

令和 6 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 7 年 3 月

研究代表者：船田正彦

目 次

令和6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6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6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	-----	31
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	-----	40
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	-----	45

令和 6 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】

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。国内においても、半合成カンナビノイドを含む「大麻グミ」による健康被害や LSD 誘導体を含む製品使用による飛び降り事故などが発生しており、深刻な状況である。米国では新規の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継続しており、「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、LSD 誘導体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およびドパミン遊離機能解析を行い、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、LSD 誘導体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。LSD 誘導体(AL-LAD、LSZ、1P-LSD、ALD-52、1cP-LSD)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小型蛍光検出器での薬物検出の可否について検討した。さらに、行動解析によるデータとの関連性についても検討した。セロトニン受容体の活性強度に関する評価細胞の構築に関しては、CHO-5HT_{2A} 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_{2A}-GCaMP 細胞を構築した。本細胞を利用して、AL-LAD、LSZ、1P-LSD、ALD-52、1cP-LSD について解析した。その結果、5HT_{2A} 受容体活性化の強度は、AL-LAD>LSZ>1P-LSD>ALD-52 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_{2A}-GCaMP 細胞を培養した。チューブ内へ LSD 誘導体を添加したところ、AL-LAD、LSZ、1P-LSD、ALD-52 について蛍光発光を検出することが可能であり、据え置き型の大型蛍光検出器と同様の結果となった。小型蛍光検出器による LSD 誘導体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、LSD 誘導体により Head-twitch response (HTR) が誘発され、HTR 発現強度は AL-LAD > LSZ > 1P-LSD > ALD-52 であった。LSD 誘導体による HTR の発現において、5-HT_{2A} 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。

[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た。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た。フェンタニル誘導体については、今年度も引き続き、軸不斉の有無及びフェネチル部位について異なる様々なフェンタニル誘導体を合成した。本構造活性相関研究によって 180 種類を超える化合物をライブラリー化することができ、アンタゴニスト活性を示すために重要な構造を見いだすこともできた。LSD の誘導体については、引き続き合成を続け、第三級置換基が異なる LSD 誘導体を含む 8 種を合成し、共同研究者に提供した。フェンタニル誘導体については、アニリノ基の 2' 位及び 6' 位に置換基があることで、アニリノ基がねじれることがアンタゴニスト活性発現の鍵になると推察された。加えて、フェネチル部位をかき高くすることによってもアンタゴニスト活性が発現することがわかった。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や酸性化合物との塩形成の種類にかかわらず、光に対して不安定であることがわかり、市中に流通している LSD 誘導体の化合物としての純度は時間の経過とともに低下することが推察された。

[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。また、胎生 15 日目のマウス新生胎児より forebrain を切り出し、培養を行った。これらの細胞を用いて、神経細胞毒性、DAT の阻害作用ならびにドパミンの遊離作用を評価した。覚醒剤 methamphetamine (1-4 mM) および合成カチノン N-ethylheptedrone (0.25-1 mM) 処理 24 時間後にヒト iPS 由来ドパミン神経細胞、iCell® ドパミン神経細胞およびマウス由来神経細胞の細胞生存率を有意に低下した。ヒト iPS 由来ドパミン神経細胞において、取込み阻害作用を示す GBR-12909 を処理したところ、1 μ M 濃度で有意な阻害作用を示したが METH と N-ethylheptedrone による取込み阻害作用は認められなかった。一方で、iCell® ドパミン神経細胞では、1 μ M 濃度の GBR-12909 と 10 μ M 濃度の N-ethylheptedrone において有意な阻害作用を示した。マウス由来神経細胞では、いずれの化合物においても取込み阻害作用は認めら

れなかった。ヒト iPS 由来ドパミン神経細胞および iCell®ドパミン神経細胞に METH (10 μ M)の刺激を行ったところ、iCell®ドパミン神経細胞から有意なドパミンの遊離を確認した。本研究により、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ドパミン神経の機能を有することが明らかになった。特に、iCell®ドパミン神経細胞はドパミンの遊離作用も認められたことから、覚醒剤類似物質の評価に適していると考えられた。

[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。本年度は QSAR (定量的構造活性相関)を用いて、LSD 誘導体の活性値を予測することを目的とした。LSD 誘導体 10 化合物と 5-HT_{2A} 受容体に強い親和性を持つ化合物群 24 化合物を母集団に加えて QSAR 解析を行った。比較的良い QSAR 式 ($R_2=0.856937$) を得ることができた。また、活性値のある程度の傾向を予測することはできた。さらに正確な予測値を得るためには LSD 誘導体のバリエーションの活性値が必要である。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。

結論：(1) 本研究では、LSD 誘導体の検出用細胞として CHO-5HT_{2A}-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 LSD 誘導体に関して、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。合成したフェンタニル誘導体の中で軸不斉を有する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 μ 受容体に結合していることが示唆された。また、アンタゴニスト活性を示す鍵となる化学構造が明らかになった。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 誘導体については、LSD 誘導体の光安定性が低いこと、及び、酒石酸塩形成による安定性の向上が明らかになった。しかし、酒石酸塩でも十分な光安定性は確保されないことから、流通している未規制の LSD 誘導体には光によって分解するものが多いと予想され、市中での使用において分解物等による毒性が生じることが懸念される。(3) ヒト iPS 細胞より誘導したドパミン神経を用いた神経細胞毒性評価は、マウス脳由来の神経細胞と同様に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。ヒトドパミン神経細胞においては、覚醒剤や合成カチノンの標的となる DAT の取込み阻害作用と methamphetamine によるドパミンの分泌促進作用も認められたことから、評価に適した細胞であると考えられる。引き続き、危険ドラッグの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条件等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マウス由来細胞や動物実験の代替手法として応用可能であると考えられる。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、ヒトへの毒性を想定した危険ドラッグの有害作用データの収集が可能になるものと期待できる。(4) 包括指定を視野に入れて、LSD 誘導体の 2 か所の置換基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 LSD 誘導体について、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フェンタニルの化合物および LSD 誘導体の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。

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

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

栗原正明

湘南医療大学 薬学部 教授

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。

国内の最近の問題としては、半合成カンナビノイドを含む「大麻グミ」による健康被害や LSD 誘導体を含む製品使用による飛び降り事故などが発生しており、深刻な状況である。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ありリストアップされている。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

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

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。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。

危険ドラッグ規制において、その化学構造に着目して、置換基のバリエーションと活性の関連性を精査することで、一括で複数の化合物を規制する「包括指定」は広範囲の規制が可能になるため効果的である。危険ドラッグをターゲットとして、包括指定に資する科学的データを収集し、その妥当性を検証することが重要となる。

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 LSD 誘導体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_{2A} 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_{2A}-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 LSD 誘導体の評価を行った。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

本研究では、LSD 誘導体(AL-LAD、LSZ、1P-LSD、ALD-52、1cP-LSD)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小型蛍光検出器での薬物検出の可否について検討した。さらに、行動解析によるデータとの関連性についても検討した。セロトニン受容体の活性強度に関する評価細胞の構築に関しては、CHO-5HT_{2A} 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_{2A}-GCaMP 細胞を構築した。本細胞を利用して、AL-LAD、LSZ、1P-LSD、ALD-52、1cP-LSD について解析した。その結果、5HT_{2A} 受容体活性化の強度は、AL-LAD > LSZ > 1P-LSD > ALD-52 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_{2A}-GCaMP 細胞を培養した。チューブ内へ LSD 誘導体を添加したところ、AL-LAD、LSZ、1P-LSD、ALD-52 について蛍光発光を検出することが可能であり、据え置き型の大型蛍光検出器と同様の結果となった。小型蛍光検出器による LSD 誘導体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、LSD 誘導体により Head-twitch response (HTR) が誘発され、HTR 発現強度は AL-LAD > LSZ > 1P-LSD > ALD-52 であった。LSD 誘導体による HTR の発現において、5-HT_{2A} 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、フェネチル部に関して網羅的な化学合成を行い、合計で 180 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 μ 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 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た。最も活性の高い化合物はオピオイド μ 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。アゴニスト活性を示すフェンタニルの構造を基にしてアンタゴニスト活性をもつ化合物が創出されたことは大変興味深く、アゴニスト活性を示す鍵となる構造を探索した。その結果、アニリノ部位がアミド部位に対してねじれることが重要とわかった。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。加えて、第三級アミド部位の置換基が異なる誘導体を合成し、合計で 8 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が明らかになり、安定化させるべく、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。残念ながら、酒石酸塩であっても光に対して十分な安定性が確保されているわけではなく、長期保存については、遮光が必要であることがわかった。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

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学的な解析方法

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。ヒトへの影響を想定し、本課題では、ヒト iPS 細胞より覚醒剤類似物質や麻薬類似物質の主要な標的細胞であるドーパミン神経を作成し、細胞の毒性発現または機能的応答を指標とする危険ドラッグの新しい有害作用評価法の検討を行った。

ヒト iPS 細胞株 (HPS2478) を用いて神経前駆細胞さらにドーパミン神経の誘導を行った。iCell® ドーパミン神経細胞 (FUJIFILM Cellular Dynamics) はプロトコルに従って培養した。また、胎生 15 日目のマウス新生胎児より forebrain を切り出し、培養を行った。これらの細胞を用いて、神経細胞毒性、DAT の阻害作用ならびにドーパミンの遊離作用を評価した。覚醒剤 methamphetamine (1-4 mM) および合成カチノン N-ethylheptedrone (0.25-1 mM) 処理 24 時間後にヒト iPS 由来ドーパミン神経細胞、iCell® ドーパミン神経細胞およびマウス由来神経細胞の細胞生存率を有意に低下した。ヒト iPS 由来ドーパミン神経細胞において、取込み阻害作用を示す GBR-12909 を処理したところ、1 μ M 濃度で有意な阻害作用を示したが METH と N-ethylheptedrone による取込み阻害作用は認められなかった。一方で、iCell® ドーパミン神経細胞では、1 μ M 濃度の GBR-12909 と 10 μ M 濃度の N-ethylheptedrone において有意な阻害作用を示した。マウス由来神経細胞では、いずれの化合物においても取込み阻害作用は認められなかった。ヒト iPS 由来ドーパミン神経細胞および iCell® ドーパミン神経細胞に METH (10 μ M) の刺激を行ったところ、iCell® ドーパミン神経細胞から有意なドーパミンの遊離を確認した。本研究により、ヒト iPS 由来ドーパミン神経細胞および iCell® ドーパミン神経細胞はドーパミン神経の機能を有することが明らかになった。特に、iCell® ドーパミン神経細胞はドーパミンの遊離作用も認められたことから、覚醒剤類似物質の評価に適していると考えられた。

[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 (Fig.A) 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。LSD 誘導体 10 化合物と 5-HT_{2A} 受容体に強い親和性を持つ化合物群 24 化合物を母集団に加えて QSAR 解析を行った。得られた QSAR 式を用いて LSD 化合物 (すでに規制されている) の 5-HT_{2A} 受容体に対する親和性を予測した。いずれの化合物も活性を高く見積もる傾向であった。しかし、値の大小関係は一致した。

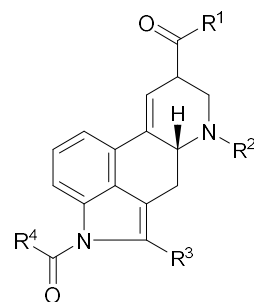


Fig A LSD 誘導体

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

LSD 誘導体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_{2A} 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_{2A}-GCaMP 細胞を構築した。LSD 誘導体により、セロトニン 5HT_{2A} 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、LSD 誘導体は Head-twitch response (HTR) を誘発し、この HTR の発現はセロトニン 5-HT₂ 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検出能を検証した。その結果、本小型検出器で、LSD 誘導体の検出が可能であった。

本研究では、LSD 誘導体の検出用細胞の CHO-5HT_{2A}-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 LSD 誘導体に関して、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 μ 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。特に、アンタゴニスト活性について構造活性相関研究により、アニリノ部位のねじれが重要であることがわかった。これは、 μ オピオイド受容体がアゴニスト及びアンタゴニストをどのように識別するか、そのメカニズムの解明にとっては重要な情報である。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、第三級アミドの異な

る誘導体を合成したが、いずれも光安定性に問題があった。これに対し、酒石酸による塩形成によって化学安定性は向上したが、長期間の保存のためには酒石酸塩であっても遮光することが好ましい。市中に流通するフェンタニル誘導体は遮光されていないため、分解等が起こっている可能性がある。

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 iCell[®] 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。本結果から、ヒト由来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考えられた。ドパミン神経細胞の機能として DAT によるドパミンの取込み機能とドパミンの分泌作用を評価した。今回の検討では、特に iCell[®] ドパミン神経細胞において、DAT 選択的阻害剤 GBR-12909 や合成カチノンによる DAT 取込み阻害作用や methamphetamine によるドパミン分泌促進作用が確認できたことから、DAT を強制発現させた細胞株や動物を用いたマイクロダイアリシス法と併用することで、よりヒトを想定した危険ドラッグ作用の評価が可能になると考えられた。

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

本年度は QSAR (定量的構造活性相関) を用いて、LSD 誘導体の活性値を予測することを目的とした。LSD 誘導体の既知の活性値 (5-HT_{2A} 受容体の親和性) は少なく QSAR 解析をすることは難しい。そこで、LSD 誘導体以外で 5-HT_{2A} 受容体に強い親和性を持つ化合物群を母集団に加えて QSAR 解析を実施し、比較的良い QSAR

式 ($R_2=0.856937$) を得ることができた。本QSAR式を利用して、活性値の傾向を予測できる可能性が示唆された。

D. 結 論

本研究では、LSD 誘導体の検出用細胞として CHO-5HT_{2A}-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 LSD 誘導体に関して、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 180 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。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。

