東京健安研セ年報　*Ann. Rep. Tokyo Metr. Inst. Pub. Health*, **72**, 325-331, 2021

知事指定薬物に指定された α-PHP 類縁化合物の生体作用比較

籏岡　恭子[a]，不破　達[b]，吉田　正雄[c]，久保　喜一[b]，湯澤　勝廣[a]，長澤　明道[a]，田中　和良[d]，
安藤　弘[e]，海鉾　藤文[a]，高橋　博[b]，鈴木　仁[a]，猪又　明子[f]，守安　貴子[f]

平成26年度から令和元年度までに知事指定薬物に指定された薬物のうち，α-PHP類縁化合物である5-BPDI，3,4-Dimethoxy-α-PHP及び3,4-methylenedioxy-α-PHPの生体影響試験結果について，作用比較を行った．行動及び神経症状観察試験の結果から，3,4-methylenedioxy-α-PHPが最も強い生体作用を示す傾向にあった．また，マイクロダイアリシス試験の結果から，3,4-methylenedioxy-α-PHPは5-BPDIと3,4-Dimethoxy-α-PHPよりも有意にセロトニン（5-HT），ドパミン（DA）及びノルエピエフリン（NE）量を増加させた．したがって，3,4-methylenedioxy-α-PHPが生体に与える影響が最も強いと推測される．

キーワード：危険ドラッグ，合成カチノン系，α-PHP，神経症状行動観察，マイクロダイアリシス，モノアミン

は　じ　め　に

東京都では薬物乱用防止の観点から，「東京都薬物の濫用防止に関する条例」（平成17年4月施行）に基づき，東京都薬物情報評価委員会（以下委員会と表記）を設置している．委員会では，国内未規制薬物の生体への影響等を評価し，知事指定薬物への指定を行っている．東京都健康安全研究センター（以下当センターと表記）では危険ドラッグの生体影響試験として，マウスを用いた行動及び神経症状観察試験[1,2]やマイクロダイアリシス試験[3]等を実施しており，試験結果は委員会で薬物評価に用いられている．

合成カチノン系の精神への作用強度に関する既往研究において，α-ピロリジノフェノン誘導体の作用強度はアルキル側鎖の炭素数により増加し，α-PVP（炭素数3）またはα-PHP（炭素数4）で最も強くなり，さらに炭素数が増えると低下すること[4]やメチレンジオキシ基が強化効果に影響する可能性があること[5]が報告されている．しかし，インダン環，ジメトキシ基及びメチレンジオキシ基の作用比較については情報がない．

平成26年度から令和元年度までに知事指定薬物に指定された薬物について調査したところ，α-ピロリジノフェノン誘導体として分類され，それぞれインダン環，ジメトキシ基及びメチレンジオキシ基を有するα-PHP類縁化合物3種［5-BPDI（1-(2,3-dihydro-1*H*-inden-5-yl)-2-(pyrrolidin-1-yl)hexan-1-one），3,4-Dimethoxy-α-PHP（1-(3,4-dimethoxyphenyl)-2-(pyrrolidin-1-yl)hexan-1-one）及び3,4-methylenedioxy-α-PHP（1-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-yl)-2-(pyrrolidin-1-yl)hexan-1-one，以下MDPHPと表記）］（Fig. 1）を見出した．

そこで上記3種のα-PHP類縁化合物の生体影響試験結果について，作用比較を行った．

実　験　方　法

1. 実験動物及び飼育条件

Crlj:CD1(ICR)雄マウス（5週齢）を日本チャールス・リバー株式会社より入手し，馴化後6週齢に達した発育良好なもの（体重30～35 g）を試験に供した．動物は，温度20～26°C，湿度45～55%，照明午前6時～午後6時，換気毎時10回（HEPAフィルター経由）の飼育室において，固形飼料CE-2（日本クレア株式会社）及び限外ろ過処理水道水を自由に与えた．行動及び神経症状観察試験に用いる動物はプラスチックケージに1匹ずつ，マイクロダイアリシス試験に用いる動物は個別換気飼育装置専用ケージに3匹ずつ飼育した．

2. 被験物質

被験物質（5-BPDI，3,4-Dimethoxy-α-PHP及びMDPHP）はいずれも当センター医薬品研究科で精製（純度99.0%以上）したものを使用した．被験物質は蒸留水（大塚製薬株式会社）を用いて溶解した．

