

急増する植物成分由来危険ドラッグの迅速な規制に資する研究

研究代表者:花尻(木倉)瑠理 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 室長

研究要旨: 指定薬物 11 α -HHC 及び 11 β -HHC とそれらのアセチル化体 11 α -HHC-*O*-acetate 及び 11 β -HHC-*O*-acetate, また麻薬成分 Δ^9 -THC 及び Δ^8 -THC のアセチル化体 Δ^9 -THC-*O*-acetate 及び Δ^8 -THC-*O*-acetate の6化合物について, 流通実態調査, 分析用標品の製造, 対象化合物の化学的特性及び分析法の検討, *in vitro*による代謝検討, そして *in vivo*, *in vitro* 及び *in silico* による薬理学的特性を検討した. その結果, 下記が明らかとなった.

- ① Δ^8 -THC-*O*-acetate 312 mg (99.7%), Δ^9 -THC-*O*-acetate 312 mg (98.7%), 11 α -HHC-*O*-acetate 150 mg (99.7%), 11 β -HHC-*O*-acetate 183 mg (99.6%) を合成し, 分析用標品として確保した.
- ② THCO の含有を標榜するオイル状製品から, Δ^8 -THC-*O*-acetate, Δ^9 -THC-*O*-acetate, $\Delta^{4(8)}$ -*iso*-THC-*O*-acetate, HHCO の含有を標榜するオイル状製品からは 11 β -HHC-*O*-acetate, 11 α -HHC-*O*-acetate, dihydro-*iso*-THC-*O*-acetate を検出・同定した. 両製品から, マイナー成分(副生成物) $\Delta^{4(8)}$ -*iso*-THC-*O*-acetate もしくは dihydro-*iso*-THC-*O*-acetate が検出されており, CBD を原料に合成された可能性が高いことが示唆された.
- ③ i) 各アセチル化体において, メタノール溶液では GC-MS 測定時及び室温保管時に一部脱アセチル化が認められたため, 溶解溶媒はアセトニトリル及びヘキサンが望ましいと考えられた. ii) 市販のイムノクロマト法によるスクリーニングキット製品を用いて対象6化合物の検出を確認した結果, 尿中代謝物を検出対象とした製品では高濃度でも陰性を示したが, 唾液中大麻草成分を検出対象とした製品では, いずれの化合物も 1-10 μ g/mL 以上の濃度で陽性を示した. iii) 天然由来カンナビノイド及び半合成カンナビノイド成分(アセチル化体を含む)計23成分について, LC-(QTOF)MS 及び GC-(QTOF)MS による一斉識別法を開発した.
- ④ ヒト肝臓マイクロゾームを用いて検討した結果, Δ^9 -THC-*O*-acetate, Δ^8 -THC-*O*-acetate, 11 α -HHC-*O*-acetate, 11 β -HHC-*O*-acetate は, ヒト体内で酵素化学的に加水分解され, 麻薬 Δ^9 -THC, Δ^8 -THC, および指定薬物 11 α -HHC, 11 β -HHC をそれぞれ生成すると考えられた. また, これらの反応には, 少なくともヒト肝臓マイクロゾームのカルボキシエステラーゼが関与することが示唆された.
- ⑤ Δ^9 -THC-*O*-acetate, Δ^8 -THC-*O*-acetate, 11 α -HHC, 11 β -HHC, 11 α -HHC-*O*-acetate 及び 11 β -HHC-*O*-acetate を投与したマウスにおいて, いずれもカタレプシー様の無動状態及び体温下降作用の発現が確認された. これらの効果は, カンナビノイド CB_1 受容体拮抗薬 AM251 の前処置によって抑制され, カンナビノイド CB_1 受容体が関与することが明らかになった.
- ⑥ ヒトカンナビノイド CB_1 受容体を発現させた細胞を用いて検討を行った結果, Δ^9 -THC-*O*-acetate, Δ^8 -THC-*O*-acetate, 11 α -HHC, 11 β -HHC 及び 11 β -HHC-*O*-acetate は, 陽性化合物 CP-55,940 と比較して弱い効果ではあったが, CB_1 受容体作用を有していることが確認された. 11 α -HHC-*O*-acetate のみ有意な受容体活性化は認められなかったが, 動物実験において薬理作用の発現を認めることから, その活性には生体内における代謝の関与が示唆された.

