

平成 29 年 6 月 7 日現在

機関番号：34417

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2015～2016

課題番号：15H06749

研究課題名（和文）合成カンナビノイドの体内動態及び体内分布の解明

研究課題名（英文）Study of metabolism and disposition of synthetic cannabinoids

研究代表者

松本 智寛（Matsumoto, Tomohiro）

関西医科大学・医学部・講師

研究者番号：90405176

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：合成カンナビノイドのうち、国内で濫用が著しかった薬物について、抽出法とLC-MS-MS分析条件を検討した。将来的に代謝物の検索も可能となるよう条件に余裕を持たせて分析条件を決定し、抽出法には脱脂処理としてMonospin C18を用いたQuEChERS法を採用した。次いで、Wistar系ラットに薬物を腹腔内投与し、経時的に血中薬物濃度を測定したところ、例えば5F-QUPICでは極めて短い生物学的半減期を示した。検討の結果、合成カンナビノイドは最終的に6化合物に絞りこまれたので、今後はそれらについて本格的にデータ測定を行っていく予定である。

研究成果の概要（英文）：Extraction and Cleanup approaches for synthetic cannabinoids from rat in vivo samples were evaluated. The simple QuEChERS method using Monospin C18 to remove lipids from blood samples was preferred. In this study, biological half-life of 5F-QUPIC, one of the most popular synthetic cannabinoids, in Wistar male rat after intraperitoneal injection was very short (< 1 h). More detailed study is scheduled to be carried out in the future using the six synthetic cannabinoids we finally selected in these experiments.

研究分野：法中毒学

キーワード：合成カンナビノイド

### 1. 研究開始当初の背景

急速に拡大した危険ドラッグ濫用問題において、当初中心的な役割を果たしていたのが合成カンナビノイドと呼ばれる大麻様の向精神作用を有する薬物群である。合成カンナビノイドには、従来にないほど多数の構造類似体が存在し、そのいずれもが過去に濫用実績のない新規濫用薬物である。こうした危険ドラッグが、医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律（旧薬事法）において指定薬物に指定されると、販売業者は指定された成分の販売を速やかに中止し新規成分に切り替えて販売を継続することから、当初は業者の取り締まりに難渋した。その間に、薬物濫用者による交通事故や過剰摂取による中毒・死亡事故が多発し、社会に大きな衝撃を与えたことは記憶に新しい。これを受けて取締りを強化した結果、多数の濫用者を検挙するに至ったが、合成カンナビノイドの研究が立ち遅れているために公判維持に支障を来す事例が散見されるようになった。実際、ごく限られた合成カンナビノイドについて薬物代謝の報告がなされているのみで、薬物速度論解析に至ってはほとんど手付かずの状態である。そのため、被疑者の事件当時の血中濃度や醜態状態を推定することができず、危険運転致死傷罪の適用等、厳罰化を指向する上で大きな障害となっている。

また一方では、明らかに合成カンナビノイドによる急性中毒死と見られる事案にも関わらず、その血中濃度は予想に反して低値を示すことが多く、急性中毒死との因果関係をどのように解釈すべきか判断に迷うことがある。合成カンナビノイドは特に脂溶性が高く、摂取後急速に脂肪組織へと分配されるものと考えられているが、合成カンナビノイドといってもその化学構造は多様性に富んでおり、その脂溶性の程度も一様ではない。脂溶性の程度と実際の組織分布を明らかにすることが必要であるが、まだそこまで体系的な研究はなされていないのが現状である。

### 2. 研究の目的

(1) 本研究において、多種多様な化学構造を有する化合物を適切に分析することは、実験精度上、非常に重要である。そこで、各種合成カンナビノイドについて、液体クロマトグラフタンデム質量分析計（LC-MS-MS）の抽出条件及び分析条件を検討する。また、対象化合物を順次増やしていくことも予想されるので、代謝物の分析も視野に入れた条件検討を行う。

