

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2015-517565
(P2015-517565A)

(43) 公表日 平成27年6月22日(2015.6.22)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
A61K 31/7084 (2006.01)	A61K 31/7084	4C057
A61P 25/04 (2006.01)	A61P 25/04	4C086
A61P 43/00 (2006.01)	A61P 43/00	1 1 1
C07H 21/00 (2006.01)	C07H 21/00	
A61P 1/02 (2006.01)	A61P 1/02	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 52 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2015-513277 (P2015-513277)	(71) 出願人	514298106 グローバラコーン リミテッド イギリス国 ダブリュー4 5エヌダブリ ュー ロンドン、テンブル ロード 22
(86) (22) 出願日	平成25年5月24日 (2013.5.24)	(74) 代理人	110000855 特許業務法人浅村特許事務所
(85) 翻訳文提出日	平成27年1月21日 (2015.1.21)	(72) 発明者	ミラー、アンドリュー デイヴィッド イギリス国、ロンドン、チスウィック、テ ンブル ロード 22
(86) 國際出願番号	PCT/GB2013/051377	(72) 発明者	ロゾヴァヤ、ナターリヤ フランス国、マルセイユ、ルートゥ デ リュミニー - ベベ3 163、マルセ イユ アメナジュマン、ウニヴェルシテ テラ メディテラネ、アンメド - ア ンセルム ユ 901
(87) 國際公開番号	W02013/175231		
(87) 國際公開日	平成25年11月28日 (2013.11.28)		
(31) 優先権主張番号	1209244.1		
(32) 優先日	平成24年5月25日 (2012.5.25)		
(33) 優先権主張國	英國 (GB)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 疼痛の治療のためのジスクレオシドポリリン酸

(57) 【要約】

本発明は、高親和性脱感作 (HAD) 機序によることが多い、伝達ATP-開口型P2X3受容体を介した疼痛の阻害 (又はダウンレギュレーション) における使用のためのジスクレオシドポリリン酸類似体又は薬学的に許容されるその塩を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

疼痛伝達 A T P - 開口型 P 2 X 3 受容体の阻害における使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体又は薬学的に許容されるその塩。

【請求項 2】

a) (P 2 X ファミリーのうち) P 2 X 3 受容体に対してのみ作用し、又はこれに対してのみ選択的であり、

b) P 2 X 4、P 2 X 7 及び / 又は P 2 X 2 受容体 (単数又は複数) のいずれに対しても又はいずれかに対して作用せず、

c) 高親和性脱感作 (H A D) 阻害機序を介して作用し、又は

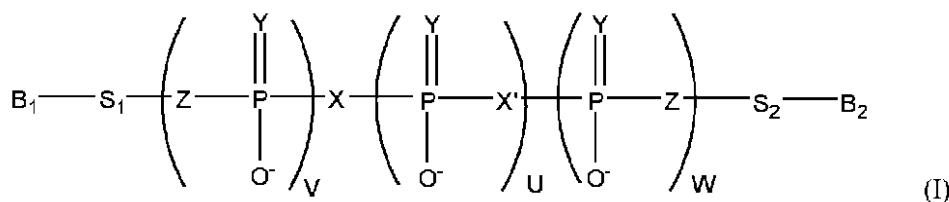
d) 該 P 2 X 3 受容体の部分アゴニスト又はスーパーアゴニストである、請求項 1 に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。

10

【請求項 3】

式 (I) の化合物：

【化 1】

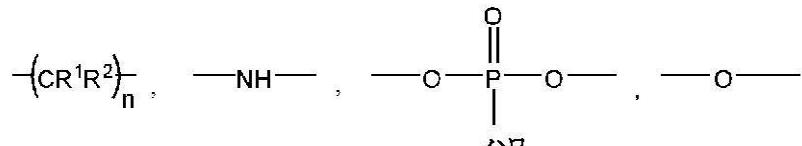


20

又は薬学的に許容されるその塩であり、

式中、X、X' 及び Z は、

【化 2】



30

(式中、R¹ 及び R² は、水素、ハロゲン、ヒドロキシリル、シアノ、又は C₁ ~ C₃ ハロアルキル、C₁ ~ C₃ アルキル、C₁ ~ C₄ アミノアルキル及び C₁ ~ C₄ ヒドロキシリアルキルから選択される非置換基から独立に選択され、n は、1、2、3、4、5 及び 6 から選択される) から独立に選択され、

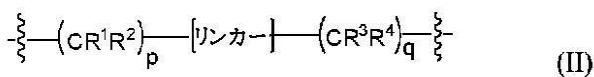
各 Y は、= S 及び = O から独立に選択され、

B₁ 及び B₂ は、縮合されていないか、又はさらなる 5 員 ~ 7 員の炭素 - 窒素ヘテロアリール基に縮合していてもよい、5 員 ~ 7 員の炭素 - 窒素ヘテロアリール基から独立に選択され、

S₁ 及び S₂ は、結合、C₁ ~ C₆ アルキレン、C₂ ~ C₆ アルケニレン、C₂ ~ C₆ アルキニレン及び式 (II) の部分

40

【化 3】



(式中、

R¹、R²、R³ 及び R⁴ は、独立に、水素、ハロゲン、ヒドロキシリル、シアノ；又は C₁ ~ C₃ ハロアルキル、C₁ ~ C₃ アルキル、C₁ ~ C₄ アミノアルキル及び C₁ ~ C₄ ヒドロキシリアルキルから選択される非置換基を表し、

50

p 及び q は、独立に、0、1、2 又は 3 を表し、好ましくは、0、1 又は 2 を表し、
【リンカー】は、

(i) - O - 、 - S - 、 - C = O - 又は - NH - ;

(i i) エーテル (- O -)、チオエーテル (- S -)、カルボニル (- C = O -) 又はアミノ (- NH -) 連結を任意選択で含有し、又はこれらで終端しており、水素、ヒドロキシル、ハロゲン、シアノ、- NR⁵ R⁶、又は C_{1~4} アルキル、C_{2~4} アルケニル、C_{1~4} アルコキシ、C_{2~4} アルケニルオキシ、C_{1~4} ハロアルキル、C_{2~4} ハロアルケニル、C_{1~4} アミノアルキル、C_{1~4} ヒドロキシアルキル、C_{1~4} アシル及び C_{1~4} アルキル - NR⁵ R⁶ 基から選択される非置換基から選択される 1 つ又は複数の基で任意選択で置換され、R⁵ 及び R⁶ は、同じ又は異なり、水素又は非置換 C_{1~2} アルキルを表す、C_{1~4} アルキレン、C_{2~4} アルケニレン又は C_{2~4} アルキニレン；又は

(i i i) 水素、ヒドロキシル、ハロゲン、シアノ、- NR⁵ R⁶、又は C_{1~4} アルキル、C_{2~4} アルケニル、C_{1~4} アルコキシ、C_{2~4} アルケニルオキシ、C_{1~4} ハロアルキル、C_{2~4} ハロアルケニル、C_{1~4} アミノアルキル、C_{1~4} ヒドロキシアルキル、C_{1~4} アシル及び C_{1~4} アルキル - NR⁵ R⁶ 基から選択される非置換基から選択される 1 つ又は複数の基で任意選択で置換され、R⁵ 及び R⁶ は、同じ又は異なり、水素又は非置換 C_{1~2} アルキルを表す、5~7 員のヘテロシクリル、カルボシクリル又はアリール基

を表す）

から独立に選択され、

V は、0、1、2、3、4 及び 5 から選択され、

U は、0、1、2、3、4 及び 5 から選択され、

W は、0、1、2、3、4 及び 5 から選択され、

V + U + W は、2~7 の整数である、請求項 1 又は請求項 2 に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。

【請求項 4】

B₁ 及び B₂ が、プリン及びピリミジン核酸塩基から独立に選択される、請求項 3 に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。

【請求項 5】

B₁ 及び B₂ が、アデニン、グアニン、チミン、シトシン、ウラシル、ヒポキサンチン、キサンチン、1 - メチルアデニン、7 - メチルグアニン、2 - N₁ N₂ - デミチルグアニン、5 - メチルシトシン及び 5, 6 - デヒドロウラシルから独立に選択される、請求項 4 に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。

【請求項 6】

B₁ 及び B₂ の少なくとも 1 つが、アデニンである、請求項 5 に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。

【請求項 7】

B₁ 及び B₂ が、両方ともアデニンであるか、或いは B₁ 及び B₂ の 1 つがアデニンであり、他方がグアニンである、請求項 6 に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。

【請求項 8】

S₁ 及び S₂ が、結合、C_{1~6} アルキレン、C_{2~6} アルケニレン、C_{2~6} アルキニレン及び式 (I I I) 又は (I V) の部分

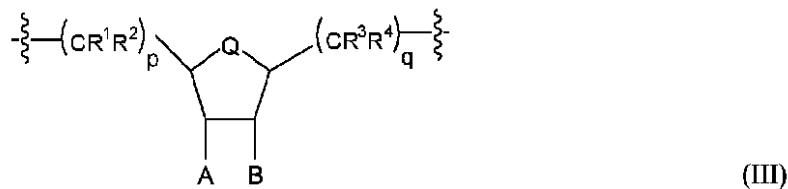
10

20

30

40

【化4】



(式中、

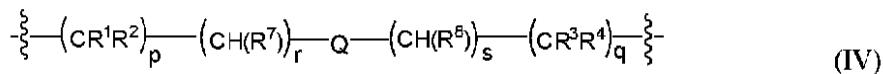
R¹、R²、R³及びR⁴は、独立に、水素、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ、又はC₁～₃ハロアルキル、C₁～₃アルキル、C₁～₄アミノアルキル及びC₁～₄ヒドロキシアルキルから選択される非置換基を表し、10

p及びqは、独立に、0又は1を表し、

Qは、-O-、-S-、-C=O-、-NH-又はCH₂を表し、

A及びBは、独立に、水素、ヒドロキシル、ハロゲン、又はC₁～₄アルコキシ、C₁～₄アミノアルキル、C₁～₄ヒドロキシアルキル、C₁～₄アシル及び-NR⁵R⁶基から選択される非置換基を表し、R⁵及びR⁶は、同じ又は異なり、水素又は非置換C₁～₂アルキルを表す)、

【化5】



(式中、

R¹、R²、R³及びR⁴は、独立に、水素、ハロゲン、シアノ、又はC₁～₃ハロアルキル、C₁～₃アルキル、C₁～₄アミノアルキル及びC₁～₄ヒドロキシアルキルから選択される非置換基を表し、20

Qは、-O-、-S-、-C=O-、-NH-又はCH₂を表し、

R⁷及びR⁸は、独立に、水素、ヒドロキシル、ハロゲン、シアノ、-NR⁵R⁶、又はC₁～₄アルキル、C₂～₄アルケニル、C₁～₄アルコキシ、C₂～₄アルケニルオキシ、C₁～₄ハロアルキル、C₂～₄ハロアルケニル、C₁～₄アミノアルキル、C₁～₄ヒドロキシアルキル、C₁～₄アシル及びC₁～₄アルキル-NR⁵R⁶基から選択される非置換基を表し、R⁵及びR⁶は、同じ又は異なり、水素又は非置換C₁～₂アルキルを表し、30

p、q、r及びsは、独立に、0又は1を表す)

から独立に選択される、請求項3から7までのいずれか一項に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。

【請求項9】

S₁及びS₂が、D-リボフラノース、2'-デオキシ-D-リボフラノース、3'-デオキシ-D-リボフラノース又はL-アラビノフラノースに対応する式(I II)の部分、或いはD-リボフラノース、2'-デオキシ-D-リボフラノース、3'-デオキシ-D-リボフラノース又はL-アラビノフラノースの開環形態に対応する式(I V)の部分から独立に選択される、請求項8に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。40

【請求項10】

S₁及びS₂が、同じである、請求項3から9までのいずれか一項に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。

【請求項11】

S₁及びS₂が、D-リボフラノース又は開環D-リボフラノースである、請求項10に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。

【請求項 1 2】

少なくとも 1 つの X 又は X' 部分が、 - O - ではない、請求項 3 から 11 までのいずれか一項に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。

【請求項 1 3】

X 及び X' が、 NH 及び

【化 6】

10

から独立に選択され、

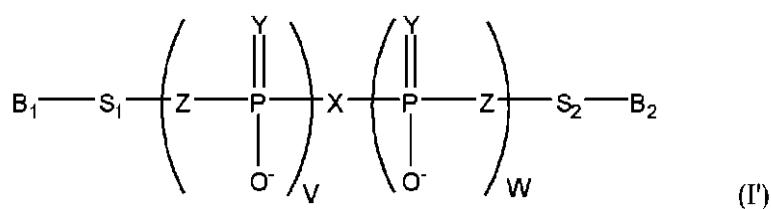
式中、好ましくは、 R¹ 及び R² は、両方とも H であり、 n は 1 又は 2 である、請求項 3 から 12 までのいずれか一項に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。

【請求項 1 4】

各 Y が = O であり、各 Z が - O - である、請求項 3 から 13 までのいずれか一項に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。

【請求項 1 5】

式 (I') の化合物であり、

【化 7】

20

式中、X は - O - ではなく、V + W が 2 ~ 7 の整数である、請求項 3 から 14 までのいずれか一項に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。

【請求項 1 6】

V + W が 4 又は 5 である、請求項 15 に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。

【請求項 1 7】

V が 2 である、請求項 16 に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。

【請求項 1 8】

W が 2 である、請求項 16 又は 17 に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。

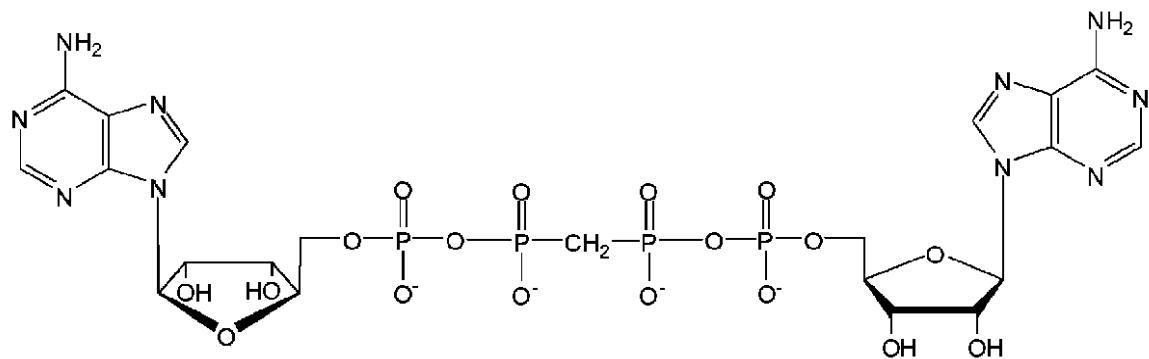
【請求項 1 9】

A p p C H₂ p p A、A p p N H p p A、A ジオール p p C H₂ p p A ジオール、A ジオール p p N H p p A ジオール、A ジオール p p N H p p A ジオール、A p p C H₂ p p G、A p p N H p p G、A ジオール p p C H₂ p p G ジオール及び A ジオール p p N H p p G ジオールからなる群から選択される A p₄ A 又は A p₄ G 類似体である、請求項 1 から 18 までのいずれか一項に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。

A p p C H₂ p p A :

40

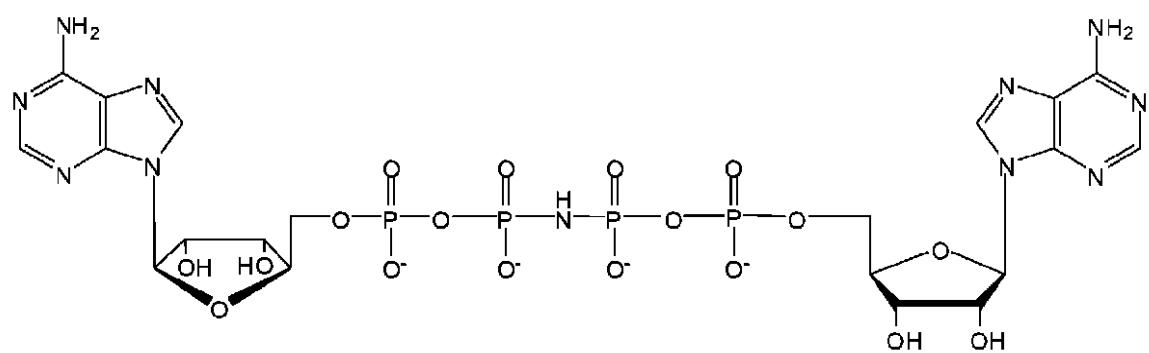
【化 8】



10

A p p N H p p A :

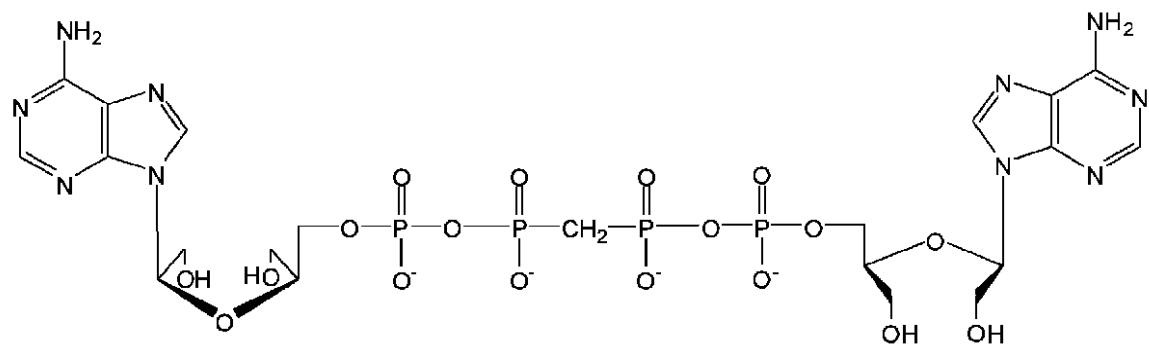
【化 9】



20

A ジオール p p C H₂ p p A ジオール :

【化 10】

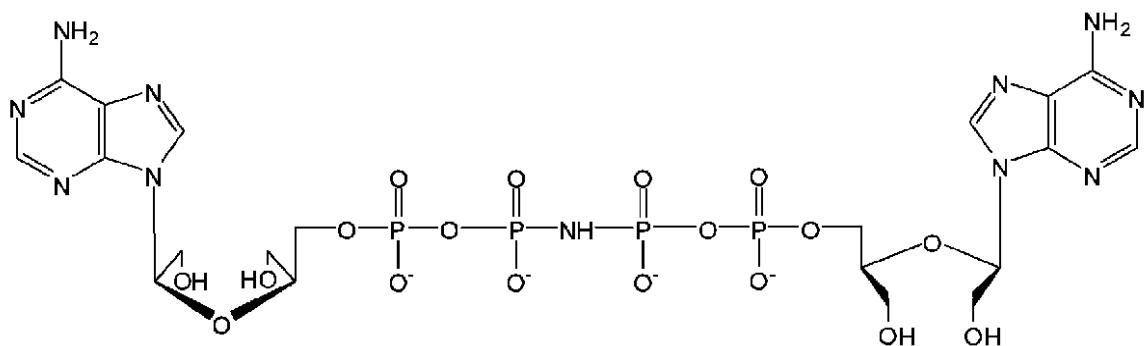


30

A ジオール p p N H p p A ジオール :

40

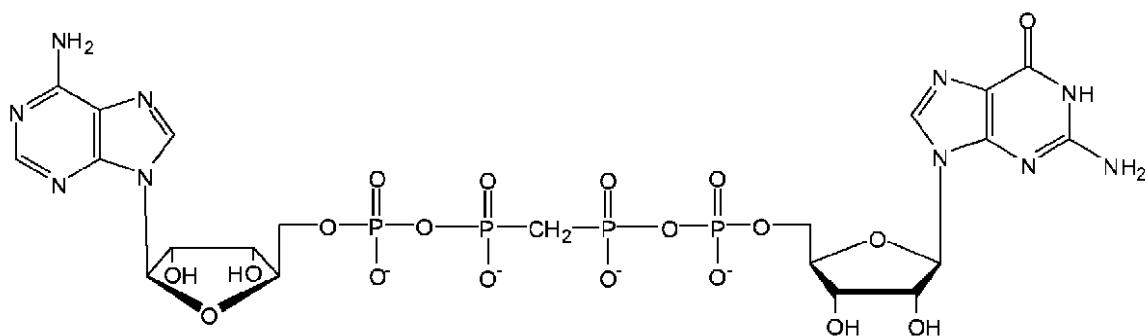
【化 1 1】



10

A p p C H₂ p p G :

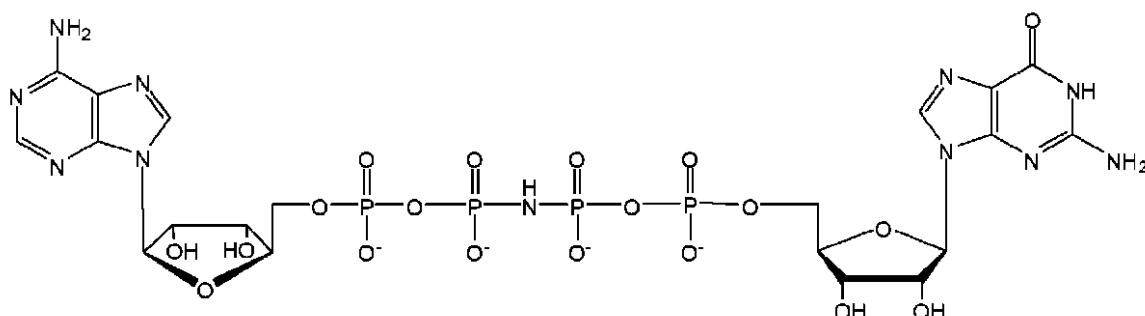
【化 1 2】



20

A p p N H p p G :