⑦ Δ^8 -THC-*O*-acetate, Δ^9 -THC-*O*-acetate, 11α -HHC-*O*-acetateおよび 11β -HHC-*O*-acetateのコンピューターモデリング計算結果では、計算に用いたCB₁受容体-AM11542複合体中のカンナビノイド誘導体AM11542と同様に結合し、その結合はCBDよりも強力であることが示唆された。

以上の結果より、 Δ^9 -THC-*O*-acetate, Δ^8 -THC-*O*-acetate, 11α -HHC, 11β -HHC, 11α -HHC-*O*-acetate及び 11β -HHC-*O*-acetateを摂取した場合、CB₁受容体が関与した薬理作用の発現が予測され、これらの化合物を乱用することにより健康被害の発生が危惧される。

研究分担者(アイウエオ順)

石井 祐次 九州大学大学院薬学研究院
准教授
田中 理恵 国立医薬品食品衛生研究所
生薬部 主任研究官
出水 庸介 国立医薬品食品衛生研究所
有機化学部 部長
花尻 (木倉) 瑠理
国立医薬品食品衛生研究所
生薬部 室長
船田 正彦 湘南医療大学薬学部 教授

研究協力者(アイウエオ順)

河村麻衣子 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部
黒原 原崇 国立医薬品食品衛生研究所
有機化学部 研究員
正田 卓司 国立医薬品食品衛生研究所
有機化学部 室長
辻 徹一郎 国立医薬品食品衛生研究所
有機化学部 主任研究官
富山 健一 国立精神・神経医療研究センター
依存性薬物研究室 室長
三澤 隆史 国立医薬品食品衛生研究所
有機化学部 室長
水谷佐久美 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部
李 任時 中国薬科大学

A. 研究目的

本研究は、大麻の代替品として国内流入が急増して問題となっている大麻成分由来化合物について、医薬品医療機器等法の下に制定されて

いる指定薬物制度に対応し、規制化の検討に必要な科学的データを監視指導・麻薬行政に提供することを目的とする。

近年、大麻の代替品として、大麻の幻覚作用の主体である麻薬成分 Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC)や Δ^8 -THCと構造類似の大麻成分由来化合物を含有する製品の国内流入が急増している。Hexahydrocannabinol (HHC)は大麻成分を原料として合成され、流通製品からは2種類の異性体(11α -HHC及び 11β -HHC)が同時に検出される。HHCは令和4年3月に指定薬物に指定されたが、規制後すぐに類似の新規化合物を含有する製品が出現して問題となっている。規制化合物であるHHC, Δ^9 -THC及び Δ^8 -THCの水酸基をアセチル化したHHC-*O*-acetate, Δ^9 -THC-*O*-acetate及び Δ^8 -THC-*O*-acetateは、新たに国内流入が確認されている代表的な大麻成分由来化合物である。これらの化合物については、人が摂取した際にどのような危険性があるのか、現在までに国内外において化学的特性及び薬理的特性を検討した報告がなく、早急な検討が必要である。

本研究では、早急に検討すべき活性未知の大麻成分由来化合物を対象を絞り、危害影響予測のための検討を行った。即ち、すでに指定薬物として規制されている 11α -HHC及び 11β -HHCとそれらのアセチル化体 11α -HHC-*O*-acetate及び 11β -HHC-*O*-acetate, また麻薬成分 Δ^9 -THC及び Δ^8 -THCのアセチル化体 Δ^9 -THC-*O*-acetate及び Δ^8 -THC-*O*-acetateの6化合物について、流通実態調査、分析用標品の製造、対象化合物の化学的特性及び分析法の検討、*in vitro*による代謝検討、

そして*in silico*, *in vitro*及び*in vivo*による薬理学的特性を検討し、指定薬物指定の検討に必要な科学的データを取得することを試みた。

