(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第4828525号
(P4828525)
(45)発行日　平成23年11月30日(2011.11.30)　(24)登録日　平成23年9月22日(2011.9.22)

(51)Int.Cl.		F I		
C07C 335/12	(2006.01)	C07C	335/12	CSP
A61K 31/17	(2006.01)	A61K	31/17	
A61P 43/00	(2006.01)	A61P	43/00	101
A61P 29/00	(2006.01)	A61P	29/00	

請求項の数 9　(全 12 頁)

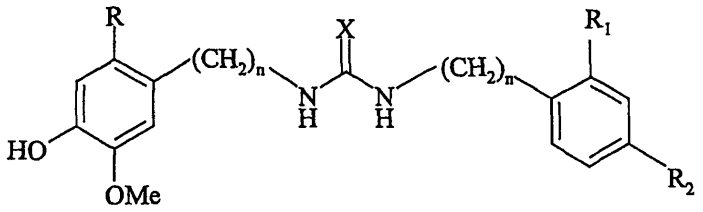
(21)出願番号　特願2007-515879(P2007-515879)
(86)(22)出願日　平成17年6月16日(2005.6.16)
(65)公表番号　特表2008-502634(P2008-502634A)
(43)公表日　平成20年1月31日(2008.1.31)
(86)国際出願番号　PCT/EP2005/006471
(87)国際公開番号　WO2005/123666
(87)国際公開日　平成17年12月29日(2005.12.29)
審査請求日　平成20年6月12日(2008.6.12)
(31)優先権主張番号　MI2004A001231
(32)優先日　平成16年6月18日(2004.6.18)
(33)優先権主張国　イタリア(IT)

(73)特許権者　506416846
ファルメステ・エス．アール．エル．
ＰＨＡＲＭＥＳＴＥ　Ｓ．Ｒ．Ｌ．
イタリア国、イ－４４１００　フェッラーラ、ヴィア・サーラガト　１
(74)代理人　100078662
弁理士　津国　肇
(74)代理人　100113653
弁理士　東田　幸四郎
(74)代理人　100116919
弁理士　齋藤　房幸

最終頁に続く

(54)【発明の名称】バニロイド受容体拮抗薬

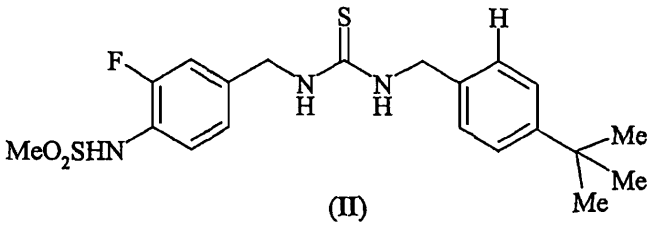
(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
式（Ｉ）
【化１】



(I)

（式中、
Ｒは、フッ素、塩素、臭素及びヨウ素から選択されるハロゲンであり、
$Ｒ_{1}$は、Ｈであり、
$Ｒ_{2}$は、ｔｅｒｔ－ブチル又はトリフルオロメチルであり、
ｎは、１であり、
Ｘは、Ｓである）
の化合物。
【請求項２】