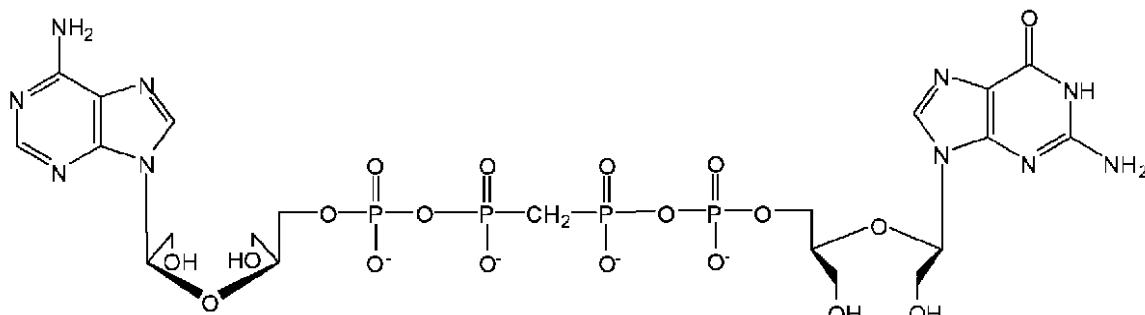
【化 1 3】



30

A ジオール p p C H₂ p p G ジオール :

【化 1 4】

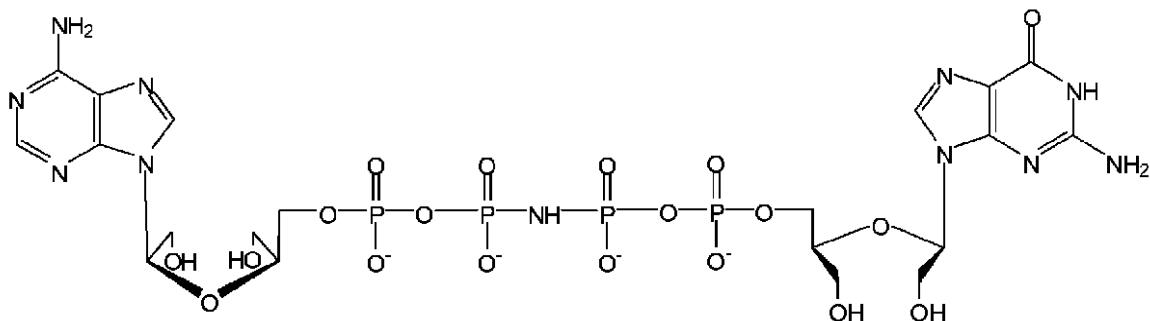


40

A ジオール p p N H p p G ジオール :

50

【化15】



10

【請求項20】

疼痛の治療における使用のための、請求項1から19までのいずれか一項に記載のジヌクレオシドポリリン酸類似体。

【請求項21】

ホモマーP2X3受容体の阻害又はダウンレギュレーションによる疼痛の治療における使用のための、請求項20に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。

【請求項22】

炎症、背痛、圧迫神経(trapped nerve)、関節痛、がん関連疼痛、歯痛、子宮内膜症、出産に関連する疼痛、手術後疼痛又は外傷の1つ又は複数と関連する疼痛の治療における使用のための、請求項20又は請求項21に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。 20

【請求項23】

前記疼痛が、中等度から慢性の疼痛である、請求項20から22までのいずれか一項に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。

【請求項24】

前記中等度から慢性の疼痛が、炎症、背痛、関節痛、がん関連疼痛、歯痛、子宮内膜症及び手術後疼痛からなる群から選択される症状の少なくとも1つと関連する中等度から慢性の侵害受容性疼痛である、請求項23に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。

【請求項25】

0.01~10 μg/kgの量で投与される、請求項20から24までのいずれか一項に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。 30

【請求項26】

前記疼痛が、急性疼痛又は亜急性疼痛である、請求項20から22までのいずれか一項に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。

【請求項27】

10~500 μg/kgの量で投与される、請求項26に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。

【請求項28】

別の医薬活性剤と組み合わせて投与される、請求項1から27までのいずれか一項に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。 40

【請求項29】

中等度から慢性の疼痛又は背痛の治療における使用のための、ジヌクレオシドポリリン酸類似体又は薬学的に許容されるその塩。

【請求項30】

請求項3から19までのいずれか一項に記載するジヌクレオシドポリリン酸類似体である、請求項29に記載の使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。

【請求項31】

有効量の請求項1から19まで、又は29のいずれか一項に記載のジヌクレオシドポリリン酸類似体又は薬学的に許容されるその塩を投与することを含む、疼痛伝達ATP-開

50

口型 P 2 X 3 受容体の阻害又はダウンレギュレーション方法。

【請求項 3 2】

有効量の請求項 1 から 1 9 まで、又は 2 9 のいずれか一項に記載のジヌクレオシドポリリン酸類似体又は薬学的に許容されるその塩を投与することを含む、中等度から慢性の疼痛を治療する方法。

【請求項 3 3】

疼痛伝達 A T P - 開口型 P 2 X 3 受容体の阻害のための医薬の製造における、請求項 1 から 1 9 まで、又は 2 9 のいずれか一項に記載のジヌクレオシドポリリン酸類似体又は薬学的に許容されるその塩の使用。

【請求項 3 4】

中等度から慢性の疼痛の処置のための医薬の製造における、請求項 1 から 1 9 まで、又は 2 9 のいずれか一項に記載のジヌクレオシドポリリン酸類似体又は薬学的に許容されるその塩の使用。

【請求項 3 5】

a) (P 2 X ファミリーのうち) P 2 X 3 受容体に対してのみ作用し、又はこれに対してのみ選択的であり、

b) P 2 X 4 、 P 2 X 2 及び / 又は P 2 X 7 受容体 (単数又は複数) のいずれに対しても又はいずれかに対して作用せず、

c) 高親和性脱感作 (H A D) 阻害機序を介して作用し、又は

d) 該 P 2 X 3 受容体の部分アゴニスト又はスーパーアゴニストである、ジヌクレオシドホスフェート (p h o s p h a s e) 類似体など化合物。

【請求項 3 6】

式 N P _n N (式中、 N は、ヌクレオシド部分を表し、 P は、リン酸基を表し、 n は、 2 ~ 7 である) を有する、請求項 3 5 に記載の化合物。

【請求項 3 7】

0 . 0 1 ~ 3 5 0 0 μ g の量のジヌクレオシドポリリン酸類似体又は薬学的に許容されるその塩、及び薬学的に許容される添加剤を含む組成物。

【請求項 3 8】

前記ジヌクレオシドポリリン酸類似体の量が、 0 . 5 ~ 5 0 0 μ g である、請求項 3 7 に記載の組成物。

【請求項 3 9】

前記ジヌクレオシドポリリン酸類似体が、請求項 3 から 1 9 までのいずれか一項に記載されている類似体である、請求項 3 7 又は請求項 3 8 に記載の組成物。

【請求項 4 0】

皮下注射用に製剤化される、請求項 3 7 から 3 9 までのいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 4 1】

実施例のいずれか 1 つを参照して実質的に記載される使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、 P 2 X 3 受容体の強力で選択性的な阻害剤又はダウンレギュレーターとしてのジヌクレオシドポリリン酸の (類似体) 及び他の化合物の使用、特に、背痛などの (急性から慢性の) 侵害受容性疼痛 (nociceptive pain) の治療 (又は予防若しくは軽減) のためのこれらの使用に関する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

世界で 2 億 7 千万を超える人々が慢性疼痛を患っているが、これは未だに主にオピオイド及び非ステロイド性抗炎症薬 (N S A I D) によって治療されている。これらの領域の両方で小さな改善はあったものの、これらの人々は依然として相当な副作用及び依存性の

10

20

30

40

50

問題に苦しんでいる。

【0003】

P₂X₃受容体は炎症性疼痛及びがんが関連する疼痛を含む慢性疼痛の様々な状態に関与していることが示唆されている。従前の研究によって、P₂X₃アンタゴニスト又は遺伝子削除が、炎症性疼痛及び神経因性疼痛モデルに対して鎮痛効果を有し得ることが示されている。P₂X₃受容体の活性は、いくつかの非ヌクレオチドアンタゴニストによって阻害し得る。細菌性DHF阻害剤であるAF-353は、P₂X₃の強力で選択性の非競合的アンタゴニストである(Geversら、2010)。これは、-meATPの競合的アンタゴニストとなることなく、核酸とP₂X₃との相互作用をアロステリックに調節することが示されている。A-317491は、P₂X₃及びP₂X_{2/3}の競合的アンタゴニストであり、マイクロモルレベルの濃度内でP₂X₃受容体に結合する(Jarvisら、2002)。A-317491の全身投与は、炎症性疼痛及び神経因性疼痛モデルにおいて侵害受容(nociception)を効果的に低減させた(Jarvisら、2002; McGaraughtyら、2003)。A-317491はまた、ホルマリン及び酢酸で誘発する腹部圧迫試験(abdominal constriction tests)における持続性疼痛を効果的にブロックしたが、一般に急性侵害性刺激のモデルにおいて不活性であった。A-317491は、末梢神経系におけるよりもくも膜下腔内(intrathecally)に注射したときにより効率的であり(Jarvisら、2002)、これは中枢神経系での作用を示す。P₂X₃受容体の非競合的アンタゴニストであるRO-3は、動物モデルにおいて抗侵害受容を誘発することが見出されている(Geversら、2006)。クモ毒ペプチド性毒素であるプロトキシン-1は、P₂X₃に結合し、P₂X₃受容体に対して選択性の阻害作用を発揮するが(Grishinら、2010)、その結合機序はよく知られていない。

【0004】

しかし、妥当なバイオアベイラビリティーを有する強力なP₂X₃-選択性リガンドへのリサーチは未だに不足している。現在まで、慢性の侵害受容性疼痛又は神経因性疼痛の軽減について臨床において成功裏に評価された選択性P₂X₃受容体アンタゴニストはない。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

本発明は、現存するP₂X₃リガンドに対する有用で強力な代替手段を提示し、従来技術の問題(のいくつか)を軽減することができる。

【課題を解決するための手段】

【0006】

一態様において、本発明は、疼痛伝達ATP-開口型P₂X₃受容体(pain transducing ATP-gated P2X3 receptor)の(例えば、選択性)阻害(又はダウンレギュレーション)に使用するための、ジヌクレオシドポリリン酸(類似体)、又は薬学的に許容されるその塩を提供する。特に、ジヌクレオシドポリリン酸類似体は、疼痛、特に、中等度(moderate)から慢性の疼痛、又は背痛の治療に使用することができる。従って、本発明はまた、(中等度から慢性の)疼痛の治療に使用するための、ジヌクレオシドポリリン酸(類似体)、又は薬学的に許容されるその塩を提供する。

【0007】

別の態様において、本発明は、有効量のジヌクレオシドポリリン酸(類似体)又は薬学的に許容されるその塩を投与することを含む、疼痛伝達ATP-開口型P₂X₃受容体の阻害(又はダウンレギュレーション)方法を提供する。

【0008】

本発明はさらに、疼痛伝達ATP-開口型P₂X₃受容体の阻害(又はダウンレギュレーション)のための医薬の製造におけるジヌクレオシドポリリン酸類似体又は薬学的に許容されるその塩の使用を提供する。

10

20

30

40

50

【0009】

本発明はまた、選択した受容体に対して、且つ／又は新規な機序（例えば、HAD）を介して作用することができる化合物、例えば、ジヌクレオシドリン酸に関する。

【0010】

本発明において使用するジヌクレオシドポリリン酸類似体は特に強力であり、低濃度で投与したときに、疼痛（特に、中等度から慢性の疼痛）の阻害において有効である。

【図面の簡単な説明】

【0011】

【図1】ラットホモマーP2X3受容体におけるApNHPpAの部分アゴニスト活性。¹⁰ A. ラットP2X3受容体を発現しているHEK細胞に2秒間接触させた異なる濃度のApNHPpA ($1 \mu M \sim 100 \mu M$)によって誘発される反応の例。B. 同じ細胞におけるP2X3受容体の完全アゴニストである α -meATP ($10 \mu M$ 、左)及び飽和 ($1 mM$ 、右)濃度のApNHPpAによって誘発された電流の比較。後者の有意により小さな振幅に留意されたい。C. $10 \mu M$ での α -meATP及び異なる濃度 ($10 \mu M \sim 1 mM$)でのApNHPpAによって誘発される電流の振幅の平均 \pm SEMを示す棒グラフ、 $n = 7$ 。ここ及び下記において、* $p < 0.05$ 、** $p < 0.001$ 、*** $p < 0.0001$ 。

【図2】ApNHPpAによるラットP2X3受容体の活性化及び阻害。上部：実験プロトコル。 $10 \mu M$ の α -meATPの試験パルスを、2分毎に送達した。2回の対照パルスの後、異なる濃度でのApNHPpAを6分間加えた。A、B. 対照、並びに2分後の $10 nM$ (A)及び $3 \mu M$ (B)のApNHPpAの添加におけるP2X3介在性電流のトレースの例（点線のボックスによって輪郭を描いた実験プロトコルの部分に対応する）。C. 異なる($1 nM \sim 3 \mu M$)濃度におけるApNHPpAによる電流阻害の時間経過($n = 4 \sim 6$)。電流振幅は、対照に対して正規化している。D. ApNHPpAによるP2X3介在性電流の活性化及び阻害についての用量反応曲線。ApNHPpAについての阻害曲線($I_{C_{50}} = 0.2 \pm 0.04 \mu M$ 、 $n = 3 \sim 6$)は、活性化についての用量反応曲線($E_{C_{50}} = 41.6 \pm 1.3 \mu M$; $n_H = 1.58 \pm 0.05$; $n = 8$)と重複しないことを留意されたい。²⁰

【図3】ホモマーP2X3受容体に対するApCH₂ppAの阻害及びアゴニスト効果。³⁰ A. 対照及び $1 \mu M$ のApCH₂ppAの添加の後のP2X3介在性電流のトレースの例。図2において示したのと同じ実験プロトコル。 $10 \mu M$ α -meATPの試験パルスは、2分毎に加えた（低速度）。B. Aにおけるのと同じであるが、試験 α -meATPパルスは、30秒毎に加えた（高速度）。C. 低速度及び高速度の活性化でのApCH₂ppAの阻害作用を示す棒グラフ。D. ApCH₂ppAによるP2X3介在性電流の活性化及び阻害についての用量反応曲線。 $I_{C_{50}} = 0.55 \pm 0.2 \mu M$ 、($n = 4 \sim 7$)、 $E_{C_{50}} = 9.30 \pm 1.7 \mu M$; $n_H = 2.27 \pm 0.56$; ($n = 5$)。

【図4】ホモマーP2X2、P2X4及びP2X7受容体に対するApNHPpAの非阻害効果。⁴⁰ A. $1 \mu M$ のApNHPpAの存在下及び非存在下でのラットホモマーP2X2受容体を発現しているHEK細胞に2秒間2分毎に加えた $10 \mu M$ のATPによって誘発された反応のトレースの例。B. $1 \mu M$ のApNHPpAの存在下（右）及び非存在下（左）でのP2X2受容体の完全アゴニスト、ATPによって誘発される電流の比較。C. $1 \mu M$ のApNHPpAの存在下及び非存在下での電流の時間経過。D. $1 \mu M$ のApNHPpAの存在下（右）及び非存在下（左）でのラットホモマーP2X4及びP2X7受容体の完全アゴニスト、ATPによって誘発される電流の比較。実験は、図2におけるように行った。

【図5】ラット感覚ニューロンにおけるApNHPpAによるP2X3サブユニット含有受容体の選択的阻害。⁵⁰ A. TG、DRG又はNGニューロンにおける、 α -meATPによって生じた速い、混合及び遅い電流タイプを伴う細胞の相対的割合。速い、混合及び遅い電流の典型的な例を、それぞれ、パネルB～Dにおいて示す。B～D. それぞれ

、三叉神経節（T G）、後根神経節（D R G）及び下神経節（N G）ニューロンにおいて、 $10 \mu M$ の $\text{A} \text{p} \text{p} \text{N} \text{H} \text{p} \text{p} \text{A}$ （ $1 \mu M$ 、6分の添加）の阻害作用を示す例。速い電流の優先的阻害に留意されたい。E~G.T G (E)、D R G (F)又はN G (G)ニューロンにおける異なる神経節における速い（ピーク）及び遅い（残り、 $-m e A T P$ の添加の終わり）電流に対する $\text{A} \text{p} \text{p} \text{N} \text{H} \text{p} \text{p} \text{A}$ の阻害作用を示す棒グラフ。

【図6】足底内（右後足）へのホルマリン注射によって誘発された疼痛反応に対する皮下 $\text{A} \text{p}_4 \text{A}$ 類似体の効果。ラットに、ホルマリン溶液単独（0.5%、 $50 \mu L$ 、対照）を皮下注射するか、又はホルマリン溶液及び $\text{A} \text{p} \text{p} \text{C} \text{H}_2 \text{p} \text{p} \text{A}$ （ $1 \mu M$ ~ $100 \mu M$ 、 $100 \mu L$ ）又は $\text{A} \text{p} \text{p} \text{N} \text{H} \text{p} \text{p} \text{A}$ （ $0.1 \mu M$ ~ $100 \mu M$ 、 $100 \mu L$ ）を有する溶液を一緒に皮下注射した。同齢の対照動物に、生理食塩水を注射した。A. 注射された足の自発的痙攣の数に対する皮下 $\text{A} \text{p} \text{p} \text{C} \text{H}_2 \text{p} \text{p} \text{A}$ （a）及び $\text{A} \text{p} \text{p} \text{N} \text{H} \text{p} \text{p} \text{A}$ （b）の効果の時間経過。B. 自発的痙攣の整数に対する $\text{A} \text{p} \text{p} \text{C} \text{H}_2 \text{p} \text{p} \text{A}$ （a、b）及び $\text{A} \text{p} \text{p} \text{N} \text{H} \text{p} \text{p} \text{A}$ （c、d）の効果の棒グラフ。ホルマリン反応の急性相（0~6分）及び強直相（7~45分）の間、測定を行った。C. 強直相及び急性相の間の $\text{A} \text{p} \text{p} \text{C} \text{H}_2 \text{p} \text{p} \text{A}$ （a）及び $\text{A} \text{p} \text{p} \text{N} \text{H} \text{p} \text{p} \text{A}$ （b）についての用量反応曲線。

【図7】 $100 \mu M$ （ $100 \mu L$ ）の $\text{A} \text{p} \text{p} \text{C} \text{H}_2 \text{p} \text{p} \text{A}$ 及び $\text{A} \text{p} \text{p} \text{N} \text{H} \text{p} \text{p} \text{A}$ の対照注射。侵害受容行動の欠如。A. 注射された足の自発的痙攣の数に対する皮下 $\text{A} \text{p} \text{p} \text{C} \text{H}_2 \text{p} \text{p} \text{A}$ 及び $\text{A} \text{p} \text{p} \text{N} \text{H} \text{p} \text{p} \text{A}$ の効果の時間経過。B. 自発的痙攣の整数に対する $\text{A} \text{p} \text{p} \text{C} \text{H}_2 \text{p} \text{p} \text{A}$ 、 $\text{A} \text{p} \text{p} \text{N} \text{H} \text{p} \text{p} \text{A}$ 及び生理食塩水の効果の棒グラフ。

【図8】皮下 $\text{A} \text{p}_4 \text{A}$ 類似体はフロイント完全アジュvant（C F A）によって誘発される温熱性痛覚過敏を低減させた。A. 足引っ込み潜時（PWL）に対する $1 \mu M$ 及び $20 \mu M$ （ $100 \mu L$ ）の $\text{A} \text{p} \text{p} \text{C} \text{H}_2 \text{p} \text{p} \text{A}$ 及び $\text{A} \text{p} \text{p} \text{N} \text{H} \text{p} \text{p} \text{A}$ の効果の時間経過。B. PWL数（integral PWL）に対する $\text{A} \text{p} \text{p} \text{C} \text{H}_2 \text{p} \text{p} \text{A}$ 及び $\text{A} \text{p} \text{p} \text{N} \text{H} \text{p} \text{p} \text{A}$ の効果の棒グラフ。

【図9】 $\text{A} \text{p} \text{p} \text{C} \text{H}_2 \text{p} \text{p} \text{A}$ の皮下投与（ $50 \mu M$ 、 $100 \mu L$ ）は部分的坐骨神経結紮（P S N L）を有するラットにおける温熱性痛覚過敏を低減させた。PWLに対する $50 \mu M$ （ $100 \mu L$ ）の $\text{A} \text{p} \text{p} \text{C} \text{H}_2 \text{p} \text{p} \text{A}$ の効果の時間経過。

【図10】 $\text{A} \text{p} \text{p} \text{C} \text{H}_2 \text{p} \text{p} \text{A}$ のくも膜下腔内投与（ $20 \mu M$ 、 $100 \mu L$ ）は、足底内注射と比較して、より顯著ではない無痛を誘発した。A. フロイント完全アジュvantが誘発する温熱性痛覚過敏（ハーグリーブス足底試験）に対するi.t. $\text{A} \text{p} \text{p} \text{C} \text{H}_2 \text{p} \text{p} \text{A}$ の効果の時間経過。B. ラットPWLに対するi.t. $\text{A} \text{p} \text{p} \text{C} \text{H}_2 \text{p} \text{p} \text{A}$ の効果の棒グラフ。

【発明を実施するための形態】

【0012】

本発明は、ポリリン酸架橋によって連結している2つのヌクレオシド部分を含む化合物のファミリーであるジヌクレオシドポリリン酸を使用する。これらは、 $N p_n N$ によって表すことができ、式中、Nは、ヌクレオシド部分を表し、pは、リン酸基を表し、nは、リン酸基の数（例えば、2~7）である。ジヌクレオシドポリリン酸の類似体は、ジヌクレオシドポリリン酸の構造に基づいた構造を有する（典型的には合成された）化合物であり、構造の1つ又は複数の部分が変更されている。例えば、核酸塩基、糖及び/又はリン酸の骨格は、修飾されているか、或いは別の適切な部分で部分的又は完全に置き換える。

