

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<sub>2A</sub>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<sub>2A</sub>-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<sub>2A</sub>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<sub>2A</sub>-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<sub>2A</sub> 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 μM 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 μM 濃度の GBR-12909 と 10 μM 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 μM)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<sub>2A</sub> 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<sub>2A</sub>-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ガ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<sub>2A</sub> 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<sub>2A</sub>-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<sub>2A</sub> 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<sub>2A</sub>-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<sub>2A</sub> 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<sub>2A</sub>-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<sub>2A</sub> 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  $\mu$  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  $\mu$  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  $\mu$  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パミン神経の誘導を行った。iCell®ドパミン神経細胞 (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  $\mu\text{M}$  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  $\mu\text{M}$  濃度の GBR-12909 と 10  $\mu\text{M}$  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  $\mu\text{M}$ ) 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]

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<sub>2A</sub> 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<sub>2A</sub> 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。

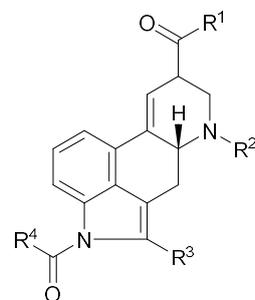


Fig A LSD 誘導体

#### 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<sub>2A</sub> 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<sub>2A</sub>-GCaMP 細胞を構築した。LSD 誘導体により、セロトニン 5HT<sub>2A</sub> 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-HT<sub>2</sub> 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<sub>2A</sub>-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  $\mu$  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、 $\mu$  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<sup>®</sup> 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<sup>®</sup> 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<sub>2A</sub> 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<sub>2A</sub> 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<sub>2A</sub>-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<sup>®</sup>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<sup>®</sup>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<sub>A</sub> 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  $\mu$ -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)
- 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、