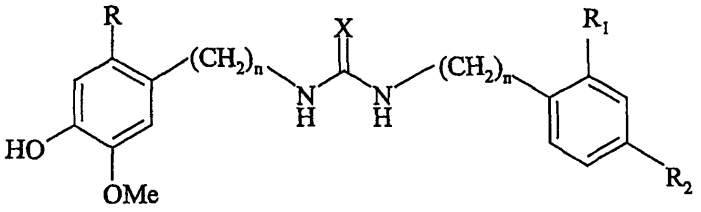
R_2がｔｅｒｔ－ブチルである、請求項１に記載の化合物。
【請求項３】
R_2がトリフルオロメチルである、請求項１に記載の化合物。
【請求項４】
Ｒがヨウ素である、請求項２又は３に記載の化合物。
【請求項５】
Ｒが塩素である、請求項２に記載の化合物。
【請求項６】
医薬品として使用するための、請求項１～５のいずれか一項に定義されている式（Ｉ）の化合物。
【請求項７】
適切な賦形剤及び／又はビヒクルとの混合物中に、請求項１～５のいずれか一項に定義されている式（Ｉ）の化合物を含有するバニロイド受容体拮抗薬。
【請求項８】
炎症状態の治療用の医薬組成物を製造するための、請求項１～５のいずれか一項に定義されている式（Ｉ）の化合物の使用。
【請求項９】
適切な賦形剤及び／又はビヒクルとの混合物中に、請求項１～５のいずれか一項に定義されている式（Ｉ）の化合物を含有する医薬組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明はバニロイド受容体の拮抗薬に関し、より詳細には、バニロイドＴＲＰＶ１受容体に拮抗するベンジルアミド類に関するものである。
【背景技術】
【０００２】
最近の実験的証拠は、炎症状態の経過中、バニロイドＴＲＰＶ１受容体（一過性受容体電位チャネル）の発現が上昇することを例証した。それは、そのような状態、例えば、慢性疼痛又は炎症性痛覚過敏の処置に、バニロイド受容体拮抗薬が有用であり得ることを示唆することに至らせた。
【０００３】
多数のバニロイド受容体拮抗薬が公知であり、その数種はカプサイシンから誘導され、カプサイシノイド拮抗薬と称されている。特に、Sandozは、式（ＩＩ）
【０００４】
【化２】



(II)

【０００５】
のチオ尿素を開示した（Wrigglesworth, R.et al, J. Med. Chem. 1996, 39, 4941-4951）。
【０００６】
発明の開示
本発明は、式（Ｉ）
【０００７】

【化３】



(I)

【０００８】

（式中、
Ｒは、ハロゲンであり、
Ｒ$_1$は、Ｈ、ハロゲン、メトキシ、エトキシ、トリフルオロメチル、ニトロ、アミノであり、
Ｒ$_2$は、ｔｅｒｔ－ブチル又はトリフルオロメチルであり、
ｎは、０、１及び２から選択される整数であり、
Ｘは、Ｏ又はＳである）
の化合物に関するものである。

【０００９】

用語「ハロゲン」は、フッ素、塩素、臭素及びヨウ素から選択されるハロゲンを示す。

【００１０】

式（Ｉ）の化合物の好ましい第一の群は、
Ｘがｓであり、
ｎが１であり、
Ｒ$_2$がｔｅｒｔ－ブチルであるものである。

【００１１】

中でも、特に好ましくは、Ｒがヨウ素であり、Ｒ$_1$が水素である化合物（Ｉａ）、及びＲが塩素であり、Ｒ$_1$が水素である化合物（Ｉｂ）である。

【００１２】

化合物の好ましい第二の群は、
Ｘがｓであり、
ｎが１であり、
Ｒ$_2$がトリフルオロメチルであるものである。

【００１３】

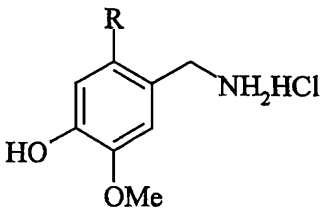
中でも、特に好ましくは、Ｒがヨウ素であり、Ｒ$_1$が水素である式の化合物（Ｉｃ）である。

【００１４】

式（Ｉ）の化合物は、例えば、式（ＩＩＩ）

【００１５】

【化４】

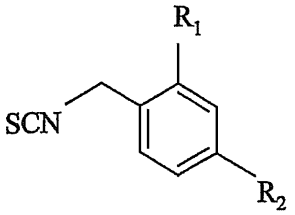


(III)

【００１６】

（式中、Ｒは、上記に定義したとおりであり、ヒドロキシ基は、アセチル、ベンジル又は

ベンゾイル基により保護される）
の化合物を、式（ＩＶ）
【００１７】
【化５】



(IV)

