

令和7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(1V-LSD、1T-LSD、1cP-LSD、LSD-A、LSD-B、LSD-C)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_{2A}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_{2A}-GCaMP細胞を構築した。本細胞を利用して、LSD誘導体の5HT_{2A}受容体活性について解析した。その結果、5HT_{2A}受容体活性化の強度は、LSD-A>LSD-C>LSD-B>1V-LSD>1T-LSD>1cP-LSD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_{2A}-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、すべての薬物にお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 LSD-A>LSD-B>LSD-C>1cP-LSD>1T-LSD>1V-LSD であった。LSD 誘導体による HTR の発現において、5-HT_{2A} 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。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、すでに軸不斉を表出させた誘導体の中にエナンチオマーの一方がオピオイド μ 受容体作動活性、もう一方がアンタゴニスト活性を示すものが見ついている。今年度は、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、共同研究者に薬理活性を調べていただいた。このような構造活性相関研究によってすでに 200 種類を超える化合物をライブラリー化することができ、活性を示すために重要な構造を推定することもできた。LSD の誘導体については、引き続き合成を続け、置換基が異なる LSD 誘導体 4 種を新たに合成し、共同研究者に提供した。フェンタニル誘導体については、アニリノ基がアミド部位に対して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ているが、アニリノ基の置換基によっては作動活性が強まるものもあり、詳細な検討がさらに必要である。また、LSD 誘導体については、遮光を必要とすること、インドールの N-アロイル化体は塩基性条件下で脱保護されやすいことから、やや不安定であることがわかった。また、薬理活性については 3 級アミンの置換基により、活性が異なることが明らかとなった。特に、N-アロイル化体については、創薬で用いられるプロドラッグを意識した分子設計であるとも予想され、このような高度な創薬の手法を用いた危険ドラッグが市中に流通していることは危険な状況である。将来にわたって十分に備える必要がある。

[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]

危険ドラッグとして流通する麻薬類似物質や覚醒剤類似物質の中枢神経作用や報酬効果は、主として動物を用いた行動薬理学的手法により解析されてきた。一方、ヒトを想定した危険ドラッグの有害作用評価法は十分に確立されていない。そこで本研究では、ドパミンおよびセロトニン神経を標的とした培養神経細胞系を用い、危険ドラッグの薬理作用評価法について検討した。ドパミン神経系の評価にはヒト iPS 細胞由来ドパミン神経細胞を用い、セロトニン神経系にはラット由来 raphe 領域初代培養を用いた。覚醒剤 methamphetamine (METH) および合成カチノン α -PVP、MDPV を用いて、神経細胞毒性、DAT 取込み阻害作用およびドパミン遊離作用を評価した。また、セロトニン神経系では SERT 取込み阻害作用およびセロトニン遊離作用を検討した。METH および合成カチノンはいずれも濃度依存的な神経細胞数の減少を示し、DAT 取込み阻害作用が認められた。ドパミ

ン遊離作用は METH においてのみ有意な増加が確認され、合成カチノンでは認められなかった。ラット由来 raphe 領域培養では TPH2 陽性細胞が確認され、fluoxetine 処理によりセロトニン遊離の増加が認められた。

[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]

危険ドラッグ及び関連化合物の速やかな規制のために、それらの迅速な評価法開発が求められる。その目的においてインシリコ活性予測法は有効な評価法のひとつになり得ると考えられる。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評価法を用いて世界的に流通量が多い LSD とその LSD 誘導体の包括指定を行うことを想定し、LSD 誘導体の QSAR 解析を行った。パブリック web-accessible database である "BindingDB" から得た、ヒトの 5-HT_{2A} に対する活性値が登録されているリガンド情報をデータベース化し、フィンガープリント類似検索によって、LSD との類似度が 0.7 以上の化合物セットを抽出し、そのうち LSD と同じ立体配置のエルゴリン骨格をもつ 25 化合物 (LSD を含む) をトレーニングセットとして、QSAR 解析を行った。得られた QSAR 式を用いて、LSD 誘導体 (6 位窒素の置換基 16 種、8β 位のカルボキシ基誘導体 12 種を組み合わせた計 192 種; LSD を含む) の活性を予測したところ、エルゴリン骨格の 6 位窒素に hexyl 基のような脂肪鎖が結合している群や、phenylethyl 基が結合している群は、特に活性が高い傾向が認められた。そのほかにも、得られた予測値の半数以上は、麻薬に指定される LSD や LSZ、AL-LAD と、同等かそれ以上の活性を示す可能性が示唆された。

