協力研究者：市丸 嘉（湘南医療大学 薬学部）  
協力研究者：荒井裕美子（国際医療福祉大学薬学部）

【研究要旨】

[緒言] 危険ドラッグが依然として大きな社会問題となっている。それに伴い、危険ドラッグの速やかな規制が求められており、そのための迅速な評価法開発が急務となっている。迅速な評価法構築を支援するツールとして、インシリコ活性予測法が有効である。本研究では、コンピュータを用いた化学計算によるインシリコ活性予測を行い、危険ドラッグの規制、特に包括指定の範囲を決めるデータを供することを目的とする。

LSD 誘導体の包括指定を行うことを想定し、LSD 誘導体の包括範囲を考察する。現在までにすでに指定薬物あるいは麻薬原料になっている LSD 誘導体から包括指定の範囲をまとめる。

[結果] 現在までにすでに麻薬、指定薬物あるいは麻薬原料に指定されている LSD 誘導体から包括指定の範囲をまとめた。LSD 誘導体の  $R^1$ 、 $R^4$  のバリエーションによって範囲のマトリックスを作成した。(Table 1)

[考察] 活性未知の誘導体のマトリックスを作成するために、QSAR によって活性予測を行うにあたり、活性が既知の類縁体のデータが必要である。文献、実験等より活性既知のデータの収集が重要である。

A. 研究目的

本研究では、危険ドラッグの化学構造に着目して、物質の中枢作用および細胞毒性の発現を予測するための評価システムを構築する。コンピュータシミュレーションを利用して、マウスによる行動薬理学的実験および培養細胞実験から得られる有害作用データと化学構造との相関性を検証する。ターゲットとする危険ドラッグは、世界的に流通量が多い LSD 誘導体およびフェンタニル誘導体とする。本研究成果を通じて、LSD 誘導体およびフェンタニル誘導体に関して、包括指定に資する科学的データを収集するとともに、危険ドラッグ包括指定の妥当

性について検証する。

B. 研究方法

LSD 誘導体の包括指定を行うことを想定し、LSD 誘導体の包括範囲を考察する。現在までにすでに指定薬物あるいは麻薬原料になっている LSD 誘導体から包括指定の範囲をまとめる。

LSD および LSD 誘導体の構造を Fig 1, 2 に示した。

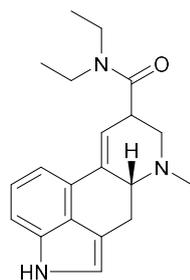


Fig 1 LSD

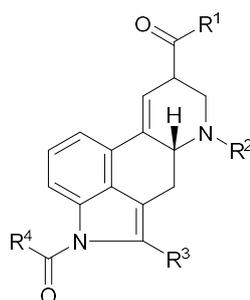


Fig 2 LSD 誘導体

### C. 研究結果

現在までにすでに麻薬、指定薬物あるいは麻薬原料になっている LSD 誘導体から包括指定の範囲をまとめた。LSD 誘導体の R<sup>1</sup>、R<sup>4</sup> のバリエーションによって範囲のマトリックスを作成した。その構造を Table 1 に示した。

### D. 考察

誘導体の R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup> はバリエーションが少なく、R<sup>1</sup>、R<sup>4</sup> のバリエーションによって範囲を指定することが重要であると考えられる。ただ、QSAR によって活性予測を行うにあたり、活性が既知の類縁体のデータが必要である。文献等より活性既知のデータの収集が重要である。

### E. 結論

包括指定を視野に入れて、LSD 誘導体の R<sup>1</sup>、R<sup>4</sup> のバリエーションによって規制誘導体の見込み範囲のマトリックスを作成した。(Table

1)

活性未知の誘導体のマトリックスを作成するために、QSAR によって活性予測を行うにあたり、活性が既知の類縁体のデータが必要である。文献、実験等より活性既知のデータの収集が重要である。次年度の課題としたい。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

14) Moriya S, Funaki K, Demizu Y, Kurihara M, Kittaka A, Sugiyama T.: Synthesis and properties of PNA containing a dicationic nucleobase based on N4-benzoylated cytosine.: *Bioorg Med Chem Lett.* 2023 May 15;88:129287.