【0013】

例えば、1つ又は複数のポリリン酸鎖オキソ架橋は、化合物のインビボでの生物学的半減期を増加するために、異なる架橋で置き換えられてもよい。このような類似体は、安定性及び/又は生体適合性を実現するように設計することができる。これを達成するために、類似体は、インビボでの生体系による分解に耐性であるべきである。例えば、類似体は、増加した加水分解安定性、すなわち、特異的酵素切断（例えば、1つ若しくは複数のタイプのヌクレオチダーゼによる）及び/又は非特異的加水分解による分子の分解に対する

10

20

30

40

50

耐性を有し得る。

【0014】

好ましくは、化合物は、ジアデノシンポリリン酸（例えば、A p_n Aタイプのもの；nは、2～7である）であり、例えば、各リボース環の5'位に結合している2つ以上のホスファート残基の鎖によって架橋している2つのアデノシン部分からなる天然のプリン作用性リガンドである。特に、P¹, P⁴-ジアデノシン四リン酸（A p₄ A）及びP¹, P⁵-ジアデノシン五リン酸（A p₅ A）が意図される。これらは、クロム親和性細胞の分泌顆粒及びラット脳のシナプス終末において内因的に高濃度で存在する。脱分極すると、A p_n AはCa²⁺依存性の様式で放出され、神経伝達物質としてこれらの潜在的な役割が提案されてきた。しかし、何年の間よく知られていたにも拘らず、A p_n Aの純粋な機能は、特異的酵素的切断及び非特異的加水分解性分解の両方の原因で、定義することが困難であった。A p_n A類似体は、特異的酵素的分解及び非特異的加水分解性分解の両方に対して天然のジアデノシンポリリン酸より安定である。

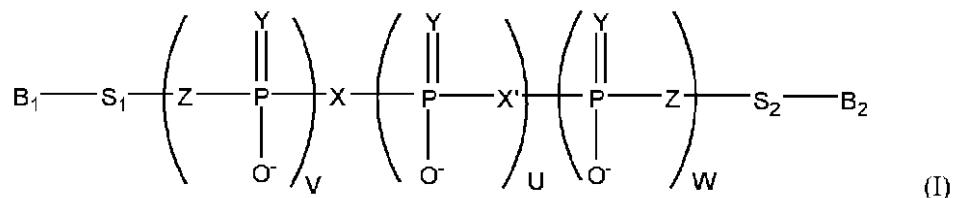
10

【0015】

好ましい化合物

好ましくは、本発明において用いられるジヌクレオシドポリリン酸（N P_n Nタイプの）は、式（I）の化合物：

【化1】

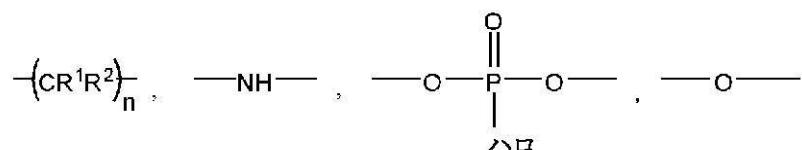


20

又は薬学的に許容されるその塩であり、

式中、X、X'及びZは、

【化2】



30

（式中、R¹及びR²は、水素、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ；又はC₁～₃ハロアルキル、C₁～₃アルキル、C₁～₄アミノアルキル及びC₁～₄ヒドロキシアルキルから選択される非置換基から独立に選択され、nは、1、2、3、4、5及び6から選択される）から独立に選択され、

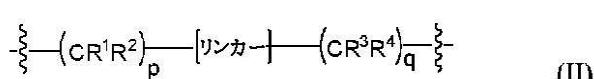
各Yは、=S及び=Oから独立に選択され、

B₁及びB₂は、5員～7員の炭素-窒素ヘテロアリール基から独立に選択され、これらは、縮合されていないともよいが、さらなる5員～7員の炭素-窒素ヘテロアリール基に縮合していくてもよく、

S₁及びS₂は、結合、C₁～₆アルキレン、C₂～₆アルケニレン、C₂～₆アルキニレン及び式（II）の部分

40

【化3】



50

（式中、

R^1 、 R^2 、 R^3 及び R^4 は、独立に、水素、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ；又は $C_{1\sim 3}$ ハロアルキル、 $C_{1\sim 3}$ アルキル、 $C_{1\sim 4}$ アミノアルキル及び $C_{1\sim 4}$ ヒドロキシアルキルから選択される非置換基を表し、

p 及び q は、独立に、0、1、2又は3、好ましくは0、1又は2を表し、

[リンカー]は、

(i) -O-、-S-、-C=O-又は-NH-；

(ii) エーテル(-O-)、チオエーテル(-S-)、カルボニル(-C=O-)又はアミノ(-NH-)連結を任意選択で含有し、又はこれらで終端しており、水素、ヒドロキシル、ハロゲン、シアノ、-NR⁵R⁶；又は $C_{1\sim 4}$ アルキル、 $C_{2\sim 4}$ アルケニル、 $C_{1\sim 4}$ アルコキシ、 $C_{2\sim 4}$ アルケニルオキシ、 $C_{1\sim 4}$ ハロアルキル、 $C_{2\sim 4}$ ハロアルケニル、 $C_{1\sim 4}$ アミノアルキル、 $C_{1\sim 4}$ ヒドロキシアルキル、 $C_{1\sim 4}$ アシル及び $C_{1\sim 4}$ アルキル-NR⁵R⁶基から選択される非置換基から選択される1つ又は複数の基で任意選択で置換され、R⁵及びR⁶は、同じ又は異なり、水素又は非置換 $C_{1\sim 2}$ アルキルを表す、 $C_{1\sim 4}$ アルキレン、 $C_{2\sim 4}$ アルケニレン又は $C_{2\sim 4}$ アルキニレン；又は

(iii) 水素、ヒドロキシル、ハロゲン、シアノ、-NR⁵R⁶；又は $C_{1\sim 4}$ アルキル、 $C_{2\sim 4}$ アルケニル、 $C_{1\sim 4}$ アルコキシ、 $C_{2\sim 4}$ アルケニルオキシ、 $C_{1\sim 4}$ ハロアルキル、 $C_{2\sim 4}$ ハロアルケニル、 $C_{1\sim 4}$ アミノアルキル、 $C_{1\sim 4}$ ヒドロキシアルキル、 $C_{1\sim 4}$ アシル及び $C_{1\sim 4}$ アルキル-NR⁵R⁶基から選択される非置換基から選択される1つ又は複数の基で任意選択で置換され、R⁵及びR⁶は、同じ又は異なり、水素又は非置換 $C_{1\sim 2}$ アルキルを表す、5~7員のヘテロシクリル、カルボシクリル又はアリール基を表す）

から独立に選択され、

Vは、0、1、2、3、4及び5から選択され、

Uは、0、1、2、3、4及び5から選択され、

Wは、0、1、2、3、4及び5から選択され、

V+U+Wは、2~7の整数である。

【0016】

本明細書において使用する場合、 $C_{1\sim 4}$ アルキル基又は部分は、1~4個の炭素原子を含有する直鎖状又は分岐状アルキル基又は部分である。 $C_{1\sim 4}$ アルキル基としては、例えばメチル、エチル、n-プロピル、i-プロピル、n-ブチル、i-ブチル及びt-ブチルが挙げられる。

【0017】

本明細書において使用する場合、 $C_{2\sim 4}$ アルケニル基又は部分は、適用可能な場合、少なくとも1つのE又はZ立体配置のどちらかの二重結合を有し、2~4個の炭素原子を含有する、直鎖状又は分岐状アルケニル基又は部分であり、例えば、-CH=CH₂又は-CH₂-CH=CH₂、-CH₂-CH₂-CH=CH₂、-CH₂-CH=CH-CH₃、-CH=CH(C₂H₅)-CH₃及び-CH₂-C(CH₃)₂=CH₂である。

【0018】

本明細書において使用する場合、 $C_{1\sim 6}$ アルキレン基又は部分は、直鎖状又は分岐状アルキレン基又は部分であり、例えば、 $C_{1\sim 4}$ アルキレン基又は部分である。例えば、メチレン、n-エチレン、n-プロピレン及び-C(CH₃)₂-基及び部分が挙げられる。

【0019】

本明細書において使用する場合、 $C_{2\sim 6}$ アルケニレン基又は部分は、直鎖状又は分岐状アルケニレン基又は部分であり、例えば、 $C_{2\sim 4}$ アルケニレン基又は部分である。例えば、-CH=CH-、-CH=CH-CH₂-、-CH₂-CH=CH-及び-CH=CH-CH=CH-が挙げられる。

【0020】

本明細書において使用する場合、 $C_{2\sim 6}$ アルキニレン基又は部分は、直鎖状又は分岐

10

20

30

40

50

状アルキニレン基又は部分であり、例えば、C₂～₄アルキニレン基又は部分である。例えば、-C-C-、-C-C-CH₂-及び-CH₂-C-C-が挙げられる。

【0021】

本明細書において使用する場合、ハロゲン原子は、塩素、フッ素、臭素又はヨウ素である。

【0022】

本明細書において使用する場合、C₁～₄アルコキシ基又はC₂～₄アルケニルオキシ基は典型的には、それぞれ、酸素原子に結合している、前記C₁～₄アルキル基又は前記C₂～₄アルケニル基である。

【0023】

ハロアルキル又はハロアルケニル基は典型的には、それぞれ、1個又は複数個の前記ハロゲン原子で置換されている、前記アルキル又はアルケニル基である。典型的には、これは1個、2個又は3個の前記ハロゲン原子で置換されている。好ましいハロアルキル基としては、-CX₃(Xは、前記ハロゲン原子、例えば、塩素又はフッ素である)などのパー・ハロアルキル基が挙げられる。

【0024】

本明細書において使用する場合、C₁～₄又はC₁～₃ハロアルキル基は、好ましくはC₁～₃フルオロアルキル又はC₁～₃クロロアルキル基であり、より好ましくはC₁～₃フルオロアルキル基である。

【0025】

本明細書において使用する場合、C₁～₄アミノアルキル基は、1つ又は複数のアミノ基で置換されているC₁～₄アルキル基である。典型的には、1つ、2つ又は3つのアミノ基で置換されている。好ましくは、単一のアミノ基で置換されている。

【0026】

本明細書において使用する場合、C₁～₄ヒドロキシアルキル基は、1つ又は複数のヒドロキシ基で置換されているC₁～₄アルキル基である。典型的には、1つ、2つ又は3つのヒドロキシ基で置換されている。好ましくは、単一のヒドロキシ基で置換されている。

【0027】

本明細書において使用する場合、C₁～₄アシリル基は、基-C(=O)Rであり、Rは、前記C₁～₄アルキル基である。

【0028】

本明細書において使用する場合、5～7員のヘテロシクリル基は、ヘテロアリール基を含み、その非芳香族の意味においては、5個、6個又は7個の環原子を有し、S、N及びOから選択される1個以上、例えば、1個又は2個のヘテロ原子、好ましくはOを含有する飽和又は不飽和の非芳香族部分に関する。このような部分の例としては、テトラヒドロフラニル及びテトラヒドロピラニルが挙げられる。複素環式環としては、例えば、フラノース又はピラノース環がある。

【0029】

本明細書において使用する場合、5員～7員の炭素-窒素ヘテロアリール基は、少なくとも1個の窒素原子、例えば、1個、2個、3個又は4個の窒素原子を含有する、单環式5員～7員の芳香族環、例えば、5員又は6員環である。5員～7員の炭素-窒素ヘテロアリール基は、別の5員～7員の炭素-窒素ヘテロアリール基に縮合していくてもよい。

【0030】

本明細書において使用する場合、5～7員のカルボシクリル基は、5～7個の炭素原子を有する非芳香族で飽和又は不飽和の炭化水素環である。好ましくは、これは5～7個の炭素原子を有する飽和又は一不飽和の炭化水素環（すなわち、シクロアルキル部分又はシクロアルケニル部分）である。例えば、シクロペンチル、シクロヘキシリル、シクロペンテニル及びシクロヘキセニルが挙げられる。

【0031】

10

20

30

40

50

本明細書において使用する場合、5～7員のアリール基は、5～7個の炭素原子を有する単環式5員～7員の芳香族炭化水素環、例えば、フェニルである。

【0032】

一態様において、X及びX'は、独立に、

【化4】



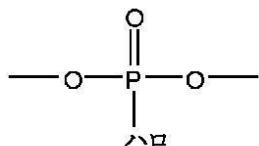
である。

【0033】

10

一態様において、X及びX'は、独立に、

【化5】



である。

【0034】

20

一態様において、X及びX'は、独立に、

【化6】



であり、R¹及びR²の少なくとも1つは、H、Cl、Br又はFである。

【0035】

好ましくは、両方のR¹及びR²は、Hである。

【0036】

30

好ましくは、nは、1、2又は3であり、好ましくは1又は2である。

【0037】

好ましくは、X及びX'の少なくとも1つは-O-ではない。すなわち、X及びX'の全てが-O-とはならない。

【0038】

好ましくは、X及びX'は、NH及び

【化7】



40

から独立に選択され、R¹及びR²は両方ともHであり、nは1又は2である。

【0039】

一態様において、少なくとも1つのYは=Sである。

【0040】

一態様において、各Y基は=Sである。

【0041】

一態様において、少なくとも1つのYは=Oである。

【0042】

好ましくは、各Y基は=Oである。

50

【0043】

一態様において、少なくとも1つのZは、

【化8】

 $\text{-(CR}^1\text{R}^2\text{)}_n$

である。

【0044】

一態様において、各Zは、

10

【化9】

 $\text{-(CR}^1\text{R}^2\text{)}_n$

であり、R¹及びR²の少なくとも1つは、H、C1、Br又はFである。

【0045】

好ましくは、R¹及びR²の両方がHである。従って、一態様において、Zは、

【化10】

20

 $\text{-(CR}^1\text{R}^2\text{)}_n$

であり、R¹及びR²は、両方ともHである。

【0046】

好ましくは、nは1、2又は3であり、好ましくは1又は2である。

【0047】

一態様において、少なくとも1つのZは-NH-である。

【0048】

一態様において、各Zは-NH-である。

30

【0049】

一態様において、少なくとも1つのZは-O-である。

【0050】

好ましくは、各Zは-O-である。

【0051】

B₁及びB₂は好ましくは、プリン及びピリミジン核酸塩基、好ましくは、アデニン、グアニン、チミン、シトシン、ウラシル、ヒポキサンチン、キサンチン、1-メチルアデニン、7-メチルグアニン、2-N,N-ジメチルグアニン、5-メチルシトシン又は5,6-ジヒドロウラシルから独立に選択される。ウラシルは、N(すなわち、ウリジン構造)又はC(すなわち、プソイドウリジン構造)を介してS₁又はS₂に結合し得る。

40

【0052】

好ましくは、B₁及びB₂は、アデニン、グアニン、及びウラシルから独立に選択される。

【0053】

好ましくは、B₁及びB₂の少なくとも1つはアデニンである。

【0054】

従って、例えば、B₁及びB₂の少なくとも1つはアデニンであり、B₁及びB₂の他方はグアニンであってもよい、或いはB₁及びB₂の少なくとも1つはアデニンであり、B₁及びB₂の他方はウラシルであってもよい。

【0055】

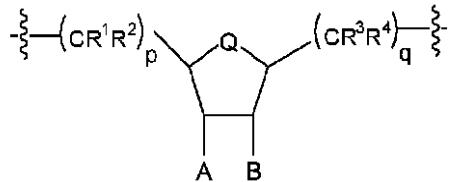
50

好ましくは、B₁ 及び B₂ は、両方ともアデニンであるか、或いは B₁ 及び B₂ の 1 つはアデニンであり、他方はグアニンである。

【0056】

S₁ 及び S₂ は好ましくは、結合、C₁ ~ 6 アルキレン、C₂ ~ 6 アルケニレン、C₂ ~ 6 アルキニレン及び式(III)又は(IV)の部分

【化11】



(III)

10

(式中、

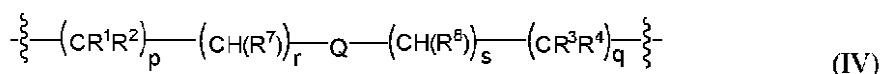
R¹、R²、R³ 及び R⁴ は、独立に、水素、ハロゲン、ヒドロキシル、シアノ；又は C₁ ~ 3 ハロアルキル、C₁ ~ 3 アルキル、C₁ ~ 4 アミノアルキル及び C₁ ~ 4 ヒドロキシアルキルから選択される非置換基を表し、

p 及び q は、独立に、0 又は 1 を表し、

Q は、-O-、-S-、-C=O-、-NH- 又は CH₂ を表し、

A 及び B は、独立に、水素、ヒドロキシル、ハロゲン；又は C₁ ~ 4 アルコキシ、C₁ ~ 4 アミノアルキル、C₁ ~ 4 ヒドロキシアルキル、C₁ ~ 4 アシリル及び -NR⁵R⁶ 基から選択される非置換基を表し、R⁵ 及び R⁶ は、同じ又は異なり、水素又は非置換 C₁ ~ 2 アルキルを表す)、

【化12】



(IV)

20

(式中、

R¹、R²、R³ 及び R⁴ は、独立に、水素、ハロゲン、シアノ；又は C₁ ~ 3 ハロアルキル、C₁ ~ 3 アルキル、C₁ ~ 4 アミノアルキル及び C₁ ~ 4 ヒドロキシアルキルから選択される非置換基を表し、

Q は、-O-、-S-、-C=O-、-NH- 又は CH₂ を表し、

R⁷ 及び R⁸ は、独立に、水素、ヒドロキシル、ハロゲン、シアノ、-NR⁵R⁶；又は C₁ ~ 4 アルキル、C₂ ~ 4 アルケニル、C₁ ~ 4 アルコキシ、C₂ ~ 4 アルケニルオキシ、C₁ ~ 4 ハロアルキル、C₂ ~ 4 ハロアルケニル、C₁ ~ 4 アミノアルキル、C₁ ~ 4 ヒドロキシアルキル、C₁ ~ 4 アシリル及び C₁ ~ 4 アルキル-NR⁵R⁶ 基から選択される非置換基を表し、R⁵ 及び R⁶ は、同じ又は異なり、水素又は非置換 C₁ ~ 2 アルキルを表し、

p、q、r 及び s は、独立に、0 又は 1 を表す)

から独立に選択される。

【0057】

S₁ 及び S₂ は好ましくは、上記で述べたような式(III)又は(IV)の部分から独立に選択され、好ましくは、

R¹、R²、R³ 及び R⁴ は、独立に、水素、フルオロ、クロロ、又は非置換 C₁ ~ 3 アルキルを表し、より好ましくは、水素を表し、

Q は、-O- を表し、

A 及び B は、独立に、水素、ヒドロキシル、フルオロ、クロロ、メトキシ、ホルミル又は NH₂ を表し、より好ましくは、水素又はヒドロキシルを表し、

R⁷ 及び R⁸ は、独立に、水素、ヒドロキシル、フルオロ、クロロ；又は C₁ ~ 4 アル

30

40

50

キル、C₁～₄ハロアルキル、C₁～₄ヒドロキシアルキル及びC₁～₄アルキル-NH₂から選択される非置換基を表し、より好ましくは、水素、ヒドロキシル、又は非置換メチル、エチル、-CH₂OH若しくは-CH₂CH₂OHを表す。

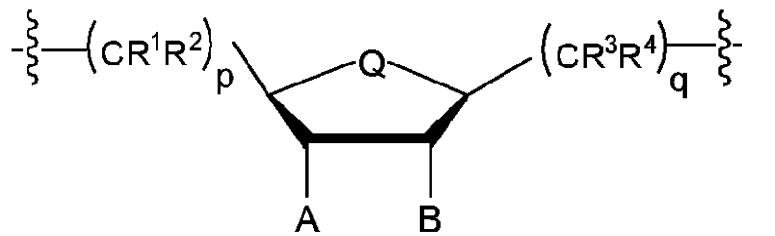
【0058】

S₁及びS₂は好ましくは、D-リボフラノース、2'-デオキシ-D-リボフラノース、3'-デオキシ-D-リボフラノース、L-アラビノフラノース(式(I II)の部分に対応する)、及びこれらの開環形態(式(IV)の部分に対応する)から独立に選択し得る。

【0059】

好ましい一実施形態において、S₁及びS₂の少なくとも1つは、D-リボフラノース、すなわち、式(I II')の部分であり、R¹及びR²は水素であり、pは1であり、qは0であり、Qは-O-であり、A及びBはヒドロキシルである。

【化13】



(III')

10

20

【0060】

S₁及び/又はS₂が、開環形態であるとき、開環は好ましくは、D-リボフラノース、2'-デオキシ-D-リボフラノース、3'-デオキシ-D-リボフラノース又はL-アラビノフラノース環の2'及び3'位の間である。

【0061】

好ましい一実施形態において、S₁及びS₂の少なくとも1つは、D-リボフラノースの開環形態、例えば、式(IV)において、R¹及びR²は水素であり、pは1であり、qは0であり、Qは-O-であり、rは1であり、sは1であり、R⁷及びR⁸はそれぞれ-CH₂OHである、式(IV)の部分である。

30

【0062】

好ましくは、S₁及びS₂は、同じである。従って好ましくは、S₁及びS₂は、両方ともD-リボフラノース、又は両方とも上記のようなD-リボフラノースの開環形態である。