本研究により、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覚醒剤や合成カチノンによって細胞毒性を示すことから、マウスの初代培養と並行することで、動物の使用を減らすことが可能になると考えられる。また、市販の iCell®ドパミン神経細胞 (FUJIFILM Cellular Dynamics) は DAT とドパミン分泌作用を有しており、ヒトへの影

響を想定した評価系の構築に寄与する可能性がある。一方で、市販細胞はコストがかかることから、継代可能な iPS 細胞由来の神経前駆細胞の維持、効率的なドパミン神経やセロトニン神経の誘導法を引き続き、検証する必要がある。

本研究成果から、危険ドラッグである LSD 誘導体について、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) Takano, Ryota; Tanaka, Ryoko; Nakamura, Kayo; Tabata, Hidetsugu; Oshitari, Tetsuta; Natsugari, Hideaki; Takahashi, Hideyo. Stereochemical properties of quazepam and

- its affinity for the GABA_A receptor. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2024, 110, 129854.
- 2) Arita, Hironobu; Tanaka, Ryoko; Kikukawa, Shuntaro; Tomizawa, Tsukasa; Sakata, Haruka; Funada, Masahiko; Tomiyama, Kenichi; Hashimoto, Masaru ; Tasaka, Tomohiko; Tabata, Hidetsugu ; Nakamura, Kayo; Makino, Kosho; Oshitari, Tetsuta ; Natsugari, Hideaki ; Takahashi, Hideyo. Fentanyl-Type Antagonist of the μ -Opioid Receptor: Important Role of Axial Chirality in the Active Conformation. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2024, 67, 10447-10463.
 - 3) Suga, Mayuko; Fukushima, Saki; Makino, Kosho; Nakamura, Kayo; Tabata, Hidetsugu ; Oshitari, Tetsuta ; Natsugari, Hideaki ; Kuroda, Noritaka; Kanemaru, Kunio; Oda, Yuji; Takahashi, Hideyo. Isomerization of E-Cinnamamides into Z-Cinnamamides Using a Recycling Photoreactor. *Journal of Organic Chemistry*, 2024, 89, 8836-8844.
 - 4) Kasai, Satoka; Ogawa, Natsuki; Takagi, Miho; Takahashi, Yukino; Makino, Kosho; Arita, Hironobu; Takahashi, Hideyo; Yoshizawa, Kazumi. Fentanyl analogs exert antinociceptive effects via sodium channel blockade in mice. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2024, 47, 872-877.
 - 5) Ichimaru Y., Sugiura K., Kato K., Kondo Y., Kurihara M., Jin W., Imai M., Kurosaki H., [1-(Anthracen-9-ylmeth-yl)-1,4,7,10-tetra-az a-cyclododeca-ne]chlorido-zinc(II) nitrate, *IUCrData*, 2024, 9, x240665.
 - 6) 荒井裕美子, 湯山円晴, 佐藤忠章, 栗原正明, QSAR によるフェンタニル系化合物のインシリコ活性予測: 国際医療福祉大学学会誌, 29, 2024, 102-109
2. 学会発表
 - 1) 船田正彦. 米国におけるオピオイド乱用・依存問題の現状. 2024 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会. (東京、2024 年 9 月 22 日)
 - 2) 船田正彦. 米国におけるオピオイド乱用・依存問題の現状. 2024 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会. (東京、2024 年 9 月 22 日)
 - 3) 船田正彦、池上大吾、富山健一「米国におけるオピオイド乱用・依存問題の現状」日本薬学会 第 145 年会 (福岡、2025 年 3 月)
 - 4) 富山健一, 船田正彦: 新規合成オピオイド系化合物の薬理作用の評価について, 2024 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会, 砂防会館 シェーンバッハ・サボー, 2024 年 9 月 21 日.
 - 5) 二井信行, 長谷川翔大, 辻野南, 高野温, 富山健一, 船田正彦: 危険ドラッグの迅速包括検出のためのモバイル細胞培養デバイス, 2024 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会, 砂防会館 シェーンバッハ・サボー, 2024 年 9 月 20 日.
 - 6) 富山健一, 船田正彦: 危険ドラッグに含まれる大麻成分 THC 類似物質の薬理学的特性の解析, 2024 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会, 砂防会館 シェーンバッハ・サボー, 2024 年 9 月 19 日.
 - 7) 西本瑞葉、有田浩暢、菊川俊太郎、富澤幸、坂田遥佳、富山健一、中村佳代、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合成と立体構造の解明」 第 68 回 日本薬学会 関東支部大会 (新潟、2024 年 9 月)
 - 8) 鈴木将伸、山根光騎、中村佳代、田畑英嗣、忍足鉄太、夏莉英昭、高橋秀依 「5H-Dibenzo[b,f]azepine の立体構造の解明」 第 68 回 日本薬学会 関東支部大会 (新潟、2024 年 9 月)

- 9) 伊藤乃藍、須賀真悠子、中村佳代、田畑英嗣、忍足鉄太、夏苺英昭、高橋秀依「ビタミン B2 を光増感剤とする医薬品の光分解」第 68 回 日本薬学会 関東支部大会 (新潟、2024 年 9 月)
- 10) 鐘司彩芽、田村純菜、中野深祥、中村佳代、田畑英嗣、忍足鉄太、夏苺英昭、伊藤清美、高橋秀依「新規 Menkes 病治療薬の開発」第 68 回 日本薬学会 関東支部大会 (新潟、2024 年 9 月)
- 11) 千葉有紗、田中諒子、中村佳代、田畑英嗣、忍足鉄太、夏苺英昭、金井千里、吉森篤史、田坂友彦、高澤涼子、高橋秀依「AI 創薬によるブロモドメインを標的とした抗がん剤開発」反応と合成の進歩シンポジウム第 50 回 (兵庫、2024 年 10 月)
- 12) 福島 咲季、須賀 真悠子、中村 佳代、牧野 宏章、田畑 英嗣、忍足 鉄太、夏苺 英昭、高橋 秀依「光増感剤を用いたアルケンの光異性化反応」第 86 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム(千葉、2024 年 5 月)
- 13) 市丸 嘉、加藤 紘一、黒崎 博雅、栗原正明：アントラセンを導入した [12]aneN3 誘導体—亜鉛錯体の DNA 切断活性：日本薬学会第 144 年会 (2024/03)
- 14) 森谷俊介，大石真菜，出水庸介，栗原正明，橘高敦史，杉山 亨：DNA への結合を強めるカチオン性シトシン誘導体のペプチド核酸：日本薬学会第 144 年会 (2024/03)
- 15) Design and synthesis of a new cytosine derivative for PNA monomer with improved stability and affinity: S. Moriya, S.

Matsumoto, Y. Demizu, M. Kurihara, A. Kittaka, T. Sugiyama :第 61 回ペプチド討論会 (2024/10/29-31)

G. 知的財産権の出願・登録状況

■知的財産権①：

名称／オピオイド受容体拮抗剤及び医薬組成物

国際出願番号／PCT/JP2022/034681

国際出願日／2022 年 9 月 16 日

出願人／学校法人東京理科大学、国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター

発明者／高橋秀依、牧野宏章、有田浩暢、菊川俊太郎、富澤宰、舩田正彦、富山健一

■知的財産権②：

名称／オピオイド受容体拮抗剤及び医薬組成物

出願番号／2024-174109

特許出願日／2024 年 10 月 3 日

出願人／学校法人東京理科大学、国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター

発明者／高橋秀依、中村佳代、有田浩暢、富澤宰、菊川俊太郎、坂田遥佳、

令和 6 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

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】

近年、国内において危険ドラッグとして LSD (lysergic acid diethylamide) の誘導体が検出されており、乱用による健康被害の発生も確認されている。本研究では、LSD 誘導体(AL-LAD、LSZ、1P-LSD、ALD-52、1cP-LSD)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小型蛍光検出器での薬物検出の可否について検討した。さらに、行動解析によるデータとの関連性についても検討した。セロトニン受容体の活性強度に関する評価細胞の構築に関しては、CHO-5HT_{2A} 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_{2A}-GCaMP 細胞を構築した。本細胞を利用して、AL-LAD、LSZ、1P-LSD、ALD-52、1cP-LSD について解析した。その結果、EC50 値は AL-LAD : 4.36×10^{-10} 、LSZ : 2.70×10^{-9} 、1P-LSD : 1.10×10^{-6} 、ALD-52 : 1.65×10^{-6} 、1cP-LSD : $> 1 \times 10^{-5}$ であった。5HT_{2A} 受容体活性化の強度は、AL-LAD > LSZ > 1P-LSD > ALD-52 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_{2A}-GCaMP 細胞を培養した。チューブ内へ LSD 誘導体を添加したところ、AL-LAD、LSZ、1P-LSD、ALD-52 について蛍光発光を検出することが可能であり、据え置き型の大型蛍光検出器と同様の結果となった。小型蛍光検出器による LSD 誘導体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、LSD 誘導体により Head-twitch response (HTR) が誘発され、HTR 発現強度は AL-LAD > LSZ > 1P-LSD > ALD-52 であった。LSD 誘導体による HTR の発現において、5-HT_{2A} 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

LSD (Lysergic acid diethylamide) は、1938 年に Hoffman らによって麦角アルカロイドより合成された化合物であり、幻覚作用を有する。LSD は

世界各国でその乱用が問題となって規制された。米国では、1966 年に麻薬取締局により LSD をスケジュール I の規制物質として規制を施した。わが国では、麻薬及び向精神薬取締法において、麻薬、麻薬原料植物、向精神薬及び麻薬向精神薬原

料を指定する政令第1条の麻薬として規制されている。近年、LSDの化学構造の一部を変えたLSD誘導体を含む危険ドラッグ製品が世界各地で検出されている^{2,3)}。

危険ドラッグとして確認されているLSD誘導体としては、LSDの化学構造はインドールを母核としたエルゴリン骨格のlysergic acidにジエチルアミンがアミド結合したものであるが、このN6位のメチル基をアリル基に変えたAL-LADなどが登場している。また、N1位にアセチル基を導入したALD-52、プロピオニル基を導入した1P-LSD、シクロプロピオニル基を導入した1cP-LSD、ブタノイル基を導入した1B-LSDなどのLSD誘導体が報告されている (Fig. 1)^{4,8)}。

国内でも、2024年にLSD誘導体入りの製品を摂取後に飛び降り死亡が発生した事例が報道され、社会問題となっている⁹⁾。

ドイツでの毒物情報センター情報では、1P-LSD (1P-LSD 100 µg) を含むとされるブロッター製品を摂取した急性中毒症例 (17歳男性) が報告されている¹⁰⁾。本事例では、中枢興奮薬である3-フルオロフェンメトラジン (3-FPM、摂取量不明) の摂取もあり、1P-LSD単独事例であるかは検証が必要であるが、摂取後1時間半以内に、患者は動悸、落ち着きのなさ、不安、幻覚を示したとされる。危険ドラッグとしてLSD誘導体による幻覚作用の発現による健康被害については、依然として警戒が必要である。

同様に、危険ドラッグとしてセロトニン受容体に作用する新しい骨格を持つ化合物が流通拡大している¹¹⁾。米国では、フェネチルアミンの置換誘導体であるN-Methoxybenzyl-phenethylamines (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の規制物質に分類された¹²⁾。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¹³⁾。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¹⁴⁾。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LSD誘導体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_{2A}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_{2A}-GCaMP細胞を構築した。幻覚作用が発現するとされるLSD誘導体の評価を行った。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：

- LSZ : ((2S,4S)-2,4-dimethylazetidin-1-yl)((6aR,9R)-7-methyl-4,6,6a,7,8,9-hexahydroindolo[4,3-fg]quinolin-9-yl)methanone, (2S,3S)-2,3-dihydroxysuccinic acid
- 1P-LSD: (6aR,9R)-N,N-diethyl-7-methyl-4-propionyl-4,6,6a,7,8,9-hexahydroindolo[4,3-fg]quinoline-9-carboxamide

- ALD-52: (1-acetyl-9,10-didehydro-N,N-diethyl-6-methyl-ergoline-8 β -carboxamide)
- 1cP-LSD: (1-(cyclopropylcarbonyl)-9,10-didehydro-N,N-diethyl-6-methyl-(8 β)-ergoline-8-carboxamide)

を使用した(Fig. 1)。

1. LSD 誘導体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_{2A} 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_{2A}-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5×10⁴ cells/well となるように播種し、37°C・5.0% CO₂ 条件下で培養した。24 時間後、AL-LAD、LSZ、1P-LSD、ALD-52、1cP-LSD を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、標準活性の指標として 5-HT(10 μ M)添加の効果を 100%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、光ファイバプロープ式蛍光検出器 (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_{2A}-GCaMP 細胞を PCR 用チューブ(FastGene 0.2 mL, 8 連チューブ, 日本ジェネティクス)に1×10⁴ cells/tube となるように播種し、37°C・5.0% CO₂ 条件下で1時間静置した。その後、AL-LAD、LSZ、1P-LSD、ALD-52、1cP-LSD (1 μ M)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。AL-LAD、LSZ、1P-LSD、ALD-52、1cP-LSD (1 mg/kg, i.p.)により誘発される HTR を

Miyata らの手法に従って測定した¹⁵⁾。マウスをプラスチック製個別ケージ(22cm×12.5cm×15cm)に移し、薬物投与 10 分間の HTR の誘発回数を測定した。