3. 行動及び神経症状観察試験

1) 投与量及び投与匹数

危険ドラッグとしてヒトの推定使用量が定かでないた

[a] 東京都健康安全研究センター薬事環境科学部生体影響研究科
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1
[b] 当時：東京都健康安全研究センター薬事環境科学部生体影響研究科
[c] 東京都健康安全研究センター薬事環境科学部医薬品研究科
[d] 東京都健康安全研究センター薬事環境科学部環境衛生研究科
[e] 東京都健康安全研究センター微生物部食品微生物研究科
[f] 東京都健康安全研究センター薬事環境科学部

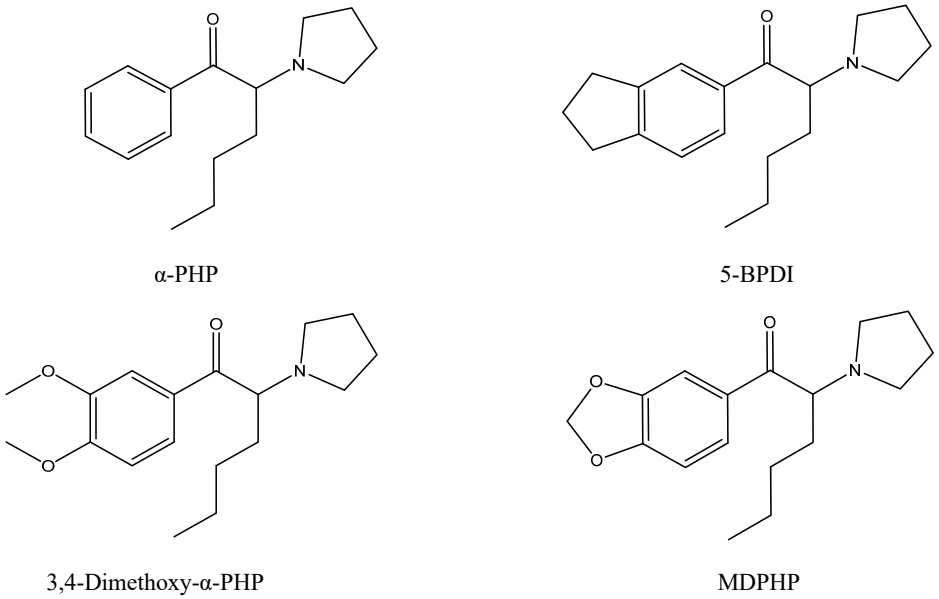

Fig. 1. Chemical Structures of Synthetic Cathinones

め，陽性対照物質であるメタンフェタミンでの動物行動発現を基に，最少量を2 mg/kgに設定し，その10倍量（20 mg/kg），50倍量（100 mg/kg）及び対照（蒸留水）群の4群とした．各群5匹とし，1日1回，2日間連続経口投与を行った．

2) 観察・評価方法

既報[1,2]の通り，Irwinの多元観察法[6]を改良した行動及び神経症状観察得点表を作成し，5匹のスコアの平均値を求めた．対照群のスコアは各試験における対照群の平均値とした．評価方法については既報[1,2]のとおり，平均値の絶対値が0.4以下は生体影響なし，0.6以上0.8以下は生体影響の疑いあり，1以上で生体影響ありとした．

3) 作用強度の比較方法

行動及び神経症状観察得点表の評価項目の中から，合成カチノンの代表的な症状である自発運動の亢進[7]，瞳孔散大[8]，反射亢進[9]及び感覚異常[10]をそれぞれ表す自発運動，瞳孔，耳介反射，角膜反射，触反応及び痛反応の6項目を選定し，レーダー図を作成して，被験物質ごとの作用強度を比較した．

4. マイクロダイアリシス試験

1) 投与量及び投与匹数

被験物質を投与量4 mmol/kg（投与容量20 mL/kg）で単回経口投与を行った．投与匹数は5-BPDI群は5匹，3,4-Dimethoxy-α-PHP群，MDPHP群及び対照群は6匹であった．

2) 透析プローブの埋め込み手術

ペントバルビタール麻酔後（50 mg/kg，腹腔内投与），脳定位固定術法により，プローブ（エイコム株式会社D-I-6-02）をマウス線条体に刺入した．プローブの先端位置は，頭蓋骨冠矢状縫合の交差点（Bregma）を基点として，吻側方向に0.45～0.7 mm，正中線から右方向外側に2.2 mm，脳表面から背腹側方向に3.5 mmとした．刺入されたプローブは，プローブ周辺の頭蓋骨に固定したアンカー・ビス3本とともに歯科用セメントで覆い留置固定した．実験終了後，組織化学標本を作製してプローブの刺入部位の観察を行い，回収生体試料が線条体からのものであることを確認した．