【0063】

V、U及びWの合計は、2、3、4、5、6又は7であり得る。

【0064】

好ましくは、V+U+Wは4又は5である。

【0065】

好ましくは、Uは0、1又は2である。

40

【0066】

好ましくは、Vは2である。

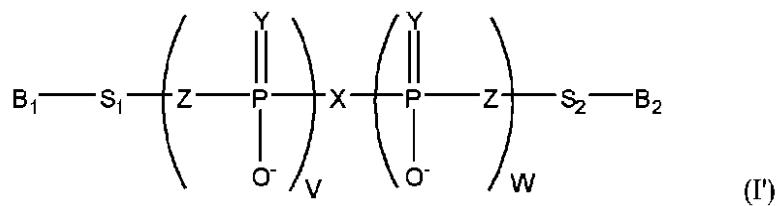
【0067】

好ましくは、Wは2である。

【0068】

好ましい実施形態において、Uは、0である。従って、本発明において用られるジヌクレオシドポリリン酸は好ましくは、式(I')の化合物であり、

【化14】



式中、全ての記号は、上記に定義されている通りであり、Xは-O-ではなく、V+Wは
2~7の整数である。 10

【0069】

従って、式(I')におけるV及びWの合計は、2、3、4、5、6又は7であり得る。
好ましくは、V+Wは4又は5である。好ましくは、Vは2であり、且つV又はWは2
である。

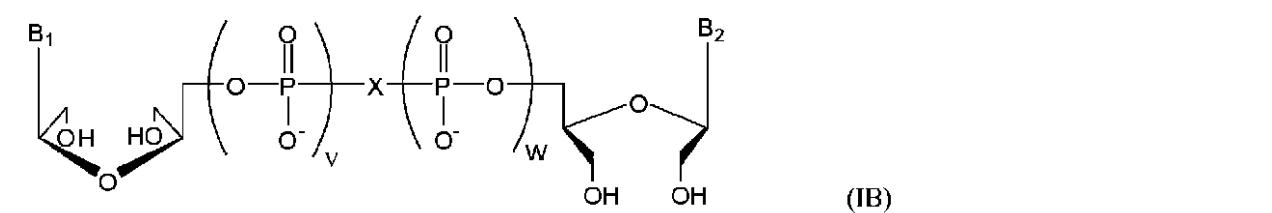
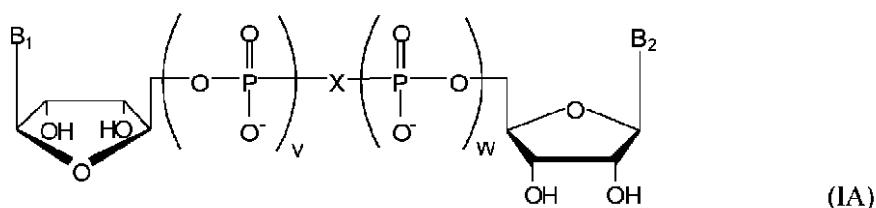
【0070】

好ましい実施形態において、各Yは=Oであり、各Zは-O-である。

【0071】

さらに好ましい実施形態において、各Yは=Oであり、各Zは-O-であり、両方のS₁及びS₂は、上記で示したような式(III)又は(IV)の部分である。好ましくは、両方のS₁及びS₂は同じであり、両方ともD-リボフラノースであるか、或いは両方ともD-リボフラノースの開環形態である。従って、本発明のジヌクレオシドポリリン酸類似体は好ましくは、式(I A)又は(I B)の化合物である。 20

【化15】



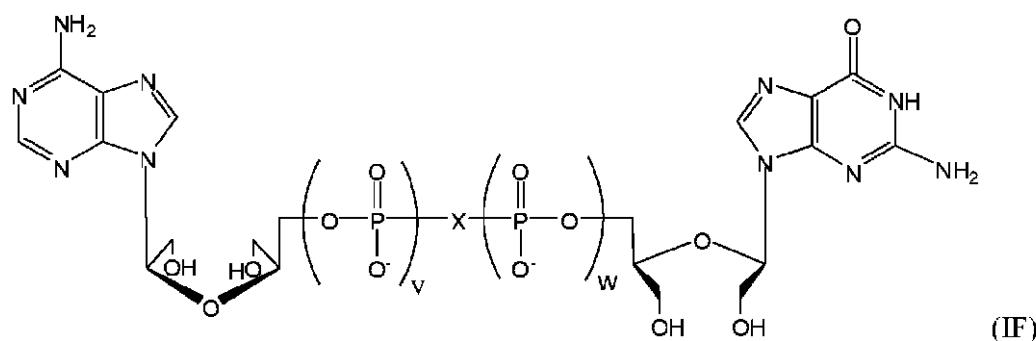
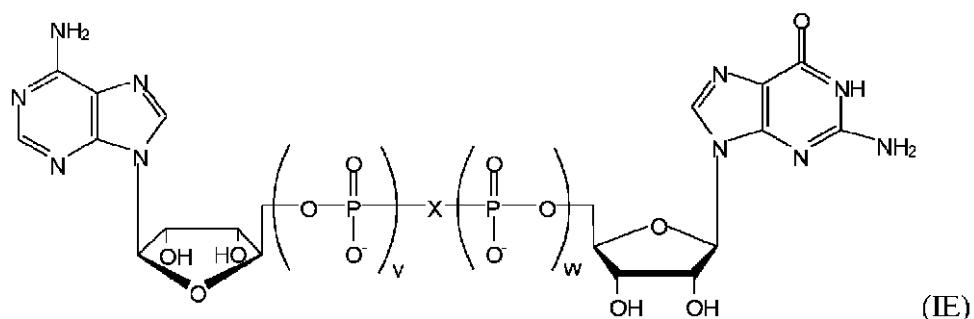
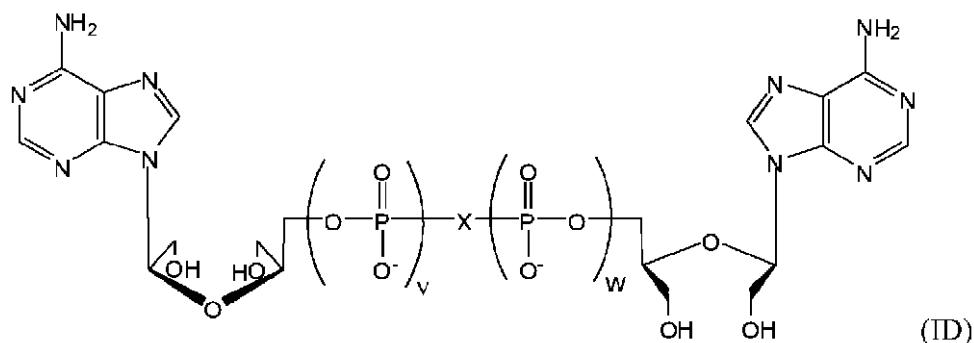
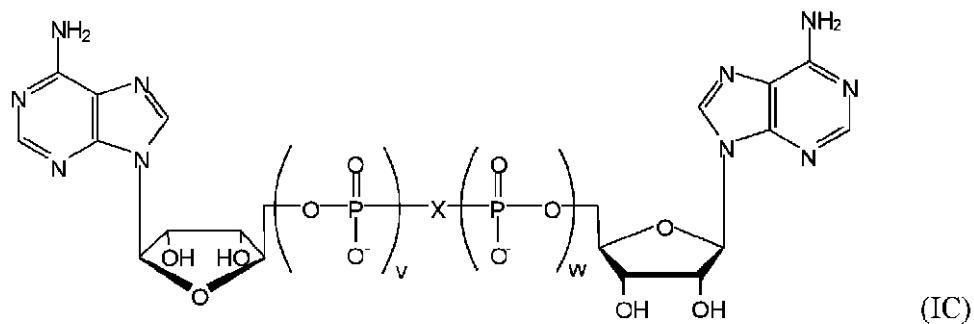
【0072】

好ましくは、本発明のジヌクレオシドポリリン酸類似体は、式(I A)又は(I B)においてV+Wが4又は5である、式(I A)又は(I B)の化合物である。より好ましくは、本発明のジヌクレオシドポリリン酸類似体は、B₁及びB₂の少なくとも1つは、アデニンであるか、或いはB₁及びB₂の1つはアデニンであり、他方はグアニンである、式(I A)又は(I B)の化合物である。 40

【0073】

従って、さらに好ましい実施形態において、各Yは=Oであり、各Zは-O-であり、両方のS₁及びS₂は同じであり、両方ともD-リボフラノースであるか、或いは両方ともD-リボフラノースの開環形態であり、B₁及びB₂は、両方ともアデニンであるか、或いはB₁及びB₂の1つはアデニンであり、他方はグアニンである。よって、本発明のジヌクレオシドポリリン酸類似体は好ましくは、式(I C)~(I F)のジヌクレオシドポリリン酸化合物である。 50

【化16】



【0074】

好ましくは、ジヌクレオシドポリリン酸類似体は、式(I C)～(I F)においてV+
Wが4又は5である、式(I C)～(I F)の化合物である。従って、本発明の好ましい
態様において、ジヌクレオシドポリリン酸類似体は、A p₄ A類似体、A p₅ A類似体、
A p₄ G類似体及びA p₅ G類似体からなる群から選択される。

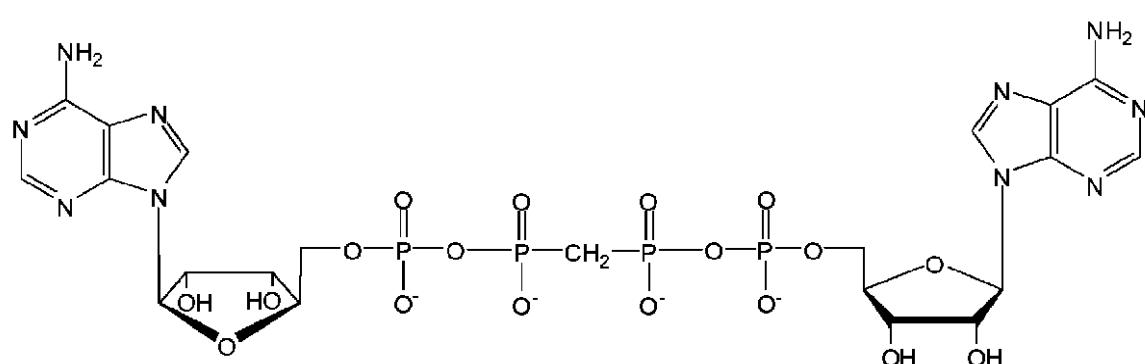
【0075】

好ましい実施形態において、V及びWは同じである。従って、式(I ')及び(I A)
～(I F)の上記の化合物において、V及びWは好ましくは、それぞれ2である。さら
なる好ましい実施形態において、ジヌクレオシドポリリン酸類似体は、対称的である。

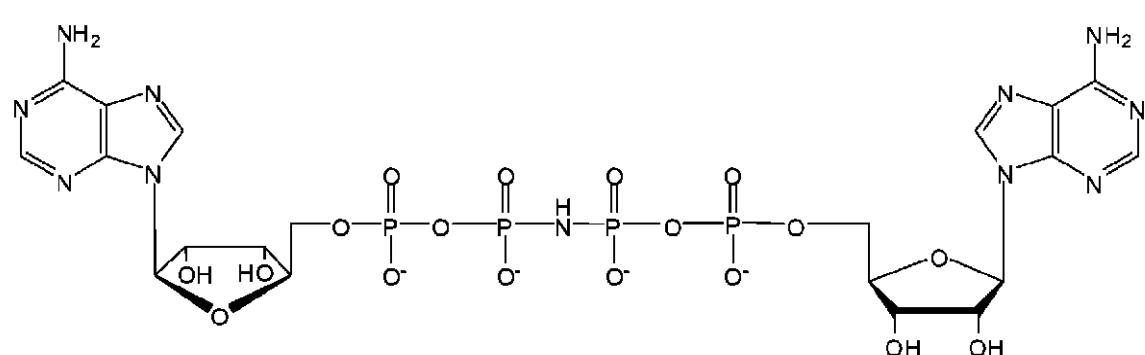
【0076】

本発明の好ましい態様において、ジヌクレオシドポリリン酸類似体は、A p p C H₂ p p A、A p p N H p p A、A ジオール p p C H₂ p p A ジオール、A ジオール p p N H p p A ジオール、A p p C H₂ p p G、A p p N H p p G、A ジオール p p C H₂ p p G ジオール及びA ジオール p p N H p p G ジオールからなる群から選択される。

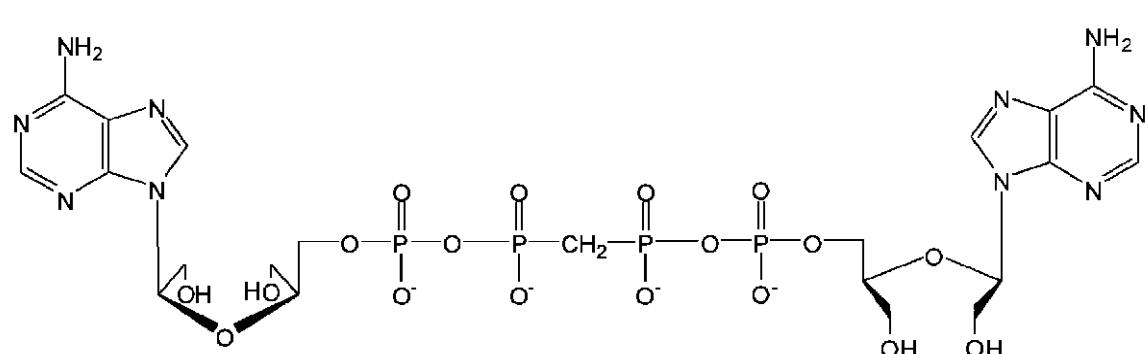
A p p C H₂ p p A :



A p p N H p p A :



A ジオール p p C H₂ p p A ジオール :



A ジオール p p N H p p A ジオール :

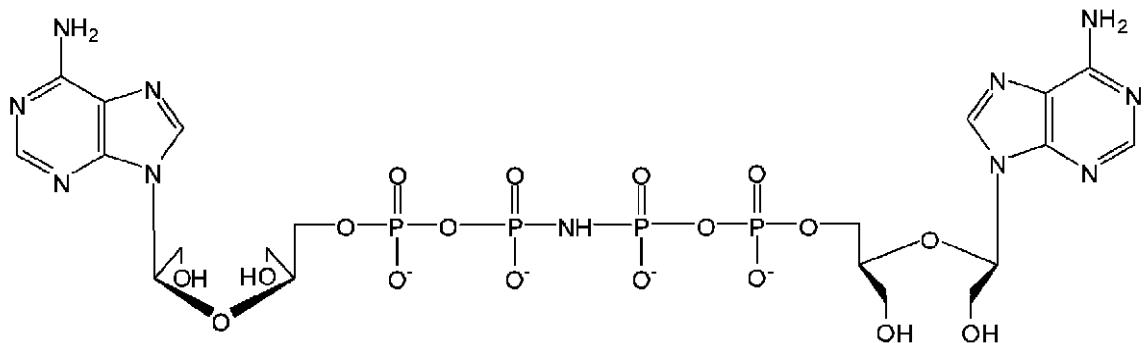
10

20

30

40

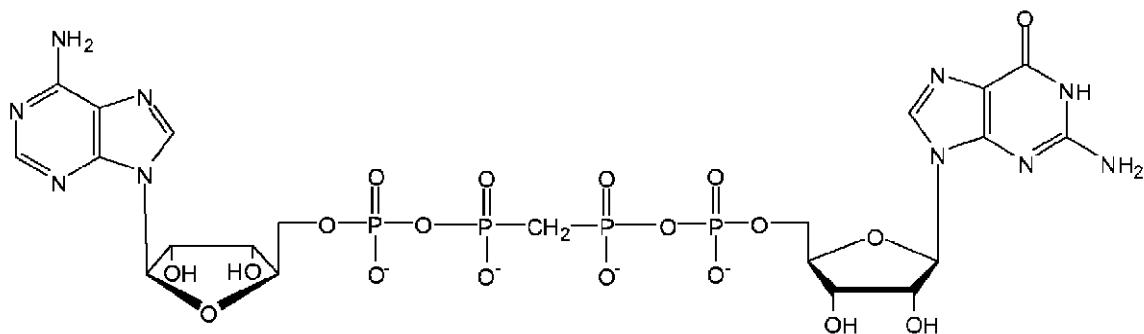
【化 2 0】



10

A p p C H₂ p p G :

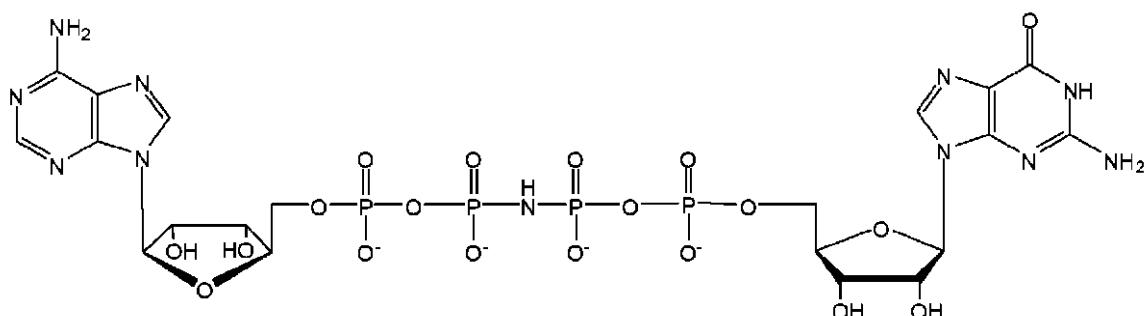
【化 2 1】



20

A p p N H p p G :

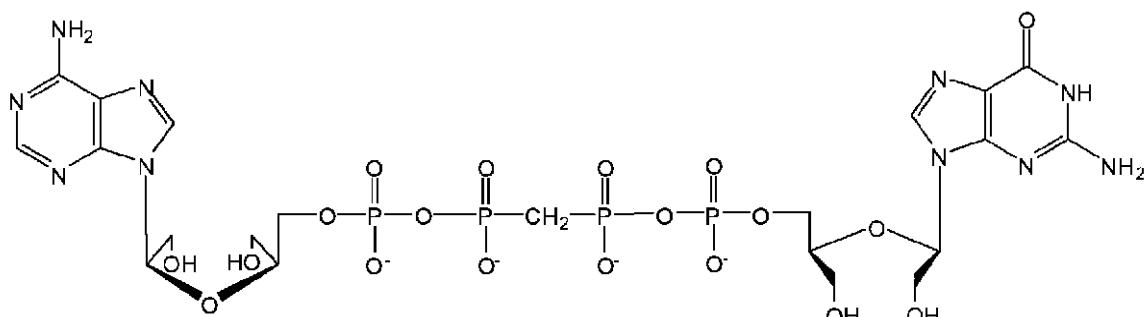
【化 2 2】



30

A ジオ - ル p p C H₂ p p G ジオ - ル :

【化 2 3】

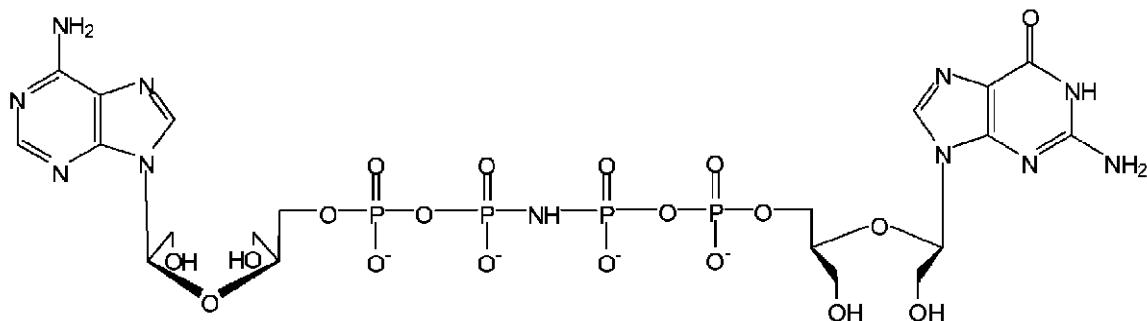


40

A ジオ - ル p p N H p p G ジオ - ル :

50

【化24】



10

【0077】

本出願の実施例において示されるように、このようなジヌクレオシドポリリン酸類似体は、脱感作の増強を介してP2X3受容体を強力に阻害又はダウンレギュレートし、インビボで炎症性疼痛の動物モデルに対して強力な抗侵害受容活性(antinociceptive activities)を発揮する。

【0078】

一般式(I)のジヌクレオシドポリリン酸及びこれらの調製は、WO2006/082397に開示されている。

【0079】

しかし、WO2006/082397は、P2X3受容体に対するジヌクレオシドポリリン酸類似体の結合特性、特に、P2X3受容体に対するジヌクレオシドポリリン酸類似体の阻害及び部分(又はスーパー)アゴニスト特性を開示していない。WO2006/082397は、急性痛覚過敏と比較したとき、慢性痛覚過敏に対するこれらの特異的作用を開示していない。また、WO2006/082397は、海馬調製物によって中枢神経系に対するAppCH₂ppAの効果を開示しているが、末梢神経系に対するジヌクレオシドポリリン酸類似体の特異的効果を開示していない。

20

【0080】

機序

本発明の化合物は、(例えば、もっぱら)P2X3受容体に作用することができ、その(P2X3)受容体(のみ)について選択的であるようである。換言すると、本化合物は、(P2X受容体ファミリーを考えるとき)P2X3受容体に対してのみ作用し、或いはP2X3受容体に対してのみ選択的であり得る。本化合物は、P2X4及び/若しくはP2X7受容体に適切に結合せず、P2X4及び/若しくはP2X7受容体に対して選択的でなく、並びに/又はP2X4及び/若しくはP2X7受容体のどちらに対しても又はどちらかに対して作用しない。本化合物は同様に、P2X2受容体に対して実際に作用又は結合のどちらもしない。

