

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)  
指定薬物の指定に係る試験法の評価検証に資する研究

分担研究報告書

複合行動指標に基づく乱用予測の妥当性評価：  
フェニルピペラジン誘導体を用いた検証

分担研究者：森 友久 星薬科大学 薬学部

---

**【研究要旨】**

近年、いわゆる「危険ドラッグ」による薬物乱用は、合成カチノン系および合成カンナビノイド系化合物に対する包括的規制の施行により一定の沈静化がみられている。一方で、市販薬の過量摂取（オーバードーズ）による健康被害の増加や、大麻による検挙者数が覚醒剤を上回る状況が報告されており、薬物乱用の動向には大きな変化が生じている。このような背景から、新規精神活性物質（New Psychoactive Substances: NPS）による乱用リスクの評価は依然として重要な課題である。フェニルピペラジン系化合物は、その構造的特徴から誘導体化が容易であり、過去には m-CPP や TFMPP がパーティードラッグとして流通した経緯を有する。このことから、フェニルピペラジン骨格を基盤とした新規誘導体が乱用薬物として出現する可能性が懸念されている。本研究では、フェニルピペラジン誘導体の 4 位にハロゲン基またはメチル基を導入した化合物を対象とし、行動薬理学的作用を齧歯類モデルにおいて評価した。具体的には、自発運動量測定および MDMA を訓練薬物とした薬物弁別試験を実施し、置換基の立体的性質と行動作用との関連について検討した。その結果、1-(4-chlorophenyl)piperazine (4-CPP) において顕著な自発運動亢進が認められた。一方で、1-(4-bromophenyl)piperazine (4-BPP) を除く多くの化合物において MDMA の弁別刺激効果に対する部分的または完全な般化が認められた。なお、置換基の立体的サイズと行動作用との間には明確な相関は認められなかった。これらの結果は、フェニルピペラジン骨格自体が MDMA 様の弁別刺激効果を惹起しうる基本構造である可能性を示唆している。また、MDMA 様の摂取感覚と自発運動亢進作用との間には必ずしも相関が認められないことが明らかとなり、従来用いられてきた行動指標のみでは乱用可能性の評価が十分ではない可能性が示唆された。今後は、自発運動測定の簡便性および汎用性を踏まえつつ、行動パターン解析や多次元的行動指標を組み合わせることで、より信頼性の高い乱用予測評価法の確立を目指す必要がある。

---

## A. 研究目的

Methamphetamine や MDMA などの乱用薬物の多くは、当初医療目的で開発された化合物であり、これらの基本骨格に対する化学修飾によって薬理作用の増強や副作用の軽減を目的とした多くの誘導体が検討されてきた。一方、デザイナードラッグは既存の規制薬物の薬理作用を保持しながら法規制を回避する目的で構造修飾が施された化合物であり、その安全性や毒性に関する検証が十分になされていない。このような新規精神活性物質の乱用は、精神状態の変化、中毒症状、救急搬送、さらには死亡例を含む深刻な健康被害を引き起こす可能性がある。そのため、新規化合物の乱用可能性を早期に評価することは、公衆衛生上極めて重要である。現在報告されている新規精神活性物質は、その化学構造に基づき主に以下の 6 つのクラスに分類されている（合成カチノン、ピペラジン、フェネチルアミン、トリプタミン、アルキルインドール（合成カンナビノイド）、アリールシクロヘキシルアミン（Schifano et al., 2015））。我々はこれまで、methamphetamine と構造的に類似する methcathinone について研究を行い、methamphetamine 様の摂取感覚を示す一方で、自発運動量の増加が認められないことを報告している。また、4-fluoro-octedrone において特徴的な異常行動（pivoting）が観察され、芳香環 4 位へのハロゲン置換が運動機能に影響を及ぼす可能性が示唆された。このように、既存の行動薬理的評価指標では十分に捉えられない作用特性を有するデザイナードラッグが存在する可能性がある。そ