3) 生体試料採取及び分析方法

手術翌日，回復が確認されたマウスを用いてマイクロダイアリシス試験を行った．生体試料採取方法は既報[3]の通りである．分析は既報[1] に従い，各試料におけるモノアミン（ドパミン（以下DAと表記），セロトニン（以下5-HTと表記）及びノルエピエフリン（以下NEと表記））のクロマトグラムのピーク波形の積分値を算出した．試料採取開始からクロマトグラム安定後の100分間（5回分）の各モノアミン量の平均値を100%とし，被験物質投与後のモノアミン量の変化率を求めた．分析条件も既報[1]を参照されたい．

5. 統計

マイクロダイアリシス試験の結果解析にSteel-Dwass検定を用いた．

6. 動物実験の取り扱い

3，4に記述した試験は，当センターの動物実験委員会において審査され，承認されたものである．動物実験の実施においては，動物の愛護及び管理に関する法律（平成26年法律第46号），実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準（平成25年環境省告示第84号），厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針（平成27年2月20日厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知），動物の殺処分方法に関する指針（平成19年環境省告示第105号），動物実験の適正な実施に向けたガイド

ライン（平成18年6月1日日本学術会議），東京都動物の愛護及び管理に関する条例（平成18年条例第4号）に基づき，当センター動物実験実施規程，同実験動物施設管理基準及び標準作業手順書に従って実施した．

結　　果

1. 行動及び神経症状観察試験

1) 低用量における症状変化

2 mg/kg（低用量）において，5-BPDIと3,4-Dimethoxy-α-PHPは投与2時間後まで変化を示さなかった．MDPHPは投与1時間後に自発運動が亢進傾向にあったが，投与2時間後には抑制傾向に変化した（Fig. 2ABC）．

2) 中用量における症状変化

20 mg/kg（中用量）において，5-BPDIは投与30分後に自発運動，角膜反射，触反応及び痛反応が若干亢進したが，投与1時間後では痛反応のみ同程度の作用強度で観察され，投与2時間後では全反応が消失した．3,4-Dimethoxy-α-PHPは投与2時間後まで変化を示さなかった．MDPHPは投与後30分において自発運動，耳介反射，角膜反射，触反応及び痛反応の強い亢進を示し，投与2時間後まで持続した．さらに瞳孔散大は投与30分後に強く観察され，その後減弱し，投与2時間後では作用が消失した（Fig. 2DEF）．

3) 高用量における症状変化

100 mg/kg（高用量）において，5-BPDIは投与30分後に自発運動，触反応及び痛反応の強い亢進と耳介反射，角膜反射の若干の反応を認めた．自発運動の亢進は投与1時間後には消失し，触反応と痛反応は投与2時間後まで作用がやや弱まりながら観察された．角膜反射は投与1時間後には消失したが，投与2時間後では再び亢進傾向にあった．耳介反射は投与2時間後まで同程度の作用強度を持続した．3,4-Dimethoxy-α-PHPは投与30分後において耳介反射，角膜反射，触反応及び痛反応の若干の亢進を認めた．投与1時間後には作用はほとんど消失したが，2時間後では痛反応のみ亢進傾向を示した．MDPHPは投与30分後において自発運動，角膜反射，触反応及び痛反応の亢進と瞳孔散大が強く観察され，耳介反射のみ若干亢進傾向にあった．投与1時間後では耳介反射も強い反応を示し，投与後2時間まで全反応において強い反応を持続した（Fig. 2GHI）．

2. マイクロダイアリシス試験

線条体における被験物質投与前の細胞外5-HT，DA及びNE量の平均値は，それぞれ0.14±0.05，6.17±1.42及び0.14±0.05 nmol/L（n=23）であった．

1) 細胞外5-HT量の変化

5-BPDIは投与20分後に有意な5-HT量の増加を示した．3,4-Dimethoxy-α-PHPは投与20分後に5-HT量に影響を及ぼさなかった．MDPHPは投与20，60，100及び140～180分後に有意な5-HT量の増加を示した．また，投与160分後においては5-BPDIよりも有意に増加し，投与60，140及び180分後では3,4-Dimethoxy-α-PHPよりも有意に増加した（Fig. 3A）．どの被験物質も投与20分後に最大増加率を示し，5-BPDIは238%，3,4-Dimethoxy-α-PHPは172%，MDPHPは302%であった．