15) Ichimaru Y, Kato K, Kurihara M, Jin W, Koike T, Kurosaki H.: Bis(nitrato-κO)(1,4,8,11-tetra-aza-cyclo-tetra-decane-κ4 N)zinc(II) methanol monosolvate.: *IUCrdata.* 2022 Aug 31;7(Pt 8):x220854.

16) Moriya S, Yoneta Y, Kuwata K, Imamura Y, Demizu Y, Kurihara M, Kittaka A, Sugiyama T: Peq1 Facilitates DNA Strand Invasion by PNA: *Peptide Science* 2021, 2022, 111-112

### 2. 学会発表

1) 大環状ポリアミン-亜鉛錯体の単結晶 X 線結晶構造解析：市丸 嘉、加藤 絢一、小池 透、黒崎 博雅、栗原 正明：日本薬学会第 143 年会（2023/03）

2) 市丸嘉、加藤絢一、栗原正明、黒崎博雅：アントラセンを導入した Bis(2-picoyl)amine 誘導体-亜鉛錯体の DNA 光切断活性：第 67 回日本薬学会関東支部大会（2023/9/16, 東京）

3) Shun-suke Moriya, Yosuke Demizu, Masaaki Kurihara, Atsushi Kittaka,

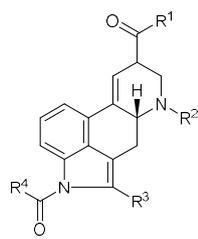
Toru Sugiyama: Strand invasion by  
PNA containing preQ1: 第 50 回国際核  
酸化学シンポジウム (2023/11/1-3) 宮崎

- 4) Shun-suke Moriya, Mai Kiyosue, Yosuke  
Demizu, Masaaki Kurihara, Atsushi Kittaka,  
Toru Sugiyama: Properties of peptide  
nucleic acid containing n4  
-bis(aminomethyl)-benzoylated cytosine for  
enhanced DNA binding: 第 60 回ペプチド  
討論会 (2023/11/8-10) 滋賀

J. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得、実用新案登録、その他  
特になし

Table 1



$R^2=CH_3$ ,  $R^3=H$

$R^4$	$R^1$
H	

## 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
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
Nakamura, Mari; Hojo, Motoki; Kawai, Ayaka; Ikushima, Kiyomi; Nagasawa, Akemichi; Takahashi, Hideyo; Makino, Kosho; Suzuki, Toshinari; Suzuki, Jin; Inomata, Akiko.	An application of the magnetometer detection system to Crl:CD1 (ICR) mice for head twitch response induced by hallucinogenic 5-HT <sub>2A</sub> agonists.	Fundamental Toxicological Sciences	10	189-197	2023
Chiba, Arisa; Tanaka, Ryoko; Hotta, Mayuno; Nakamura, Kayo; Makino, Kosho; Tabata, Hidetsugu; Oshitari, Tetsuta; Natsugari, Hideaki; Takahashi, Hideyo.	Stereochemistry of N-Acyl-5H-dibenzo[b,d]azepin-7(6H)-ones. Molecules,	Molecules	28	4734	2023
Nakagawa, Yoshio ; Suzuki, Jin; Suzuki, Toshinari; Takahashi, Hideyo; Makino, Kosho; Ono, Yasushi; Sakamoto, Miho; Inomata, Akiko.	Cytotoxic effects of psychoactive isobutyrylfentanyl and its halogenated derivatives on isolated rat hepatocytes.	Journal of Applied Toxicology	43	1379-1392	2023
Funaki, Kaoru; Tabata, Hidetsugu; Nakazato, Yusuke; Takahashi, Yuka; Tasaka, Tomohiko; Takahashi, Hideyo; Natsugari, Hideaki; Oshitari, Tetsuta	Atropodiastereoselective 5N-acylation of 1,5-benzodiazepin-2-ones with (S)-2-phenylpropanoyl and (S)-2-phenylbutanoyl Chlorides.	Journal of Organic Chemistry	87	15289-15300.	2022