のため、新規精神活性物質の乱用可能性を評価するためには、行動学的および薬理的指標を組み合わせた評価体系の構築が必要である。フェニルピペラジン系化合物は比較的合成が容易であり、2000 年代初頭にはパーティードラッグとして広く流通した（DEA, 2002）。これらの化合物は主としてセロトニン作動性神経系に作用し、3-CPP や TFMPP の行動作用には 5-HT<sub>2C</sub> 受容体の関与が示唆されている（Kennett et al., 1997; Cunningham et al., 1986）。さらに、5-HT<sub>2A</sub> および 5-HT<sub>2C</sub> 受容体は運動活性に対して拮抗的に作用することが報告されており、受容体サブタイプ間の相互作用が行動表現型に影響を与える可能性が示されている（Halberstadt et al., 2011）。これまでに、3-CPP や TFMPP は齧歯類において用量依存的な運動抑制作用を示すことが報告されている（Baumann et al., 2005）。また、薬物弁別試験において TFMPP は MDMA 訓練動物に対して部分般化を示すことが知られている（Cunningham et al., 1986; Partyka et al., 2019）。しかしながら、フェニルピペラジン誘導体における置換基の違いと行動作用との関連については十分に検討されていない。そこで本研究では、フェニルピペラジン骨格の芳香環 4 位にハロゲン基またはメチル基を導入した誘導体を用い、自発運動量測定試験および MDMA を訓練薬物とした薬物弁別試験を実施した。これにより、置換基の立体的特性と行動薬理作用との構造活性相関を解析し、フェニルピペラジン系化合物の乱用可能性について検討することを目的とした。

## B. 実験方法

### 1. 自発運動量の測定

自発運動量の測定には、MED-04 型自発運動量解析システム（株式会社ニューロサイエンス、東京）を用いた。実験には ICR 系雄性マウスを使用した。測定に先立ち、新規環境への馴化を目的として、測定用ケージに床敷を敷いた状態で 1 時間の馴化を行った。馴化終了後、以下のフェニルピペラジン系化合物を皮下投与した。

1-phenylpiperazine (PP)

1-(4-fluorophenyl)piperazine (4-FPP)

1-(4-chlorophenyl)piperazine (4-CPP)

1-(4-bromophenyl)piperazine (4-BPP)

1-(p-tolyl)piperazine (4-TPP)

各化合物は 3.0–30 mg/kg の用量範囲で皮下投与 (s.c.) した。投与後 180 分間にわたり自発運動量を測定し、15 分ごとに行動量を記録した。

### 2. 薬物弁別試験

#### (1) 実験動物および飼育条件

薬物弁別試験には Fischer 344 系雄性ラット（オリエンタル酵母工業株式会社、東京）を使用した。動物は恒温恒湿室（23±1°C、湿度 55±5%）において飼育し、12 時間明暗サイクル（8:00 点灯、20:00 消灯）下で飼育した。弁別試験に使用するラットについては、体重が約 230 g に維持されるよう摂餌制限を行った。飲水（水道水）は自由摂取とした。

#### (2) 弁別装置

実験にはオペラントボックス（Model GT-8810、小原医科産業株式会社、東京）を使用した。ボックス内には左右に 2 つのレバーを設置し、その中央に強化子供給皿を配置した。強化子として精密錠剤型飼料（20 mg）を使用した。

#### (3) 弁別訓練

弁別訓練に先立ち、すべてのラットにレバー押し訓練を実施した。訓練では左右いずれかのレバーを提示し、LLRLLRR（L：左レバー、R：右レバー）の順序で提示した。まず Fixed Ratio (FR) 1 強化スケジュールで訓練を開始し、1 セッションを 15 分とした。

1 セッションにおけるレバー押し回数が 40 回に達した時点を FR1 の習得基準とし、FR2、FR4、FR6、FR8 を経て最終的に FR10 まで段階的に増加させた。FR10 において安定した反応率が得られた後、MDMA と vehicle（生理食塩液）との弁別訓練を開始した。弁別訓練ではセッション開始 30 分前に薬物または vehicle を皮下投与した。投与順序は DDVV...（D：薬物、V：vehicle）の順序で実施した。レバーの割り当ては、嗜好性による偏りを避けるためカウンターバランス法を用いた。弁別獲得の指標として First Food Pellet (FFP) を測定し、最初の強化子を得るまでの反応回数を評価した。5 日間連続して FFP ≤12（正反応率 83%以上）を満たした場合を弁別獲得と判定した。