2) 細胞外DA量の変化

5-BPDIはDA量に影響を及ぼさなかった．3,4-Dimethoxy-α-PHPは投与2時間後まで有意にDA量を増加させ，投与60～80分後においては5-BPDIよりも有意に増加した．MDPHPは投与3時間後まで5-BPDIと3,4-Dimethoxy-α-PHPよりも有意にDA量を増加させた（Fig. 3B）．どの被験物質も投与20分後に最大増加率を示し， 5-BPDIは119%，3,4-Dimethoxy-α-PHPは140%，MDPHPは666%であった．

3) 細胞外NE量の変化

5-BPDIは投与20分後に有意なNE量の増加を示した．3,4-Dimethoxy-α-PHPは投与40分後まで及び80分後に有意にNE量を増加させ，投与80分後においては5-BPDIより有意に増加した．MDPHPは投与3時間後まで5-BPDIと3,4-Dimethoxy-α-PHPよりも有意にNE量を増加させた（Fig. 3C）．最大増加率は投与20分後に5-BPDIは184%，3,4-Dimethoxy-α-PHPは229%となり，MDPHPは投与40分後に600% を示した．

考　　察

行動及び神経症状観察試験の結果から， MDPHPが最も強い生体作用を示す傾向にあった．また，マイクロダイアリシス試験の結果から， MDPHPは5-BPDIと3,4-Dimethoxy-α-PHPよりも有意に5-HT，DA及びNE量を増加させた．よって，MDPHPが生体に与える影響が最も強いと推測された．

合成カチノン系の作用機序は一般的にモノアミン放出促進作用とモノアミン再取り込み阻害作用であるが，α-ピロリジノフェノン誘導体はモノアミン放出を促進せず，選択的に再取り込みを阻害するという報告[10, 11]がある．したがって，5-BPDI，3,4-Dimethoxy-α-PHP及びMDPHPいずれもモノアミン再取り込み阻害作用のみを有すると考えられる．前シナプス側におけるモノアミン再取り込み阻害作用によりシナプス間隙でモノアミン濃度が増加し，興奮作用をもたらす．

MDPHPの5-HT，DA及びNEの再取り込み阻害濃度（IC_{50}）はそれぞれ1.34±0.41，0.0084±0.0022，0.047±0.010 μMという報告[11]があり，hDAT > hNET > hSERTの順で阻害作用を示す．その結果，MDPHP は5-HT，DA及びNE作動性神経を刺激し，5-HT，DA及びNEを有意に増加させ，行動試験においても強い生体作用を示したと考えられる．

5-BPDIのIC_{50}値は不明であるが，フェネチルアミン系において，インダン環を有する5-APDI（5-(2-Aminopropyl)-2,3-dihydro-1*H*-indene）はメチレンジオキシ基を有するMDA（3,4- methylenedioxyamphetamine）よりも5-HT取り込み阻害作用が強いことが報告されている[12]．