(2) 合成カンナビノイドの体内動態はいまだ十分に解明されておらず、公判において犯罪者の摂取証明及び摂取後経過時間の推定に難渋する事例が散見されたため、薬物速度論解析により合成カンナビノイドの体内動

態を明らかにする。

(3) 合成カンナビノイドを投与したラットについて、合成カンナビノイドの中毒作用と血中濃度の関係について検討を行う。合成カンナビノイドの重要な行動薬理的指標であるカタレプシー持続時間を用いて、血中濃度推移との関係を調べ、血中濃度と実際の中毒作用の乖離について考察する。

(4) 摂取された合成カンナビノイドは、急速に脂肪組織へと分配されるものと考えられているが、実際にどの臓器にどのくらい分布しているのかについては明らかでない。そこで、質量顕微鏡を用いてイメージング画像により実際の分布状況を可視化することで、薬物の組織分布を明らかにする。

### 3. 研究の方法

(1) 合成カンナビノイド標品は原則としてナカライテスクより購入した。購入できない薬物（代謝物を含む）については研究室にて化学合成を試みた。分析前処理としてはQuEChERS法、固相抽出法及び液液抽出法について検討を行った。今回実験に用いた代表的な合成カンナビノイドを以下に示す。また、各標準液は安定性の観点からいずれもアセトニトリル溶液とした。

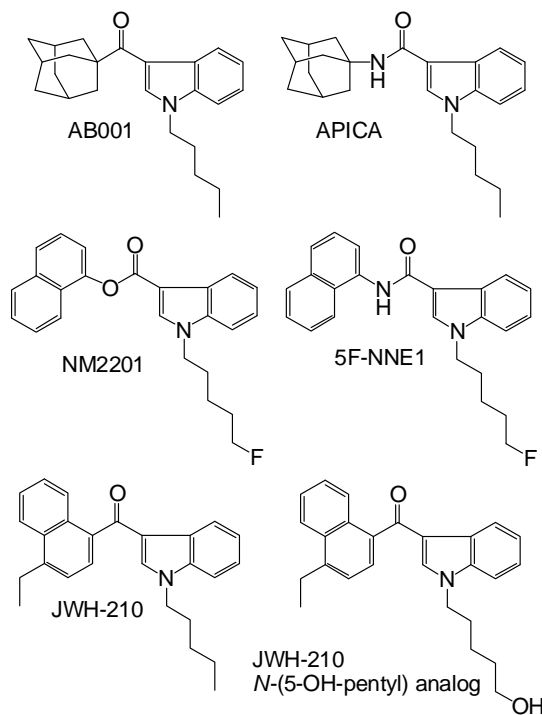


図 1. 本研究の対象とした主な合成カンナビノイド化合物の化学構造

LC-MS-MS の分析条件は以下のとおりである。  
 装置：島津製作所製 LCMS-8040  
 分析カラム：Shim-pak FC-ODS  
 (150 mm×2 mm i.d., 粒径 3µm)  
 オープン温度：40  
 移動相：A, 10 mM ギ酸アンモニウム水溶液

B, メタノール  
0-15 min A:B = 95:5 5:95  
15-20 min A:B = 5:95

流速: 0.3 mL/min  
ネプライザガス流量: 1.5 L/min  
ドライイングガス流量: 10 L/min  
デソルベーション温度: 250  
ヒートブロック温度: 400  
イオン化モード: ESI  
CID ガス: Ar

(2)Wistar 系 9 週齢雄性ラットに合成カンナビノイド溶液を 1 mg/kg で腹腔内投与した後、尾静脈より経時的に採血し(15, 30, 60, 90, 120, 150 min) 血清 0.1 mL を QuEChERS 法にて抽出し、LC-MS-MS 分析を行った。得られた測定データをもとに生物学的半減期等の薬物速度論パラメータを求めた。

(3)合成カンナビノイドのカタレプシー持続時間を測定するにあたり、手技を習得するためにハロペリドールを用いた予備実験を行った。SD 系 9 週齢雄性ラットに 2 mg/kg のハロペリドール溶液を腹腔内投与し、30 分後にカタレプシー持続時間を測定した。