#### (4) 般化試験

般化試験は弁別獲得後に実施した。弁別訓

練を継続しながら 3 日間連続して FFP $\leq$ 12 を満たした時点でテストセッションを実施した。テストセッションでは、左右いずれかのレバーを合計 10 回押した時点でセッションを終了した。また、15 分以内に 10 回の反応が得られない場合は反応崩壊と判定しセッションを終了した。

### 3. 統計解析

測定値は平均値  $\pm$  標準誤差 (mean  $\pm$  S.E.M.) として表示した。弁別試験では、総レバー押し回数に対する薬物側レバー押し反応率 (%) を算出した。評価基準は以下の通りとした。

80%以上：完全般化

50–79%：部分般化

50%未満：般化なし

反応率 (response rate) は、10 回のレバー押し反応に要した時間から 1 分あたりの反応数として算出した。自発運動量データは Two-way ANOVA により解析し、Bonferroni 検定を用いて post-hoc 解析を行った。

## C. 結果

### 1. フェニルピペラジン誘導体による自発運動量への影響

4-CPP は 10 mg/kg をピークとする有意な自発運動亢進を示した (Fig. 1 C)。一方、4-TP (Fig. 1 E) P および 4-FPP (Fig. 1 B) では運動量の低下が認められた。一方、PP (Fig. 1 A)、4-FPP (Fig. 1 B) および 4-BPP (Fig. 1 D) では有意な自発運動量の変化は

認められなかった。行動観察では、PP 投与群において歩行障害および上下方向の首振り様運動が観察された。4-FPP 高用量群では、動作途中で不自然な姿勢のまま停止する行動が散発的に観察された。個体を 15 分間観察したところ、平均約 30 秒間持続する硬直様行動が約 10 回確認されたが、触診による筋硬直は認められなかった。

### 2. MDMA 弁別刺激に対する般化

MDMA と生理食塩液の弁別を獲得したラットに対し、PP およびその誘導体の般化試験を実施した。PP、TFMPP、4-FPP、4-CPP、および 4-TPP は、MDMA の弁別刺激に対して完全般化 (80%以上) を示した。一方、4-BPP では般化は認められなかった (50%未満) (Fig. 2A-E)。

## D. 考察

新規精神活性物質の乱用拡大に対して公衆衛生を維持するためには、これら化合物の毒性および乱用可能性に関する科学的エビデンスの蓄積が不可欠である。MDMA、amphetamine、methamphetamine などのフェネチルアミン系薬物は、セロトニンおよびドパミン作動性神経系を活性化し、顕著な運動亢進作用を示すことが知られている。しかしながら、我々のこれまでの研究により、methcathinone は methamphetamine 様の摂取感覚を示す一方で、自発運動量の増加を伴わないことが明らかとなっている。このことは、従来の精神刺激薬に基づく行動評価体系では説明できない作用特性を有するデザイナ

ードラッグが存在する可能性を示唆している。本研究では、芳香環 4 位に異なる置換基を有するフェニルピペラジン誘導体について行動薬理的評価を行った。その結果、多くの化合物において MDMA 様の弁別刺激効果が認められたことから、フェニルピペラジン骨格自体が MDMA 様摂取感覚を惹起する基本構造である可能性が示唆された。一方で、1-(4-chlorophenyl)piperazine を除く多くの化合物では自発運動量の増加が認められず、置換基の立体的サイズと行動作用との間にも明確な構造活性相関は認められなかった。この結果は、MDMA 様の弁別刺激効果と自発運動促進作用が必ずしも相関しないことを示しており、乱用可能性の評価において単一の行動指標に依存することの限界を示唆している。さらに、本研究および過去の研究結果を踏まえると、MDMA 様の摂取感覚を有する化合物であっても、運動活性化作用を伴わない場合が存在することが明らかとなった。このことから、薬物弁別試験および自発運動測定のみを指標とした乱用予測では不十分である可能性がある。一方、自発運動測定は実験手技が簡便であり、再現性および汎用性の高い評価法であることから、精神刺激薬様作用の評価において依然として有用な指標であると考えられる。

## E. 結論

今後は、行動パターンの定量解析や三次元行動解析などの新たな手法を導入するとともに、methamphetamine 様弁別刺激効果の評価を組み合わせることで、多面的な行動指標

に基づく乱用予測評価体系の構築が必要であると考えられる。

## F. 参考文献

Drug Enforcement Administration. Schedules of Controlled Substances: Temporary Placement of Benzylpiperazine and Trifluoromethylphenylpiperazine Into Schedule I. Federal Register (2002) 67:59161.