B. 研究方法

【花尻(木倉)瑠理】

1) 大麻草由来成分の構造類似化合物の識別法に関する検討

対象6化合物について、GC-MS及びLC-MSを用いた分析法、また、イムノクロマト法を使用した市販スクリーニングキットによる検出法について検討を行った。アセチル化体 Δ^8 -THC-*O*-acetate、 Δ^9 -THC-*O*-acetate、 11α -HHC-*O*-acetate および 11β -HHC-*O*-acetateの4化合物について、メタノール、アセトニトリル、ヘキサンに溶解し、各溶液についてGC-MS測定時の安定性を確認すると共に、室温保存時の経時変化についてLC-MSにより検討を行った。市販のイムノクロマト法を用いたスクリーニングキットは、尿検査用 Accu Sign® DOA THC 及び唾液検査用 ToxWipe™ Oral6+ (共に関東化学)を用い、対象6化合物の各濃度のアセトニトリル溶液を水で10倍希釈して試料溶液とし検出確認を行った。

2) 半合成カンナビノイドを含む大麻成分由来23化合物の一斉分析法の検討

多種多様な成分を含む製品分析に対応可能な一斉分析法を確立するために、半合成化合物を含む大麻成分由来23化合物を対象として、LC-MSとGC-MSによる分離分析法を検討した。また、本分析法を用いて、これら化合物含有を標榜する3製品の分析を行い、検出成分についての検討を行った。分析にはLC-MS (UPLC AQUITY SQD, waters), LC-QTOFMS (TripleTOF 6600 LC-MS/MS, Sciex), 及びGC-MS (5975MSD GC-MS, Agilent), GC-QTOFMS (7200 Q-TOF GC-MS, Agilent)を用いた。LC-MSの移動相はA:0.1%ギ酸水溶液、B:0.1%ギ酸アセトニトリル溶液を用い、グラジェント条件で測定した。製品はアセトニトリルで抽出

を行い、フィルターろ過したものを分析に用いた。

3) 大麻草由来成分の誘導体のカンナビノイドCB₁, CB₂受容体における*in vitro*アゴニスト活性

対象6化合物について、ヒトリコンビナントCB₁及びCB₂カンナビノイド受容体を発現させた細胞を用いて、³⁵Sで標識したGuanosine 5'-(γ -thio) triphosphate (³⁵S-GTP γ S)結合を指標とした受容体機能評価試験を行い、被験物質のレセプターに対する最大反応の50%を示す濃度(EC₅₀値)を算出した。最終被験物質濃度は 1×10^{-12} から 1×10^{-5} mol/Lの8濃度設定した。また、CP55940を陽性物質として使用した。(積水メディカル株式会社へ委託)。

【田中 理恵】

令和4年度に入手したTHCアナログの含有を標榜するのうちオイル2製品を分析に供した。製品1mgをアセトニトリル1mLを加えて超音波下10分間抽出を行った後、さらに膜ろ過を行い、不溶成分を取り除いて、適宜希釈してGC-MS, LC-MSの測定試料とした。また、製品中の未知成分は、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによりHex-Hex:EtoAc 100:1-30:1で溶出して単離した。単離した成分は、精密質量分析及びNMRにより構造を同定した。

【出水 庸介】

Cannabidiol (CBD)を原料に、 Δ^8 -THC-*O*-acetate および Δ^9 -THC-*O*-acetate、また 11α -HHC-*O*-acetate および 11β -HHC-*O*-acetateを合成した。

Δ^8 -THC-*O*-acetateは、CBDを触媒量のトシル酸存在下にトルエン中加熱還流し、2重結合とフェノール性水酸基間にて環化反応を進行させて Δ^8 -THCを合成し、さらに水酸基をアセチル化することで合成した。 Δ^9 -THC-*O*-acetateは、まず、CBDに1.5倍量に相当する三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体を-78℃に冷却した条件で添加し、その後-40℃で長時間攪拌した。続いて、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより異性体を含まない高純度な Δ^9 -THCを精製し、 Δ^9 -THCの水酸基をアセチル化することで合成した。