C. 結 果

1. LSD 誘導体

CHO-5-HT_{2A} 細胞を利用して、AL-LAD、LSZ、1P-LSD、ALD-52、1cP-LSD の 5-HT_{2A} 受容体作用を解析した。AL-LAD、LSZ、1P-LSD および ALD-52 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.3)。EC₅₀ 値は AL-LAD : 4.36×10⁻¹⁰、LSZ : 2.70×10⁻⁹、1P-LSD : 1.10×10⁻⁶、ALD-52 : 1.65×10⁻⁶、1cP-LSD : >1×10⁻⁵であった。5HT_{2A} 受容体活性化の強度は、AL-LAD>LSZ>1P-LSD>ALD-52 であった。

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_{2A}-GCaMP 細胞を維持し AL-LAD、LSZ、1P-LSD、ALD-52、1cP-LSD (1 μ M)による蛍光発光強度の解析を行った(Table 1)。薬物の添加によって、AL-LAD、LSZ、1P-LSD、ALD-52 の添加によって蛍光量の増加が確認された。一方、1cP-LSD については、蛍光量の増加は確認されなかった。

3. Head-twitch の評価

Head-twitch response (HTR)の誘発薬物として用いられている DOI (1 mg/kg, i.p.)によって有意な HTR(25.3±4 回/10 分)の誘発を確認した。さらに DOI によって誘発される HTR は、5-HT₂ 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(1.9±2.4 回/10 分)。AL-LAD(18.4±1.5 回/10 分)、LSZ(11.5±3.7 回/10 分)、1P-LSD(9.9±2.9 回/10 分)、ALD-52(8.9±2.1 回/10 分)において HTR の発現が確認された。1cP-LSD(0.9±1.1 回/10 分)では有意な効果は確認されなかった。

D. 考 察

LSD 誘導体、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。

LSD 誘導体の作用点として重要なセロトニン受容体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_{2A} 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_{2A}-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 LSD 誘導体 (AL-LAD、LSZ、1P-LSD、ALD-52、1cP-LSD) を使用した。評価した LSD 誘導体のうち、AL-LAD、LSZ、1P-LSD、ALD-52 はセロトニン 5HT_{2A} 受容体刺激作用を有することが明らかになった。また、行動薬理的解析では、AL-LAD、LSZ、1P-LSD、ALD-52 は Head-twitch response (HTR) を誘発することが明らかになった。5HT_{2A} 受容体発現細胞の結果から、HTR 発現には 5-HT_{2A} 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。一方、1cP-LSD については、細胞及び行動薬理的解析において、有意な陽性反応を示さなかった。1cP-LSD においては、プロドラッグの特徴を有しており、代謝物である LSD が効果を示すことが想定され、さらなる検討が必要であると考えられる。

以上の結果から、自立蛍光検出細胞となる CHO-5-HT_{2A}-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。LSD 誘導体およびセロトニン受容体作用薬の幻覚作用の発現では、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_{2A}-GCaMP 細胞は新規 LSD 誘導体の催幻覚作用の評価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の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_{2A}-GCaMP 細胞を静置後、LSD 誘導体を使用して、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、CHO-5-HT_{2A}-GCaMP 細胞および作製した小型蛍光検出器は、LSD 誘導体の作用解析と検出に使用できることが明らかになった。CHO-5-HT_{2A}-GCaMP 細胞は幻覚作用を示す LSD 誘導体およびセロトニン受容体作用薬に関して、化学構造特性に依存しない包括的検出に応用可能である。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、幻覚作用を示す LSD 誘導体の検出用細胞として CHO-5-HT_{2A}-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 LSD 誘導体に関して、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. Stoll A., Hoffmann A., Partialsynthese von Alkaloiden vom Typus des Ergobasins. (6. Mitteilung über Mutterkornalkaloide), *Helv. Chim. Acta*, 26, 944-965 (1943).
2. The European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA), EMCDDA-Europol 2016 Annual Report on the implementation of Council Decision 2005/387/JHA,” EMCDDA-Europol, Lisbon, July 2017:
3. The European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA), EMCDDA-Europol 2017 Annual Report on the implementation of Council Decision 2005/387/JHA,” EMCDDA-Europol, Lisbon, February 2018:
4. Brandt SD, Kavanagh PV, Westphal F, Stratford A, Elliott SP, Hoang K, Wallach J, Halberstadt AL. Return of the lysergamides. Part I: Analytical and behavioural characterization of 1-propionyl-d-lysergic acid diethylamide (1P-LSD). *Drug Test Anal.* 2016 Sep;8(9):891-902. doi: 10.1002/dta.1884. Epub 2015 Oct 12. PMID: 26456305; PMCID: PMC4829483.
5. Brandt SD, Kavanagh PV, Westphal F, Elliott SP, Wallach J, Colestock T, Burrow TE, Chapman SJ, Stratford A, Nichols DE, Halberstadt AL. Return of the lysergamides. Part II: Analytical and behavioural characterization of N6-allyl-6-norlysergic acid diethylamide (AL-LAD) and (2'S,4'S)-lysergic acid 2,4-dimethylazetidine (LSZ). *Drug Test Anal.* 2017 Jan;9(1):38-50. doi: 10.1002/dta.1985. Epub 2016 Jun 6. PMID: 27265891; PMCID: PMC5411264.
6. Brandt SD, Kavanagh PV, Westphal F, Elliott SP, Wallach J, Stratford A, Nichols DE, Halberstadt AL. Return of the lysergamides. Part III: Analytical characterization of N6-ethyl-6-norlysergic acid diethylamide (ETH-LAD) and 1-propionyl ETH-LAD (1P-ETH-LAD). *Drug Test Anal.* 2017 Oct;9(10):1641-1649. doi: 10.1002/dta.2196. Epub 2017 May 10. PMID: 28342178; PMCID: PMC6230477.
7. Brandt SD, Kavanagh PV, Westphal F, Stratford A, Odland AU, Klein AK, Dowling G, Dempster NM, Wallach J, Passie T, Halberstadt AL. Return of the lysergamides. Part VI: Analytical and behavioural characterization of 1-cyclopropanoyl-d-lysergic acid diethylamide (1CP-LSD). *Drug Test Anal.* 2020 Jun;12(6):812-826. doi: 10.1002/dta.2789.
8. Brandt SD, Kavanagh PV, Westphal F, Stratford A, Elliott SP, Dowling G, Wallach J, Halberstadt AL. Return of the lysergamides. Part V: Analytical and behavioural characterization of 1-butanoyl-d-lysergic acid diethylamide (1B-LSD). *Drug Test Anal.* 2019 Aug;11(8):1122-1133.
9. NHK 報道 (2024 年 4 月 5 日 12 時 20 分) : LSD に似た成分入りの製品摂取後 飛び降り死亡. (<https://www3.nhk.or.jp/news/html/>

[20240405/k10014413041000.html](https://doi.org/10.20240405/k10014413041000.html))

10. Grumann C, Henkel K, Stratford A, Hermanns-Clausen M, Passie T, Brandt SD, Auwärter V. Validation of an LC-MS/MS method for the quantitative analysis of 1P-LSD and its tentative metabolite LSD in fortified urine and serum samples including stability tests for 1P-LSD under different storage conditions. J Pharm Biomed Anal. 2019 Sep 10;174:270-276.
11. Morini L, Bernini M, Vezzoli S, Restori M, Moretti M, Crenna S, Papa P, Locatelli C, Osculati AMM, Vignali C, Groppi A. Death after 25C-NBOMe and 25H-NBOMe consumption. Forensic Sci Int. 2017 Oct;279:e1-e6.
12. 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.
13. 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.
14. 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>.
15. 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) Arita, Hironobu; Tanaka, Ryoko; Kikukawa, Shuntaro; Tomizawa, Tsukasa; Sakata, Haruka; Funada, Masahiko; Tomiyama, Kenichi; Hashimoto, Masaru ; Tasaka, Tomohiko; Tabata,

Hidetsugu ; Nakamura, Kayo; Makino, Kosho; Oshitari, Tetsuta ; Natsugari, Hideaki ; Takahashi, Hideyo. Fentanyl-Type Antagonist of the μ -Opioid Receptor: Important Role of Axial Chirality in the Active Conformation. Journal of Medicinal Chemistry, 2024, 67, 10447-10463.

2. 学会発表

- 1) 西本瑞葉、有田浩暢、菊川俊太郎、富澤幸、坂田遥佳、富山健一、中村佳代、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立体構造の解明」第68回 日本薬学会 関東支部大会（新潟、2024年9月）
- 2) 船田正彦. 米国におけるオピオイド乱用・依存問題の現状. 2024年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会.（東京、2024年9月22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. 2024年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会.（東京、2024年9月22日）
- 4) 船田正彦、池上大吾、富山健一「米国におけるオピオイド乱用・依存問題の現状」日本薬学会 第145年会（福岡、2025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
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。

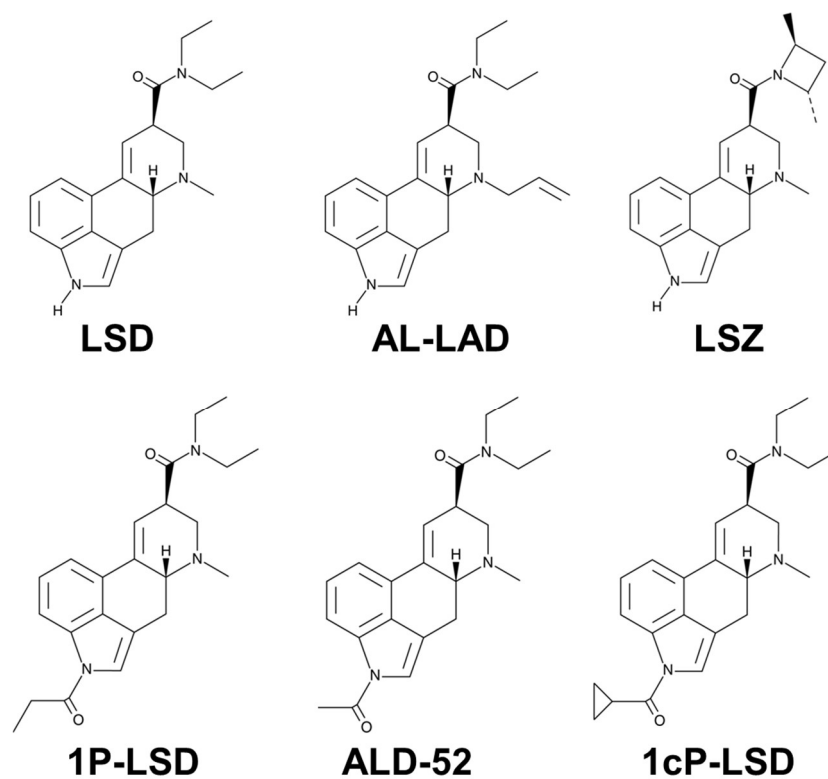


Fig.1. Chemical structure of LSD and LSD derivatives.

LSD (lysergic acid diethylamide)

LSD derivatives: AL-LAD, LSZ, 1P-LSD, ALD-52, 1cP-LSD

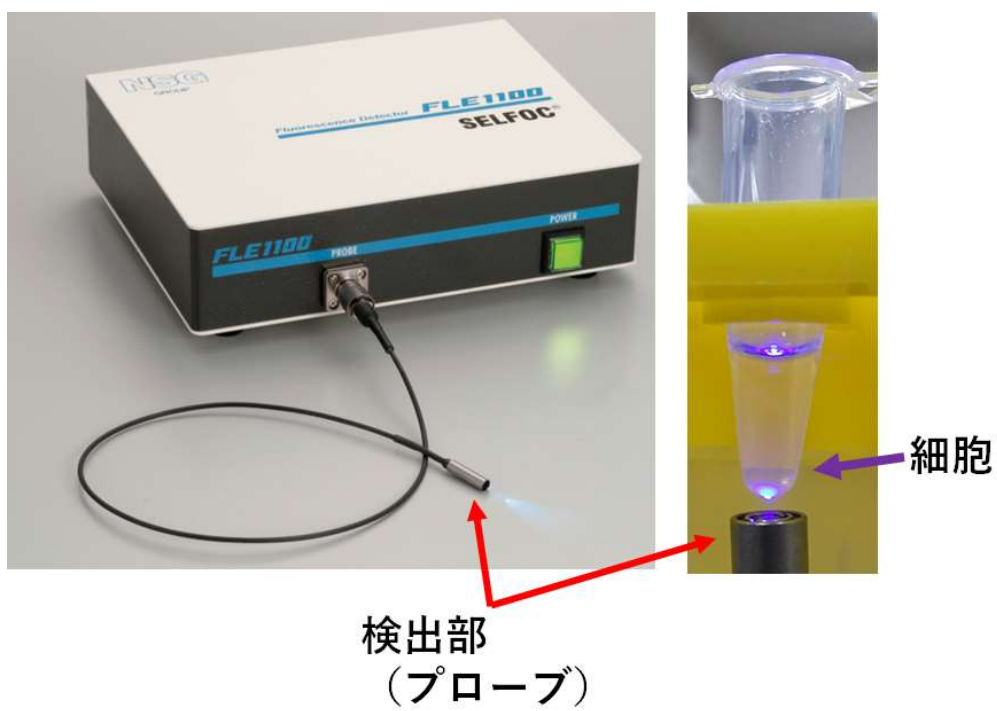


Fig.2. Compact fluorescence detector for mobile use using probes of optical fiber.

