

令和2～令和4年度厚生労働科学研究費補助金
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業：20KC1003)
精神活性物質の迅速検出法ならびに有害作用評価法開発に関する研究

分担研究報告書 [3年間のまとめ]

新規精神活性物質の合成とその微量分析に関する研究

研究分担者 高橋秀依 (東京理科大学 薬学部)

【研究概要】

[研究テーマ：新規精神活性物質の合成とその微量分析に関する研究]

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

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

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

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

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

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

緒言

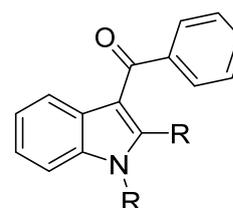
危険ドラッグの流通は、規制強化にもかかわらず、依然として終息しておらず、流通薬物の種類も多様化している。最大の原因は、特定の薬物を規制しても、次々に新しい薬物が登場する状況が続いている点である。こうした状況を打破するために、危険ドラッグの「合成カンナビノイドおよびカチノン系化合物」の化学構造に着目し、類似したものを一括で規制するいわゆる「包括規制」の導入が進んでいる。一方、危険ドラッグの種類は合成カンナビノイドやカチノン系化合物以外の、チオフェン誘導体やオピオイド系薬物のフェンタニル類似化合物などが登場している。こうした危険ドラッグの迅速な規制のためには、包括的な有害作用の評価法を構築すること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

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

1) 合成カンナビノイド類

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

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

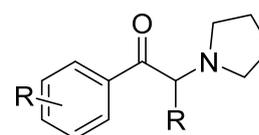


合成カンナビノイド類

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

2) カチノン類及び FPE 誘導体

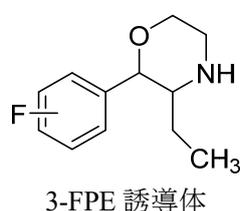
カチノン類の合成及び 3-FPE の誘導体合成を行った。



カチノン類

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

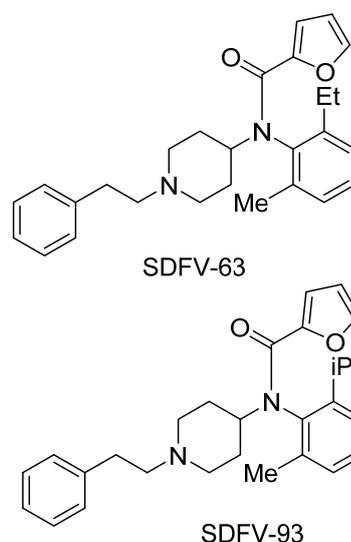
した。特に、3-FPE を立体選択的に与えるジアステレオ選択的な Henry 反応を用いることとし、今年度は溶媒効果を中心に検討した。その結果、誘電率の異なる溶媒を用いることで立体選択性の制御が可能となることがわかった。各エナンチオマーをキラル HPLC によって分離・単離した。それぞれの絶対配置は、化合物 4 の段階で、X 線結晶構造解析と CD スペクトルの測定を行い、決定した。Syn 体については、パラ置換体の一方のエナンチオマーの単結晶化に成功したため、X 線結晶構造解析を行い (5*R*,6*S*)-5-ethyl-6-(4-fluorophenyl)-3-morpholinone 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



3) フェンタニル誘導体

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

ただいた。



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

4) 分析データの拡充

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

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

【総括】

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

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

【研究業績】

1. 論文発表

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

2. 学会発表

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

識別、岡山、2020年6月5日

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

3. 知的財産権の出願・登録状況

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

実用新案登録：特になし

その他：特になし

3年間の研究成果の刊行に関する一覧表