11 α -HHC-*O*-acetate 及び11 β -HHC-*O*-acetate については、まず Δ^8 -THCを還元することにより11 α -HHC及び11 β -HHCを得た。これらジアステレオマーをシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製した後、それぞれをアセチル化することで合成した。

合成した化合物のカンナビノイド CB₁ 受容体に対する結合親和性をコンピュータモデリングにて評価した。ドッキングシミュレーションは、Molecular Operating Environment (MOE) 2022.02 を使用して行った。

【石井 祐次】

各アセチル化体4化合物について、1 mg/mL DMSO 溶液を、終濃度 50 μ g/mL となるように加えた。酵素反応は 100 mM Tris-HCl (pH 7.4) で行い、プールドヒト肝臓ミクロゾーム (Corning) 10 μ g protein の存在下、終容量 200 μ L として 37°C でインキュベーションを行った。反応溶液中の脱アセチル化体の薬物濃度は、BEH Shield RP18 Column を装着した ACQUITY UPLC (Waters) により測定した。酵素的加水分解生成物を含むその他の各代謝物は、UPLC-QTOFMS によって構造を解析した。

【船田 正彦】

対象6化合物及び陽性化合物 CP-55,940 について、ICR 系雄性マウスを用いた行動薬理的解析とカンナビノイド CB₁ 受容体作用の有無を検討した。行動薬理的解析では、各薬物投与後、無道状態 (カタレプシー) をバーテストで、直腸体温をデジタル体温計で測定した。カンナビノイド CB₁ 受容体拮抗薬 AM251 (3 mg/kg, i.p.) は、各薬物投与15分前に処置した。カンナビノイド CB₁ 受容体作用評価は、チャイニーズハムスター卵巣 (CHO; Chinese Hamster Ovary) 細胞にヒト CB₁ 受容体をトランスフェクションし、発現安定細胞株 CHO-CB₁ 細胞を確立し、薬物添加後の細胞内カルシウム濃度を蛍光強度の変化として、Flexstation II により測定した。カンナビノイド CB₁ 受容体拮抗薬とし

て AM251、カンナビノイド CB₂ 受容体拮抗薬として AM630 を使用した。

C. 結果及び考察

【花尻 (木倉) 瑠理】

1) 大麻草由来成分の構造類似化合物の識別法に関する検討

LC-MS による分析条件を検討した結果、C18 カラム (ACQUITY BEH C18 2.1mm \times 100mm, 1.7 μ m, Waters) を用いたグラジエント条件で6化合物の十分なピーク分離が可能であった。GC-MS による測定では、 Δ^9 -THC-*O*-acetate 及び Δ^8 -THC-*O*-acetate の異性体間ではフラグメンテーションパターンが異なり判別が容易であったが、11 α -及び11 β -HHC、またそれらのアセチル化体における立体異性体間ではマススペクトルがほぼ同一であった。さらに、11 α -HHC と 11 α -HHC-*O*-acetate は、DB-1 及び DB-5 相当のカラムでは十分な分離が困難であった。各アセチル化体4化合物について3種類の溶媒を用いて測定を行った結果、メタノール溶液では、GC-MS で測定時に一部が分解して脱アセチル化体が同時に検出されたが、その他の溶媒では分解物は認められなかった。また、各溶液を室温保存し経時的に LC-MS で測定したところ、メタノール溶液では2日後に脱アセチル化体がメインピークとの面積比で1%程度確認され、1週間後では5-8%程度に増大した。一方で、アセトニトリル及びヘキサン溶液では分解物は確認されなかったため、これらの溶媒を用いた試料調製、保管が望ましいと考えられた。スクリーニングキットを用いた検出では、代謝物を検出対象とした Accu Sign[®] DOA THC (Δ^9 -THC-COOH カットオフ値 50 ng/mL) では、対象6化合物は10 μ g/mL の濃度でも陰性であった。一方、 Δ^9 -THC 等複数の大麻草成分を検出対象とした ToxWipe[™] Oral6+ (Δ^9 -THC カットオフ値 25 ng/mL) では、6化合物が1-10 μ g/mL の濃度で陽性を示した。