結論: (1) 本研究では、LSD 誘導体の検出用細胞として CHO-5HT_{2A}-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应用可能である。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应用が期待される。(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。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 200 種を超え、アゴニスト、アンタゴニストの標準品として提供できる化合物ライブラリーを拡充することができた。加えて、構造活性相関研究により、化学構造と活性の相関性を示すことができた。LSD 誘導体は 8 種の合成ルートを確立した。フェンタニルや LSD の薬理活性や毒性発現を明らかにするうえで非常に興味深く、今後のこの分野の発展に重要な情報となる。(3) 本研究では、ヒト iPS 細胞由来ドパミン神経細胞およびラット由来 raphe 領域神経培養を用いて、危険ドラッグおよび覚醒剤のモノアミン神経系に対する作用を *in vitro* で評価した。その結果、METH および合成カチノンは神経細胞毒性および DAT 取込み阻害作用を示し、さらに METH においてはドパミン遊離の有意な増加が確認された。本研究で用いた培養神経細胞系は、危険ドラッグのモノアミン神経系に対する薬理作用および神経毒性を評価する *in vitro* スクリーニング系として有用である可能性が示された。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動物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。(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により、LSD 誘導体の包括指定を行うことを想定した LSD 誘導体の QSAR 解析を行った。QSAR 解析には、5-HT_{2A} に対する活性値が明らかになっている LSD とその誘導体計 25 化合物を使用した。得られた QSAR 式 (Eq. 1) には、van der Waals 表面積に関連する記述子が 3 つ (Q_VSA_FNEG, Q_VSA_POL, vsa_acc) と、結合長に関する記述子が 1 つ (b_maxllen) 含まれており、その決定係数 R² は 0.8042 と良好であった。Eq. 1 を利用して、包括指定を想定した LSD 誘導体 192 化合物の活性予測を行ったところ、得られた予測値の半数以上は、麻薬に指定される LSD や LSZ、AL-LAD と、同等かそれ

以上の活性を示す可能性が示唆された。今後、活性予測値が高いもの／低いものをいくつか合成し、活性値の実験値を得て、検証、QSAR 式の最適化を行うことで、包括指定への活用を検討できる結果が得られた。

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

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。

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、

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

「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が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。

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_{2A} 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_{2A}-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を行い、化合物ごとにデータベースを作成した。

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。そのために、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が必須となる。本研究では、危険ドラッグの化学構造に着目して、物質の中枢作用および細胞毒性の発現を予測するための評価システムを構築する。QSAR (定量的構造活性相関) を利用して、動物の行動薬理学的実験や培養細胞実験から得られる有害作用データと化学構造との相関性を検証する。ターゲットとする危険ドラッグは、世界的に流通量が多い LSD とその LSD 誘導体とした。

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学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(1V-LSD、1T-LSD、1cP-LSD、LSD-A、LSD-B、LSD-C)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_{2A} 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_{2A}-GCaMP 細胞を構築した。本細胞を利用して、LSD 誘導体の受容体活性を評価した。その結果、5HT_{2A} 受容体活性化の強度は、LSD-A > LSD-C > LSD-B > 1V-LSD > 1T-LSD > 1cP-LSD 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_{2A}-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、すべての薬物において蛍光発光を検出することが可能であり、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 LSD-A > LSD-B > LSD-C > 1cP-LSD > 1T-LSD > 1V-LSD であった。LSD 誘導体による HTR の発現において、5-HT_{2A} 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様々な化合物の中から、フェンタニル、及び、LSD について誘導体を化学合成し、ライブラリー化することをめざした。フェンタニルについては、化学構造を様々に変換し、200 種を超えるフェンタニル誘導体を合成し、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。その結果、アニリノ部位のベンゼン環とアミド平面がねじれることが μ オピオイド受容体アンタゴニスト活性を示す鍵であることが強く示唆された。また、アシル基をアルカノイル基にするとアゴニスト活性になることなど、構造活性相関研究によって有益な情報を多く得ることができた。また、アニリノ基のベンゼン環上のメチル置換基の位置を変えることによって作動活性が拮抗活性に変化するなど、非常に精緻な分子設計が必要であることもわかった。検討の過程で見出された軸不斉異性体の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化合物については、計算化学を用いてそれぞれの軸不斉異性体の絶対配置を決定しようとした。同時に X 線結晶構造解析も試みたが、計算化学による検討結果と、X 線結晶構造解析の結果が異なることが明らかになった。つまり、計算化学が誤った結果を与えたと考えられ、その理由を精査し、計算化学において用いた密度汎関数がこの場合は適当でなかったと結論付けられた。密度汎関数の種類は多く、化合物に適切な関数を選択して計算する必要があるとわかった。LSD については、今年度は、インドール部位は無置換であるが、第三級アミドの窒素上の置換基が異なる新規化合物 4 種を加え、8 種の LSD 誘導体について共同研究者に活性測定していただいた。合成にあたって、問題になったのは、LSD の光安定性が低いことであった。昨年度から示唆されていたことではあったが、LSD 誘導体の化学合成では、できる限り遮光をすることが収率向上のために必要である。また、各種の酸との塩形成を検討した結果、酒石酸塩が最適であったが、塩を形成した場合は光安定性が向

