

## 新規オピオイド化合物の中枢作用とオピオイド受容体作用の関連性

研究分担者 船田正彦 (湘南医療大学 薬学部)

### 【研究概要】

#### [研究テーマ：新規オピオイド化合物の中枢作用とオピオイド受容体作用の関連性]

[緒言] 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。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、迅速かつ包括的な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、オピオイド化合物について、行動薬理学的特性並びに細胞を利用したオピオイド受容体活性強度の相関性に関する検討を行った。

[結果] 危険ドラッグとして流通しているオピオイド化合物 (12種類のフェンタニル類縁化合物、5種類のニタゼン系オピオイド化合物) について解析を行った。すべてのオピオイド化合物は、オピオイド受容体を介して、強力な中枢興奮作用および報酬効果を示すことが確認された。また、CHO- $\mu$ 細胞による解析から、オピオイド化合物の作用発現については、 $\mu$ 受容体活性が重要であることが明らかになった。オピオイド化合物による中枢興奮作用および報酬効果と $\mu$ 受容体活性化強度において有意な相関性が確認された。

[考察] オピオイド化合物による中枢興奮作用および報酬効果と $\mu$ 受容体活性化強度において有意な相関性が確認されたことから、オピオイド化合物による中枢興奮作用および報酬効果は $\mu$ 受容体活性化強度の解析から予測できると考えられる。オピオイド化合物は主にオピオイド $\mu$ 受容体に作用することから、CHO- $\mu$ 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。また、オピオイド化合物の精神依存性評価に関しては、マウスを使用したconditioned place preference (CPP)法による報酬効果の評価が有用性であると考えられる。

[結論] 本研究により、オピオイド化合物はオピオイド受容体を介して、中枢興奮作用および報酬効果を示すことが確認された。また、CHO- $\mu$ 細胞による解析から、オピオイド化合物の有害作用発現については、 $\mu$ 受容体の活性化が重要であることが明らかになった。オピオイド化合物による中枢興奮作用および報酬効果と $\mu$ 受容体活性化強度において有意な相関性が確認されたことから、オピオイド化合物による中枢興奮作用は $\mu$ 受容体活性化強度の解析から予測できると考えられる。本研究から、オピオイド化合物は中枢作用 (中枢興奮作用および報酬効果) 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。オピオイド化合物は主にオピオイド $\mu$ 受容体に作用することから、CHO- $\mu$ 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。

## 【緒言】

精神活性物質 (Psychoactive Substances) は、中枢神経系に作用し、感情や認知などの精神活動を調整する物質の総称である。規制薬物の麻薬や覚醒剤、医薬品として利用される向精神薬に加え、嗜好品として使用されるタバコやアルコールなどが含まれる。近年、世界各国で新しい合成物質が登場し、新規精神活性物質(New Psychoactive Substances) として流通が拡大しており、乱用に基づく死亡事例などの健康被害は大きな社会問題となっている。

わが国では、危険ドラッグが代表的な精神活性物質であり、合成カンナビノイド、カチノン系化合物およびオピオイド化合物などが引き続き、指定薬物として規制が進んでいる。危険ドラッグ蔓延における最大の問題点は、国内で流通する段階では、その多くが「未規制化合物」である点である。しかしながら、その作用は麻薬や覚醒剤と類似した効果を示すのである。現在の危険ドラッグ流通に関しては、使用規制および厳格な流通規制を敷くことで、表面上は落ち着きを取り戻している。一方、世界に目を向けると依然として合成カンナビノイドやオピオイド化合物などは新規精神活性物質として流通が拡大しており、乱用に基づく死亡事例などの健康被害は大きな社会問題となっている。特に、オピオイド化合物については、欧米を中心に流通が続いており社会問題となっている。オピオイド化合物のなかでもフェンタニル誘導体は、多くの類縁化合物が流通している。米国では、新しい骨格を持つフェンタニル誘導体が流通拡大し、過量摂取による死亡事例が報告されており、「オピオイド・クライシス」として大きな社会問題となっている。

United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC, 国連薬物犯罪事務所) が注意を要する監視対象薬物として、150 種類を超える合成カンナビノイドおよびオピオイド化合物がリストアップされている。