(4)質量顕微鏡を用いた組織分布を観察するために装置の分析講習を受講した。

#### 4. 研究成果

(1)今回我々は様々な合成カンナビノイドについて検討を行い、どの化合物について詳細に検討するべきか慎重に議論した。5F-QUPIC をはじめ現在麻薬として規制される薬物は、かつて広く市場に流通し、しかも薬物依存性が高い重要な薬物であり、十分研究する価値のある薬物である。しかし、麻薬として規制されているがゆえに試薬としての入手が困難であり、原則として研究室で合成する必要がある。当初我々は合成する方向で検討を開始したが、収率の問題と十分な精製に要するコストを鑑み、最終的に市販される合成カンナビノイドから対象薬物を選定する方向に転換した。

抽出法の検討では、QuEChERS 法、OasisHLB による固相抽出法及び液液抽出法について検討を行った。その結果、固相抽出法及び液液抽出法では、化合物によってマトリクスの影響を強く受けて抽出率がばらつき、差が大きくなる傾向が認められたため、影響が最も少ないと判断された QuEChERS 法を採用した (RESTEK 製 Q-sep Q150)。一方で、QuEChERS 法では血液由来の脂質が分析カラムに悪影響を及ぼしている可能性が示唆されたため、QuEChERS 法による抽出の後、ジーエルサイエンス製 Monospin C18 による簡単な脱脂処理を加えた。

(2)Wistar 系ラットに合成カンナビノイドを

腹腔内投与し、*in vivo* 実験系での血中濃度プロファイルを検討した。一例として 5F-QUPIC で検討した結果を図 2 に示す。この結果、5F-QUPIC の生物学的半減期は約 1 h とわけて短く、血中からの消失が著しく早いという 5F-QUPIC 全盛期の取締現場の印象を裏付ける結果となった。

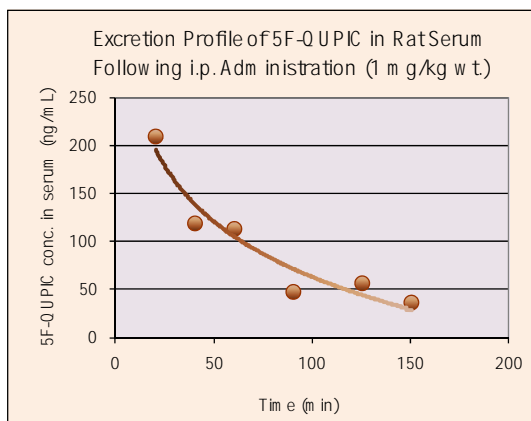


図 2. 5F-QUPIC 投与ラットにおける血中薬物濃度の変化

(3)合成カンナビノイドのカタレプシー時間を測定するにあたり、基礎実験として SD 系ラットにハロペリドール 2 mg/kg の投与量で腹腔内投与し、カタレプシーの発現を確認した。また、実験機材及び実験方法の有効性が確認されたため、今後実際に合成カンナビノイド化合物を投与して実験データを蓄積する予定である。

(4)本実験に関しては、質量顕微鏡の分析講習を終えた段階である。現在、組織標本作成可能なスタッフが揃ったことから、今後は、質量顕微鏡に適したラットの組織標本をいかに作成していくか、特に脂肪組織を中心に検討する予定である。その後、準備が整い次第、合成カンナビノイドを投与して実際のデータを蓄積していく予定である。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1 件)  
松本智寛, 橋谷田真樹, 赤根敦, 合成カンナビノイド中毒と交通事故(総説), 中毒研究, 28:333-338, 2015, 査読なし  
〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:  
発明者:

権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

松本 智寛 (MATSUMOTO, Tomohiro)  
関西医科大学・医学部・講師  
研究者番号：90405176

##### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

##### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

##### (4) 研究協力者

石場 厚 (ISHIBA, Atsushi)  
愛知県警察本部・科学捜査研究所・主任研究員