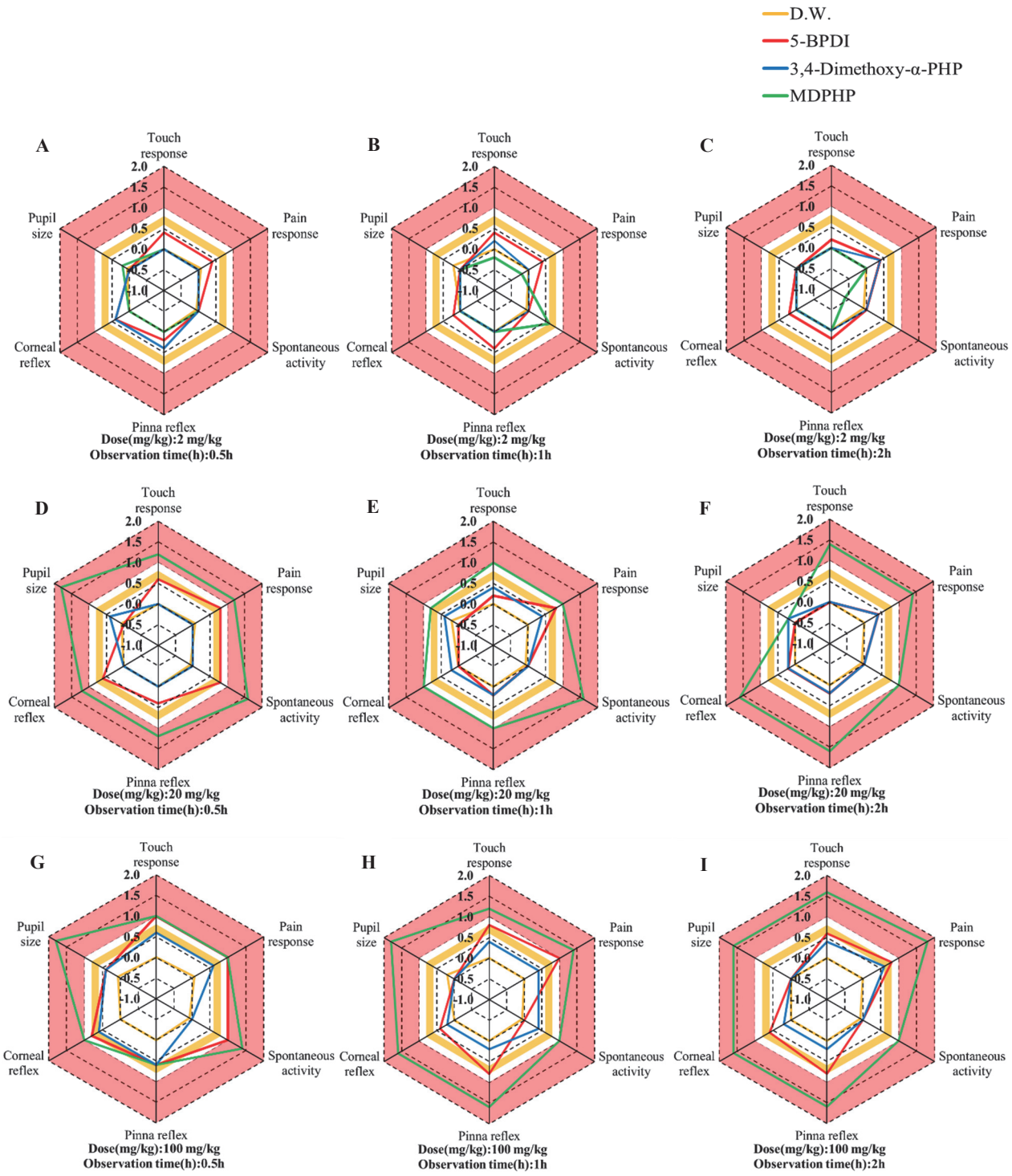

Fig.2. Mean Value of the Score with 5-BPDI, 3,4-Dimethoxy-α-PHP and MDPHP for General, Neurological and Autonomic Behavior

合成カチノン系はフェネチルアミン系に構造的にも薬理学的にも似ている[13]ことから，5-BPDIはMDPHPよりも5-HT再取り込み阻害作用が強いと考えられる．しかし，今回5-BPDIは5-HT濃度を有意に増加させたものの，MDPHPとの間で有意差が見られなかった．これはそれぞれの物質が持つ血中から脳内に移行する強さ，いわゆる血液脳関門の通過しやすさなどとの関係があるものと思われる．

合成カチノン系のハロゲン化誘導体は5-HT再取り込み阻害作用が強く，セロトニン症候群を引き起こす可能性が示唆されている[14]．セロトニン症候群の症状として反射亢進[15]などがあり，今回行動試験において5-BPDIは反射亢進傾向を示したことや5-HT濃度が有意に上昇したことから，5-BPDIもセロトニン症候群を引き起こす可能性が考えられる．