30

【0081】

本化合物は、アンタゴニストとして作用し得ない。代わりに、本化合物はアゴニスト、又はスーパーアゴニストとして作用することができる。本化合物は、高親和性脱感作(HAD)方式を介して又は使用して、関連する受容体に対して作用すると考えられる。本化合物は受容体に結合すると考えられるが、受容体から特に急速に脱離又は離脱しない。従って、作用機序は、受容体が一度興奮し、次いで、例えば、かなりの期間遮断され得ることを意味すると考えられる。したがって、これは、従来技術の知見、及び典型的な受容体拮抗阻害を示す従来技術の(疼痛阻害)化合物とは異なる。

40

【0082】

このように、本化合物は、高親和性脱感作(HAD)阻害機序を介して作用するようと思われる。これは、特に、疼痛を阻害(したがって、疼痛の治療において使用)することができ得る化合物についての新規な機序であるように思われる。従って、本発明はさらに、HAD機序を介して作用することができ、又は(1つ若しくは複数の受容体で)HAD機序に関与する化合物に関する。このように、本発明において使用される疼痛阻害性化合

50

物は、これらのクラスにおける最初のものであり、完全に新規な機序を介して作用すると考えられ、これにより、従来技術の疼痛阻害方法と区別される。HAD機序を例2で詳述していることに留意されたい。

【0083】

本発明の化合物は、P2X3に対する高度の親和性を有し、恐らく従来技術における他の同様の化合物よりも親和性が高いと考えられる。本発明の化合物はP2X4及び／若しくはP2X7受容体のどちらに対しても又はどちらかに対して作用せず、P2X2受容体に対してさえも作用しないようであるため、本発明の化合物は疼痛を治療するのに特に適したものとなる。化合物及び治療はCNSに関連するものではなく、局所処置において使用できることに留意されたい。

10

【0084】

本発明者らはこの度、種々のジヌクレオシドポリリン酸類似体がP2X3受容体をインピトロで強力に阻害できることを示した。本発明者らはまた、種々のジヌクレオシドポリリン酸類似体が、炎症性疼痛の異なるインピボでの動物モデルに基づいて、中等度から慢性の疼痛に対する抗侵害受容活性を發揮し、末梢神経系に対して作用できることを示した。これらのデータを、本出願の「実施例」セクション、特に、HAD機序を詳述している例2においてより詳細に記載する。

【0085】

P2X3サブユニットを含む受容体の群は、ホモマーP2X3受容体及びヘテロマーP2X2／3受容体を含み、本出願において「P2X3受容体」と称する。好ましくは、本発明のジヌクレオシドポリリン酸類似体は、P2X3受容体を標的とし、他のP2X受容体、例えば、ホモマーP2X2受容体、及び／又はP2X4若しくはP2X7受容体に対して殆ど又は全く活性を示さない。

20

【0086】

本出願の実施例において示されるように、安定なジヌクレオシドポリリン酸類似体は、痛覚を誘発する巨視的受容体介在性電流(macroscopic receptor-mediated currents)を生じさせるのに必要とされる閾値未満の濃度で投与されたとき、疼痛伝達ATP-開口型P2X3受容体を阻害した。理論に束縛されるものではないが、これらの結果は、これらの類似体が、脱感作した受容体の状態を安定化することによって効果を媒介し、HAD阻害機序を介して作用することを唆す。インピトロでの試験の結果は、行動試験(behavioural tests)において炎症性疼痛を低減させるこれらの2つの安定なジヌクレオシドポリリン酸類似体の能力と相關した。

30

【0087】

好ましい態様において、本明細書に記載する使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体は、P2X3受容体の部分又はスーパーアゴニストである。本類似体が示す部分アゴニスト活性は、例えば、公知の完全P2X3アゴニスト、例えば、-メチレン-ATPより低い活性であり得る(例えば、公知の完全P2X3アゴニストの活性の50%未満の活性)。

【0088】

特に、本発明のジヌクレオシドポリリン酸類似体は、より高い濃度でP2X3受容体の部分(又はスーパー)アゴニスト活性を示し、より低い濃度でアンタゴニスト(又は阻害)活性を示し得る。このように、例えば、本類似体は、飽和濃度までの濃度で部分アゴニスト活性を示し得る。他方、本類似体は、より低い濃度で、例えば、痛覚を誘発する巨視的受容体介在性電流を生じさせるのに必要とされる閾値未満の濃度で投与されたとき(例えば、本明細書に記載された量で投与されたとき)、P2X3受容体の阻害活性を示し得る。

40

【0089】

Wildmanら(1999)及びMcDonaldら(2002)は、ジアデノシンポリリン酸が、P2X3受容体の完全アゴニストであり得ることを教示する。これらの文献は、本発明において示すような、P2X3受容体に対するN_{p_n}N類似体の部分アゴニ

50

スト特性を開示していない。

【0090】

脱感作の促進によって作動する有望な鎮痛剤の主要な必要条件は、アゴニスト活性を低減させ、安定な効果を誘発することである。本発明者らはいくつかの安定なN_p_nN類似体を調製し、これらが天然及び組換えP2X3受容体の単なる部分アゴニストであることを示した。対照的に、上で述べたように、これらは、痛覚を誘発する巨視的受容体介在性電流を生じさせるのに必要とされる閾値未満の濃度で投与されたとき、P2X3受容体を効率的に阻害した。この阻害作用は、ATP又は¹⁰、-methyl ATPアゴニストがホモマーペP2X2受容体又はヘテロマーP2X2/P2X3受容体によって媒介される主に遅いタイプの電流を生じさせることができると下神経節ニューロン(nodose ganglia neurons)において殆ど存在しなかった。対照的に、阻害は、ホモマーペP2X3受容体サブタイプを優先的に発現している三叉神経節ニューロン(trigeminal ganglia neurons)において強力であった。したがって、この実験において、N_p_nN類似体は、ホモマーペP2X3サブユニット含有受容体に対して選択的阻害効果を媒介するようであった。

【0091】

上記の効果を考慮して、本発明のジヌクレオシドポリリン酸類似体は好ましくは、疼痛の治療に使用される。例えば、ジヌクレオシドポリリン酸類似体は、ヒト又は動物体における疼痛を治療するために、薬学的に許容される媒体と共に投与することができる。

【0092】

特に、本発明のジヌクレオシドポリリン酸類似体は、ホモマーペP2X3受容体の阻害に使用することができる。従って、本発明の類似体は、ホモマーペP2X3受容体の阻害による疼痛の治療に使用することができる。²⁰

【0093】

本発明はまた、有効量の(本明細書に記載された)ジヌクレオシドポリリン酸類似体又は薬学的に許容されるその塩を投与することを含む、うまく伝達ATP-開口型P2X3受容体(好ましくは、ホモマーペP2X3受容体)を介して、疼痛を阻害(予防及び/又は低減を含めた)する方法、並びに疼痛伝達ATP-開口型P2X3受容体(好ましくは、ホモマーペP2X3受容体)を阻害するための医薬の製造における(本明細書に記載された)ジヌクレオシドポリリン酸類似体又は薬学的に許容されるその塩の使用に関する。本発明はまた、有効量の(本明細書に記載された)ジヌクレオシドポリリン酸類似体又は薬学的に許容されるその塩を投与することを含む、疼痛を治療する方法、及び疼痛を治療するための医薬の製造における(本明細書に記載された)ジヌクレオシドポリリン酸類似体又は薬学的に許容されるその塩の使用に関する。³⁰

【0094】

疼痛のタイプ及び治療

疼痛は、異なるタイプに分類することができる。侵害受容性疼痛は、傷害、疾患又は炎症に反応して疼痛受容体によって媒介される。神経因性疼痛は、末梢から脳への疼痛伝播系への損傷によってもたらされる神経障害である。心因性疼痛は、実際の精神障害と関連する疼痛である。

【0095】

疼痛は、その持続時間によって慢性又は急性であり得る。慢性疼痛は一般に、長期間、例えば、治癒の予想される期間を超えて継続した疼痛と説明することができる。典型的には、慢性疼痛は、3カ月以上継続する疼痛である。30日未満継続する疼痛は、急性疼痛として分類することができ、中間の持続時間の疼痛は、中等度又は亜急性疼痛として説明することができる。⁴⁰

【0096】

本発明によって処置される疼痛は、例えば、炎症(例えば、がん、関節炎又は外傷から)、背痛(坐骨神経痛による背痛を含めた)、圧迫神経(trapped nerve)、関節痛、がん関連疼痛、歯痛、子宮内膜症、出産に関連する疼痛(例えば、分娩前及び/又は分娩後)、手術後疼痛又は外傷の1つ又は複数と関連する症状に関連し得る。⁵⁰

【0097】

上記のように、本明細書に記載されたジヌクレオシドポリリン酸類似体は、P2X3受容体（特に、ホモマーP2X3受容体）に対して特に活性である。したがって、これらは、疼痛の治療のための公知の薬剤と比較して、低量で投与することができる。

【0098】

従って、疼痛の治療（予防及び／又は軽減を含む）のために、ジヌクレオシドポリリン酸類似体は好ましくは、約0.01～1000nmol/kg、好ましくは、0.1～500nmol/kgの量で投与され、例えば、0.01～500μg/kg、好ましくは、0.1～250μg/kgの量で投与される。一実施形態において、ジヌクレオシドポリリン酸類似体は好ましくは、0.01～10μg/kg、好ましくは、0.05～5μg/kg、より好ましくは、0.1～2μg/kgの量で投与される。
10

【0099】

本発明の1つの好ましい実施形態において、ジヌクレオシドポリリン酸類似体は、中等度から慢性の疼痛の治療に使用される。中等度から慢性の疼痛は、侵害受容性機序及び／又は神経因性機序によって媒介し得る。好ましくは、中等度から慢性の疼痛は、例えば、炎症（例えば、がん又は関節炎からの）、背痛、関節痛、がん関連疼痛、歯痛、子宮内膜症及び手術後疼痛からなる群から選択される症状の少なくとも1つと関連する侵害受容性疼痛であり得る。特に、中等度から慢性の疼痛は、炎症、背痛、関節炎又はがん関連疼痛、特に、炎症又はがん関連疼痛と関連し得る。

【0100】

従って、本発明はまた、中等度から慢性の疼痛、特に、中等度から慢性の神経因性疼痛又は中等度から慢性の侵害受容性疼痛、例えば、炎症（例えば、がん又は関節炎からの）、背痛、関節痛、がん関連疼痛、歯痛、子宮内膜症及び手術後疼痛からなる群から選択される症状の少なくとも1つと関連する中等度から慢性の侵害受容性疼痛の治療において使用するための、（本明細書に記載された）ジヌクレオシドポリリン酸類似体又は薬学的に許容されるその塩に関する。特に、中等度から慢性の疼痛は、炎症、背痛、関節炎又はがん関連疼痛、特に、炎症又はがん関連疼痛と関連し得る。
20

【0101】

本発明はまた、有効量の（本明細書に記載された）ジヌクレオシドポリリン酸類似体又は薬学的に許容されるその塩を投与することを含む中等度から慢性の疼痛を治療する方法、及び中等度から慢性の疼痛の治療のための医薬の製造における（本明細書に記載された）ジヌクレオシドポリリン酸類似体又は薬学的に許容されるその塩の使用に関する。特に、中等度から慢性の疼痛は、中等度から慢性の神経因性疼痛、又は中等度から慢性の侵害受容性疼痛、例えば、炎症（例えば、がん又は関節炎からの）、背痛、関節痛、がん関連疼痛、歯痛、子宮内膜症及び手術後疼痛からなる群から選択される症状の少なくとも1つと関連する中等度から慢性の侵害受容性疼痛である。中等度から慢性の疼痛は、特に、炎症、背痛、関節炎又はがん関連疼痛に関連し、特に、炎症又はがん関連疼痛と関連し得る。
30

【0102】

投与量

中等度から慢性の疼痛の治療のために、本発明のジヌクレオシドポリリン酸類似体は好ましくは、約0.01～100nmol/kg、好ましくは、0.1～10nmol/kgの量で投与される。従って、本化合物は、0.01～10μg/kg、好ましくは、0.05～5μg/kg、より好ましくは、0.1～2μg/kgの量で投与し得る。
40

【0103】

ジヌクレオシドポリリン酸類似体は、好ましくは、上述した好ましい類似体の1つである。本発明は、特に、中等度から慢性の疼痛の治療において使用するためのジヌクレオシドポリリン酸類似体にあって、好ましくは、AppCH₂ppA、AppNHppA、AジオールppCH₂ppAジオール、AジオールppNHppAジオール、AppCH₂ppG、AppNHppG、AジオールppCH₂ppGジオール及びAジオールppN
50

H p p G ジオールからなる群から選択されるジヌクレオシドポリリン酸類似体に関する。

【0104】

中等度から慢性の疼痛の治療に使用されるとき、A p p C H₂ p p A、A p p N H p p A、A ジオール p p C H₂ p p A ジオール、A ジオール p p N H p p A ジオール、A p p C H₂ p p G、A p p N H p p G、A ジオール p p C H₂ p p G ジオール及びA ジオール p p N H p p G ジオールからなる群から選択される化合物は好ましくは、薬学的に許容される媒体と共に投与され、治療を必要としている対象に投与される化合物の用量は、約0.01～100 nmol/kg、好ましくは、0.1～10 nmol/kgである。従って、本化合物は、0.01～10 μg/kg、好ましくは、0.05～5 μg/kg、より好ましくは、0.1～2 μg/kgの量で投与し得る。

10

【0105】

例えば、約70 kgの典型的なヒトのために投与される化合物の量は、約1～約100 nmol、より好ましくは約10～約100 nmol、さらにより好ましくは約10～約50 nmolであり得る。

【0106】

別の実施形態において、本発明のジヌクレオシドポリリン酸類似体は、急性疼痛又は亜急性疼痛の治療に使用される。従って、本発明はまた、有効量の（本明細書に記載された）ジヌクレオシドポリリン酸類似体又は薬学的に許容されるその塩を投与することを含む、急性疼痛又は亜急性疼痛を治療する方法、及び急性疼痛又は亜急性疼痛の治療のための医薬の製造における（本明細書に記載された）ジヌクレオシドポリリン酸類似体又は薬学的に許容されるその塩の使用に関する。

20

【0107】

本発明はまた、急性疼痛又は亜急性疼痛の治療に使用するための、（本明細書に記載された）ジヌクレオシドポリリン酸類似体又は薬学的に許容されるその塩に関する。

【0108】

急性疼痛又は亜急性疼痛は好ましくは、手術後疼痛、歯痛、出産に関連する疼痛、外傷又は炎症（例えば、外傷からもたらされる）と関連し得る。

【0109】

急性疼痛又は亜急性疼痛の治療のためには、本発明のジヌクレオシドポリリン酸類似体は好ましくは、約50～1000 nmol/kg、好ましくは、50～500 nmol/kg、より好ましくは、75～300 nmol/kgの量で投与される。従って、本化合物は、約10～500 μg/kg、好ましくは、50～250 μg/kgの量で投与し得る。

30

【0110】

ジヌクレオシドポリリン酸類似体は、好ましくは、上述した好ましい類似体の1つである。本発明は、特に、急性疼痛又は亜急性疼痛の治療に使用するためのジヌクレオシドポリリン酸類似体にあっては、好ましくは、A p p C H₂ p p A、A p p N H p p A、A ジオール p p C H₂ p p A ジオール、A ジオール p p N H p p A ジオール、A p p C H₂ p p G、A p p N H p p G、A ジオール p p C H₂ p p G ジオール及びA ジオール p p N H p p G ジオールからなる群から選択されるジヌクレオシドポリリン酸類似体であり、これらは、好ましくは上述した量で投与される。

40

【0111】

本発明のジヌクレオシドポリリン酸類似体は、種々の剤形で投与し得る。従って、ジヌクレオシドポリリン酸類似体は、経口的に、例えば、錠剤、トローチ剤、ロゼンジ剤、水性若しくは油性の懸濁剤、分散性粉末剤又は顆粒剤として投与し得る。ジヌクレオシドポリリン酸類似体はまた、非経口的に、皮下、経皮的（注射による）、静脈内、筋肉内、胸骨内又は注入技術のいずれによっても投与し得る。ジヌクレオシドポリリン酸類似体はまた、直腸に、例えば、坐剤の形態で投与し得る。医師は、それぞれの特定の患者について必要とされる投与経路を決定することができる。好ましくは、ジヌクレオシドポリリン酸類似体は、皮下注射によって投与される。

50

【0112】

別の実施形態において、本発明は、0.01～3500μgの量の（本明細書に記載された）ジヌクレオシドポリリン酸類似体又は薬学的に許容されるその塩、及び薬学的に許容される添加剤を含む組成物に関する。組成物中のジヌクレオシドポリリン酸類似体の最大量は、好ましくは、1500μg、好ましくは、1000μg、より好ましくは、500μg、特に好ましくは、250μg又は150μgである。

【0113】

ヒトへの投与のために、70kgの体重に基づくと、本組成物は好ましくは、0.5～3500μgの量のジヌクレオシドポリリン酸類似体又は薬学的に許容されるその塩を含む。好ましい最大量は、上記の通りである。nmolで表現すると、本組成物中のジヌクレオシドポリリン酸類似体の量は、0.5～5000nmol、好ましくは、1～2500nmol、好ましくは、5～1000nmol、より好ましくは、5～500nmol、特に好ましくは、10～100nmolであり得る。10

【0114】

当然ながら動物へ使用するためには、動物の体重に応じて上記の量を再較正することが必要である。例えば、動物用の典型的な組成物は、0.01～200μg、好ましくは、0.05～100μgの量でジヌクレオシドポリリン酸類似体又は薬学的に許容されるその塩を含み得る。

【0115】

好ましくは、組成物中のジヌクレオシドポリリン酸類似体は、上述した好ましい類似体の1つであり、特に、AppCH₂ppA、AppNHppA、AジオールppCH₂ppAジオール、AジオールppNHppAジオール、AppCH₂ppG、AppNHppG、AジオールppCH₂ppGジオール又はAジオールppNHppGジオールである。20

【0116】

組成物

好ましくは、本組成物は、皮下注射用に製剤化される。

【0117】

ジヌクレオシドポリリン酸類似体の製剤は、例えば、まさにその薬剤の性質、医薬又は動物薬としての使用の何れが意図されているかなどの要因によって決まる。本発明における使用のための薬剤は、同時、別々又は逐次使用のために製剤化し得る。30

【0118】

ジヌクレオシドポリリン酸類似体は典型的には、薬学的に許容される添加剤（例えば、担体又は賦形剤）と共に、本発明における投与のために製剤化される。医薬担体又は賦形剤は、例えば、等張液であり得る。例えば、固体経口形態は、活性化合物と一緒に、賦形剤、例えば、ラクトース、デキストロース、サッカロース、セルロース、トウモロコシ若しくはジャガイモデンプン；滑沢剤、例えば、シリカ、タルク、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウム又はステアリン酸カルシウム、及び／又はポリエチレングリコール；結合剤；例えば、デンプン、アラビアゴム、ゼラチン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース又はポリビニルピロリドン；脱凝集剤、例えば、デンプン、アルギン酸、アルギネット又はデンブングリコール酸ナトリウム；飽和剤（effervescing mixtures）；色素；甘味剤；湿潤剤、例えば、レシチン、ポリソルベート、ラウリルスルファート；並びに、一般に、医薬製剤において使用される無毒性で薬理学的に不活性の物質を含有し得る。このような医薬調製物は、例えば、混合、顆粒化、錠剤化、糖コーティング、又はフィルムコーティングプロセスによって公知の方法で製造できる。40

【0119】

経口投与のための液体分散物は、シロップ剤、乳剤又は懸濁剤であり得る。シロップ剤は、担体として、例えば、サッカロース、又はグリセリン及び／若しくはマンニトール及び／若しくはソルビトールを有するサッカロースを含有し得る。

【0120】

50

懸濁剤及び乳剤は、担体として、例えば、天然ガム、寒天、アルギン酸ナトリウム、ペクチン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、又はポリビニルアルコールを含有し得る。筋肉内注射のための懸濁剤又は溶液剤は、活性化合物と一緒に、薬学的に許容される担体、例えば、滅菌水、オリーブ油、オレイン酸エチル、グリコール（例えば、プロピレングリコール）、及び必要に応じて、適切な量の塩酸リドカインを含有し得る。

【0121】

経口投与のための製剤は、制御放出製剤として製剤し得、例えば、これらは、大腸における制御放出用に製剤化し得る。

【0122】

静脈内投与又は注入のための溶液剤は、担体として、例えば、滅菌水を含有し得、好ましくは、これらは、無菌の等張生理食塩水の形態であり得る。

【0123】

ジヌクレオシドポリリン酸類似体の用量は、様々なパラメーターによって、特に、使用される物質；治療される患者の年齢、体重及び状態；投与経路；並びに必要とされるレジメンによって決定し得る。

【0124】

さらに、医師は任意の特定の患者のための必要とされる投与経路及び投与量を決定することができる。典型的な1日用量は、処置される個体の年齢、体重及び状態、状態（例えば、疼痛）のタイプ及び重症度、並びに投与頻度及び経路によって、体重1kg毎に約0.01～1000μgである。毎日の投与量レベルは、例えば、0.01～500μg/kgであり得る。中等度から慢性の疼痛の治療において、適切な毎日の投与量レベルは、約0.01～20μg/kg、好ましくは、0.05～15μg/kg、好ましくは、0.1～10μg/kgであり得る。急性疼痛又は亜急性疼痛の治療において、適切な毎日の投与量レベルは、約10～1000μg/kg、好ましくは、50～500μg/kgであり得る。

【0125】

本明細書に記載のジヌクレオシドポリリン酸類似体は、単独で又は組み合わせて投与し得る。これらはまた、別の薬理学的活性剤、例えば、疼痛の治療のための別の薬剤（例えば、オピオイド、非オピオイド又はNSAID）と組み合わせて投与し得る。例えば、本発明による使用のためのジヌクレオシドポリリン酸類似体は、オピオイド、例えば、オキシコドン（例えば、OxyContin（登録商標）；制御放出オキシコドンHC1；Purdue Pharma L.P.）と組み合わせることができる。薬剤の組合せは、同時、別々又は逐次使用のために製剤化し得る。