Schifano F, Orsolini L, Papanti GD, Corkery JM. Novel psychoactive substances of interest for psychiatry. World Psychiatry (2015) 14:15–26.

Warrick BJ, Wilson J, Hedge M, Freeman S, Leonard K, Aaron C. Lethal serotonin syndrome after methyldone and butylone ingestion. J Med Toxicol (2012) 8:65–68.

Kennett GA, Wood MD, Bright F, Trail B, Riley G, Holland V, Avenell KY, Stean T, Upton N, Bromidge S, Forbes IT, Brown AM, Middlemiss DN, Blackburn TP. In vitro and in vivo profile of SB 242084, a potent, selective and orally active 5-HT<sub>2C</sub> receptor antagonist. Br J Pharmacol (1997) 121:441–446.

Cunningham KA, Callahan PM, Appel JB, Yocca FD. Discriminative stimulus properties of the serotonergic agonist 1-(m-chlorophenyl)piperazine (mCPP). Psychopharmacology (1986) 88:67–73.

Halberstadt AL, Geyer MA. Multiple receptors contribute to the behavioral effects of indoleamine hallucinogens. Neuropharmacology (2011) 61:364–381.

Baumann MH, Clark RD, Woolverton WL, Wee S, Blough BE, Rothman RB. In vivo effects of amphetamine analogs reveal evidence for serotonergic inhibition of mesolimbic dopamine transmission in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* (2005) 315:91–105.

Partyka J, Dybala M, Wąsik A. BZP and TFMPP—Legal highs or illicit drugs? *Forensic Toxicol* (2019) 37:12–22.