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。

## 【結果と考察】

### 1) フェンタニル類縁化合物の行動薬理学的特性とオピオイド受容体活性の関連性 (1年目)

本研究では、12 種類のフェンタニル類縁化合物について運動活性に対する影響およびオピオイド受容体活性化強度の検討を行った。1) 行動解析：実験には、ICR 系雄性マウスを使用し、12 種類のフェンタニル類縁化合物による運動活性に対する影響を検討した。フェンタニル類縁化合物の投与により、著明な運動促進作用が発現した。これらの効果は、オピオイド受容体拮抗薬であるナロキソン前処置によって有意に抑制された。12 種類のフェンタニル類縁化合物の運動促進作用は、オピオイド受容体を介して発現する作用であることが明らかになった。2) オピオイド受容体作用：オピオイド  $\mu$  受容体発現細胞 (CHO- $\mu$  細胞) を利用して、オピオイド受容体作用を解析した。12 種類のフェンタニル類縁化合物の添加により、濃度依存的な蛍光発光が確認された。この作用は、 $\mu$  受容体拮抗薬 ( $\beta$ -FNA) の前処置により完全に抑制された。12 種類のフェンタニル類縁化合物は  $\mu$  受容体を介して薬理作用が発現すると考えられる。3) オピオイド受容体活性強度と中枢神経作用予測：12 種類のフェンタニル類縁化合物による運動促進作用と、CHO- $\mu$  細胞実験で得られた  $\mu$  受容体活性化強度の相関性を検討した。フェンタニル類縁化合物による運動促進作用と  $\mu$  受容体活性化強度との相関性を検討したところ、有意な相関性が確認された。本研究により、フェンタニル類縁化合物はオピオイド受容体を介して、強力な中枢興奮作用を示すことが確認された。また、CHO- $\mu$  細胞による解析から、

フェンタニル類縁化合物の作用発現については、 $\mu$  受容体の活性化が重要であることが明らかになった。フェンタニル類縁化合物による運動促進作用と  $\mu$  受容体活性化強度において有意な相関性が確認されたことから、フェンタニル類縁化合物による中枢興奮作用は  $\mu$  受容体活性化強度の解析から予測できると考えられる。本研究から、フェンタニル類縁化合物は中枢興奮作用を示すことから、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主にオピオイド  $\mu$  受容体に作用することから、CHO- $\mu$  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。

## 2) オピオイド化合物の行動薬理学的特性とオピオイド受容体活性の関連性-1 (2年目)

近年、フェンタニルやフェンタニル類縁化合物とは構造が異なる新規オピオイド化合物の流通が拡大しており、乱用に基づく健康被害は大きな社会問題となっている。しかしながら、危険ドラッグとして流通している新規オピオイド化合物については、その薬理作用や有害作用について、不明な点が多い。本研究では protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の薬理学的特性及び中枢作用を明確にする目的で、1) オピオイド受容体作用、2) 運動活性に対する影響、3) 報酬効果について検討を行った。1) **オピオイド受容体作用**：CHO- $\mu$  受容体発現細胞を利用して、protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 のオピオイド受容体作用を解析した。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の添加により、濃度依存的な蛍光発光が確認された。この作用は、 $\mu$  受容体拮抗薬 ( $\beta$ -FNA) の前処置により完全に抑制された。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 は  $\mu$  受容体を介して薬理作用が発現すると考えられる。2) **行動解析**：protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 による運動活性に対する影響を

検討した。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の投与により、運動促進作用が発現した。これらの効果は、オピオイド受容体拮抗薬である naloxone 前処置によって有意に抑制された。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の運動促進作用は、オピオイド受容体を介して発現する作用であることが明らかになった。3) **精神依存性の評価**：薬物の精神依存形成能は、マウスを使用し conditioned place preference (CPP)法により評価した。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の条件付け (1日1回6日間、3:薬物、3:溶媒)を行ったところ、protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 においてそれぞれ有意な CPP の発現が確認された。Protonitazene、etazene、etonitazepyne および 2-methyl-AP-237 の条件付けによって報酬効果の発現が確認されたことから、精神依存形成能を有する危険性が示唆された。

## 3) オピオイド化合物の行動薬理学的特性とオピオイド受容体活性の関連性-2 (3年目)

本研究では、危険ドラッグである 2-[(4-butoxyphenyl)methyl]-N,N-diethyl-5-nitro-1H-benzimidazole-1-ethanamine (butonitazene)について、オピオイド受容体作用の解析、運動活性に対する影響、精神依存性並びに細胞毒性の有無を検討した。1) オピオイド受容体作用：CHO- $\mu$  受容体発現細胞を利用して、butonitazene のオピオイド受容体作用を解析した。Butonitazene の添加により、濃度依存的な蛍光発光が確認された。この作用は、 $\mu$  受容体拮抗薬 ( $\beta$ -FNA) の前処置により完全に抑制された。Butonitazene は  $\mu$  受容体を介して薬理作用が発現すると考えられる。2) **行動解析**：Butonitazene による運動活性に対する影響を検討した。Butonitazene の投与により、用量依存的な運動促進作用が発現した。これらの効果は、オピオイド受容体拮抗薬である naloxone、ドパミン D1 受容体拮抗薬である SCH23390 およびドパミン D2 受容体拮抗薬で