2) 半合成カンナビノイドを含む大麻成分由来

23 化合物の一斉分析法の検討

近年流通が問題となっているカンナビノイド及びそのアセチル化体計 11 化合物 (CBN, CBD, Δ^8 -THC, Δ^9 -THC, 11 α -HHC, 11 β -HHC, 及びアセチル化体 CBN-O, Δ^8 -THC-O, Δ^9 -THC-O, 11 α -HHC-O, 11 β -HHC-O) について, LC の分析条件を検討したところ, カラム Cortecs C18 (2.1mm i.d.×150mm, 2.7 μ m, Waters) のグラジエント分析で, これら 11 化合物の良好な分離が得られ, その他の天然由来カンナビノイド成分 (CBDV, CBDB, CBDP, CBDA, Δ^9 -THCV, Δ^9 -THCB, Δ^9 -THCP, Δ^9 -THCA-A, CBG, CBGA, CBC, CBL) を合わせた計 23 化合物の一斉分析においても十分な分離識別が可能であった. 一方, GC では, カラム HP-5MS (30m×0.25mm i.d., 0.25 μ m, Agilent) による分析で, カルボン酸体を除く計 20 化合物の分離識別が可能であった. 次に, これらの測定条件を用いて HHC, HHCO, THCO 等の含有を標榜するオイル状製品の抽出物について分析を行った結果, LC-MS と GC-MS で, 主成分以外に, 合成時の副生成物と考えられる複数の成分が検出された. LC-QTOFMS 及び GC-QTOFMS により, それぞれのピークのスペクトルを詳細に解析した結果, CBD を原料とする 2 つの合成経路が推測された. また, これらの製品から異性体が複数検出されたが, 解析する上で, GC-QTOFMS の精密質量情報が有用であった. しかし GC-MS で検出されない微量成分が, LC-MS で検出される場合も散見され, LC-MS と GC-MS の両方で解析を行うことが望ましいと考えられた.

3) 大麻草由来成分の誘導体のカンナビノイド CB₁, CB₂ 受容体における *in vitro* アゴニスト活性

対象 6 化合物について, CB₁, CB₂ 受容体における *in vitro* アゴニスト活性を測定した. その結果, CB₁ 受容体に対するアゴニスト活性は, 最も活性が強かった 11 β -HHC の EC₅₀ 値が 7.96×10⁻⁶ mol/L であったが, その他は >1×10⁻⁵ mol/L であっ

た. また, 陽性化合物 CP-55,940 が 100% の活性を示す 1 × 10⁻⁵ mol/L (10 μ M) の濃度において, 11 α -HHC 16%, 11 β -HHC 52%, 11 β -HHC-*O*-acetate 35%, Δ^8 -THC-*O*-acetate 21%, Δ^9 -THC-*O*-acetate 9% のアゴニスト活性を示したが, 11 α -HHC-*O*-acetate は活性が認められなかった. カンナビノイド CB₂ 受容体対しては, いずれの化合物も EC₅₀ 値は >1×10⁻⁵ mol/L であり, 1 × 10⁻⁵ mol/L (10 μ M) におけるアゴニスト活性も 0~20% であった.

【田中 理恵】

令和 4 年度に入手した 2 製品について, GC-MS, LC-MS, HR-MS, および NMR 分析を行った. その結果, THCO の含有を標榜する製品からは, Δ^8 -THC-*O*-acetate, Δ^9 -THC-*O*-acetate, $\Delta^{4(8)}$ -*iso*-THC-*O*-acetate, HHCO の含有を標榜する製品からは 11 β -HHC-*O*-acetate, 11 α -HHC-*O*-acetate, dihydro-*iso*-THC-*O*-acetate を検出・同定した. $\Delta^{4(8)}$ -*iso*-THC-*O*-acetate については, CBD から環化反応で Δ^9 -THC または Δ^8 -THC を合成する際に副生することが報告されている $\Delta^{4(8)}$ -*iso*-THC の水酸基がアセチル化された化合物と考えられ, また, dihydro-*iso*-THC-*O*-acetate については, 同様に CBD から THC を経て HHC を合成する際に副生する dihydro-*iso*-THC の水酸基がアセチル化された化合物と考えられた. 従って, 両製品ともに CBD をもとに合成された可能性が高いことが示唆された. なお, 2 製品とも, その他構造不明の成分が検出されており, 引き続き解析を行う必要がある.

