

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

総合研究報告書 [3年間のまとめ]

精神活性物質の迅速検出法ならびに有害作用評価法開発に関する研究

研究代表者 船田正彦

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

【研究要旨】

[研究-1：細胞を利用した薬物の有害作用並びに検出法に関する研究]

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

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

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

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

[研究-2：新規精神活性物質の合成とその微量分析に関する研究]

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

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

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

結論：

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

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

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

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

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

A. 研究目的

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

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

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

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

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

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

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

B. 各研究の目的、方法、結果

[研究-1: 細胞を利用した薬物の有害作用並びに検出法に関する研究]

船田正彦

湘南医療大学 薬学部 教授

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

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

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

[研究-2: 新規精神活性物質の合成とその微量分析に関する研究]

高橋秀依

東京理科大学 薬学部 教授

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

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

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

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

C. 考察

1. 細胞を利用した薬物の有害作用並びに検出法に関する研究

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

2. 新規精神活性物質の合成とその微量分析に関する研究

本研究で作製した危険ドラッグ化合物ライ

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

D. 結論

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

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

E. 健康危険情報

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

すべて健康危険情報に該当する。

F. 研究発表

1. 論文発表

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

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

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

2. 学会発表

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

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