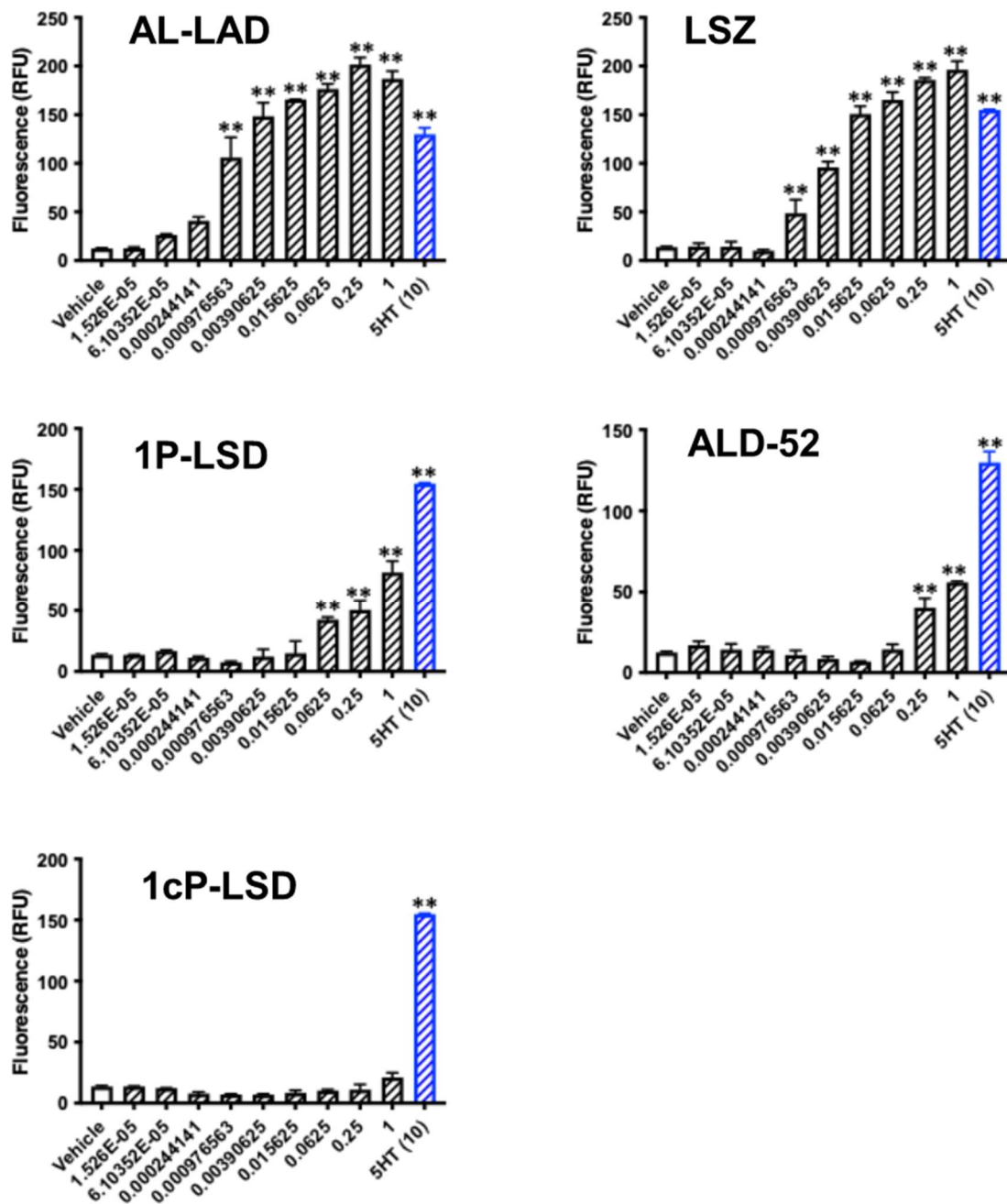


Fig.3. Effect of LSD derivatives on intracellular Ca^{2+} level in the CHO-5HT_{2A}-GCaMP cells.

Effect of LSD derivatives (AL-LAD, LSZ, 1P-LSD, ALD-52, 1cP-LSD) on intracellular Ca^{2+} levels in CHO-5HT_{2A}-GCaMP cells. Changes in intracellular Ca^{2+} levels were detected as changes in fluorescence in the Flexstation 3. Each column represents the mean with S.E.M. of three independent experiments.

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Veh-treated group.

Table 1 Comparison of effects of LSD derivatives

LSD derivatives	据え置き型蛍光検出器 Stationary fluorescence detector (EC50)	小型蛍光検出器 Miniaturized fluorescence detector (F.I.)	HTR 発現
AL-LAD	○ (4.36×10^{-10})	○ (31)	○
LSZ	○ (2.70×10^{-9})	○ (24)	○
1P-LSD	○ (1.10×10^{-6})	○ (16)	○
ALD-52	○ (1.65×10^{-6})	○ (12)	○
1cP-LSD	X ($>1 \times 10^{-5}$)	X (2)	X

HTR : head-twitch response

F.I.: Fluorescence intensity

令和 6 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、すでに、軸不斉を表出させた誘導体の中に、エナンチオマーの一方がオピオイド μ 受容体アゴニスト活性、もう一方がアンタゴニスト活性を示すものが見つかっている。今年度も引き続き、軸不斉の有無及びフェネチル部位について異なる様々なフェンタニル誘導体を合成し、共同研究者に薬理活性を調べていただいた。このような構造活性相関研究によって 180 種類を超える化合物をライブラリー化することができ、アンタゴニスト活性を示すために重要な構造を見いだすこともできた。LSD の誘導体については、引き続き合成を続け、第三級置換基が異なる LSD 誘導体を含む 8 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、アニリノ基の 2' 位及び 6' 位に置換基があることで、アニリノ基がねじれることがアンタゴニスト活性発現の鍵になると推察された。加えて、フェネチル部位をかさ高くすることによってもアンタゴニスト活性が発現することがわかった。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や酸性化合物との塩形成の種類にかかわらず、光に対して不安定であることがわかり、市中に流通している LSD 誘導体の化合物としての純度は時間の経過とともに低下することが推察された。

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、アゴニスト活性を示す化合物だけでなく、アンタゴニスト活性を示す化合物の創製にも成功した。今年度も、構造活性相関研究を行いつつ、化合物数を増やし、化合物ライブラリーを拡充した。加えて、LSD の誘導体についても網羅的な合成を続け、化合物ライブラリーを拡充した。

B. 研究方法および結果

昨年度の研究では、フェンタニル誘導体について、立体構造に焦点を当て、活性との関連性を検討した。フェンタニル誘導体には第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った。特に、その構造中のアシル部をフロイル基にし、アニリノ部位のベンゼン環上2'位及び6'位にそれぞれ異なる置換基 (エチル基、メチル基) を導入することで軸不斉を表出させた化合物 SDFV-63 が非常に興味深い活性を示すことを明らかにした。すなわち、SDFV-63 の (+)-エナンチオマーが μ オピオイド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がわかった (図1)。 (+)-エナンチオマーのアンタゴニスト活性は、既存の μ オピオイド受容体アンタゴニストであるナロキソンの5倍であった。軸不斉異性体の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のは世界で初めてである。今年度は、この結果を受けて、アニリノ基の置換基を様々に変換し、得られた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。その結果、アニリノ部位のベンゼン環上2'位及び6'位にかさ高い置換基が導入されることで、アニリノ基のベンゼン環とアミド平面がねじれることが μ オピオイド受容体アンタゴニスト活性を示す鍵であることが示唆された。また、アシル基をアルカノイル基にするとアゴニスト活性になることなど、構造活性相関研究によって有益な情報を多く得ることができた。さらに、昨年度は、 (+)-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 スペクトルと比較して、各エナンチオマーの絶対配置を推

定した。しかし、このような絶対配置の推定法では信頼度が低いと考え、今年度は、各エナンチオマーと中心不斉の絶対配置の明確な第二級アルコールとを反応させてジアステレオマーを形成し、新モッシャー法を利用した絶対配置の決定を行った。その結果、昨年度に行った計算化学によって推定された絶対配置と逆の結果が得られた。この矛盾を解消すべく、改めて各エナンチオマーの単結晶化を試み、得られた単結晶をX線結晶構造解析によって絶対配置を決定した (図2)。この結果は、新モッシャー法で示された絶対配置を支持するものとなり、ECD スペクトルの計算化学による推定に基づく絶対配置の推定は本化合物については不適であるとわかった。なお、このような構造活性相関研究を展開することによって、フェンタニル誘導体の化合物ライブラリーが拡充され、180を超える数の誘導体を合成することができた。

また、LSD 誘導体については、昨年度は、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。今年度は、インドール部位は無置換であるが、第三級アミドの窒素上の置換基が異なる新規化合物4種 (図2) を加えた8種のフェンタニル誘導体を合成し、共同研究者に供与した。合成にあたって、問題になったのは、LSD の光安定性が低いことであった。昨年度から示唆されていたことではあったが、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、各種の酸との塩形成を検討した結果、酒石酸塩が最適であったが、塩を形成した場合は光安定性が向上するものの、遮光しないと徐々に分解していくことには変わりがなかった。

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、オピオイド μ 受容体アンタゴニスト活性を示すために必要な化学構造について、多くの知見を得ることができた。昨年度から引き続き、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、酒石酸塩にすることにより安定化されることがわかったが、それでも遮光は必要であった。LSD 誘導体を取り扱う際には、遮光を最も重要な注意点とすべきである。市中に流通している LSD 誘導体は遮光されていないようである。実際に使用されるとき、その構造がどの程度保たれるのか不明であり、純度が低下していることを憂慮すべきと考える。

D. 結論

フェンタニル誘導体及び、LSD 誘導体の合成を行った。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 180 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拡充することができた。また、アゴニスト活性を示すフェンタニルの構造を基にしてアンタゴニスト活性を示す化合物を創製することができた。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。さらに、LSD 誘導体については、酒石酸塩にして保存することが最適であるが、それでも遮光は必要と分かった。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、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。

H. 参考文献

- 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) Takano, Ryota; Tanaka, Ryoko; Nakamura, Kayo; Tabata, Hidetsugu; Oshitari, Tetsuta; Natsugari, Hideaki; Takahashi, Hideyo. Stereochemical properties of quazepam and its affinity for the GABA_A receptor. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2024, 110, 129854.
- 2) Arita, Hironobu; Tanaka, Ryoko; Kikukawa, Shuntaro; Tomizawa, Tsukasa; Sakata, Haruka; Funada, Masahiko; Tomiyama, Kenichi; Hashimoto, Masaru ; Tasaka, Tomohiko; Tabata, Hidetsugu ; Nakamura, Kayo; Makino, Kosho; Oshitari, Tetsuta ; Natsugari, Hideaki ; Takahashi, Hideyo. Fentanyl-Type Antagonist of the μ -Opioid Receptor: Important Role of Axial Chirality

- in the Active Conformation. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2024, 67, 10447-10463.
- 3) Suga, Mayuko; Fukushima, Saki; Makino, Kosho; Nakamura, Kayo; Tabata, Hidetsugu ; Oshitari, Tetsuta ; Natsugari, Hideaki ; Kuroda, Noritaka; Kanemaru, Kunio; Oda, Yuji; Takahashi, Hideyo. Isomerization of E-Cinnamamides into Z-Cinnamamides Using a Recycling Photoreactor. *Journal of Organic Chemistry*, 2024, 89, 8836-8844.
 - 4) Kasai, Satoka; Ogawa, Natsuki; Takagi, Miho; Takahashi, Yukino; Makino, Kosho; Arita, Hironobu; Takahashi, Hideyo; Yoshizawa, Kazumi. Fentanyl analogs exert antinociceptive effects via sodium channel blockade in mice. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2024, 47, 872-877.
 - 5) Takashima, Kaori; Aoyama, Takao; Komoda, Masayo; Saitoh, Akiyoshi; Takahashi, Hideyo; Nishikawa, Makiya; Shimada, Shuji; Suzuki, Tatsunori; Mano, Yasunari; Takasawa, Ryoko. Investigative research on the importance of collecting and examining drug information from a scientific and objective point of view *Rinsho Yakuri*, 2023, 54, 105-112.
 - 6) 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_{2A} agonists. *Fundamental Toxicological Sciences*, 2023, 10 (5) 189-197.
 - 7) 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
 - 8) 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
 - 9) Li, Yan; Ohtake, Chinatsu; Hotta, Mayuno; Tabata, Hidetsugu ; Hirano, Kiriko; Iida, Motoo; Nakamura, Kayo; Makino, Kosho; Oshitari, Tetsuta ; Natsugari, Hideaki ; Kusumi, Takenori; Takahashi, Hideyo. Stereochemical Analysis of Trifluoroacetamide Derivatives Based on Through-Space ¹H-¹⁹F Spin-Spin Couplings, *Journal of Organic Chemistry*, 2023, 88 (11) 7026-7037. DOI: 10.1021/acs.joc.3c00311
 - 10) Tozawa, Kumi; Makino, Kosho; Tanaka, Yuki; Nakamura, Kayo; Inagaki, Akiko; Tabata, Hidetsugu ; Oshitari, Tetsuta ; Natsugari, Hideaki ; Kuroda, Noritaka; Kanemaru, Kunio; Oda, Yuji; Takahashi, Hideyo. Conversion of Racemic Alkyl Aryl Sulfoxides into Pure Enantiomers Using a Recycle Photoreactor: Tandem Use of Chromatography on Chiral Support and Photoracemization on Solid Support. *Journal of Organic Chemistry*, 2023, 88, 11, 6955-6961. DOI: 10.1021/acs.joc.3c00265
 - 11) 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
- 12) Hiroshige, Ryosuke; Goto Satoru; Ichii, Risa; Shimizu, Shota; Wada Hirai, Ayako; Li, Ying Peng; Shimada, Yohsuke; Otsuka, Yuta; Makino, Kosho; Takahashi Hideyo. Protective effects of cyclodextrins on edaravone degradation induced by atmospheric oxygen or additive oxidant. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 2022, 102 (3-4), 327-338.
 - 13) Suga, Mayuko; Makino, Kosho; Tabata, Hidetsugu; Oshitari, Tetsuta; Natsugari, Hideaki; Takahashi, Hideyo, Photoisomerization of sulindac and ozagrel hydrochloride by vitamin B2 catalyst under visible light irradiation. *Pharmaceutical research*, 2022, 39 (3) 577-586.
 - 14) 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*, 2022, 87 (22), 15289-15300.
 - 15) 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.
 - 16) Saitoh, Akiyoshi; Nagayama, Yoshifumi; Yamada, Daisuke; Makino, Kosho; Yoshioka, Toshinori; Yamanaka, Nanami; Nakatani, Momoka; Takahashi, Yoshino; Yamazaki, Mayuna; Shigemoto, Chihiro; Ohashi, Misaki; Okano, Kotaro; Omata, Tomoki; Toda, Etsuko; Sano, Yoshitake; Takahashi, Hideyo; Matsushima, Kouji; Terashima, Yuya. Disulfiram produces potent anxiolytic-like effects without benzodiazepine anxiolytics-related adverse effects in mice. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, 13, 826783.
 - 17) 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.
 - 18) Makino, Kosho; Tozawa, Kumi; Tanaka, Yuki; Inagaki, Akiko; Tabata, Hidetsugu; Oshitari, Tetsuta; Natsugari, Hideaki Takahashi, Hideyo. Rapid Photoracemization of chiral alkyl aryl sulfoxides. *Journal of Organic Chemistry*, 2021, 86 (23), 17249-17256.
 - 19) 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.
 - 20) 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.
 - 21) Otake, Chinatsu; Namba, Takuya; Tabata, Hidetsugu Makino, Kosho; Hirano, Kiriko; Oshitari, Tetsuta; Natsugari, Hideaki, Takahashi, Hideyo. Conformational preference of 2'-fluoro-substituted acetophenone derivatives revealed by through-space ¹H–¹⁹F and ¹³C–¹⁹F spin–