ある raclopride 前処置によって有意に抑制された。Butonitazene の運動促進作用は、ドパミン受容体を介して発現することが明らかになった。

3) 精神依存性の評価：薬物の精神依存形成能は、マウスを使用し conditioned place preference (CPP)法により評価した。Butonitazene の条件付け (1日1回6日間、3:薬物、3:溶媒) を行い、butonitazene の条件付けによって有意な CPP の発現が確認された。Butonitazene の条件付けによって報酬効果の発現が確認されたことから、精神依存形成能を有する危険性が示唆された。

4) 培養細胞による毒性評価：マウス forebrain の初代培養神経細胞を使用して、butonitazene 添加による細胞生存率の評価を行った。Butonitazene 添加 24 時間後の細胞生存率は有意に低下し、細胞毒性の発現が確認された。

本研究により、butonitazene は強力な中枢興奮作用と精神依存形成能を有することが明らかになった。Butonitazene の中枢興奮作用の発現並びに精神依存形成には、ドパミン神経系が関与している可能性が示唆された。また、高濃度の薬物を処置することにより、細胞毒性の発現も確認された。したがって、butonitazene の乱用により、重篤な健康被害の発生が危惧される。Butonitazene は強力な中枢作用と精神依存形成能を有することが確認された。ターゲット受容体発現細胞による薬理学的実験、動物実験では運動活性の評価および CPP 法を併用することで迅速かつ客観的な依存性予測が可能となると考えられる。

### 【総括】

本研究では、オピオイド化合物による中枢興奮作用および報酬効果と  $\mu$  受容体活性化強度において有意な相関性が確認されたことから、オピオイド化合物による中枢興奮作用および報酬効果は  $\mu$  受容体活性化強度の解析から予測できると考えられる。オピオイド化合物は主にオピオイド  $\mu$  受容体に作用することから、CHO- $\mu$  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。ま

た、オピオイド化合物の精神依存性評価に関しては、マウスを使用した conditioned place preference (CPP)法による報酬効果の評価が有用性であることを確認した。本研究より、オピオイド化合物などの危険ドラッグが示す有害作用評価において薬物受容体の発現細胞は、有害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。本研究成果は、新規化学構造を有する危険ドラッグが次々に登場する状況に対応するための、総合的な薬物有害作用評価システムおよび検出システムとして、重要な役割を果たすと考えられる。

### 【研究業績】

#### 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  $Ca^{2+}$  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 CB<sub>1</sub> receptors and L-type Ca<sup>2+</sup> 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) 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.
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) 富澤幸菊, 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.
- 5) 船田正彦. 危険ドラッグの有害作用の評価と包括規制に関する研究. 第53回日本神経精神薬理学会年会 シンポジウム (東京, 2023年7月21日)
- 6) 船田正彦. 米国におけるオピオイド乱用・依存問題の現状. 2023年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会. (岡山, 2023年10月14日)
- 7) Tsukasa Tomizawa, Shuntaro Kikukawa, Hironobu Arita, Kayo Nakamura, Kosho Makino, Hidetsugu Tabata, Tetsuta Oshitari, Hideaki Natsugari, Masahiko Funada, Hideyo Takahashi. Synthesis and Structure-Activity Relationship of Opioid  $\mu$ -Receptor Antagonists The 11th Asian Association of Schools of Pharmacy (AASP) Conference (in Macao) Aug. 2023.
- 8) 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, 船田正彦, 富山健一, 高橋秀依「フェンタニル骨格に由来する新規オピオイド $\mu$ 受容体アンタゴニストの創製」第84回有機合成化学協会関東支部シンポジウム(東京, 2023年5月)
- 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, 夏苺英昭, 船田正彦, 高橋秀依「フェンタニル誘導体の構造活性相関」日本薬学会 第143年会 (札幌, 2023年3月)
- 10) 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, 船田正彦, 高橋秀依「フェンタニル誘導体の合成と構造活性相関」第66回日本薬学会関東支部大会 (横浜, 2022年9月)
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