【００１８】
（式中、R_1及びR_2は、上記に定義したとおりである）
の化合物と反応させることのような、従来の方法により製造され得る。
【００１９】
式（Ｉ）の化合物は、バニロイドＴＲＰＶ１受容体を阻害することができ、例えば、慢性疼痛及び炎症性痛覚過敏のような炎症状態の処置のための医薬組成物の製造に使用することができる。これらの製剤は、従来の方法、及び賦形剤、例えば、RemingtonのPharmaceutical Sciences Handbook, XVII ed. Mack Pub., N.Y., U.S.A.に開示されているようなものによって、製造することができる。
【００２０】
以下、本発明を下記の実施例並びにスキーム１及び２により説明する。
【００２１】
実施例
反応をシリカゲル上の薄層クロマトグラフィー（ＴＬＣ）（プレコートされたF_{245} Ｍｅｒｃｋプレート）により、規定どおりに監視し、生成物をヨウ素又は過マンガン酸カリウム溶液で視覚化した。^{1}Ｈ　ＮＭＲスペクトルを、$CDCl_3$、CF_3COOD又はＤＭＳＯ－d_6中で、Ｂｒｕｋｅｒ　ＡＣ　２００分光計を用いて記録した。ピーク位置を、内部基準としてのテトラメチルシランから、低磁場への百万分の一（δ）にて与え、Ｊ値は、Ｈｚにて与える。ＩＲスペクトルを、ＫＢｒ　Ｗａｆｅｒ法を使用して、Ｐｙｅ　Ｕｎｉｃａｍ　ＳＰ　３００分光計上で記録した。質量スペクトルを、Ｓｈｉｍａｄｚｕ　ＱＰ５０５０　ＤＩ　５０分光計により得た。表現“軽油エーテル”は、４０～６０℃で沸騰する石油留分を指す。融点（Ｍ．ｐ．）は、Ｂｕｃｈｉ－Ｔｏｔｔｏｌｉ機器上で測定され、修正されていない。クロマトグラフィーは、Ｍｅｒｃｋ６０～２００メッシュのシリカゲルを使用して行なわれた。合成され化合物は、割り当て構造と一致する^{1}Ｈ　ＮＭＲスペクトルを示した。元素分析は、Ｃ、Ｈ、及びＮの理論値の±０．４％以内であった。
【００２２】
実施例１
１－（４－ｔｅｒｔ－ブチル）－３－（２－ヨード－４－ヒドロキシ－５－メトキシベンジル）チオ尿素　Ｉａ
１．１　４－アセチルオキシ－３－メトキシ－Ｎ－アセチル－ベンジルアミンの合成
無水酢酸（１mL、１０．５mmol）を塩酸　４－ヒドロキシ－３－メトキシ－ベンジルアミン（０．５g、２．６３mmol）のピリジン（５mL）溶液に加え、混合物を室温で６時間撹拌した。溶媒を減圧下で除去し、残留物を水（１００mL）中に懸濁させた。水層を酢酸エチル（３×２０mL）で抽出して、一緒にした有機層を乾燥し（Na_2SO_4）、減圧下で蒸発させて、表題化合物を白色固体（０．４５g、収率７５％）として得た。
【００２３】

【表１】

^{1}H-NMR($CDCl_3$) δ 2.01 (s, 3H, CH_3), 2.31 (s, 3H, CH_3), 3.81 (s, 3H, OCH_3), 4.38 (d, 2H, J=6, CH_2), 5.90 (bs, 1H, NH), 6.90 (m, 3H, 芳香族).

MS: *m/z* 238.1 (M^+ $C_{12}H_{15}NO_4$).