上するものの、遮光しないと徐々に分解していくことには変わりがなかった。また、インドールの N-アロイル化体は塩基性条件下で分解することが明らかになった。加えて第 3 級アミンの置換基により、活性が異なることが明らかとなり、この部位の構造活性相関研究を進める必要があると考える。また、活性については、インドールの N-アロイル化体の活性が低いことがわかった。以上、化学合成したフェンタニル誘導体、及び、LSD 誘導体については、化合物ごとに NMR、IR、MS を測定し、データベースを作成した。

[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

本研究では、ドパミンおよびセロトニン神経を標的とした培養系を確立し、危険ドラッグの薬理作用評価法について検討した。ドパミン神経系の評価には、ヒト由来ドパミン神経細胞 (iCell® DopaNeurons) を使用した。セロトニン神経系については、*in vitro* における評価系に関する情報が限られていることから、セロトニン神経を含有することが報告されているラット由来 raphe 領域初代培養を用い、セロトニン機能の評価が可能か検討した。METH および α -PVP または MDPV を用い、神経細胞毒性、DAT 取込み阻害作用およびドパミン遊離作用を評価した。また、セロトニン機能として SERT 取込み阻害作用およびセロトニン遊離作用について検討した。ヒトドパミン神経細胞に METH、 α -PVP および MDPV を添加したところ、24 時間後にはいずれの化合物においても濃度依存的な神経細胞数の減少が認められた。ヒト iPS 細胞由来ドパミン神経において、METH、 α -PVP および MDPV の処理により、いずれも有意な DAT 取込み阻害作用が認められた。ドパミン遊離

作用については、1 μ M の METH 処理により有意な増加が確認されたが、合成カチノンでは有意な増加は認められなかった。セロトニン神経系の評価として、セロトニン神経を含有するラット由来 raphe 領域培養を用いた基礎評価を行った。細胞免疫染色の結果、TPH2 陽性細胞が確認され、本培養系がセロトニン神経を含有する共培養系であることが示された。METH および fluoxetine 処理による SERT 取込み阻害作用については抑制傾向が認められた。また、セロトニン遊離については、fluoxetine 処理 24 時間後に有意な増加が認められた。

[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、LSD (Fig.A) 誘導体の包括指定を行うことを想定し、LSD 誘導体の QSAR 解析を行った。

パブリック web-accessible database である "BindingDB" から、ヒトの 5-HT_{2A} に対する K_i 値 (nM) が登録されているリガンド情報を抽出し、統合計算化学システム MOE を使用してデータベースを作成した。次いで、フィンガープリント類似検索によって、LSD との類似度が 0.7 以上の化合物セットを抽出し、そのうち LSD と同じ立体配置のエルゴリン骨格をもつ 25 化合物 (LSD を含む) をトレーニングセットとして、 K_i 値の負の常用対数値 (pK_i 値) を導出するための QSAR 解析を行った。得られた QSAR 式を用いて、LSD 誘導体の活性を予測し、想定される包括指定の範囲を考察した。Eq. 1 を用いて、LSD 誘導体 (6 位窒素の置換基 16 種、8 β 位のカルボキシ基誘導体 12 種を組み合わせた計 192 種 ; LSD を含む) の pK_i 値を予測した。結果、6 位窒素に hexyl 基のような脂肪鎖が結合している群や、phenylethyl 基が結合している群は、特