spin couplings. *Journal of Organic Chemistry*, 2021, 86 (6), 4638–4645.

- 22) 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

- 1) 西本瑞葉、有田浩暢、菊川俊太郎、富澤幸、坂田遥佳、富山健一、中村佳代、田畑英嗣、忍足鉄太、夏苺英昭、舩田正彦、高橋秀依 「フェンタニル誘導体の合成と立体構造の解明」 第 68 回 日本薬学会 関東支部大会 (新潟、2024 年 9 月)
- 2) 鈴木将伸、山根光騎、中村佳代、田畑英嗣、忍足鉄太、夏苺英昭、高橋秀依 「5H-Dibenzo[b,f]azepine の立体構造の解明」 第 68 回 日本薬学会 関東支部大会 (新潟、2024 年 9 月)
- 3) 伊藤乃藍、須賀真悠子、中村佳代、田畑英嗣、忍足鉄太、夏苺英昭、高橋秀依 「ビタミン B2 を光増感剤とする医薬品の光分解」 第 68 回 日本薬学会 関東支部大会 (新潟、2024 年 9 月)
- 4) 鐘司彩芽、田村純菜、中野深祥、中村佳代、田畑英嗣、忍足鉄太、夏苺英昭、伊藤清美、高橋秀依 「新規 Menkes 病治療薬の開発」 第 68 回 日本薬学会 関東支部大会 (新潟、2024 年 9 月)
- 5) 千葉有紗、田中諒子、中村佳代、田畑英嗣、忍足鉄太、夏苺英昭、金井千里、吉森篤史、田坂友彦、高澤涼子、高橋秀依 「AI 創薬によるプロモドメインを標的とした抗がん剤開発」 反応と合成の進歩シンポジウム第 50 回 (兵庫、2024 年 10 月)
- 6) 福島 咲季、須賀 真悠子、中村 佳代、牧野 宏章、田畑 英嗣、忍足 鉄太、夏苺 英昭、高橋 秀依 「光増感剤を用いたアルケンの光異性化反応」 第 86 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム(千葉、2024 年 5 月)
- 7) 福島 咲季、斗沢 紅美、牧野 宏章、中村 佳代、田畑 英嗣、忍足 鉄太、夏苺 英昭、高橋 秀依 「増感剤を用いたキラルスルホキシドの光ラセミ化反応」 第 17 回バイオ関連化学シンポジウム(千葉、2023 年 9 月)
- 8) 千葉有紗、堀田まゆの、田中諒子、中村佳代、田畑英嗣、牧野宏章、忍足鉄太、夏苺英昭、高橋秀依 「ジベンゾアゼピノン誘導体の立体化学」 第 17 回バイオ関連化学シンポジウム(千葉、2023 年 9 月)
- 9) 千葉有紗、堀田まゆの、田中諒子、中村佳代、田畑英嗣、牧野宏章、忍足鉄太、夏苺英昭、高橋秀依 「ジベンゾアゼピノン誘導体の立体化学」 創薬懇話会 2023 (神奈川、(2023 年 6 月))
- 10) 菊川俊太郎、有田浩暢、富澤幸、中村佳代、牧野宏章、田畑英嗣、忍足鉄太、夏苺英昭、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 μ 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)
- 11) 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、夏苺英昭、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)
- 12) 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、夏苺英昭、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)
- 13) 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

■知的財産権①：

名称／オピオイド受容体拮抗剤及び医薬組成物

国際出願番号／PCT/JP2022/034681

国際出願日／2022 年 9 月 16 日

出願人／学校法人東京理科大学、国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター

発明者／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

■知的財産権②：

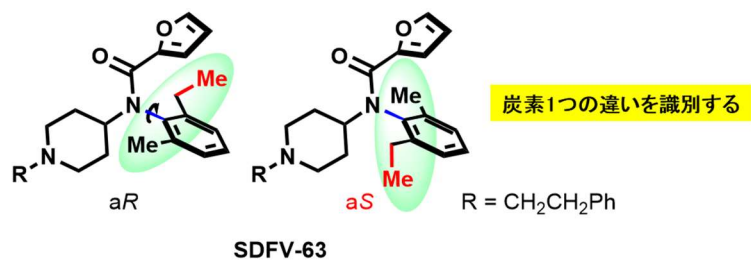
名称／オピオイド受容体拮抗剤及び医薬組成物

出願番号／2024-174109

特許出願日／2024 年 10 月 3 日

出願人／学校法人東京理科大学、国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター

発明者／高橋秀依、中村佳代、有田浩暢、富澤宰、菊川俊太郎、坂田遥佳、船田正彦、富山健一



MORに対する活性

	Agonistic EC ₅₀ (μM)	Antagonistic IC ₅₀ (μM)
(-)	0.025	—
(+)	—	0.033
ナロキソン	—	0.17

世界初！ 軸不斉異性体の一方が作動活性
もう一方が拮抗活性

図1 フェンタニルの立体化学

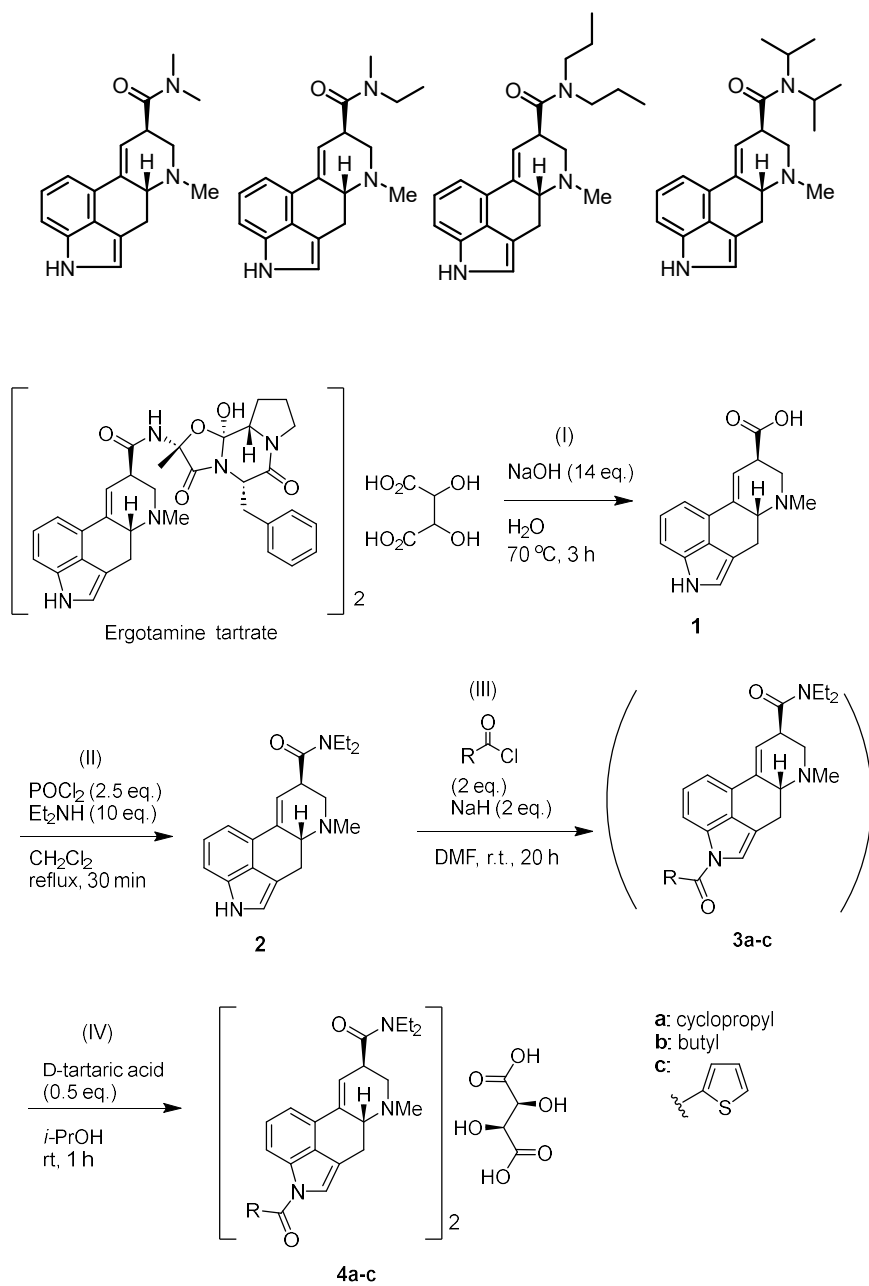


図2 LSD誘導體と合成経路

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）

【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や覚醒剤類似物質の中枢神経作用や報酬効果などは、動物を用いた行動薬理的な手法によって解析が可能となっている。一方で、ヒトを想定した危険ドラッグの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 2 年目では、ヒト由来ドパミン神経を用いて、細胞の毒性発現および機能的変化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行った。

[結果] ヒト iPS 細胞より誘導したドパミン神経および市販のヒトドパミン神経細胞 (iCell® DopaNeurons) を用いて、覚醒剤 (methamphetamine) および危険ドラッグ合成カチノン N-ethylheptedrone の神経細胞毒性、DAT 取込み阻害作用およびドパミンの遊離作用について検討した。Methamphetamine 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神経細胞の減少を引き起こした。市販のヒトドパミン神経細胞において、methamphetamine (10 μ M) および N-ethylheptedrone (10 μ M) の処理によって有意な DAT 取込み阻害作用が認められた。ドパミンの遊離作用については、methamphetamine (10 μ M) の処理によって市販のヒトドパミン神経細胞より有意なドパミン濃度の増加を確認した。

[考察] ヒト iPS 細胞より誘導したドパミン神経および市販のヒトドパミン神経細胞 (iCell® DopaNeurons) を用いた神経細胞毒性評価は、マウス forebrain 由来の神経細胞と同様に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。ヒトドパミン神経細胞 (iCell® DopaNeurons) においては、覚醒剤や合成カチノンの標的となる DAT の取込み阻害作用と methamphetamine によるドパミンの分泌促進作用も認められたことから、評価に適した細胞であると考えられる。引き続き、危険ドラッグの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条件等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、中枢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^{1,2)}。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枢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有害作用の評価方法に

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適している。ヒトへの影響を想定し、本課題では、ヒト iPS 細胞より覚醒剤類似物質や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、細胞の毒性発現または機能的応答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. ヒト iPS 由来 dopaminergic neuron の誘導

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 µg/mL, Takara)を用いてコーティングした 6 well plate (IWAKI AGC Techno glass co., Ltd.)にて StemFit AK02N (Takara) で培養した。一度継代を行い、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 (Sigma-Aldrich) と Corning® フィブロンекチン (Corning)でコーティングした 96 well plate (greiner, REF655090) に 1.0×10^5 cells/well または 24 well plate (IWAKI, AGC TECHNO GLASS Co., Ltd.) に 5.0×10^5 cells/well となるようヒト iPS 由来神経前駆細胞を培養した。ドパミン神経の誘導は、StemXVivo Human/Mouse Dopaminergic Neuron Differentiation Kit (R&D Systems) のプロトコルを参考に、BrainPhys™ Neuronal Medium (STEMCELL Technologies) を基礎として、NeuroCult™ SM1 Neuronal Supplementb (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 µM/mL, Sigma-Aldrich) を添加した。2 日間ごとに培地を交換し、21 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。

2. iCell®ドパミン神経細胞の培養

iCell®ドパミン神経細胞 (FUJIFILM Cellular Dynamics) はプロトコルに従って、96 well plate (greiner) に 1.0×10^5 cells/well または 24 well plate (IWAKI, AGC TECHNO GLASS Co., Ltd.) に 5.0×10^5 cells/well で調製し 21 日間培養した。