【0126】

この明細書において記載した全ての公開資料及び特許出願は、本発明が属する技術分野の当業者のレベルを示す。全ての公開資料及び特許出願は、それぞれの個々の公開資料又は特許出願が参照により具体的且つ個別に組み込まれているかのように、参照により本明細書に組み込まれる。

【0127】

上記の発明を、理解の目的のために例示及び例によって少し詳しく記載したが、特定の変更及び修正を添付の特許請求の範囲内で行い得ることは当業者には明らかである。

【0128】

下記の実施例は、本発明を例示する。

[実施例]

A p₄ A 類似体の合成

A p₄ N H p p A 及び A p₄ C H₂ p p A は、HPLCによる厳密な精製を伴う（Wrightら、2003、2004及び2006）、従前に記載されているLySUが媒介する生合成過程の発展を使用して調製した（Melnikら、2006、WO2006/0823297）。

【0129】

10

20

30

40

50

細胞培養及びトランスフェクション

培養液中のラットの三叉神経節（T G）、下神経節（N G）又は後根神経節（D R G）ニューロンは、従前に記載されているようにして調製した（S o k o l o v aら、2 0 0 1；S i m o n e t t iら、2 0 0 6）。ニューロンをポリ-L-リシン（0.2 mg / mL）でコーティングしたペトリ皿上に蒔き、5% CO₂を含有する雰囲気下で1~2日間培養した。細胞は、処理をしないときは、細胞を蒔いた2日以内に使用した。H E K 2 9 3 T 細胞は、従前に報告したように調製し（F a b b r e t t iら、2 0 0 4；S o k o l o v aら、2 0 0 4）、p I R E S 2 - E G F P（C l o n t e c h、M o u n t a i n V i e w、C A、U S A）にサブクローニングしたラット完全長P 2 X 3 c D N Aでトランスフェクトした。

10

【0130】

電気生理学的記録

(m Mで) 1 5 2 のN a C l、5 のK C l、1 のM g C l₂、2 のC a C l₂、1 0 のグルコース、及び1 0 のH E P E Sを含有する対照溶液で連続的に灌流(2 mL / 分で)させる間に、三叉神経節、下神経節、D R G ニューロン又はH E K 細胞を、全細胞構成で記録した。N a O Hでp Hを7.4に調節し、グルコースでモル浸透圧濃度を3 2 0 m O s Mに調節した。パッチャピペットは、(m Mで) 1 3 0 のC s C l、0.5 のC a C l₂、5 のM g C l₂、5 のK₂ A T P、0.5 のN a G T P、1 0 のH E P E S及び5 のE G T Aを含有する細胞内液で充填したとき3~4 M Wの抵抗を有した。C s O Hでp Hを7.2に調節した。選択的P 2 X 3 受容体アゴニストである，-メチレン-A T P (，-me A T P；外部A T Pアーゼ加水分解に対して耐性、S i g m a - A l d r i c h)への反応を、E P C - 9 増幅器及びH E K A P a t c h M a s t e r ソフトウェア(H E K A E l e c t r o n i k、G e r m a n y)を使用して測定した。細胞を、-7 0 m Vで電位固定した。大部分の細胞において、直列抵抗は8 0 % 補償した。アゴニストの半有効濃度(E C₅₀)を決定するために、，-me A T Pについての用量反応曲線を、同じ細胞に異なるアゴニスト用量を添加し、これらを論理方程式に当て嵌めることによって構築した(O r i g i n 8.0、M i c r o c a l、N o r t h a m p t o n、M A)。

20

【0131】

薬物送達

30

アゴニスト及びアンタゴニストを、細胞の1 0 0 ~ 1 5 0 μ m近くに置いた急速な灌流系(R a p i d S o l u t i o n C h a n g e r R S C - 2 0 0；B i o L o g i c S c i e n c e I n s t r u m e n t s、G r e n o b l e、F r a n c e)によって通常2秒間加えた。細胞を横切る溶液交換についての時間は、液間電位差測定で判断すると概ね3 0 ミリ秒であった。細胞培養のための酵素を含めて全ての化学物質は、S i g m a (S t . L o u i s、M O)からであった。培養培地は、I n v i t r o g e n (M i l a n、I t a l y)から得た。

40

【0132】

データ分析

反応のピーク振幅を、H E K A P a t c h M a s t e r ソフトウェアを使用して測定した。各アゴニストについて、用量反応プロットを、最大反応に関してデータを正規化(normalizing)することによって構築した。全てのデータは、平均±S . E . M . (n=細胞の数)として提示し、統計的有意性は、対応のあるt検定(パラメトリックデータについて)又はマンホイットニー順位和検定(ノンパラメトリックデータについて)によって評価する。シグモイド関数を伴うデータの最良適合を、O r i g i n 8.0ソフトウェアを使用してそれぞれの対照適合と比較した。P < 0.05の値は、統計的有意差を示すものとして許容した。

【0133】

ホルマリン試験における侵害受容行動の測定

ホルマリン試験の実験を、従前に記載されている方法によって4 0 ± 5 gの体重の2 1

50

日齢のWistar系雄性ラットで行った(Simonettila、2006; Yegutkinら、2008)。手短に言えば、右後足の背面へのホルマリンの注射(0.9%生理食塩水中の25μLの0.5%溶液)の前に、動物をアクリルの観察チャンバーに少なくとも1時間順化させた。同齢の対照動物に生理食塩水(100μL)を注射した。注射の直後に、各動物を観察チャンバーに戻し、その行動の特徴を45分間記録した。本発明者らは、一貫して観察されるタイプの反応である注射された足の自発的痙攣に気づいた。自己開発したコンピュータソフトウェアを使用して、痙攣の数をそれぞれ5分のブロックについて測定した。

【0134】

(例1)

10

ラットホモマーP2X3受容体に対して作用するAppNHppAのアゴニスト活性

ラットホモマーP2X3受容体をインビトロで発現しているHEK細胞を使用した実験において、類似体AppNHppAは、0.1μM又は1μMの濃度で膜電流を誘発しないことが見出された。しかし、小さな遅い脱感作電流は、10μM又は100μMのAppNHppAによって生じた(図1A)。

【0135】

AppNHppAがP2X3受容体の完全又は部分アゴニストであるかを試験するために、本発明者らは、誘発された反応を、完全P2X3アゴニストである $\text{, }-\text{m}\text{eATP}$ からの反応と比較した(図1B)。同じ細胞において、たとえ1mMの飽和濃度でもAppNHppAによって生じる電流応答は、10μMの $\text{, }-\text{m}\text{eATP}$ によって誘発された反応の $41.2 \pm 13\%$ であることが観察された($n = 3$ 、対応のあるt検定によって $P = 0.009$)(図1C)。これらの結果は、AppNHppAが、高濃度でホモマーP2X3受容体の部分アゴニスト活性を有するにすぎないことを示す。

20

【0136】

(例2)

P2X3受容体活性に対するAppNHppA及びAppCH₂ppAの阻害(ダウンレギュレート)効果

高親和性脱感作(HAD)によるAppNHppA及びAppCH₂ppAの阻害(抑制)効力を評価した。本発明者らは、10μMの $\text{, }-\text{m}\text{eATP}$ を使用するP2X3受容体の周期的な2秒長(2分のインターパルス間隔)の活性化の間に、異なる実験において両方の合成類似体を加えた(プロトコルについては、図2の上部を参照されたい)。10nMのAppNHppAを $\text{, }-\text{m}\text{eATP}$ の第2の試験パルスの後6分間適用したとき、それに続く反応の振幅は殆ど未変化であったためHADは誘発されないようであった(図2A)。しかし、3μMのAppNHppAが投与されたとき、試験反応に対して強力(殆ど完全)な阻害(抑制)が誘発された(図2B)。とりわけ、AppNHppAが活性化閾値未満の濃度(100nM; 図2Dを参照されたい)で投与されたとき、強力なHAD反応が誘発され、試験反応は $38.2 \pm 8.5\%$ ($n = 7$ 、 $P = 0.002$)に低減した。AppNHppAのこれらの阻害効果についての時間経過も示され(図2C)、飽和(薬物添加の6分後)において測定した濃度依存性は、0.20μMのIC₅₀値を示す(図2D)。重要なことに、AppNHppAによって媒介されるP2X3受容体の活性化は非常に高い濃度の類似体を必要とするようであったため、AppNHppAについての阻害曲線は活性化曲線と重複しなかった($EC_{50} = 41.6 \pm 1.3\mu M$; $n_H = 1.58 \pm 0.05$; $n = 8$; 図2D)。

30

【0137】

これらの研究と並行に、AppCH₂ppAの阻害(ダウンレギュレート)効果も、10μMの $\text{, }-\text{m}\text{eATP}$ を2分間適用した試験によって調査した($IC_{50} = 0.55\mu M$)。AppCH₂ppAを投与する効果は、AppNHppAを投与する効果と同様であった(図3)が、アゴニスト効果はより強力であった($EC_{50} = 9.30 \pm 1.7\mu M$; $n_H = 2.27 \pm 0.56$; $n = 5$; 図3D)。アゴニスト添加の頻度の増加に伴って(30秒の間隔; 図3B、C)、脱感作状態にあるP2X3受容体の画分が増加し

40

50

たとき、 AppCH_2ppA の阻害（ダウンレギュレート）効果も有意に増加し（低速度での $61.3 \pm 5\%$ に対して $81 \pm 3\%$ の抑制、 $P = 0.014$ 、 $n = 7$ ）、HAD機序を介して作動するP2X3受容体に対する使用依存性の抑制効果と一致したことにも留意すべきである。

【0138】

HEK293細胞において発現している組換えホモマーP2X2受容体による別のセットの実験において、 AppNHppA の添加は、P2X2受容体介在性電流に対して（又は、P2X4若しくはP2X7に対して）効果を生じさせることは観察されなかった。したがって本発明者らが観察した App_4A 類似体の効果における選択性を示す（図4）。

【0139】

全体で、これらのデータは、 App_4A の類似体が、脱感作状況の受容体の安定化によって組換えP2X3受容体の選択的阻害（ダウンレギュレーション）を誘発することを示す。

【0140】

（例3）

ラット培養感覚ニューロンにおける天然P2X3受容体のモデュレーション

AppNHppA の作用を、三叉神経節（TG）、後根神経節（DRG）及び下神経節（NG）ニューロンにおいて別々に、 -meATP が誘発する電流に対して試験した。1 μM で投与した AppNHppA の阻害効果を、3種の神経節ニューロンの全てを使用して評価した。

【0141】

インサイチュでのATPへの反応の時間経過は、P2X2及びP2X3サブユニットの差別的な寄与に強く依存する。速い脱感作（速い）反応は、推定するところ、P2X3受容体の寄与を反映し、一方、遅延（遅い）及び複合（混合）反応は、P2X2R及び/又はヘテロマーP2X2/P2X3受容体の寄与を反映する。 -meATP の添加によって、速い、混合及び遅い反応を示す細胞の割合は、ニューロン細胞集団によって異なった。TGニューロンでは、 -meATP は、主に速い（細胞の56%）及び混合反応を誘発した（細胞の44%）が、遅いタイプの反応を誘発しなかった（細胞の0%、 $n = 18$ 細胞）。速い、混合及び遅い反応を伴う細胞の割合は、DRGにおいて50%、50%、及び0%（ $n = 8$ ）であり、NGニューロンにおいて22%、0%、78%（ $n = 11$ ）であった（図5A）。 AppNHppA （1 μM ）の投与は、速い反応を選択的に阻害（抑制）し（図5B、C）、遅延反応に対して控えめな阻害効果のみであった（図5D）。ピーク電流の阻害（抑制）は、TGにおいて $80.3 \pm 4.4\%$ （ $n = 9$ 、 $P = 0.0004$ ）、DRGにおいて $79.2 \pm 5.6\%$ （ $n = 6$ 、 $P = 0.02$ ）、及びNGニューロンにおいて $16.8 \pm 11.8\%$ のみ（ $n = 9$ 、 $P > 0.05$ ）であった（図5E~G）。これは、TG及びDRGニューロンの集団におけるP2X3Rサブユニットによって媒介される速い電流を伴う細胞の相対的により大きな割合と一致する。この知見と一致して、遅延残留成分は、より阻害されなかった（阻害は、それぞれ、TG、DRG及びNGニューロンにおいて $15 \pm 6\%$ 、 $18 \pm 6\%$ 及び $2 \pm 4\%$ であった；図5E~G）。したがって、天然ニューロンについてのデータは、組換えホモマーP2X3受容体で得た結果と一致している。

【0142】

（例4）

ホルマリン試験における加水分解耐性 App_4A 類似体の抗侵害受容効果

AppNHppA 及び AppCH_2ppA の効果を、炎症性疼痛モデルにおいてラットの行動学的反応について検査した。げっ歯類の後足への希釈されたホルマリンの注射は、即時（急性相）及び強直（炎症相）成分からなる二相性侵害受容反応を生じさせる。ホルマリン反応の第1相（すなわち、注射の0~5分後）は、疼痛受容体に対するホルマリンの直接の効果が関与し、一方、第2の強直相（すなわち、注射の7~45分後）の間の動物の行動の変化は、第1相の間の反復刺激によって誘発される機序を介した侵害受容性ニ

10

20

30

40

50

ニューロン及び脊髄ニューロンの感作によって発生する痛覚過敏によってもたらされる。

【0143】

ラットの炎症を起こした足中へのAppNH₂ppA又はAppCH₂ppA(100μL)及びホルマリンの同時注射は、ホルマリンの注射によって誘発される侵害防御事象(nocifensive events)の数を強力に低減させた。第2(強直)相におけるAppNH₂ppAについてのIC₅₀値は0.25±0.06μM、k_H=0.89±0.18であり、一方、第1(急性)相におけるIC₅₀値は>100μMであった。比較すると、第2の相におけるAppCH₂ppAについてのIC₅₀値は、0.5±0.06μM、k_H=0.89±0.18であり、一方、第1相におけるIC₅₀値は31.9±22μM；k_H=0.82±0.09であることが見出された。特にAppCH₂ppA投与の後に、侵害防御行動は、ホルマリンアッセイの第1(急性)相(図6)と比較して、第2(強直)相において60倍より効果的に低減した。対照条件下で、化合物自体の注射の後、侵害受容行動の兆候は観察されなかった(図7)。

【0144】

別の関連する実験において、AジオールppCH₂ppAジオール及びAppCH₂ppGを、ホルマリン疼痛試験におけるこれらの抗侵害受容能力について試験した。

【0145】

データを下記の表1において要約する、IC₅₀は濃度として表し、nmol/kgで計算する。

【0146】

【表1】

表1

	第1相(急性疼痛)		第2相(慢性疼痛)	
AジオールppCH ₂ ppAジオール	~50 μM	~125 nmol/kg	0.084±0.14 μM	0.21±0.35 nmol/kg
AppCH ₂ ppG	>100 μM	>250 nmol/kg	0.18±0.12 μM	0.45±0.30 nmol/kg
AppNH ₂ ppA	>100 μM	>250 nmol/kg	0.25±0.09 μM	0.63±0.23 nmol/kg
AppCH ₂ ppA	32±2.2 μM	80±5.5 nmol/kg	0.51±0.06 μM	1.28±0.06 nmol/kg

【0147】

実際に、40gのラット体重を想定したAppCH₂ppA及びAppNH₂ppAの有効濃度を再計算すると、それぞれ、1.28±0.06nmol/kg及び0.63±0.23nmol/kgであり、これらによって、本発明の化合物が、A-317491などの他のP2X3アンタゴニストより約5,000倍強力であることが明確に実証される(Jarvisら、2002)。

【0148】

約40gであるラットの体重から約70kgである平均的なヒトの体重へと計算すると、治療を必要としているヒトに投与される化合物の概ねの指標的な用量は、表2において示すように推定することができた。

【0149】

10

20

30

40

【表2】

表2

	第1相(急性疼痛)			第2相(慢性疼痛)		
	nmol/kg (μ g/kg)	ラット(40g) nmol	ヒト(70 kg) nmol	nmol/kg (μ g/kg)	ラット(40g) nmol	ヒト(70 kg) nmol
A _{ジオール} ppCH ₂ ppA _{ジオール}	~125 (104)	5	8750	0.21 ± 0.35 (0.175)	0.0084	14.7
AppCH ₂ ppG	>250 (209)	10	17500	0.45 ± 0.30 (0.376)	0.018	31.5
AppNHppA	>250 (209)	10	17500	0.63 ± 0.23 (0.526)	0.0252	44.1
AppCH ₂ ppA	80 ± 5.5 (67)	3.2	5600	1.28 ± 0.06 (1.067)	0.0512	89.6

【0150】

(例5)

ハーグリーブス試験における加水分解耐性 A_{p₄}A 類似体の抗侵害受容効果

ハーグリーブス足底試験において、抗侵害受容効果を、フロイント完全アジュバントで誘発した温熱性痛覚過敏下にあるラットの炎症を起こした後足へ AppNHppA 及び AppCH₂ppA を足底内注射 (100 μ L) した後に観察した (図8)。

10

【0151】

(例6)

部分的坐骨神経結紮 (PSNL) 試験における AppCH₂ppA の抗侵害受容効果

坐骨神経幹の 33 ~ 50 % のきつい結紮を伴う PSNL は、神経因性疼痛モデルである。本発明者らは、PSNL を有するラットの温熱性痛覚過敏に対して 50 μ M の AppCH₂ppA (100 μ L) を皮下注射した。図9は、足引っ込み潜時 (paw withdrawal latency) (PWL) の時間経過測定を示し、化合物の抗侵害受容効果及び抗神経因性効果を示す。結果は、平均 + / - S.E.M として表す。このモデルにおいて、抗侵害受容効果は、62 % である。

20

30

【0152】

(例7)

AppCH₂ppA のくも膜下腔内及び足底内投与の抗侵害受容効果の比較

フロイント完全アジュバント (CFA) 下のハーグリーブス足底試験において、20 μ M の AppCH₂ppA のくも膜下腔内注射は、足底内オプションの後に観察されるものよりも弱い遅延した抗侵害受容効果を示した。図10A は、CFA が誘発する温熱性痛覚過敏に対する AppCH₂ppA のくも膜下腔内注射の効果の時間経過を示す。図10B は、ラット PWL に対する AppCH₂ppA のくも膜下腔内投与の効果の棒グラフの表示を示す。

40

【0153】

それぞれ、27 % 及び 53 % の抗侵害受容効果を、くも膜下腔内及び足底内投与後に測定した。これらのデータは、化合物の局所末梢作用と一致し、効果が CNS において発現している P2X3 受容体によって媒介されないという事実と一致する。

【0154】

P2X3 受容体を標的とする重要な利点は、これらが感覚神経を超える限定された分布を有し、脳の高次中枢 (the higher centres of the brain) において有意な発現を有さないことである。これに基づいて、本化合物は、多くの疼痛治療の利用をさもなければ実質的に制限する厄介又は重大な CNS 副作用を生じさせないことが期待されている。A_{p₄}

40

50

A類似体は、侵害受容経路の活性化を末梢で防止し、それによって慢性疼痛における疼痛信号の増幅に寄与し得る高次構造における病的な順応(pathologic plasticity)及び感作(sensitization)への進展をもたらす、下流のシナプスへの疼痛信号の伝播を防止することは非常に重要であるように思われる。

【0155】

本実験において、局所末梢足底内注射は、くも膜下腔内注射に続いて観察されるものより2倍高い効果を誘発した。これらのデータは、末梢P2X3が媒介する機序の関与と一致する。

【0156】

上記の明細書に記載されている全ての公開資料は、参照により本明細書に組み込まれている。本発明の記載した方法及び系の様々な改変及び変形は、本発明の範囲及び精神から逸脱することなしに当業者には明らかであろう。本発明を特定の好ましい実施形態に関連して記載してきたが、特許請求された本発明は特定のこのような実施形態に過度に限定されると理解すべきである。実際に、化学、生物学又は関連する分野における当業者には明らかである本発明を行うための記載したモードの様々な修正は、下記の特許請求の範囲内であることが意図される。

10

【0157】

参考文献

Fabbretti E, Sokolova E, Masten L, D'Arco M, Fabbro A, Nistri A, Giniatullin R: **Identification of negative residues in the P2X3 ATP receptor ectodomain as structural determinants for desensitization and the Ca²⁺-sensing modulatory sites.** *J Biol Chem* 2004, **279**:53109-53115.

Gever JR, Cockayne DA, Dillon MP, Burnstock G, Ford AP: **Pharmacology of P2X channels.** *Pflugers Arch* 2006, **452**:513-537. 10

Gever JR, Soto R, Henningsen RA, Martin RS, Hackos DH, Panicker S, Rubas W, Oglesby IB, Dillon MP, Milla ME, Burnstock G, Ford AP: **AF-353, a novel, potent and orally bioavailable P2X3/P2X2/3 receptor antagonist.** *British journal of pharmacology* 2010, **160**: 1387-1398.

Grishin EV, Savchenko GA, Vassilevski AA, Korolkova YV, Boychuk YA, Viatchenko-Karpinski VY, Nadezhdin KD, Arseniev AS, Pluzhnikov KA, Kulyk VB, et al: **Novel peptide from spider venom inhibits P2X3 receptors and inflammatory pain.** *Ann Neurol*, **67**:680-683. 20

Jarvis MF, Burgard EC, McGaraughty S, Honore P, Lynch K, Brennan TJ, Subieta A, Van Biesen T, Cartmell J, Bianchi B, et al: **A-317491, a novel potent and selective non-nucleotide antagonist of P2X3 and P2X2/3 receptors, reduces chronic inflammatory and neuropathic pain in the rat.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002, **99**:17179-17184. 30

McDonald HA, Chu KL, Bianchi BR, McKenna DG, Briggs CA, Burgard EC, Lynch KJ, Faltynek C, Cartmell J, Jarvis MF: **Potent desensitization of human P2X3 receptors by diadenosine polyphosphates.** *Eur J Pharmacol* 2002, **435**:135-142.