に pK_i 値が高い傾向が認められた。

得られた QSAR 式

$$\begin{aligned} \text{Calc. } pK_i &= +9.26566 \\ &+ 9.21285 * Q_VSA_FNEG \\ &- 0.01796 * Q_VSA_POL \\ &+ 0.43839 * b_max1len \\ &- 0.23179 * vsa_acc \\ \text{決定係数 } R^2 &= 0.8042 \end{aligned} \quad (\text{Eq. 1})$$

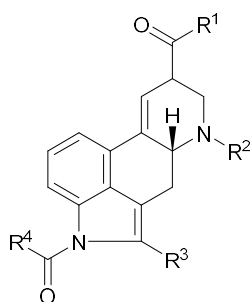


Fig A LSD 誘導体

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 $5HT_{2A}$ 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- $5HT_{2A}$ -GCaMP 細胞を構築した。LSD 誘導体により、セロトニン $5HT_{2A}$ 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 $5-HT_2$ 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- $5HT_{2A}$ -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

本研究を通じて、構造活性相関研究によってオピオイド μ 受容体アゴニスト活性、アンタゴニスト活性を示すために必要な化学構造について、多くの知見を得ることができたが、いまだに十分とは言えず、更なる検討が必要と思われる。引き続き、立体異性体（ジアステレオマーやエナンチオマー）に配慮した化合物ライブラリーを作製し、供与することにより、より正確な生物活性及び毒性の検討を行えると考えている。また、LSD 誘導体については、酒石酸塩にすることにより、安定化されることがわかった。一方で、N-アロイル化体は比較的安定性が低いこと、第3級アミンの置換基により、活性が異なることがわかり、この部位の構造活性相関研究を進める必要があると考える。市中に流通している LSD 誘導体は実際に使用されるとき、その構造がどの程度保たれるのか不明であり、純度が低下していることを考慮すべきと考える。特に、N-アロイル化体については、創薬で用いられるプロドラッグを意識した分子設計であるとも予想される。つまり、体内への吸収を高め、体内において酵素反応によって活性本体であ

る LSD に変化して中枢作用をより強力に示す可能性がある。このような高度な創薬の手法を用いた危険ドラッグが市中に流通していることを鑑み、十分に備える必要がある。

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

iCell[®] DopaNeurons を用いた神経細胞毒性評価では、既報のマウス forebrain 由来神経培養系と同様に、ドパミン神経系を標的とする薬物の毒性評価が可能であることが確認された。また、METH や合成カチノンの標的である DAT に対する取込み阻害作用が認められ、さらに METH によるドパミン遊離促進作用も確認されたことから、本細胞系はヒトを想定した薬理作用評価に適用可能であると考えられる。一方、DAT 取込み阻害作用の評価については、強制発現系の安定発現細胞株の方が感度に優れる可能性がある。したがって今後は、ヒト由来ドパミン神経細胞の培養条件の最適化や、適切な細胞評価系を組み合わせることで、神経毒性評価だけでなく薬理作用に基づく機能評価への応用が期待される。セロトニン神経系については、ラット由来 raphe 領域培養を用いた機能評価を実施した。TPH2 陽性細胞が確認されたことからセロトニン神経を含有する培養系であることは示されたが、SERT 取込み阻害作用およびセロトニン遊離については薬物間で顕著な差は認められなかった。今後は培養条件の最適化を進めるとともに、SERT やセロトニン受容体を標的とする薬物評価系としての有用性について、さらに検証を進める必要がある。

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

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。薬物受容体活性予測では、MOEを用いて遺伝的アルゴリズムを利用した解析によって、Eq. 1を