3. マウス初代培養の評価

胎生 15 日目の新生胎児より forebrain を切り出し氷冷した Dulbecco's modified Eagle's medium (Life Technologies)に入れ、組織の洗浄を行った。その後、脳組織は Neural Tissue Dissociation Kit (Miltenyi Biotec) および gentleMACS™ Dissociator (Miltenyi Biotec)に移し、プロトコルに従って脳組織のホモジネーションを行った。組織懸濁液は、MACS Neuro Medium (with NeuroBrew-21, 2 mM L-glutamine; Miltenyi Biotec)で懸濁した。細胞懸濁液を BD Falcon™ セルストレーナー (BD Falcon Biosciences)で濾過し、未消化の組織や細胞塊を除去した。得られた細胞懸濁液は、poly-L-lysine コートした 96 well black plate (Greiner)に 1.0×10^5 cells/well で撒き、37°C・5.0% CO₂ 条件下で 2 日間培養した。MACS Neuro Medium (with 10 µM cytosine arabinoside, NeuroBrew-21, 2 mM L-glutamine)に置換して 24 時間培養した。Cytosine arabinoside 含有 MACS Neuro Medium を除去し、MACS Neuro Medium にて細胞を維持し、14 日目に神経細胞毒性試験を行った。

4. ヒトおよびマウス由来神経細胞の毒性発現解析

ヒト iPS 由来ドパミン神経細胞 (培養 21 日目)、iCell®ドパミン神経細胞 (培養 21 日目) およびマウス由来神経細胞 (培養 14 日目) を

用いて覚醒剤 (methamphetamine, METH) ならびに合成カチノン N-ethylheptedrone の神経毒性発現を比較した。それぞれの細胞は、METH および N-ethylheptedrone 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。

5. DAT 取込み阻害作用

96 well plate に 1.0×10^5 で培養したヒト iPS 由来ドーパミン神経細胞 (培養 21 日目)、iCell® ドーパミン神経細胞 (培養 21 日目) およびマウス由来神経細胞 (培養 14 日目) に DAT 選択的阻害薬 GBR-12909 (Sigma-Aldrich)、METH および N-ethylheptedrone を添加し 10 分間 37°C でインキュベーションした。その後 Neurotransmitter Transporter Uptake Assay Kit (Molecular Devices) のプロトコルに従って DAT に対する取込み阻害作用を解析した。データは蛍光強度 (Relative Fluorescence Units, RFU) として解析した。

本 kit はアミン系の神経伝達物質に類似した蛍光物質を使用しており、モノアミントランスポーターにより細胞内に取り込まれるため、細胞内における蛍光量の増加を測定することで DAT の取込み能力が評価可能となっている。

6. ドーパミンリリースの測定

24 well plate に 5.0×10^5 で培養したヒト iPS 由来ドーパミン神経細胞 (培養 21 日目) および iCell® ドーパミン神経細胞 (培養 21 日目) にドーパミン遊離作用を有する METH (10 μ M) を添加し 30 分間 37°C でインキュベーションした。その後、培養上澄液を回収し、Dopamine Elisa Kit (Abcam, ab285238) のプロトコルに従ってドーパミン濃度を測定した。

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 A)。本神経前駆細胞を用いてドーパミン神経細胞の誘導を行い、培養 21 日目にドー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 1C-D)。

2. 神経細胞の毒性発現解析

METH (1-4 mM) および N-ethylheptedrone (0.25-1 mM) 処理 24 時間後にヒト iPS 由来ドーパミン神経細胞、iCell® ドーパミン神経細胞およびマウス由来神経細胞の細胞生存率を評価した。METH および N-ethylheptedrone 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 2)。

3. DAT の阻害作用評価

ヒト iPS 由来ドーパミン神経細胞、iCell® ドーパミン神経細胞およびマウス由来神経細胞に GBR-12909、METH および N-ethylheptedrone を処理し、取込み阻害作用を確認した。ヒト iPS 由来ドーパミン神経細胞において、取込み阻害作用を示す GBR-12909 を処理したところ、1 μ M 濃度で有意な阻害作用を示した (図 3A)。METH と N-ethylheptedrone による取込み阻害作用は認められなかった (図 3A)。iCell® ドーパミン神経細胞では、1 μ M 濃度の GBR-12909 と 10 μ M 濃度の N-ethylheptedrone において有意な阻害作用を示した (図 3B)。一方、マウス由来神経細胞では、いずれの化合物においても取込み阻害作用は認められなかった (図 3C)。ヒト iPS 由来ドーパミン神経細胞、iCell® ドーパミン神経細胞およびマウス由来神経細胞で神経伝達物質に類似した蛍光物質の取込み量を比較したところ、iCell® ドーパミン神経細胞が最も DAT 取込み作用を示した (図 3D)。

4. ドパミンリリースの解析

ヒト iPS 由来ドパミン神経細胞および iCell®ドパミン神経細胞に METH (10 μ M) を処理し、細胞からのドパミンの遊離量を ELISA で測定した。METH は、iCell®ドパミン神経細胞から有意なドパミンの遊離を引き起こした (図 4)。

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 iCell®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。ヒト iPS 由来ドパミン神経細胞は最大で 21 日間培養し、ドパミン神経マーカーである TH 陽性細胞が認められた。市販の iCell®ドパミン神経細胞は付属のプロトコルに従って培養を行った。陽性対象として、神経毒生を誘発することが確認できているマウス胎児由来神経細胞の初代培養を行った³⁾。これらの細胞を用いて、覚醒剤 (methamphetamine) と合成カチノン N-ethylheptedrone の毒性評価を行った。その結果、methamphetamine と N-ethylheptedrone は添加 24 時間後に、ヒト iPS 由来ドパミン神経細胞、iCell®ドパミン神経細胞およびマウス初代培養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、ヒト由来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⁴⁾。そこで、DAT 選択的阻害剤

GBR-12909、methamphetamine および N-ethylheptedrone による DAT 取込み阻害作用を検討した。その結果、iCell®ドパミン神経細胞において GBR-12909 および N-ethylheptedrone による DAT 取込み阻害作用を確認した。ヒト iPS 由来ドパミン神経細胞では GBR-12909 の阻害作用が認められた。一方で、マウス初代培養神経細胞では、いずれの化合物も取込み阻害作用を示さなかった。今後は、ヒト iPS 由来ドパミン神経細胞および iCell®ドパミン神経細胞の培養条件を調整することで、危険ドラッグによるヒト神経細胞を想定した DAT 取込み阻害作用の評価が可能になると考えられる。ドパミンの分泌作用については、iCell®ドパミン神経細胞において METH 刺激による応答が確認できた。引き続き、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シス法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⁵⁻⁷⁾。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いく。

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) Pieprzyca E, Skowronek R, Czekaj P. Toxicological Analysis of Cases of Mixed Poisonings with Synthetic Cathinones and Other Drugs of Abuse. *J Anal Toxicol.* 46: 1008-1015, 2023.
 - 4) Tomiyama K, Funada M. Cytotoxicity of synthetic cannabinoids on primary neuronal cells of the forebrain: the involvement of cannabinoid CB1 receptors and apoptotic cell death. *Toxicol Appl Pharmacol.* 274: 17-23, 2014.
 - 5) Banks ML, Worst TJ, Rusyniak DE, Sprague JE. Synthetic cathinones ("bath salts"). *J Emerg Med.* 46: 632-42, 2014.
 - 6) 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.
 - 7) 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.
 - 8) Holmes J, Lau T, Saylor R, Fernández-Novet 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

- 1) 富山健一，船田正彦：新規合成オピオイド系化合物の薬理作用の評価について，2024 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会，砂防会館 シェーンバッハ・サボー，2024 年 9 月 21 日.
- 2) 二井信行，長谷川翔大，辻野南，高野温，富山健一，船田正彦：危険ドラッグの迅速包括検出のためのモバイル細胞培養デバイス，2024 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会，砂防会館 シェーンバッハ・サボー，2024 年 9 月 20 日.
- 3) 富山健一，船田正彦：危険ドラッグに含まれる大麻成分 THC 類似物質の薬理学的特性の解析，2024 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会，砂防会館 シェーンバッハ・サボー，2024 年 9 月 19 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

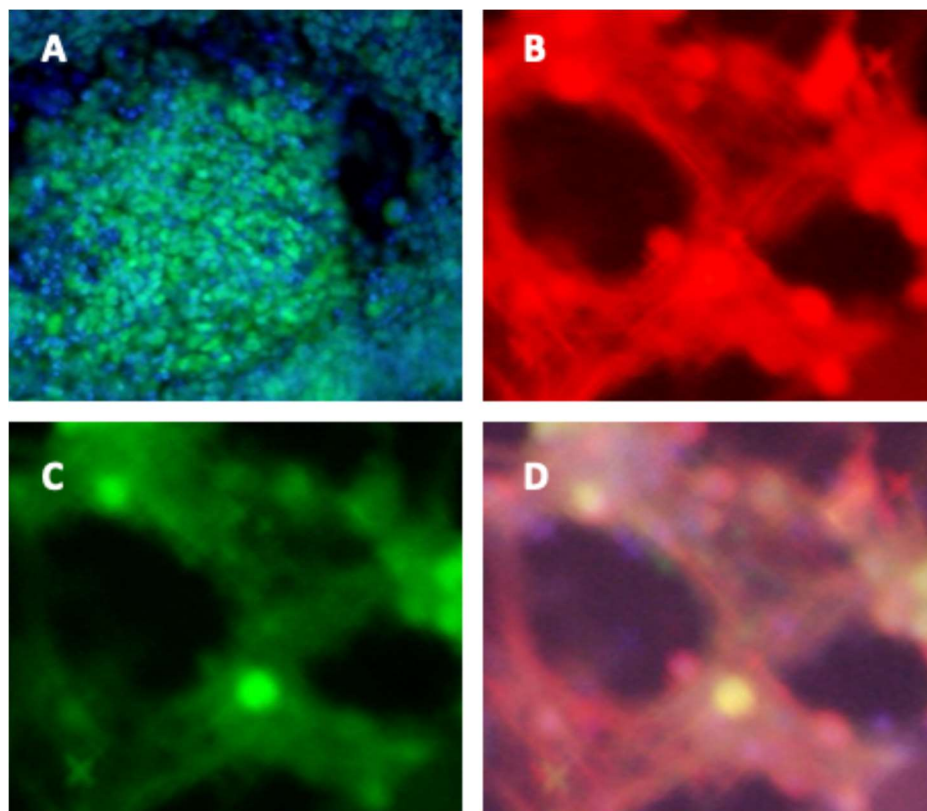


Fig. 1. Differentiation of induced pluripotent stem cells into neural progenitor cells. (A) To evaluate lineage commitment, the cells were stained with the anti-Human SOX1 antibody (green). Characterization of Dopaminergic Neurons Generated from Human Pluripotent Stem Cells. Dopaminergic neurons were generated from human pluripotent stem cells as described methods. (B) MAP-2 was detected using Anti-MAP2 Monoclonal Antibody (Merck, Catalog # MAB3418, 1:100; red). (C) Tyrosine Hydroxylase was detected using Mouse Anti-Human Tyrosine Hydroxylase Monoclonal Antibody (Santa Cruz, Catalog # sc-7847, 1:100; green). (D) dual staining cells with DAPI.

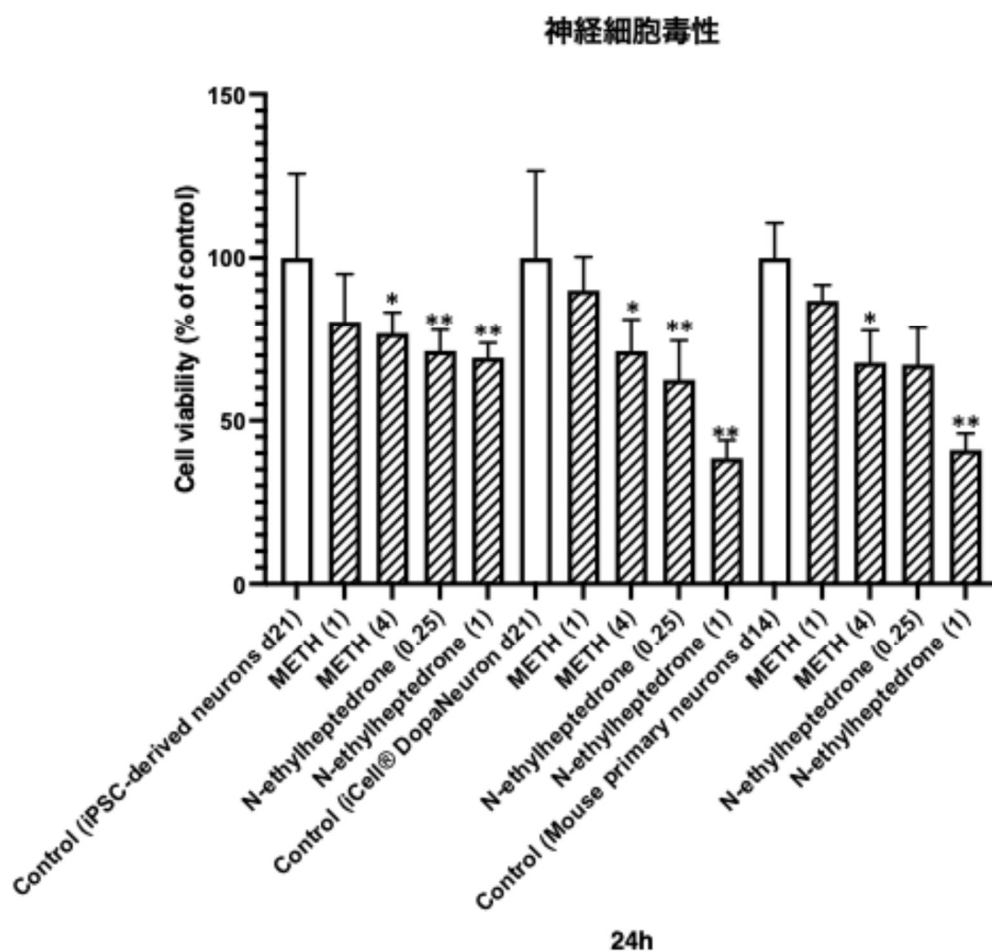


Fig.2 Cell viability in iPS cells-derived dopaminergic neurons, iCell® DopaNeurons and mouse forebrain cultures after treatment with methamphetamine and N-ethylheptedrone.