【出水 庸介】

Δ^8 -THC-*O*-acetate 312 mg (純度 99.7%),
 Δ^9 -THC-*O*-acetate 312 mg (純度 98.7%),
11 α -HHC-*O*-acetate 150 mg (純度 99.7%),
11 β -HHC-*O*-acetate 183 mg (純度 99.6%) を合成し, 分析用標品として確保した.

Δ^8 -THC-*O*-acetate, Δ^9 -THC-*O*-acetate,
11 α -HHC-*O*-acetate および 11 β -HHC-*O*-acetate の
コンピューターモデリング計算結果では, 計算に用い

たCB1受容体-AM11542複合体中のカンナビノイド誘導体AM11542と同様に結合することが示唆された。また、CBD(-8.187 kcal/mol)と比較し、それぞれ Δ^8 -THC-*O*-acetate(-9.419 kcal/mol)、 Δ^9 -THC-*O*-acetate(-9.470 kcal/mol)、11 α -HHC-*O*-acetate(-9.061 kcal/mol)および11 β -HHC-*O*-acetate(-9.449 kcal/mol)と見積もられ、より強力に結合することが示唆された。

【石井 祐次】

Δ^9 -THC-*O*-acetate, Δ^8 -THC-*O*-acetate, 11 α -HHC-*O*-acetate および 11 β -HHC-*O*-acetate について、ヒト肝臓マイクロソームと37°Cでインキュベーションした結果、脱アセチル化体である Δ^9 -THC, Δ^8 -THC, 11 α -HHC および 11 β -HHCの分析用標品と同一の保持時間に、それぞれピークが検出された。これら脱アセチル化体のピークは、反応時間依存的に増加し、60分後にはアセチル化体は殆ど残存しなかった。また、 Δ^8 -THC-*O*-acetateの方が、 Δ^9 -THC-*O*-acetate, 11 α -HHC-*O*-acetate および 11 β -HHC-*O*-acetate よりも加水分解され易い傾向が認められた。なお、加水分解は予め煮沸してタンパク質(酵素)を変性させたヒト肝臓マイクロソームを用いたインキュベーションでは認められなかった。さらに、カルボキシエステラーゼ阻害剤 Bis(4-nitrophenyl) phosphate (BNPP) とプレインキュベーションしたヒト肝臓マイクロソームを酵素源としたインキュベーションにおいても、加水分解は殆ど認められなかった。

【船田 正彦】

Δ^9 -THC-*O*-acetate, Δ^8 -THC-*O*-acetate, 11 α -HHC, 11 β -HHC, 11 α -HHC-*O*-acetate 及び 11 β -HHC-*O*-acetate を ICR マウスにそれぞれ 20 mg/kg 投与した結果、カタレプシー様無動状態及び直腸体温の下降が観察された。一方、カンナビノイド CB₁ 受容体の強力な作用薬である CP-55,940 は、1 mg/kg の投与によってカタレプシー様無動状態及び直腸体温の下降が発現した。また、カンナビノイド CB₁ 受容体拮抗薬 AM251 (3 mg/kg) の前処置により、 Δ^9 -THC-*O*-acetate,

Δ^8 -THC-*O*-acetate, 11 β -HHC 及び 11 β -HHC-*O*-acetate (20 mg/kg) の投与 90 分後および

11 α -HHC 及び 11 α -HHC-*O*-acetate (20 mg/kg) の投与 180 分後において、カタレプシー様無動状態および体温下降は有意に抑制された。このことから、無動状態および体温下降の発現には、カンナビノイド CB₁ 受容体が関与することが明らかになった。