McGaraughty S, Wismer CT, Zhu CZ, Mikusa J, Honore P, Chu KL, Lee CH, Faltynek CR, Jarvis MF: **Effects of A-317491, a novel and selective P2X3/P2X2/3 receptor antagonist, on neuropathic, inflammatory and chemogenic nociception following intrathecal and intraplantar administration.** *British journal of pharmacology* 2003, **140**: 1381-1388. 40

Melnik S, Wright M, Tanner JA, Tsintsadze T, Tsintsadze V, Miller AD, Lozovaya N: **Diadenosine polyphosphate analog controls postsynaptic excitation in CA3-CA1 synapses via a nitric oxide-dependent mechanism.** *J Pharmacol Exp Ther* 2006, **318**:579-588.

Simonetti M, Fabbro A, D'Arco M, Zweyer M, Nistri A, Giniatullin R, Fabbretti E: **Comparison of P2X and TRPV1 receptors in ganglia or primary culture of trigeminal neurons and their modulation by NGF or serotonin.** *Mol Pain* 2006, **2**:11.

Sokolova E, Nistri A, Giniatullin R: **Negative cross talk between anionic GABA_A and cationic P2X ionotropic receptors of rat dorsal root ganglion neurons.** *J Neurosci* 2001, **21**:4958-4968.

10

Sokolova E, Skorinkin A, Fabbretti E, Masten L, Nistri A, Giniatullin R: **Agonist-dependence of recovery from desensitization of P2X(3) receptors provides a novel and sensitive approach for their rapid up or downregulation.** *Br J Pharmacol* 2004, **141**:1048-1058.

Wildman SS, Brown SG, King BF, Burnstock G: **Selectivity of diadenosine polyphosphates for rat P2X receptor subunits.** *Eur J Pharmacol* 1999, **367**:119-123.

20

Wright M, Tanner JA, Miller AD: **Quantitative single-step purification of dinucleoside polyphosphates.** *Anal Biochem* 2003, **316**:135-138.

Wright M, Miller AD: **Synthesis of novel fluorescent-labelled dinucleoside polyphosphates.** *Bioorg Med Chem Lett* 2004, **14**:2813-2816.

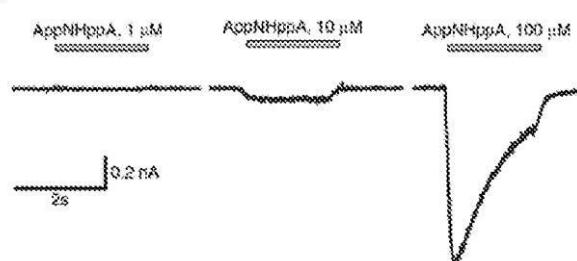
Wright M, Miller AD: **Novel fluorescent labelled affinity probes for diadenosine-5',5'''-P₁,P₄-tetraphosphate (Ap4A)-binding studies.** *Bioorg Med Chem Lett* 2006, **16**:943-948.

30

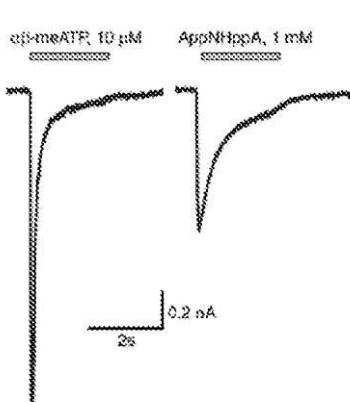
Yegutkin GG: **Nucleotide- and nucleoside-converting ectoenzymes: Important modulators of purinergic signalling cascade.** *Biochim Biophys Acta* 2008, **1783**:673-694.