The relative value of cell viability compared to the baseline value for control and iPS cells-derived dopaminergic neurons, iCell® DopaNeurons and mouse forebrain cultures treated with methamphetamine (METH, 1-4 mM) and N-ethylheptedrone (0.25-1 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.

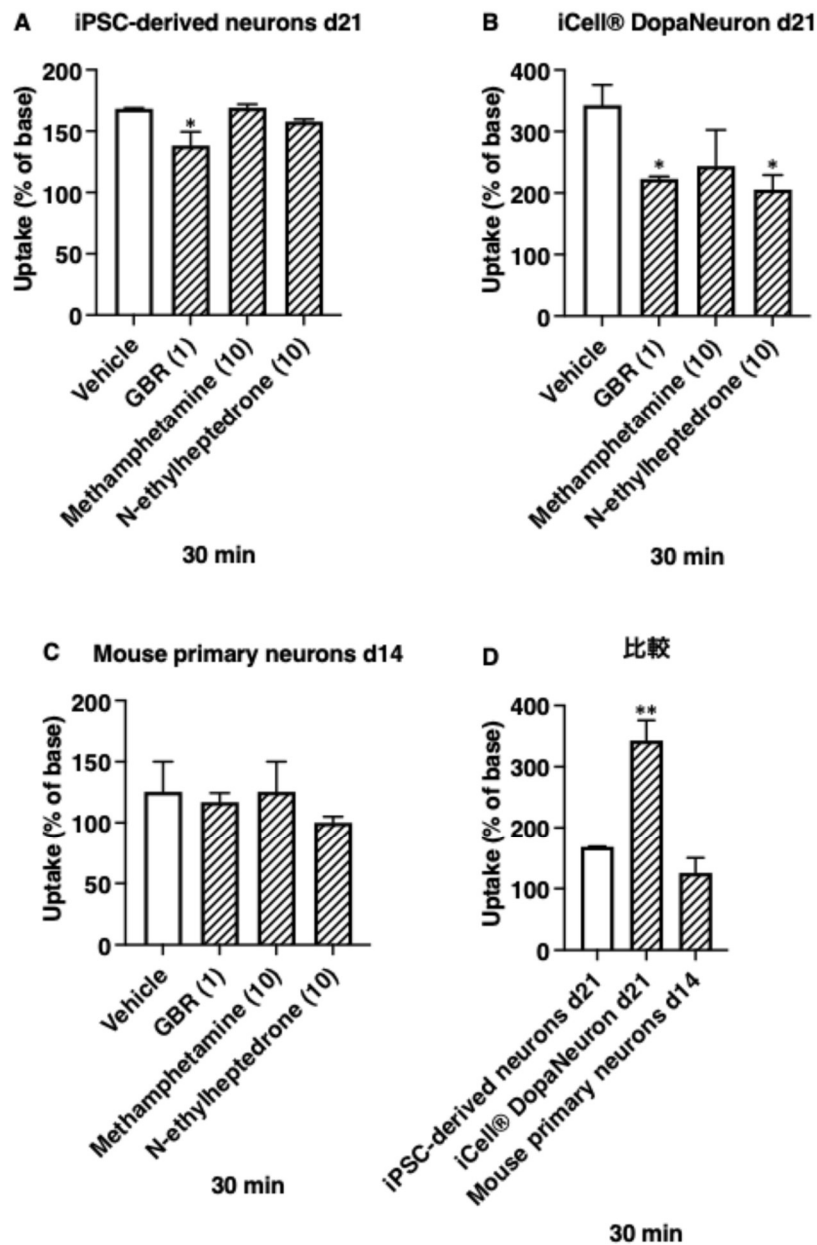


Fig. 3. Inhibitory effect of GBR, methamphetamine and N-ethylheptedrone on neurotransmitter transporter uptake at DAT in iPS cells-derived dopaminergic neurons, iCell® DopaNeurons and mouse forebrain cultures. DA uptake assay was used DAT selective inhibitor GBR12909 (1 μ M), methamphetamine (10 μ M) or N-ethylheptedrone (10 μ M). (A) iPS cells-derived dopaminergic neurons, (B) iCell® DopaNeurons, (C) mouse forebrain cultures or (D) Comparison of the inhibitory effects of DAT on 3 different types of cells. Data point depicted represents the mean of three independent experiments performed in triplicate. * p <0.05, ** p <0.01 vs. control.

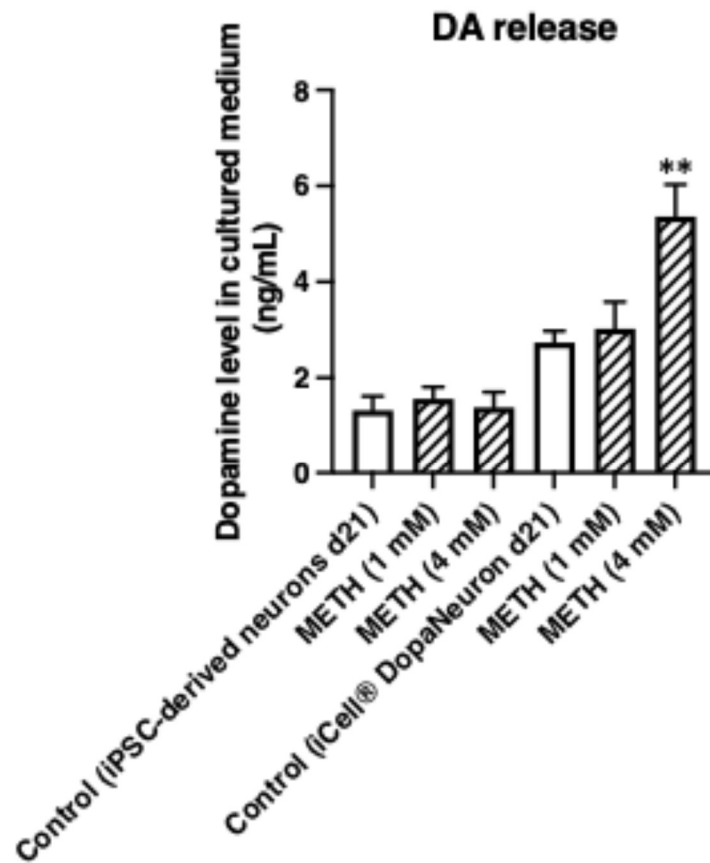


Fig. 3. Effect of methamphetamine on dopamine release from iPS cells-derived dopaminergic neurons and iCell® DopaNeurons.

Dopamine release was detected in response to 1-4 mM methamphetamine stimulation. Data point depicted represents the mean of three independent experiments performed in triplicate. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. control.

令和 6 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

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 QSAR 解析を行う。

[結果] 5-HT_{2A} 受容体の親和性を有する化合物群を用いて QSAR 解析を行った。その QSAR 式を用いて LSD 誘導体の活性を予測した。

[考察] 5-HT_{2A} 受容体の親和性を有する化合物群を用いて作成した QSAR 式を用いて LSD 誘導体の活性を予測した。実測値と予測値の比較を行った。

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、物質の中樞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。本年度はQSAR（定量的構造活性相関）を用いて、LSD誘導体の活性値を予測することを目的とした。

LSD および LSD 誘導体の構造を Fig 1, 2 に示した。

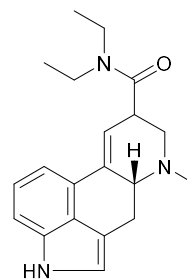


Fig 1 LSD

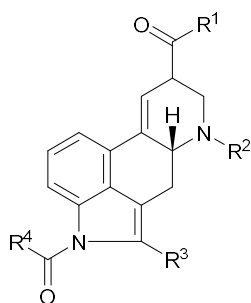


Fig 2 LSD 誘導体

C. 研究結果

LSD 誘導体の既知の活性値 (5-HT_{2A} 受容体の親和性) は少なく QSAR 解析をすることは難しい。(Fig 3) そこで、LSD 誘導体以外で 5-HT_{2A} 受容体に強い親和性を持つ化合物群 (Fig 4) を母集団に加えて QSAR 解析を行った。

QSAR モデル構築には統合計算化学システム MOE を用いた¹⁰⁾。MOE に搭載されている AutoQSAR プログラムにより、QSAR 式を構築した。記述子は、AutoQSAR プログラム内に搭載されている記述子から自動的に選択されたものである。QSAR 式作成には部分最小二乗法 (PLS) による回帰分析を用いた。

C. 研究結果

LSD 誘導体 (Fig 3) 10 化合物と 5-HT_{2A} 受容体に強い親和性を持つ化合物群 (Fig 4) 24 化合物を母集団に加えて QSAR 解析を行った結果を Fig 5 に示した。得られた QSAR 式を下に示した。

$$\begin{aligned} \text{Calc.} = & +1.617801 \\ & + 0.006813 * \text{PEOE_VSA}+0 \\ & + 0.023524 * \text{PEOE_VSA}+1 \\ & + 0.096160 * \text{PEOE_VSA}+3 \\ & + 0.014882 * \text{PEOE_VSA}-0 \\ & + 0.009175 * \text{PEOE_VSA}-1 \\ & - 0.430880 * \text{PEOE_VSA}-6 \\ & - 0.049980 * \text{SlogP_VSA}2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & - 0.046509 * \text{SlogP_VSA}7 \\ & - 0.009024 * \text{SlogP_VSA}8 \end{aligned}$$

得られた QSAR 式を用いて LSD 化合物 (すでに規制されている) (Fig 6) の 5-HT_{2A} 受容体に対する親和性を予測した。いずれの化合物も活性を高く見積もる傾向であった。しかし、値の大小関係は一致した。

D. 考察

本年度は QSAR (定量的構造活性相関) を用いて、LSD 誘導体の活性値を予測することを目的とした。LSD 誘導体の既知の活性値 (5-HT_{2A} 受容体の親和性) は少なく QSAR 解析をすることは困難であった (Fig 3)。

そこで、LSD 誘導体以外で 5-HT_{2A} 受容体に強い親和性を持つ化合物群 (Fig 4) を母集団に加えて QSAR 解析を行った。その結果、比較的良い QSAR 式 ($R^2=0.856937$) を得ることができた。また、活性値のある程度の傾向を予測することはできた。

E. 結論

本年度は QSAR (定量的構造活性相関) を用いて、LSD 誘導体の活性値を予測することを目的とした。LSD 誘導体 (Fig 3) 10 化合物と 5-HT_{2A} 受容体に強い親和性を持つ化合物群 (Fig 4) 24 化合物を母集団に加えて QSAR 解析を行った。

比較的良い QSAR 式 ($R_2=0.856937$) を得ることができた。また、活性値のある程度の傾向を予測することはできた。さらに正確な予測値を得るためには LSD 誘導体のバリエーションの活性値が必要である。

F. 参考文献

- 1) D. E. Nicols, WIREs Membrane Transport Signaling 2012, 1, 559-579
- 2) A. Rickli, et al, Neuropharmacology 99,

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ichimaru Y., Sugiura K., Kato K., Kondo Y., Kurihara M., Jin W., Imai M., Kurosaki H., [1-(Anthracen-9-ylmeth-yl)-1,4,7,10-tetra-az a-cyclododeca-ne]chlorido-zinc(II) nitrate, IUCrData, 2024, 9, x240665.
- 2) 荒井裕美子, 湯山円晴, 佐藤忠章, 栗原正明, QSAR によるフェンタニル系化合物のインシリコ活性予測: 国際医療福祉大学学会誌, 29, 2024, 102-109
- 3) 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.
- 4) Y. Ichimaru, K. Kato, R. Nakatani, R. Isomura, K. Sugiura, Y. Yamaguchi, W. Jin, H. Mizutani, M. Imai, M. Kurihara, M. Fujita, M. Otsuka, H. Kurosaki: Structural Characterization of Zinc(II)/Cobalt(II) Complexes of Chiral N-(Anthracen-9-yl)methyl-N,N-bis(2-picoly l)amine and Evaluation of DNA Photocleavage Activity: Chem Pharm Bull., 2023, 71(7), 545-551.
- 5) Y. Ichimaru, K. Kato, K. Sugiura, R. Isomura, H. Fujioka, T. Koike, S. Fujii, Kishida, M. Kurihara, Y. Yamaguchi, W. Jin, M. Imai, H. Kurosaki: Artificial helix supramolecule by doubly p-xylyl bridged bis(ZnII-cyclen) (cyclen = 1,4,7,10-tetraazacyclododecane): Inorg Chem Commun., 153, 2023, 110782
- 6) Y. Ichimaru, K. Kato, K. Sugiura, R. Isomura, H. Fujioka, T. Koike, S. Fujii, Kishida, M. Kurihara, Yamaguchi, Jin, M. Imai, H. Kurosaki: Artificial helix

supramolecule by doubly p-xylyl bridged bis(ZnII-cyclen) (cyclen = 1,4,7,10-tetraazacyclododecane): Inorg Chem Commun., 153, 2023, 110782

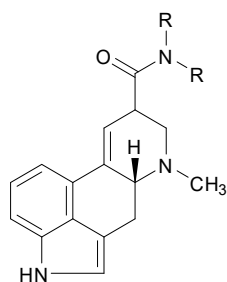
- 7) Ichimaru Y., Kato K., Sugiura K., Ogawa S., Jin W., Kurihara M., Yamaguchi Y., Imai M., Kurosaki H., Aqua { μ -1,4-bis[(1,4,7,10-tetraazacyclodode can-1-yl)methyl]benzene}(nitrate- κ O)dicop per(II) tris(nitrate) trihydrate, IUCrData, 2023, 8, x230462.
- 8) Ichimaru Y., Kato K., Jin W., Kurihara M., Kurosaki H.: (5-Fluoro-2,6-dioxo-1,2,3,6-tetra-hydro-pyri midin-1-ido- κ N1) (1,4,8,11-tetra-aza-cyclo-tetra-decane- κ 4N)z inc(II) perchlorate, IUCrData, 2023, 9, x240431.