CHO-CB₁ 細胞を利用して、対象 6 化合物及び CP-55,940 のカンナビノイド CB₁ 受容体に対する作用を検討した結果、陽性対象である CP-55,940 の EC₅₀ は 7.42×10^{-7} M であった。一方、 Δ^9 -THC-*O*-acetate, Δ^8 -THC-*O*-acetate, 11 α -HHC, 11 β -HHC 及び 11 β -HHC-*O*-acetate は 40 μ M で有意な蛍光の増加が認められたが、11 α -HHC-*O*-acetate については、本試験濃度では有意な増加は認められなかった。これら化合物の作用は、カンナビノイド CB₁ 受容体拮抗薬 AM251 (10 μ M) の前処置により完全に抑制されたが、CB₂ 受容体拮抗薬 AM630 ではいずれの化合物においても抑制作用が認められなかった。

D. 結論

指定薬物11 α -HHC及び11 β -HHCとそれらのアセチル化体11 α -及び11 β -HHC-*O*-acetate, また麻薬成分 Δ^9 -THC及び Δ^8 -THCのアセチル化体 Δ^9 -THC-*O*-acetate及び Δ^8 -THC-*O*-acetateの6化合物について、下記が明らかとなった。

①分析用標品の製造

Δ^8 -THC-*O*-acetate 312 mg (純度99.7%),
 Δ^9 -THC-*O*-acetate 312 mg (純度98.7%),
11 α -HHC-*O*-acetate 150 mg (純度99.7%),
11 β -HHC-*O*-acetate 183 mg (純度99.6%)を合成し、分析用標品として確保した。

②流通実態調査

THCOの含有を標榜するオイル状製品から、 Δ^8 -THC-*O*-acetate, Δ^9 -THC-*O*-acetate, $\Delta^4(8)$ -*iso*-THC-*O*-acetate, HHCOの含有を標榜するオイル状製品からは11 β -HHC-*O*-acetate,

11 α -HHC-*O*-acetate, dihydro-*iso*-THC-*O*-acetate を検出・同定した。両製品から、マイナー成分(副生成物) $\Delta^4(8)$ -*iso*-THC-*O*-acetateもしくは dihydro-*iso*-THC-*O*-acetateが検出されており、CBDを原料に合成された可能性が高いことが示唆された。

③対象化合物の化学的特性及び分析法の検討

i) アセチル化体4化合物, Δ^8 -THC-*O*-acetate, Δ^9 -THC-*O*-acetate, 11 α -HHC-*O*-acetateおよび 11 β -HHC-*O*-acetateにおいて、メタノール溶液ではGC-MS測定時及び室温保管時に一部脱アセチル化が認められたため、溶解溶媒はアセトニトリル及びヘキサンが望ましいと考えられた。

ii) 市販のイムノクロマト法によるスクリーニングキット製品を用いて対象6化合物の検出を確認した結果、尿中代謝物を検出対象とした製品では高濃度でも陰性を示したが、唾液中大麻草成分を検出対象とした製品では、いずれの化合物も 1-10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の濃度で陽性を示した。

iii) 天然由来カンナビノイド及び半合成カンナビノイド成分計23成分について、LC-QTOFMS及びGC-QTOFMSによる一斉識別法を開発した。

④*in vitro*による代謝検討

ヒト肝臓マイクロゾームを用いて検討した結果、 Δ^9 -THC-*O*-acetate, Δ^8 -THC-*O*-acetate, 11 α -HHC-*O*-acetate, 11 β -HHC-*O*-acetateは、ヒト体内で酵素化学的に加水分解され、麻薬 Δ^9 -THC, Δ^8 -THC, および指定薬物11 α -HHC, 11 β -HHCをそれぞれ生成すると考えられた。また、これらの反応には、少なくともヒト肝臓マイクロゾームのカルボキシエステラーゼが関与することが示唆された。

⑤*In vivo* 薬理学的特性

対象6化合物を投与したマウスにおいて、いずれもカタレプシー様の無動状態及び体温下降作用の発現が確認された。これら効果は、カンナビノイドCB₁受容体拮抗薬AM251の前処置によって抑制され、カンナビノイドCB₁受容体が関与することが明らかになった。

⑥*In vitro* 薬理学的特性

ヒトカンナビノイドCB₁受容体を発現させた細胞を用いて検討した結果、 Δ^9 -THC-*O*-acetate, Δ^8 -THC-*O*-acetate, 11 α -HHC, 11 β -HHC及び 11 β -HHC-*O*-acetateは、陽性化合物CP-55,940と比較して弱い効果ではあったが、CB₁受容体作用を有していることが確認された。