【図1】

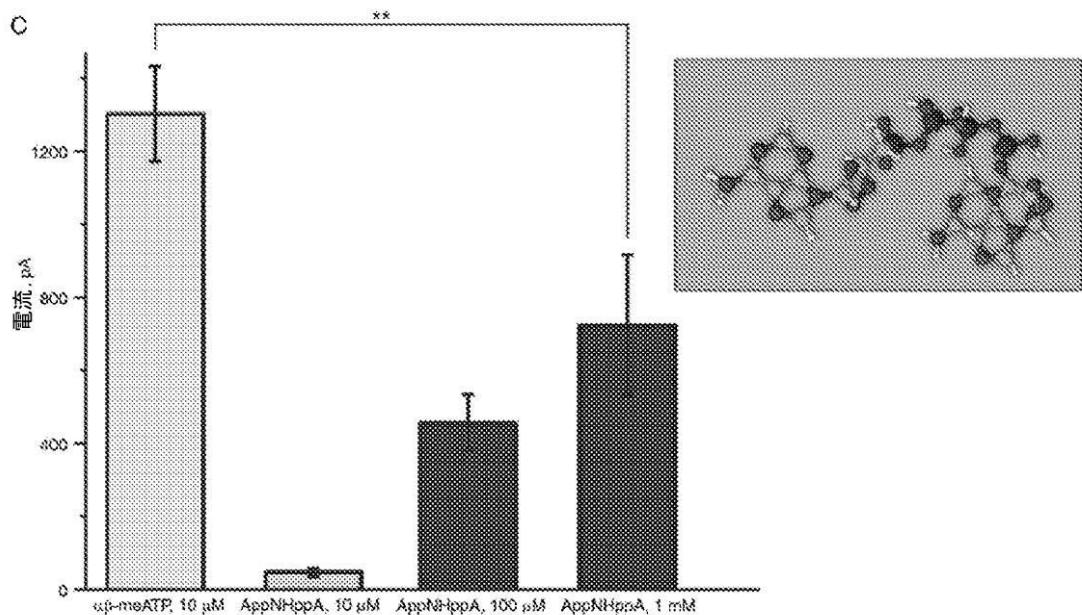
A



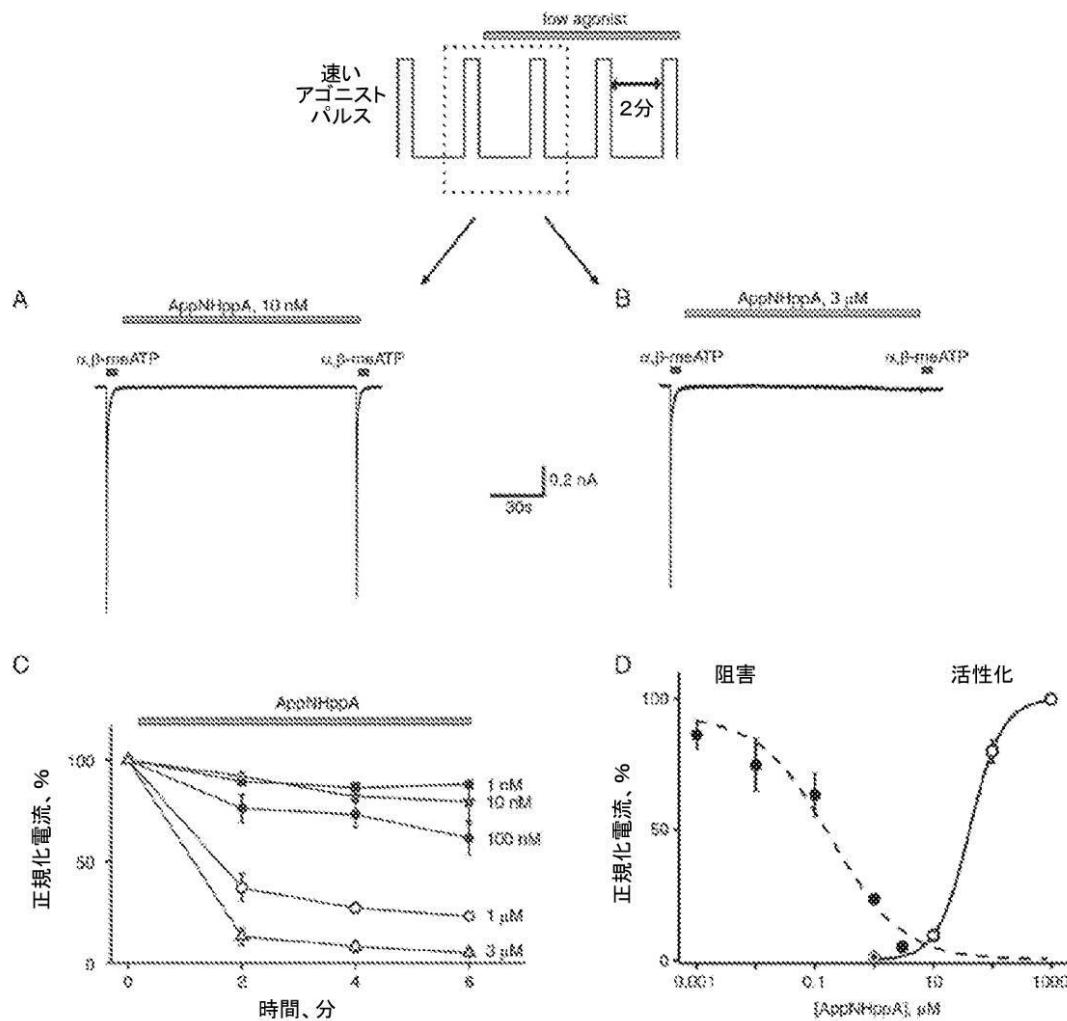
B



C

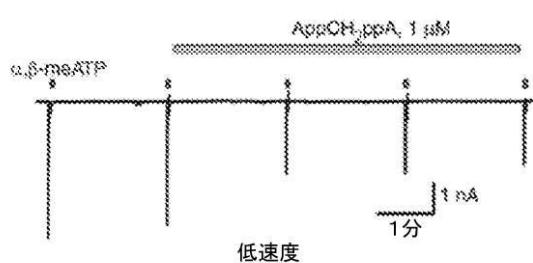


【図2】

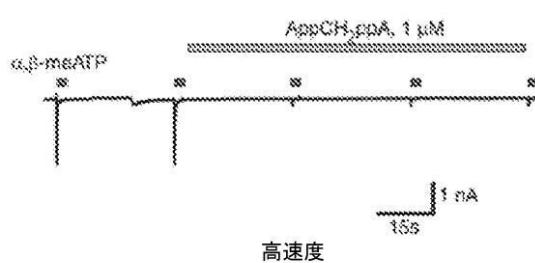


【図3】

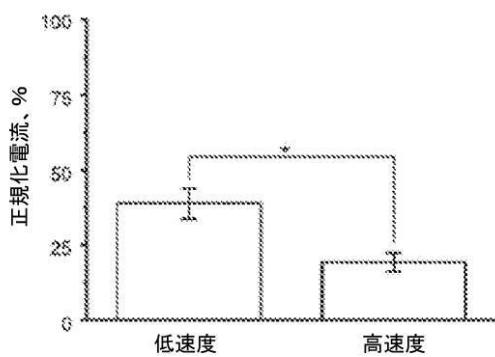
A



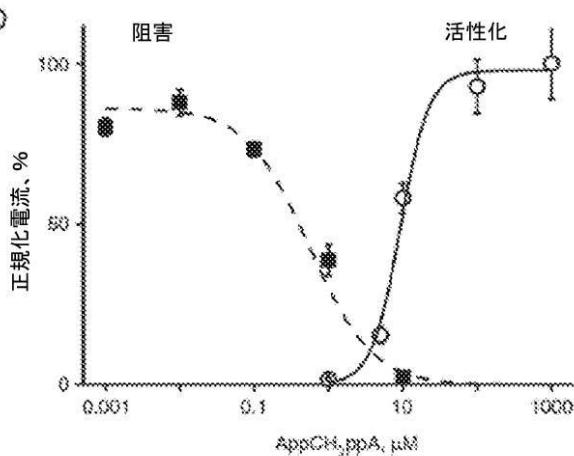
B



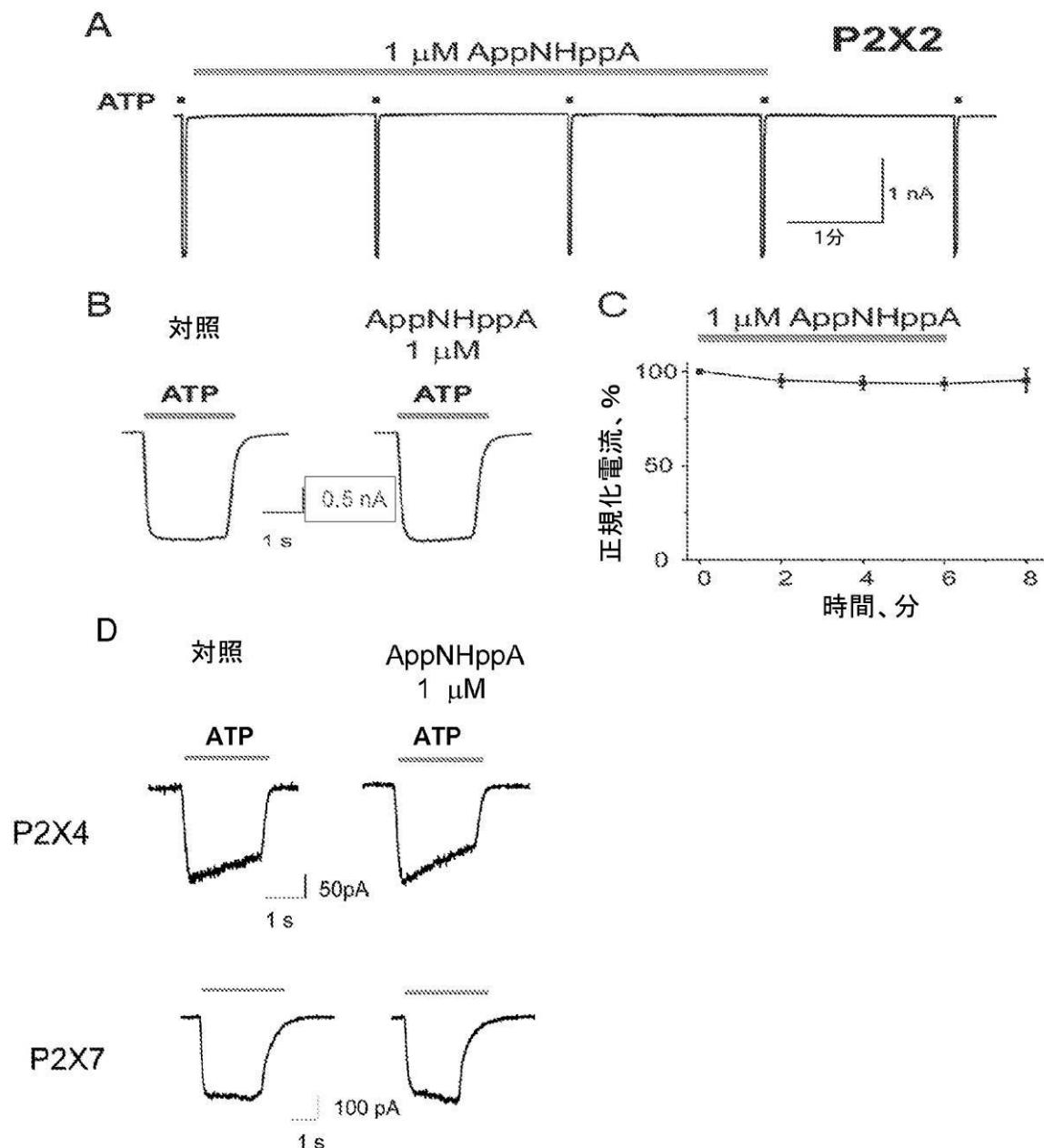
C



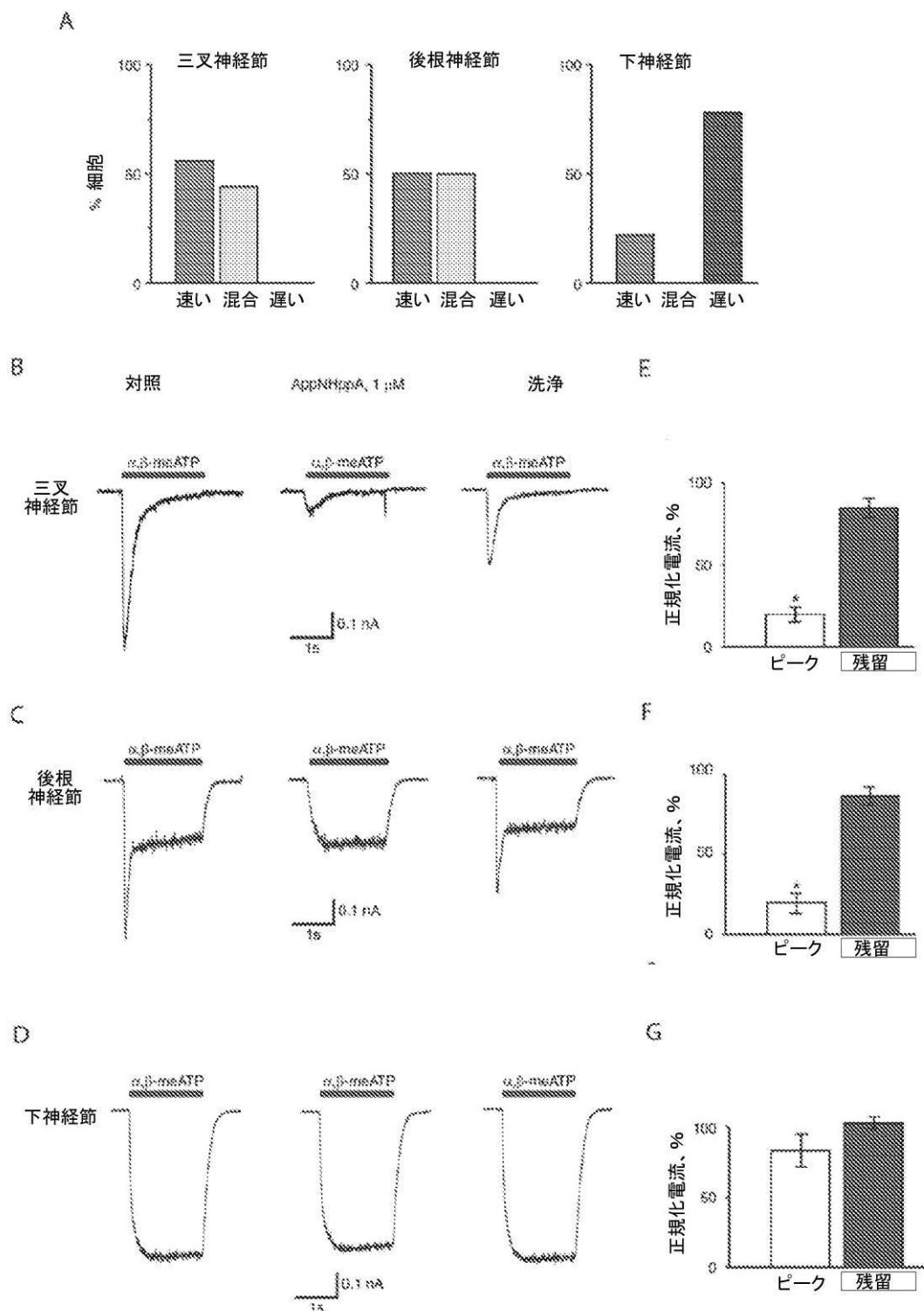
D



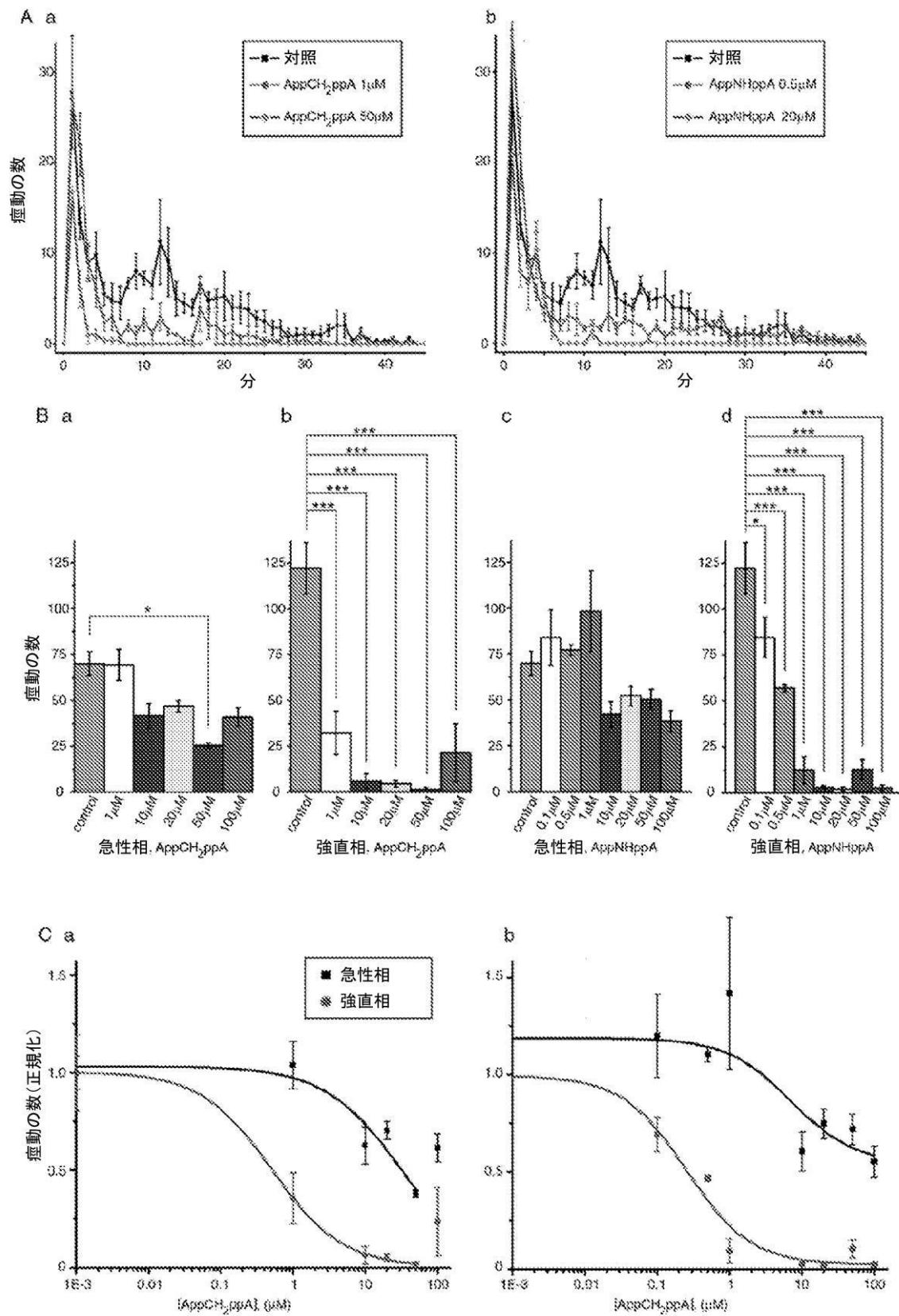
【図4】



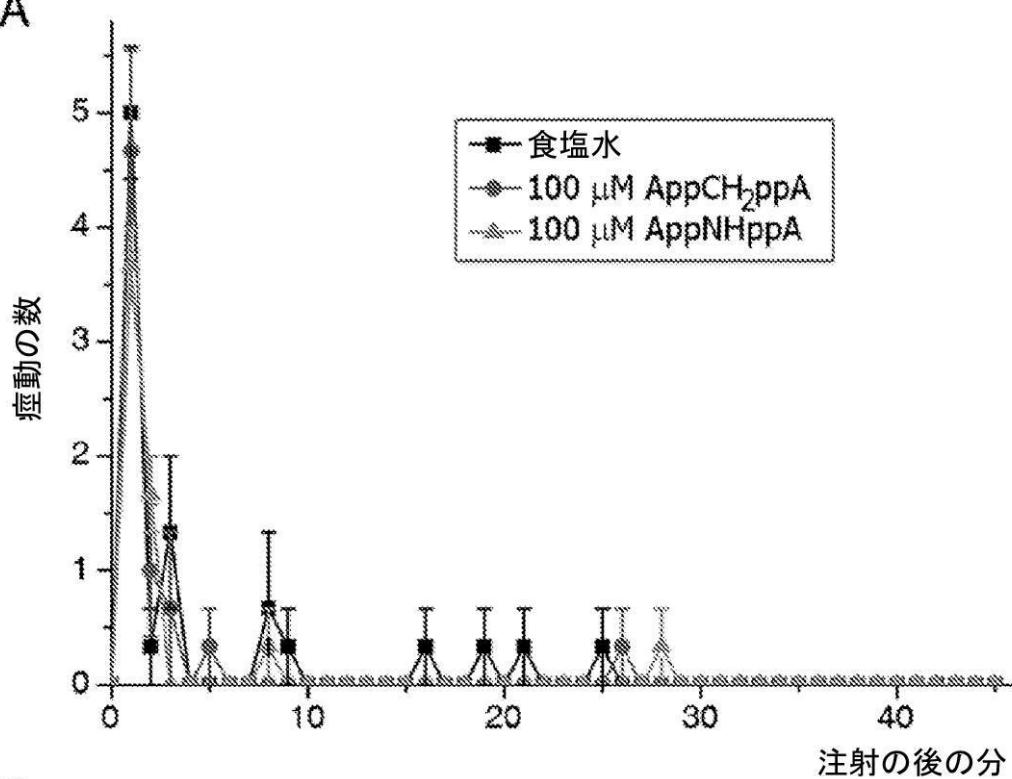
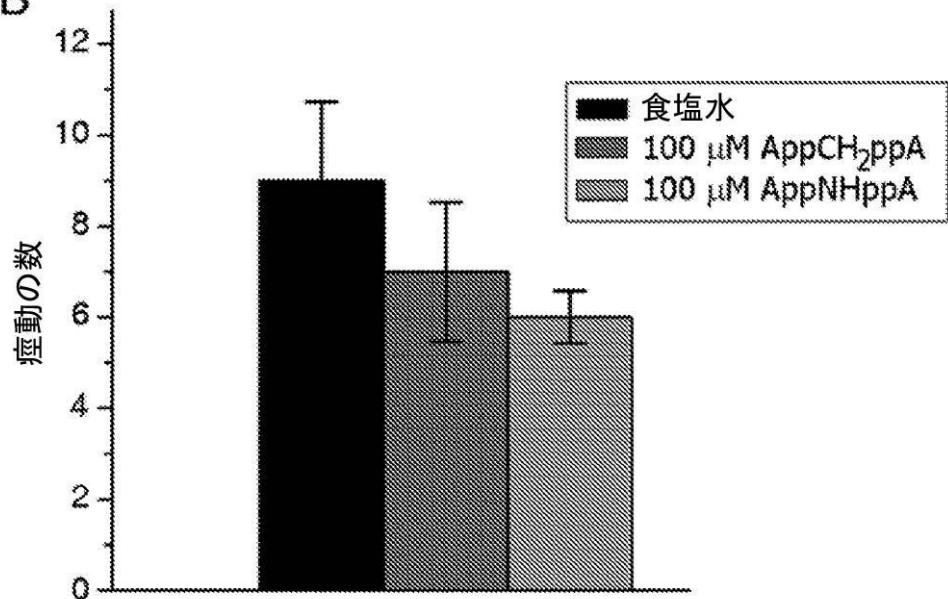
【図5】



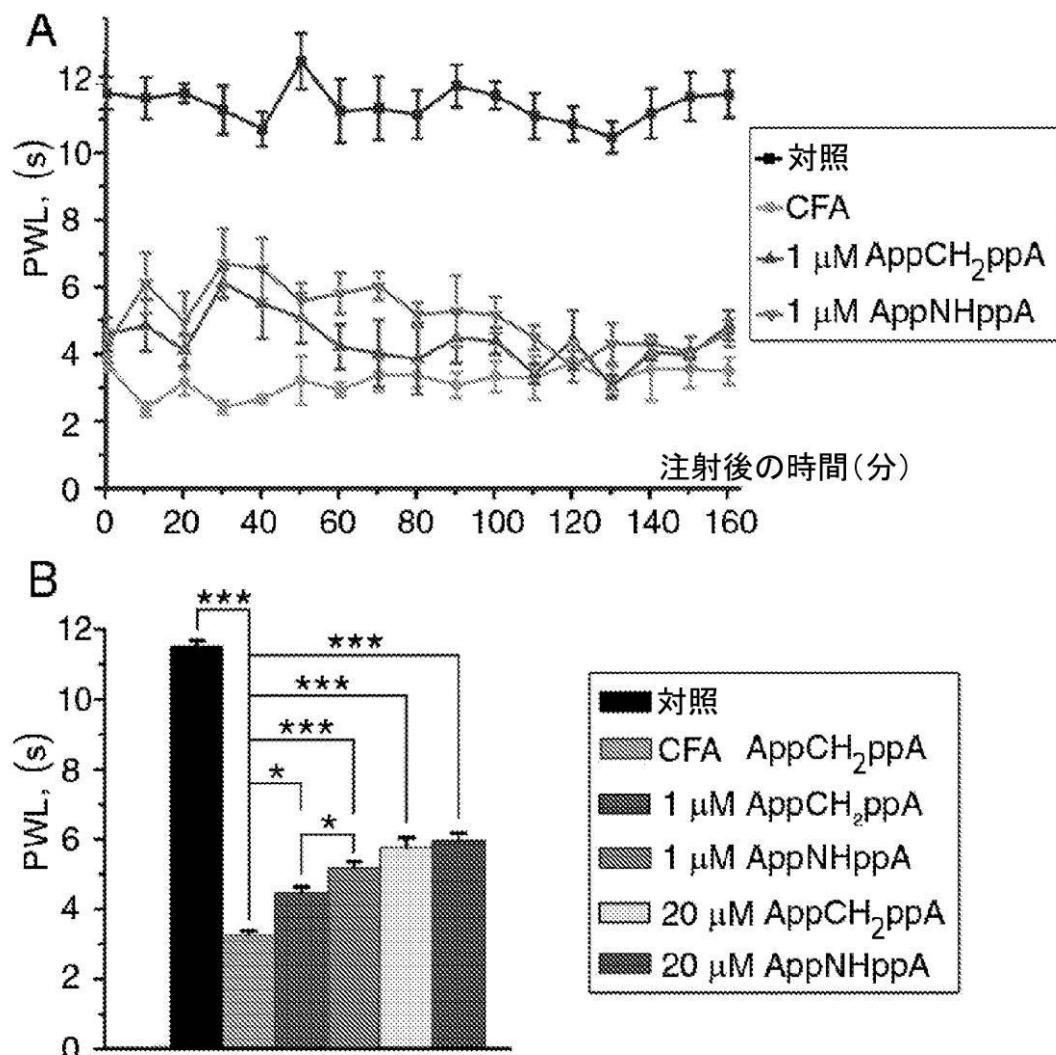
【図6】



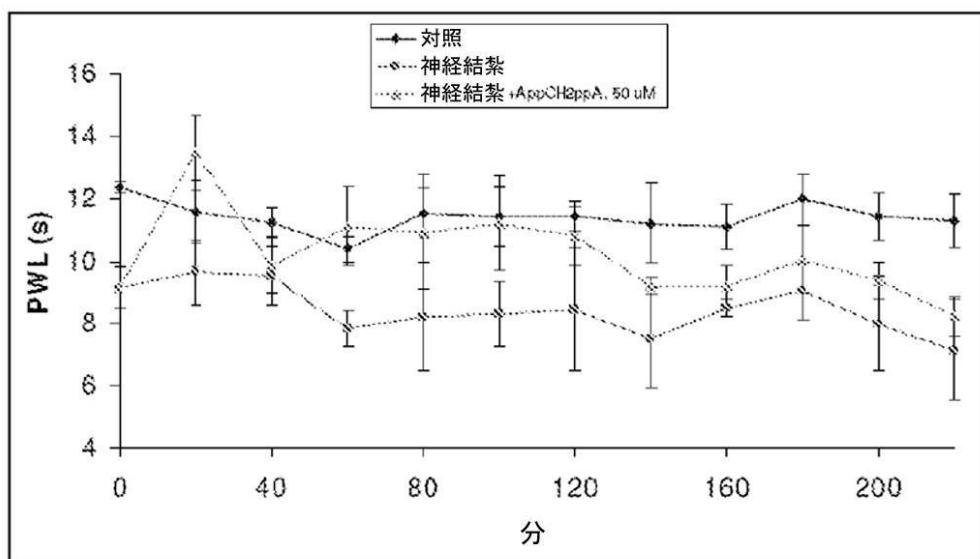
【図7】

A**B**

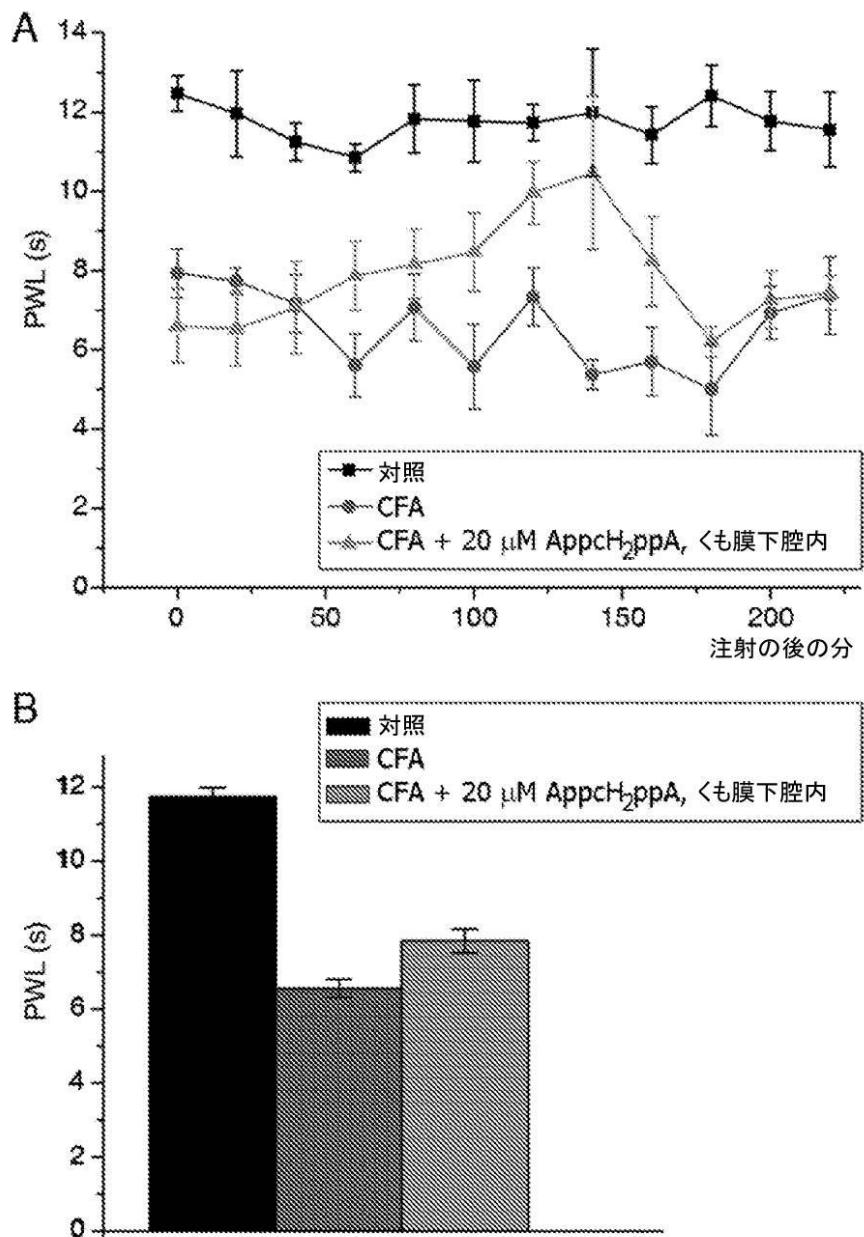
【図8】



【図9】



【図10】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/GB2013/051377

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K31/7084 A61P29/02 ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
--

EPO-Internal, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT
--

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>WO 2006/082397 A1 (IC VEC LTD [GB]; MILLER ANDREW DAVID [GB]; WRIGHT MICHAEL [GB]; TANNER) 10 August 2006 (2006-08-10) Preferred dinucleotide polyphosphate compounds as defined in claims 1-19 (e.g. AppCH2ppA), and their use as anti-nociceptive agents in the treatment of pain, e.g. cancer pain, dental pain, pain associated to rheumatoid arthritis, osteoarthritis, osteoporosis: see the compounds in pages 5-8, in the claims and in figures 1-3, and see the treatments disclosed in pages 9-10, section "pain" and in experiment 15, fig.17-18, pages 25-26.</p> <p>-----</p> <p>-/-</p>	1-41

<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.	<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
--	--

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier application or patent but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
---	--

21 June 2013	02/07/2013
--------------	------------

Name and mailing address of the IBA/	Authorized officer
--------------------------------------	--------------------

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Veronese, Andrea
--	------------------

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/GB2013/051377

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>N. Voitenko: "Antinociceptoc effects of non-hydrolyzable diadenosine polyphosphate analogues", , 1 January 2010 (2010-01-01), page D60, XP55067348, Retrieved from the Internet: URL:http://fens2010.neurosciences.asso.fr/abstracts/rpdf1/a020_21.pdf [retrieved on 2013-06-19] Non-hydrolysable diadenosine polyphosphates (AppCH2ppA and AppNhppA, diolAppCH2ppA, Appch2ppG, AppNhppU), strongly inhibit the P2X3 receptor and produce antinociceptive effects in an animal model for pain</p> <p>-----</p>	1-21,31, 33,35, 36,41
X	<p>EP 1 348 466 A2 (INSPIRE PHARMACEUTICALS INC [US]) 1 October 2003 (2003-10-01) Dinucleotide polyphosphate compounds as defined in the claims and their use as anti-nociceptive agents in the treatment of pain, e.g. acute, visceral, inflammatory and neuropathic pain: see the compounds of the general Markush formula Ia and Ic, the specific compounds disclosed in paragraphs 20-24, and see the results of examples 1-4. See activity on the P2X3 receptors in paragraph [0008]</p> <p>-----</p>	1-11, 20-41
X	<p>WO 00/30629 A2 (INSPIRE PHARMACEUTICALS INC [US]; PENDERGAST WILLIAM [US]; SHAVER SAMM) 2 June 2000 (2000-06-02) See the compounds of formula II, IIa, IIb and their use in the treatment of vulvar pain in claim 10</p> <p>-----</p>	1-21,23, 31,32, 34-36,41
X	<p>FR 2 842 424 A1 (UNIV PARIS 7 DENIS DIDEROT [FR]; UNIV HOSPITAL HAMBURG EPPENDOR [DE]) 23 January 2004 (2004-01-23) See the dinucleotide polyphosphate having Registry Number: 53-84-9, 1851-07-6, 5624-35-1, 38806-38-1 and their use as analgesic agents for the treatment of pain (see e.g. claim 5)</p> <p>-----</p>	1-3,20, 21
X	<p>WO 03/039473 A2 (INSPIRE PHARMACEUTICALS INC [US]; PETERSON WARD M [US]; YERXA BENJAMIN) 15 May 2003 (2003-05-15) See the compounds of claim 13 (Formula (III)) and of the examples and see their activity in the treatment of facial pain (see page 26, last three lines and table 3)</p> <p>-----</p> <p>-/-</p>	1-11, 20-41

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/GB2013/051377

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>LOUIS-DAVID CANTIN ET AL: "Discovery of P2X3 selective antagonists for the treatment of chronic pain", BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, PERGAMON, ELSEVIER SCIENCE, GB, vol. 22, no. 7, 30 January 2012 (2012-01-30), pages 2565-2571, XP028471766, ISSN: 0960-894X, DOI: 10.1016/J.BMCL.2012.01.124 [retrieved on 2012-02-09]</p> <p>P2X3 antagonists proposed for use in the treatment of chronic pain: see abstract, figure 1, and figure 2a, analgesic effects</p> <p>-----</p>	1-41
Y	<p>FORD ANTHONY P: "In pursuit of P2X3 antagonists: novel therapeutics for chronic pain and afferent sensitization.", PURINERGIC SIGNALLING FEB 2012, vol. 8, no. Suppl 1, February 2012 (2012-02), pages 3-26, XP002699076, ISSN: 1573-9546</p> <p>P2X3 antagonists for use in the treatment of chronic pain</p> <p>-----</p>	1-41
Y	<p>MCDONALD HEATH A ET AL: "Potent desensitization of human P2X3 receptors by diadenosine polyphosphates.", EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY 25 JAN 2002, vol. 435, no. 2-3, 25 January 2002 (2002-01-25), pages 135-142, XP002699077, ISSN: 0014-2999</p> <p>Diadenosine polyphosphates (including Ap4A) are potent inhibitors of the P2X3 receptor: see abstract and results</p> <p>-----</p>	1-41

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/GB2013/051377

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2006082397	A1	10-08-2006	AU 2006210715 A1 CA 2596959 A1 CN 101180066 A EP 1846004 A1 JP 2008528665 A US 2008319184 A1 WO 2006082397 A1	10-08-2006 10-08-2006 14-05-2008 24-10-2007 31-07-2008 25-12-2008 10-08-2006
EP 1348466	A2	01-10-2003	EP 1348466 A2 JP 2003238418 A US 2003158147 A1	01-10-2003 27-08-2003 21-08-2003
WO 0030629	A2	02-06-2000	AU 764452 B2 AU 1741200 A BR 9915636 A CA 2352262 A1 CN 1348378 A EP 1133304 A2 ID 29801 A JP 2003524609 A NO 20012555 A US 2002013289 A1 US 2008214490 A1 WO 0030629 A2 ZA 200104310 A	21-08-2003 13-06-2000 24-12-2002 02-06-2000 08-05-2002 19-09-2001 11-10-2001 19-08-2003 24-07-2001 31-01-2002 04-09-2008 02-06-2000 24-10-2002
FR 2842424	A1	23-01-2004	AU 2003269044 A1 FR 2842424 A1 WO 2004009097 A2	09-02-2004 23-01-2004 29-01-2004
WO 03039473	A2	15-05-2003	AR 037263 A1 BR 0213897 A CA 2465894 A1 CN 1612739 A EP 1450820 A2 JP 2005532254 A KR 20050043761 A MX PA04004215 A US 2003125299 A1 WO 03039473 A2	03-11-2004 23-05-2006 15-05-2003 04-05-2005 01-09-2004 27-10-2005 11-05-2005 08-07-2004 03-07-2003 15-05-2003

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 15/06 (2006.01)	A 6 1 P 15/06	
A 6 1 P 15/00 (2006.01)	A 6 1 P 15/00	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC

(72)発明者 プルナシェブ、ナイル

フランス国、マルセイユ、ルートゥ デ リュミニー - ベペ3 163、マルセイユ アメナ
ジュマン、ウニヴェルシテ デ ラ メディテラネ、アンメド - アンセルム ユ 901

(72)発明者 ジニアトゥリン、ラシッド

フィンランド国、クオピオ、ノイラニーメンティー 2、ピー、オー、ボックス 1627、ユニ
ヴァーシティ オブ イースタン フィンランド、エイアイブイアイ、ニューロバイオロジー デ
パートメント

F ターム(参考) 4C057 BB02 DD03 MM05 MM07

4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 MA66 ZA08 ZA67 ZA81 ZC02