#### **G. 研究発表**

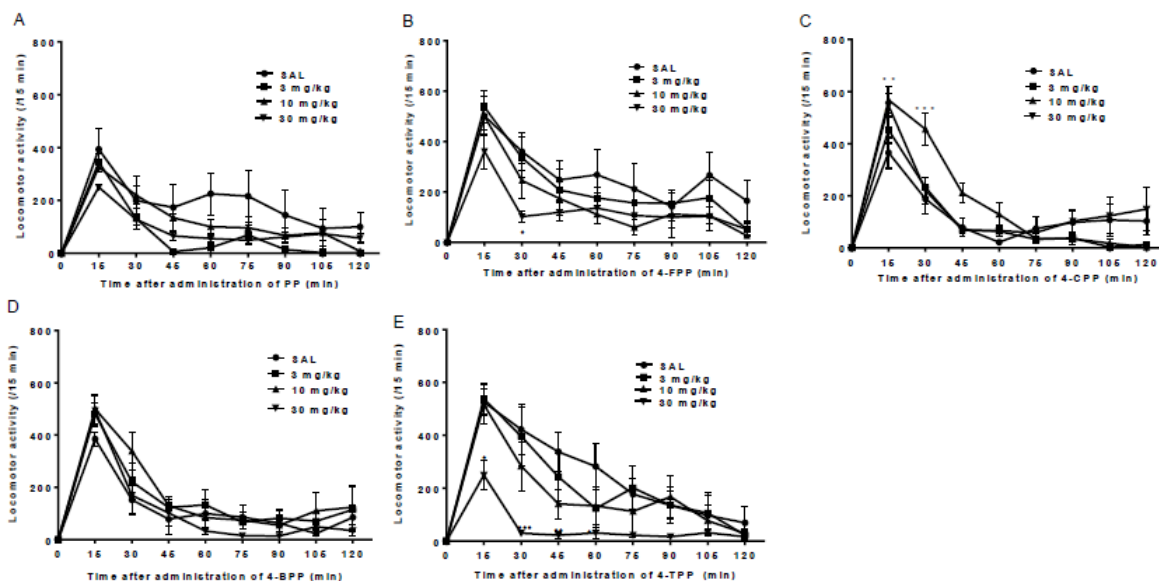
1. 特になし

2. 学会発表

特になし

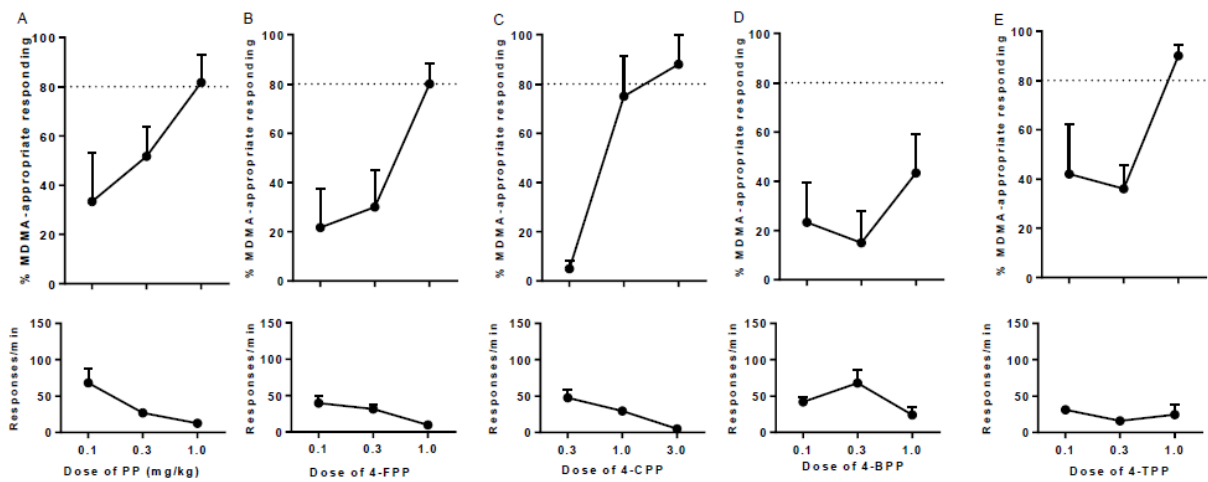
#### **H. 知的財産権の出願・登録状況**

特になし



**Figure 1 . Effects of phenylpiperazine derivatives on locomotor activity in ICR mice.**

Locomotor activity was recorded for 120 min following subcutaneous administration of the following compounds: 1-phenylpiperazine (PP, 3.0–30 mg/kg) (A), 1-(4-fluorophenyl)piperazine (4-FPP, 0.3–30 mg/kg) (B), 1-(4-chlorophenyl)piperazine (4-CPP, 1.25–25 mg/kg) (C), 1-(4-bromophenyl)piperazine (4-BPP, 3.0–30 mg/kg) (D), 1-(m-tolyl)piperazine (4-TPP, 3.0–30 mg/kg) (E), as described in the Materials and Methods section. Each point represents the mean locomotor counts  $\pm$  S.E.M. (n = 6). Statistical analysis was performed using two-way ANOVA followed by Bonferroni's post hoc test. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  vs. saline (SAL).



**Figure 2. Substitution tests with phenylpiperazine derivatives for the discriminative stimulus effects of MDMA in rats.**

Substitution tests were conducted using the following compounds: 1-phenylpiperazine (PP, 0.1–1.0 mg/kg, s.c.) (A), 1-(4-fluorophenyl)piperazine (4-FPP, 0.3–3.0 mg/kg, s.c.) (B), 1-(4-chlorophenyl)piperazine (4-CPP, 0.1–1.0 mg/kg, s.c.) (C), 1-(4-bromophenyl)piperazine (4-BPP, 0.1–1.0 mg/kg, s.c.) (D), 1-(p-tolyl)piperazine (4-TPP, 0.1–1.0 mg/kg, s.c.) (E). Rats had been trained to discriminate 2.0 mg/kg MDMA from saline. Each point represents the mean percentage of MDMA-appropriate responding (upper panels) and the mean response rate (lower panels)  $\pm$  S.E.M. (n = 5–8).