得た。なお、トレーニングセットの化合物数に対して、記述子の数が多くなりすぎると、過学習の恐れがあるため、記述子の数は4つに固定した。使用する記述子の数を変更することで、異なる予測結果が得られる可能性があり、今後の検討課題の1つである。Eq. 1には、van der Waals 表面積に関連する記述子が3つ (Q_VSA_FNEG, Q_VSA_POL, vsa_acc) と、結合長に関する記述子が1つ (b_maxllen) 含まれており、これらの記述子が選択された理由とその妥当性の検証が、2つめの検討課題である。今回想定したLSD誘導体については、一部のみしか K_i の実験値が得られていないため、今後、実験値の収集を進め、予測精度の評価を進める必要がある。

D. 結 論

本研究では、LSD 誘導体の検出用細胞として CHO-5HT_{2A}-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。

本研究では、フェンタニル誘導体及び、LSD 誘導体の合成を行い、分析データも含む化合物ライブラリーを構築し、生物活性を調べた。特に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 200 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拡充することができた。加えて、構造活性相関研究により、化学構造と活性の相関性を示すことができた。フェンタニルや LSD の薬理活性や毒性発現を明らかにするうえで非常に興味深く、今後のこの分野の発展に重要な情

報となる。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、微量分析のために貢献できると考えられる。

本研究では、ヒト iPS 細胞由来ドパミン神経細胞およびラット由来 raphe 領域神経培養を用いて、危険ドラッグおよび覚醒剤のモノアミン神経系に対する作用を *in vitro* で評価した。その結果、METH および合成カチノンは神経細胞毒性および DAT 取込み阻害作用を示し、さらに METH においてはドパミン遊離の有意な増加が確認された。一方、合成カチノンではドパミン遊離は認められなかった。これらの結果は、METH がトランスポーター基質型作用を示すのに対し、合成カチノンが主としてトランスポーター阻害型作用を示すという既知の薬理作用様式と一致するものであった。また、raphe 領域培養では TPH2 陽性細胞が確認され、fluoxetine によりセロトニン遊離の増加が認められた。以上の結果から、本研究で用いた培養神経細胞系は、危険ドラッグのモノアミン神経系に対する薬理作用および神経毒性を評価する *in vitro* スクリーニング系として有用である可能性が示された。

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では、LSD 誘導体の包括指定を視野に入れて、想定される LSD 誘導体 192 種の活性を予測した。予測結果については、検討課題もあるものの、得られた予測値の半数以上は、麻薬に指定される LSD や LSZ、AL-LAD と、同等かそれ以上の活性を示す可能性が示唆されたため、今後、活性予測値が高いもの／低いものをいくつか合成し、 K_i 値の実験値を得て、検証、QSAR 式の最適化を行うことで、包括指定への活用を検討できる結果が得られた。

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) Sogawa K, Funada M., Effects of cannabidiol on the viability and neuronal differentiation of human iPS cells. *Toxicol Lett.* 2026 Feb;416:111812. doi: 10.1016/j.toxlet.2025. 111812. Epub 2025 Dec 31.
- 2) Tomiyama KI, Funada M. The synthetic opioid isotonitazene induces locomotor activity and reward effects through modulation of the central dopaminergic system in mice. *Toxicol*