11 α -HHC-*O*-acetateのみ有意な受容体活性化は認められなかったが、動物実験において薬理作用の発現を認めることから、その活性には生体内における代謝の関与が示唆された。

⑦*In silico* 薬理的特性

各アセチル化体4化合物, Δ^8 -THC-*O*-acetate, Δ^9 -THC-*O*-acetate, 11 α -HHC-*O*-acetateおよび 11 β -HHC-*O*-acetate)のコンピューターモデリング計算結果では、計算に用いたCB₁受容体-AM11542複合体中の、カンナビノイド誘導体AM11542と同様に結合し、その結合はCBDよりも強力であることが示唆された。

以上の結果より、 Δ^9 -THC-*O*-acetate, Δ^8 -THC-*O*-acetate, 11 α -HHC, 11 β -HHC, 11 α -HHC-*O*-acetate及び11 β -HHC-*O*-acetateを摂取した場合、CB₁受容体が関与した薬理作用の発現が予測され、これらの化合物を乱用することにより健康被害の発生が危惧される。

2022年12月に、欧州薬物・薬物依存監視センター(EMCDDA)は、「HHCおよび関連半合成カンナビノイド(semi-synthetic cannabinoids; SSC)に関する専門家会議」を開催し、これらの化合物の出現が、15年前に合成カンナビノイドを含有する「脱法ハーブ」が出現して以来、大麻に代わる「合法的」な市場において、初めての大きな変化となる可能性を指摘している。従来大麻草からはごく微量しか検出されない成分やその誘導体が、インターネット市場で、半合成/合成の高純度な粉末・オイル状製品として流通している。THC様作用を有することが報告されている化合物も存在し、海外では、hempにこれらを添加したものが、

高THC含有大麻草(marijuana)様の味や香りと作用を有する「合法的」な大麻製品として流通している。日本においても、大麻製品喫煙時の作用を期待して、これらを含む電子タバコ用のカートリッジ製品が流通している。しかし、これら化合物の大量使用、長期使用における有害性は明らかになっていない。THCには長期使用によるエピジェネティックな変化が報告されており、これら構造類似化合物についても同様の危険性が憂慮される。本研究において、これら化合物の流通実態及び有害性を把握し、指定薬物指定の検討に必要な科学的データを取得することは、大麻関連製品の乱用防止の一助になると考える。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

学会発表

- 1) 田中理恵, 河村麻衣子, 水谷佐久美, 花尻(木倉)瑠理:令和2年-令和3年の新規流通危険ドラッグ成分の同定, 第59回全国衛生化学技術協議会年会(2021.10.31-11.1, 川崎)
- 2) 河村麻衣子, 三澤隆史, 辻巖一郎, 黒原崇, 伊藤美千穂, 出水庸介, 花尻(木倉)瑠理:大麻草由来成分の構造類似体の分析法に関する検討. 日本薬学会第143年会(2023.3.26, 札幌)
- 3) 田中理恵, 花尻(木倉)瑠理:インターネット上で流通するオイル製品中のTHCアナログの同定. 日本薬学会第143年会(2023.3.26, 札幌).
- 4) 水谷佐久美, 河村麻衣子, 田中理恵, 三澤隆史, 辻巖一郎, 黒原崇, 伊藤美千穂, 出水庸介, 花尻(木倉)瑠理:大麻成分由来23化合物の一斉分析法の検討. 日本薬学会第143年会(2023.3.26, 札幌)
- 5) Pineda Garcia Jorge Carlos, 趙爽利, 李任時, 花尻瑠理, 出水庸介, 田中嘉孝, 石井祐次:

Δ^9 -THC-*O*-acetate および Δ^8 -THC-*O*-acetate のヒト肝臓ミクロゾームによる酵素化学的加水分解と Δ^9 -THC および Δ^8 -THC 生成. 日本薬学会第143年会(2023.3.26, 札幌).

論文発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他
なし