3,4-Dimethoxy-α-PHPのIC_{50}値は不明であるが，フェネチ

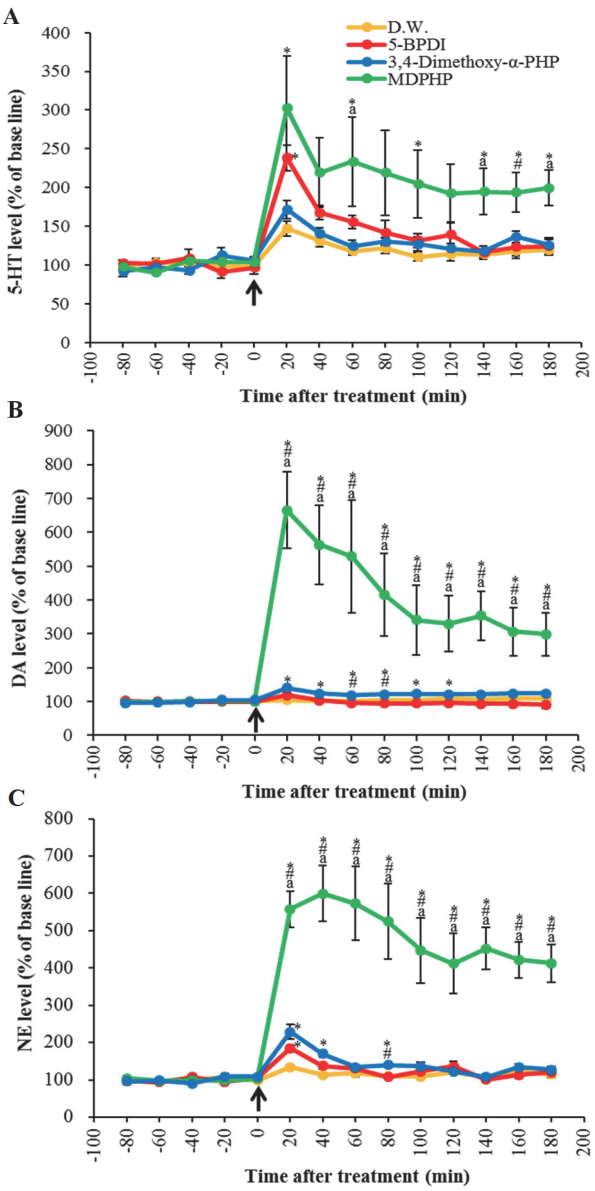

Fig. 3. Effects of 5-BPDI, 3,4-Dimethoxy-α-PHP and MDPHP on Extracellular Levels of 5-HT (A), DA (B), and NE (C) in Striatum of Mice
Mice were orally administered at 0 min, and the dialysate was collected every 20 min for 180 min. Values represent the percentage changes (the mean ± SEM, n = 5-6) from the basal levels. Statistical analysis was performed using Steel–Dwass test. *p<0.05 vs. D.W. #p<0.05 vs. 5-BPDI. ap<0.05 vs. 3.4-Dimethoxy-α-PHP

ルアミン系においてイヌではメチレンジオキシ類縁化合物がジメトキシ類縁化合物よりも効力が強いことが報告[16]されていることから，3,4-Dimethoxy-α-PHPはMDPHPよりも作用は弱いと考えられる．これは今回の行動試験，マイクロダイアリシス試験の結果と一致している．

また，マイクロダイアリシス試験において，3,4-Dimethoxy-α-PHPは5-BPDIよりも投与80分後のDAとNEが有意に高くなった．マイクロダイアリシス試験の投与量は行動試験における中用量（20 mg/kg）とほぼ同等であり，Fig. 2Eがマイクロダイアリシス試験の投与80分後のマウスの行動とリンクしていると考えられる．5-BPDIは痛反応のみスコアが高値であったが，瞳孔，角膜反射及び触反応においては3,4-Dimethoxy-α-PHPの方が高値であった．

合成カチノン系においてアリル置換基はDAT/SERT比（ドパミントランスポーターに対するセロトニントランスポーターの選択性。1/DAT IC_{50}: 1/SERT IC_{50}で表現される。）を左右し，行動作用に影響を与える可能性があるという報告[17]もあることから，DAT/SERTの選択性の違いも含めて今後考慮するべきであると考えられる．

ま　と　め

これまで，当センターでは危険ドラッグの生体影響試験を行い，委員会が知事指定薬物への指定を行う際の根拠を提示してきた．今回，平成26年度から令和元年度までに知事指定薬物に指定された薬物のうち，α-PHP類縁化合物である5-BPDI，3,4-Dimethoxy-α-PHP及びMDPHPの生体影響試験結果について，作用比較を行った．

行動及び神経症状観察試験の結果から，MDPHPが最も強い生体作用を示す傾向にあった．また，マイクロダイアリシス試験の結果から，MDPHPは5-BPDIと3,4-Dimethoxy-α-PHPよりも有意に5-HT，DA及びNE量を増加させた．よって，MDPHPが生体に与える影響が最も強いと推測される．