- Appl Pharmacol. 2025 Jul;500:117361
- 3) Hosoya R, Kitajima K, Sogawa K, Ikegami D, Terajima T, Kato H, Funada M, Kagaya H, Uesawa Y., Principal component analysis of antiseizure medication-induced hostility/aggression and factor analysis of levetiracetam using the food and drug administration adverse event reporting system. *Epilepsy Res.* 2025 Dec;218:107626. doi: 10.1016/j.eplepsyres. 2025.107626. Epub 2025 Jul 21.
 - 4) Tanaka, Ryoko; Takano, Ryota; Natsugari, Hideaki; Takahashi, Hideyo. Insight into the axial chirality in benzodiazepines. *Yuki Gosei Kagaku Kyokaiishi*, 2025, 83, 119-130.
 - 5) Arita, Hironobu; Tomizawa, Tsukasa; Kikukawa, Shuntaro; Sakata, Haruka; Nishimoto, Mizuha; Tabata, Hidetsugu; Nakamura, Kayo; Oshitari, Tetsuta; Natsugari, Hideaki; Kusumi, Takenori; Takahashi, Hideyo. Determination of the absolute configuration of 1-(2-amino-3-methylphenyl)ethanol based on the modified Mosher and microcrystal electron diffraction methods. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin.* 2025, 73, 520-525.
 - 6) Ichimaru Y, Kato K, Sogawa K, Egawa D, Kato H, Katakawa K, Jin W, Kurihara M, Kurosaki H: Synthesis and anticancer activity of bis(2-picoyl)amine derivatives with a biaryl moiety as a photosensitizer. *Chemistry.* 2025; 7(2): 41.
 - 7) Ichimaru Y, Kato K, Jin W, Kurihara M, Kurosaki H: Bis[5-(anthracen-9-ylmeth-yl)-1,5,9-tri-aza-cyclododecan-1-ium] tetra-chlorido-zincate. *IUCrData.* 2025; 10(5): x250356.
 - 8) Sogawa K, Kato K, Sano M, Nakayoshi T, Yoshioka H, Kato H, Oda A, Funada M, Ssuzuki T, Kurihara M, Ichimaru Y: Indirubin derivatives bearing an oxirane moiety are promising chemosensitizers for combination treatment in pancreatic cancer. *Med Chem Res.* 2025; 35: 105-117.
 - 9) Kato H, Ichimaru Y, Kurihara M, Sogawa K, Funada M, Suzuki T: Possible involvement of hallucinogenic effects in the aversive effects induced by kappa-opioid and 5-HT2A/2C receptor agonists in mice. *Neuropsychopharmacol Rep.* 2025; 45(4): e70075.
 - 10) 荒井裕美子, 湯山円晴, 市丸嘉, 船田正彦, 佐藤忠章, 栗原正明. 定量的構造活性相関(QSAR)による THC 類縁体および HHC 類縁体のカンナビノイド受容体 1(CB1)親和性インシリコ予測. *医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス.* 2025; 56(5): 408.
- ## 2. 学会発表
- 1) 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)
 - 2) 船田正彦. 改正大麻取締法の現状: 大麻の医療応用と濫用問題の狭間で. 特別講演 2. 第 18 回日本緩和医療薬学会年会 (千葉、2025.6.21.)
 - 3) 船田正彦. 米国における大麻規制の変化と社会的影響. 教育講演. 日本法中毒学会 第 44 年会(山口、2025.6.28.)
 - 4) 船田正彦. 大麻取締法改正の背景と現状. シンポジウム: 改正大麻取締法の現状と今後の課題. 日本薬学会 第 146 年会(大阪、2026.3.27)
 - 5) 富山健一、船田正彦. 海外の大麻規制と医療応用の展開-米国を中心とした現状と課題. シンポジウム: 改正大麻取締法の現状と今後の課題. 日本薬学会 第 146 年会(大阪、2026.3.27)
 - 6) 曾川 甲子郎、細谷 龍一郎、池上 大悟、加藤 英明、船田 正彦. カンナビジオールの医療応用と細胞毒性評価. シンポジ

- ウム：改正大麻取締法の現状と今後の課題．日本薬学会 第 146 年会（大阪、2026.3.27）
- 7) 富山健一，船田正彦：新規合成オピオイド nitazene 系化合物の薬理学的特性の解析．2025 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会（東京、2025.10.24）．
- 8) H. Arita, S. Kikukawa, T. Tomizawa, M. Funada, K. Tomiyama, H. Tabata, K. Nakamura, T. Oshitari, H. Natsugari, H. Takahashi, Fentanyl-Type Antagonist of the μ -Opioid Receptor: Important Role of Axial Chirality in the Active Conformation, International Narcotics Research Conference 2025, A41, Italy, July 2025
- 9) 有田浩暢，菊川俊太郎，富澤宰，坂田遥佳，西本瑞葉，船田正彦，富山健一，橋本勝，田坂友彦，田畑英嗣，中村佳代，忍足鉄太，夏苺英昭，高橋秀依，フェンタニル骨格を有する μ オピオイド受容体アンタゴニストの構造解析，第 23 回次世代を担う有機化学シンポジウム，2025 年 5 月
- 10) 有田浩暢，菊川俊太郎，富澤宰，坂田遥佳，西本瑞葉，船田正彦，富山健一，橋本勝，田坂友彦，田畑英嗣，中村佳代，忍足鉄太，夏苺英昭，高橋秀依，フェンタニル骨格を有する μ オピオイド受容体アンタゴニストの構造解析，日本薬学会 第 145 年会，2025 年 3 月，

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、船田正彦、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、

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