【００２４】

１．２　２－ヨード－４－アセチルオキシ－５－メトキシ－Ｎ－アセチルベンジルアミンの合成

実施例１．１のジアセチル誘導体および触媒量のトリフルオロメタンスルホン酸（５～６滴）を、IPy_2BF_4[1,2]（０．６９g、６．９mmol）のCH_2Cl_2（４０mL）溶液に加えた。得られた混合物を室温で５時間撹拌し、ついで、混合物が完全に透明になるまで、１０%チオ硫酸ナトリウム水溶液を加えた。水層をCH_2Cl_2（３×２５mL）で抽出して、有機層を乾燥し（Na_2SO_4）、真空下で蒸発させた。残留物をCH_2Cl_2／Et_2Oの混合物から再結晶させて、表題化合物を淡黄色固体（０．３８g、収率６５%）として得た。

【００２５】

【表２】

^{1}H-NMR($CDCl_3$) δ 2.06 (s, 3H, CH_3), 2.33 (s, 3H, CH_3), 3.82 (s, 3H, OCH_3), 4.41 (d, 2H, J=5.6, CH_2), 6.0 (t, 1H, NH), 7.04 (s, 1H, 芳香族), 7.44 (s, 1H, 芳香族).

【００２６】

二次元ＮＯＥＳＹ（$CDCl_3$）：７．４４ppmの一重項と２．３３ppmの一重項との間のカップリングは、ヨウ素が芳香環の２位に存在することを裏付ける。

【００２７】

【表３】

MS: *m/z* 364 (M^+ $C_{12}H_{14}INO_4$).

【００２８】

１．３　塩酸　２－ヨード－４－ヒドロキシ－５－メトキシ－ベンジルアミンの合成

【００２９】

２－ヨード－４－アセチルオキシ－５－メトキシ－Ｎ－アセチルベンジルアミン（０．１g、０．２７mmol）の無水エタノール（５mL）溶液に、３７%塩酸（０．２mL）を加えて、混合物を１２時間還流した。冷却した後、溶媒を減圧下で蒸発させ、残留物を乾燥アセトンから再結晶させて、表題化合物を淡黄色固体として、定量的収率にて得た。

【００３０】

【表４】

^{1}H NMR(DMSO-d_6) δ 3.80 (s, 3H, OCH_3), 3.97 (m, 2H, CH_2), 7.21 (s, 1H, 芳香族), 7.29 (s, 1H, 芳香族), 8.46 (bs, 3H, NH_3^+), 9.38 (bs, 1H, OH).

融点: >300°C.

MS: *m/z* 315.9 (M^+ $C_8H_{11}ClINO_2$).

【００３１】
１．４　１－（４－ｔｅｒｔ－ブチル）－３－（２－ヨード－４－ヒドロキシ－５－メトキシベンジル）チオ尿素　Ｉａの合成
試薬：（ｉ）４－ｔｅｒｔ－ブチルベンジルイソチオシアナート[3]、ＴＥＡ、ＤＭＦ、室温
ＴＥＡ（０．９５mmol、０．１３mL）及び４－ｔｅｒｔ－ブチルイソチオシアナート[3]（０．４７mmol、０．1g）を、塩酸　２－ヨード－４－ヒドロキシ－５－メトキシベンジルアミン（０．１５g、０．４７mmol）の乾燥ＤＭＦ（１０mL）中の懸濁液に加えた。混合物を室温で２０時間撹拌し、残留物に、水（３０mL）を加えた。水層を酢酸エチル（３×２０mL）で抽出し、一緒にした有機層を乾燥（Na_2SO_4）した後、減圧下で蒸発させた。残留物をフラッシュクロマトグラフィー（１：１　酢酸エチル／軽油）で精製して、Ｉａを白色固体（６０mg、収率３２％）として得た。
【００３２】
【表５】

^{1}H NMR(DMSO-d_6) δ 1.26 (s, 9H, *tert*-ブチル), 3.67 (s, 3H, OCH_3), 4.50 (d, 2H, J=4, CH_2), 4.62 (d, 2H, J=4.2, CH_2), 6.90 (bs, 1H, 芳香族), 7.18 (s, 1H, 芳香族), 7.22 (d, 2H, J=4.1, 芳香族), 7.33 (d, 2H, J=4.2, 芳香族), 7.70 (bs, 1H, NH), 7.91 (bs, 1H, NH), 9.3 (s, 1H, OH).

IR (KBr) cm^{-1}: 1547 (C=S).