Tanaka, Ryoko; Nabaee, Ayana; Yamane, Koki; Makino, Kosho; Tabata, Hidetsugu; Oshitari, Tetsuta; Natsugari, Hideaki; Takahashi, Hideyo.	Atropisomeric properties of N-alkyl/aryl 5H-dibenz[b,f]azepines.	Chemical & Pharmaceutical Bulletin	70	573-579	2022
Tanaka, Ryoko; Makino, Kosho; Tabata, Hidetsugu; Oshitari, Tetsuta; Natsugari, Hideaki; Takahashi, Hideyo.	Axial chirality and affinity at the GABAA receptor of triazolobenzodiazepines.	Bioorganic & Medicinal Chemistry	64	116758	2022
Tanaka, Ryoko; Makino, Kosho; Tabata, Hidetsugu; Oshitari, Tetsuta; Natsugari, Hideaki Takahashi, Hideyo.	Atropisomeric properties of 9-methyl-1,4-benzodiazepin-2-ones.	Synthesis	53	4682-4688	2022
Takuya Namba, Mayuno Hotta, Hidetsugu Tabata, Kosho Makino, Tetsuta Oshitari, Hideaki Natsugari, Hideyo Takahashi.	Atropisomeric Properties of N-acyl/N-sulfonyl 5H-dibenzo[b,d]azepin-7(6H)-ones.	Journal of Organic Chemistry	86	7563-7578	2021
Kanase, Yuki; Makino, Kosho; Takashi Yoshinaga; Tabata, Hidetsugu; Oshitari, Tetsuta; Natsugari, Hideaki; Takahashi, Hideyo.	Conformational properties and M1 antimuscarinic activity of 4-substituted pirenzepine/telenzepine analogues.	Heterocycles	101	273-283	2020
Moriya S, Funaki K, Demizu Y, Kurihara M, Kittaka A, Sugiyama T.	Synthesis and properties of PNA containing a dicationic nucleobase based on N4-benzoylated cytosine.	Bioorg Med Chem Lett.	2023	May 15;88:129-287.	2023
Ichimaru Y, Kato K, Kurihara M, Jin W, Koike T, Kurosaki H.	Bis(nitrato-κO)(1,4,8,11-tetra-aza-cyclo-tetra-decane-κ4 N)zinc(II) methanol monosolvate.	IUCrdata	2022	Aug 31;7(Pt 8):x220854.	2022
Moriya S, Yoneta Y, Kuwata K, Imamura Y, Demizu Y, Kurihara M, Kittaka A, Sugiyama T.	PreQ1 Facilitates DNA Strand Invasion by PNA.	Peptide Science 2021	2022	111-112	2022

令和 6 年 3 月 1 日

厚生労働大臣 殿

機関名 湘南医療大学  
所属研究機関長 職名 学長  
氏名 大屋敷 英志枝

次の職員の令和 5 年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 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
2. 研究課題名 精神活性物質の化学構造に基づく乱用危険性予測に関する研究(23KC1002)
3. 研究者名 (所属部局・職名) 湘南医療大学 薬学部・教授  
(氏名・フリガナ) 船田 正彦・フナダ マサヒコ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:湘南医療大学 薬学部 動物実験等に関する規程)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	湘南医療大学 薬学部 動物実験委員会	<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和 6 年 3 月 1 日

厚生労働大臣 殿

機関名 湘南医療大学  
所属研究機関長 職名 学長  
氏名 大屋敷 英志枝

次の職員の令和5年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 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
2. 研究課題名 精神活性物質の化学構造に基づく乱用危険性予測に関する研究(23KC1002)
3. 研究者名 (所属部局・職名) 湘南医療大学 薬学部・教授  
(氏名・フリガナ) 栗原 正明・クリハラ マサアキ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和 6 年 3 月 1 日

厚生労働大臣 殿

機関名 国立精神・神経医療研究センター

所属研究機関長 職名 理事長

氏名 中込 和幸

次の職員の令和 5 年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 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
2. 研究課題名 精神活性物質の化学構造に基づく乱用危険性予測に関する研究(23KC1002)
3. 研究者名 (所属部局・職名) 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・室長  
(氏名・フリガナ) 富山 健一・トミヤマ ケンイチ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。

・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和5年12月22日

厚生労働大臣 殿

機関名 学校法人東京理科大学

所属研究機関長 職名 理事長

氏名 浜本 隆之

次の職員の令和5年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 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

2. 研究課題名 精神活性物質の化学構造に基づく乱用危険性予測に関する研究(23KC1002)

3. 研究者名 (所属部局・職名) 東京理科大学 薬学部薬学科・教授

(氏名・フリガナ) 高橋 秀依・タカハシ ヒデヨ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: )	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: )
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由: )
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容: )

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。  
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。