2. 学会発表

- 1) 市丸 嘉, 加藤 紘一, 黒崎 博雅, 栗原正明: アントラセンを導入した[12]aneN3 誘導体-亜鉛錯体の DNA 切断活性: 日本薬学会第 144 年会 (2024/03)
- 2) 森谷俊介, 大石真菜, 出水庸介, 栗原正明, 橘高敦史, 杉山 亨: DNA への結合を強めるカチオン性シトシン誘導体のペプチド核酸: 日本薬学会第 144 年会 (2024/03)
- 3) Design and synthesis of a new cytosine derivative for PNA monomer with improved stability and affinity: S. Moriya, S. Matsumoto, Y. Demizu, M. Kurihara, A. Kittaka, T. Sugiyama : 第 61 回ペプチド討論会 (2024/10/29-31)

J. 知的財産権の出願・登録状況

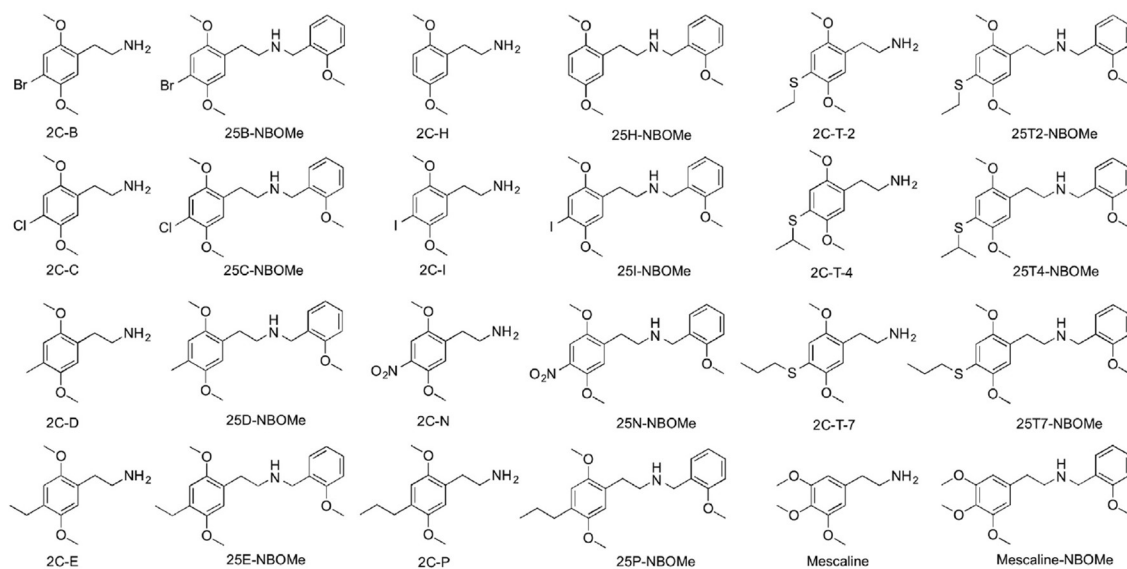
特許取得、実用新案登録、その他
特になし



	<i>R,R</i>
1	<i>N,N</i> -diethyl (LSD)
2	H, <i>R</i> - <i>sec</i> -pentyl
3	<i>R,R</i> - <i>trans</i> -2,3-dimethylazetidine
4	-(CH ₂) ₅ -
5	2,5-Dimethylpyrrolidyl
6	-(CH ₂) ₆ -
7	-(CH ₂) ₂ -O-(CH ₂) ₂ -
8	<i>N</i> -methyl- <i>N</i> -isopropyl
9	<i>N</i> -ethyl- <i>N</i> -2,2,2-trifluoroethyl
10	<i>N</i> -ethyl- <i>N</i> -2-methoxyethyl

(D. E. Nicols, WIREs Membrane Transport Signaling 2012, 1, 559-579)

Fig 3



(A.Rickli, et al, Neuropharmacology 99, 2015, 546-553)

Fig 4

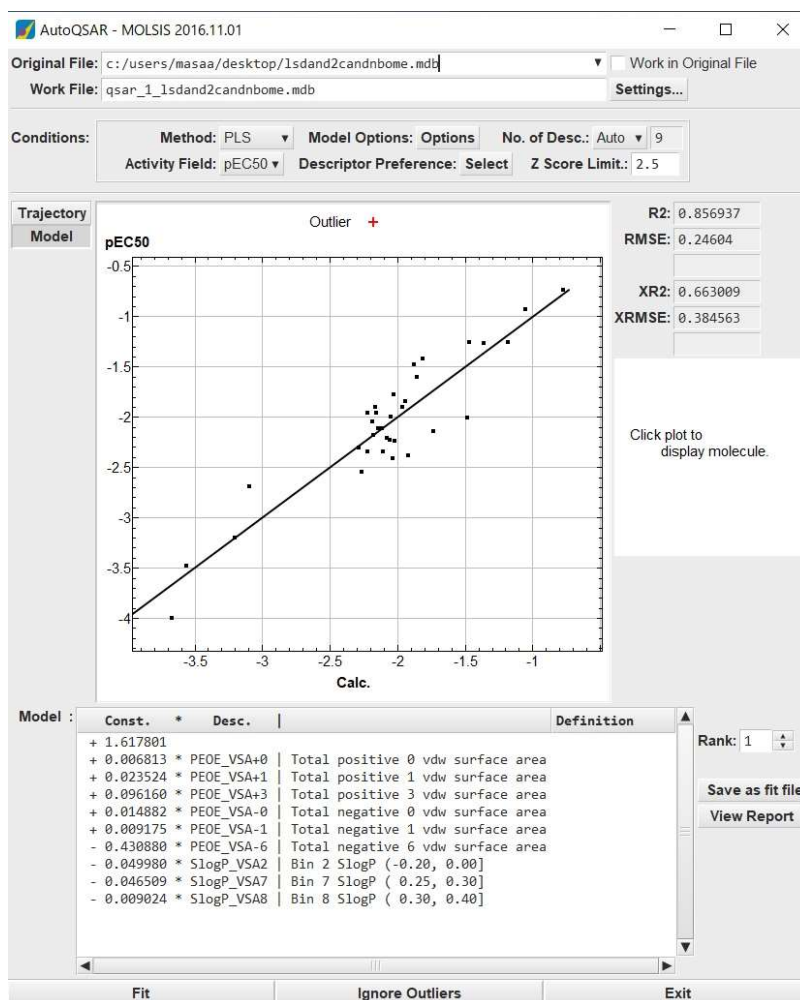


Fig 5

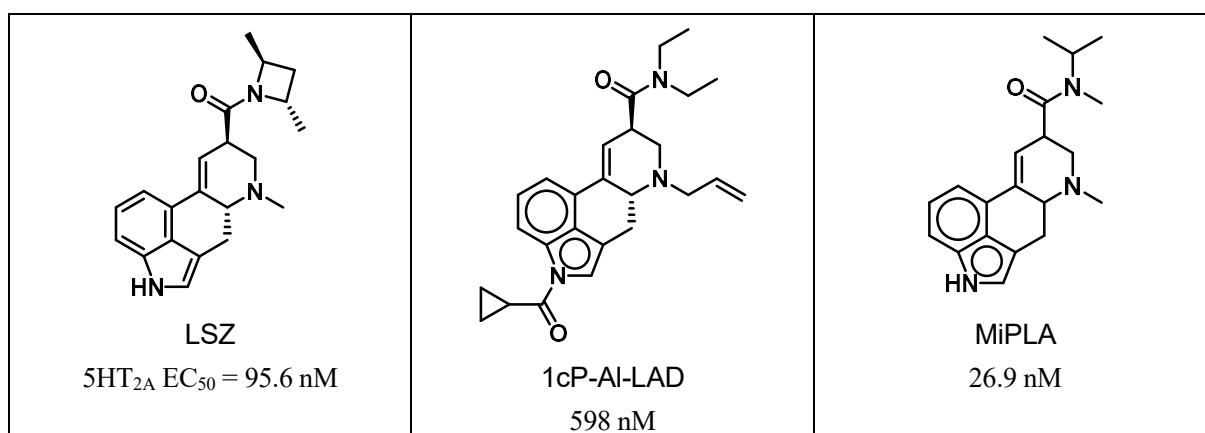


Fig 6

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
Takano, Ryota; Tanaka, Ryoko; Nakamura, Kayo; Tabata, Hidetsugu; Oshitari, Tetsuta; Natsugari, Hideaki; Takahashi, Hideyo.	Stereochemical properties of quazepam and its affinity for the GABA _A receptor.	Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,	110	129854	2024
Arita, Hironobu; Tanaka, Ryoko; Kikukawa, Shuntaro; Tomizawa, Tsukasa; Sakata, Haruka; Funada, Masahiko; Tomiyama, Kenichi; Hashimoto, Masaru ; Tasaka, Tomohiko; Tabata, Hidetsugu ; Nakamura, Kayo; Makino, Kosho; Oshitari, Tetsuta ; Natsugari, Hideaki ; Takahashi, Hideyo.	Fentanyl-Type Antagonist of the μ -Opioid Receptor: Important Role of Axial Chirality in the Active Conformation.	Journal of Medicinal Chemistry	67	10447-10463	2024
Suga, Mayuko; Fukushima, Saki; Makino, Kosho; Nakamura, Kayo; Tabata, Hidetsugu ; Oshitari, Tetsuta ; Natsugari, Hideaki ; Kuroda, Noritaka; Kanemaru, Kunio; Oda, Yuji; Takahashi, Hideyo.	Isomerization of E-Cinnamamides into Z-Cinnamamides Using a Recycling Photoreactor.	Journal of Organic Chemistry	89	8836-8844	2024
Kasai, Satoka; Ogawa, Natsuki; Takagi, Miho; Takahashi, Yukino; Makino, Kosho; Arita, Hironobu; Takahashi, Hideyo; Yoshizawa, Kazumi.	Fentanyl analogs exert antinociceptive effects via sodium channel blockade in mice.	Biological & Pharmaceutical Bulletin	47	872-877	2024
Ichimaru Y., Sugiura K., Kato K., Kondo Y., <u>Kurihara M.</u> , Jin W., Imai M., Kurosaki H.	[1-(Anthracen-9-ylmeth-yl)-1,4,7,10-tetra-aza-cyclododeca-ne]chlorido-zinc(II) nitrate	IUCrData	9	x240665	2024

荒井裕美子, 湯山円晴, 佐藤忠章, <u>栗原正明</u> ,	QSARによるフェンタニル系化合物のインシリコ活性予測	国際医療福祉大学学会誌	29	102-109	2024
----------------------------------	-----------------------------	-------------	----	---------	------

「厚生労働科学研究費における倫理審査及び利益相反の管理の状況に関する報告について

令和 7 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 芙志枝

次の職員の令和 6 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 (所属部署・職名)

湘南医療大学・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 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
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	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
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：湘南医療大学実験動物規程)	☒ 有 ☐ 無	☒	湘南医療大学実験動物委員会	☐

(※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」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系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 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

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 ☒ 無 ☐ (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 ☒ 無 ☐ (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 ☒ 無 ☐ (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 ☐ 無 ☒ (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。

「厚生労働科学研究費における倫理審査及び利益相反の管理の状況に関する報告について

令和 7 年 3 月 1 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 6 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 (所属部署・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 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
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	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
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：)	☐ 有 ☒ 無	☐		☐

(※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」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系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 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

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 ☒ 無 ☐ (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 ☒ 無 ☐ (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 ☒ 無 ☐ (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 ☐ 無 ☒ (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。

「厚生労働科学研究費における倫理審査及び利益相反の管理の状況に関する報告について

令和 7 年 3 月 21 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 6 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 (所属部署・職名)

国立精神・神経医療研究センター・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 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
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	☒ 有 ☐ 無	☒	国立精神・神経医療研究センター	☐
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：)	☐ 有 ☐ 無	☐		☐

(※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」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系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 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

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 ☒ 無 ☐ (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 ☒ 無 ☐ (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 ☒ 無 ☐ (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 ☐ 無 ☒ (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。

「厚生労働科学研究費における倫理審査及び利益相反の管理の状況に関する報告について

令和 7 年 3 月 6 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 芙志枝

次の職員の令和 6 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 (所属部署・職名)

湘南医療大学・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 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
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	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
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：)	☐ 有 ☒ 無	☐		☐

(※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」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系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 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

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 ☒ 無 ☐ (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 ☒ 無 ☐ (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 ☒ 無 ☐ (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 ☐ 無 ☒ (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。