以上のことから，同じα-PHP類縁化合物でも作用強度が異なることが明らかとなった．また，アリル置換基はDAT/SERTの選択性を左右し，行動作用に影響を与える可能性があることから，今後DAT/SERTの選択性の違いも含めて考慮するべきであると考えられる．

謝　　辞

本調査を実施するにあたり，東京都福祉保健局健康安全部薬務課，当センター薬事環境科学部医薬品研究科の皆様に多大な援助を頂きました．深く御礼申し上げます．

文　　献

1) 佐藤かな子，福森信隆，野中良一，他：東京健安研セ年報，**60**, 21-35, 2009.
2) 小縣昭夫，佐藤かな子，不破　達，他：Yakugaku Zasshi, **133**, 25-29, 2013.
3) Fuwa, T., Suzuki, J., Tanaka, T., *et al.*: *J. Toxicol. Sci.*, **41**,329-337, 2016.
4) Wojcieszak, J., Andrzejczak, D., Wojtas, A., *et al.*: *Forensic Toxicology*, **36**, 334-350, 2018.
5) Gannon, B.M., Galindo, K.I., Mesmin, M.P., *et al.*: *Neuropharmacology*, **134**, 28-35, 2018.
6) Irwin, S.: *Psychopharmacologia(Berl.)*, **13**, 222-257, 1968.
7) Kaizaki, A., Tanaka, S., Numazawa, S.: *J. Toxicol. Sci.*, **39**,

1-6, 2014.
8) 後長孝佳，服部友紀，安藤雅規，他：日臨救医誌，**18**, 546-550, 2015.
9) Gries, R.R., Straw, K.: *Mental Health Clinician*, **3**, 309-312, 2013.
10) Hohmann, N., Mikus, G., Czock, D.: *Dtsch Arztebl Int.*, **111**, 139-147, 2014.
11) Eshleman, A.J., Nagarajan, S., Wolfrum, K.M., *et al.*: *Psychopharmacology(Berl.)*, **236**, 939-952, 2014.
12) Monte, A.P., Marona-Lewicka, D., Cozzi, N.V., *et al.*: *J.Med.Chem.*, **36**, 3700-3706, 1993.
13) Karch, S.B.: *Curr Neuropharmacol.*, **13**, 21-25, 2015.
14) Carlier, J., Diao, X., Giorgetti, R., *et al.*: *Int J Mol Sci.*, **22**, 230, 2021.
15) Volpi-Abadie, J., Kaye, A.M., Kaye, A.D.: *Ochsner Journal*., **13**, 533-540, 2013.
16) Hardman, H.F., Haavik, C.O., Seevers, M.H.: *Toxicol Appl Pharmacol.*, **25**, 299-309, 1973.
17) Glennon, R.A., Dukat, M.: *Curr Top Behav Neurosci.*, **32**, 19-47, 2013.

Comparison of Biological Effects of α-PHP Analogs Regulated as Governor-designated Psychoactive Substances

Kyoko HATAOKA[a], Tatsu FUWA[b], Masao YOSHIDA[a], Yoshikazu KUBO[b], Katsuhiro YUZAWA[a], Akemichi NAGASAWA[a], Kazuyoshi TANAKA[a], Hiroshi ANDO[a], Fujifumi KAIHOKO[a], Hiroshi TAKAHASHI[b], Jin SUZUKI[a], Akiko INOMATA[a], and Takako MORIYASU[a]

We compared the biological effects of α-PHP analogs, 5-BPDI, 3,4-Dimethoxy-α-PHP and 3,4-methylenedioxy-α-PHP among the governor-designated psychoactive substances from 2014 to 2019. 3,4-Methylenedioxy-α-PHP had a tendency to show the strongest behavior in behavioral and neurological observation tests. Furthermore, 3,4-methylenedioxy-α-PHP significantly increased extracellular levels of serotonin (5-HT), dopamine (DA) and norepinephrine (NE) compared to 5-BPDI and 3,4-Dimethoxy-α-PHP in vivo microdialysis. Therefore, 3,4-methylenedioxy-α-PHP has a stronger biological effect than 5-BPDI and 3,4-Dimethoxy-α-PHP.

Keywords: illegal drug, synthetic cathinone, α-PHP, neuro-behavioral observation, microdialysis, monoamine

[a] Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan
[b] Tokyo Metropolitan Institute of Public Health, at the time when this work was carried out