融点: 194-5°C.

MS: *m/z* 485.4 (M^+ $C_{20}H_{25}IN_2O_2S$).

分析 C, H, N, O ($C_{20}H_{25}IN_2O_2S$):　計算値 C, 49.59; H, 5.20; N, 5.78; O, 6.61. 実測値 C, 49.45; H, 5.11; N, 5.62; O, 6.57.

【００３３】
実施例２
１－（４－ｔｅｒｔ－ブチル）－３－（２－クロロ－４－ヒドロキシ－５－メトキシベンジル）チオ尿素　Ｉｂの合成
２．１　２－クロロ－４－アセチルオキシ－５－メトキシ－Ｎ－アセチルベンジルアミン　２ｂの合成
Ｎ－クロロスクシンイミド（３．１５mmol、０．４２g）を、実施例１．１の４－アセチルオキシ－３－メトキシ－Ｎ－アセチル－ベンジルアミン（０．５g、２．１mmol）の乾燥ＤＭＦ（６mL）溶液に加え、混合物を０℃で３０分（３０’）、次いで、室温で１６時間撹拌した。
【００３４】
反応物（４０mL）に、水を加えた際、白色沈殿の形成が観察された。
固体を濾過により分離し、冷水（２×２０mL）で２回洗浄した後、P_2O_5上で乾燥して、表題化合物を白色固体（０．４５g、収率８３％）として得た。
【００３５】

【表６】

^{1}H NMR(DMSO-d_6) δ 1.89 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 3.76 (s, 3H, OCH_3),4.27 (d, 2H, CH_2, J=8), 7.09 (s, 1H, 芳香族), 7.25 (s, 1H, 芳香族), 8.35 (t, 1H, NH).

【００３６】

二次元ＮＯＥＳＹ（ＤＭＳＯ－ｄ$_6$）：２．２４ppmの一重項と７．２５ppmの一重項との間のカップリングは、塩素が芳香環の２位に存在することを裏付ける。

【００３７】

【表７】

MS: *m/z* 272.1 (M^+ $C_{12}H_{14}ClNO_4$).

【００３８】

２．２　塩酸　２－クロロ－４－ヒドロキシ－５－メトキシ－ベンジルアミン　３ｂの合成

２－クロロ－４－アセチルオキシ－５－メトキシ－Ｎ－アセチル－ベンジルアミン２ｂ（０．４５g、１．６６mmol）の無水エタノール（１５mL）溶液に、３７%塩酸（２．５mL）を加えて、混合物を１２時間還流した。反応物を冷却し、溶媒を減圧下で蒸発させた。残留物を乾燥アセトンから再結晶させて、表題化合物を白色結晶として、定量的収率で得た。

【００３９】

【表８】

^{1}H NMR(DMSO-d_6) δ 3.87 (s, 3H, OCH_3), 4.00 (m, 2H, CH_2), 6.91 (s, 1H, 芳香族), 7.32 (s, 1H, 芳香族), 8.46 (bs, 3H, NH_3^+), 9.80 (bs, 1H, OH).

融点：>300°C.

【００４０】

２．３　１－（４－ｔｅｒｔ－ブチル）－３－（２－クロロ－４－ヒドロキシ－５－メトキシベンジル）チオ尿素　Ｉｂの合成

ＴＥＡ（０．９８mmol、０．１４mL）及び４－ｔｅｒｔ－ブチルイソチオシアナート[3]（０．５４mmol、０．１１g）を、塩酸　２－クロロ－４－ヒドロキシ－５－メトキシベンジルアミン３ｂ（０．１１g、０．４９mmol）の乾燥ＤＭＦ（１０mL）中の懸濁液に加えた。混合物を室温で１８時間撹拌した後、溶媒を減圧下で除去し、残留物をフラッシュクロマトグラフィー（４：６酢酸エチル／軽油）により精製して、Ｉｂを淡黄色固体（６５mg、収率４２%）として得た。

【００４１】

【表９】

^{1}H NMR(DMSO-d_6) δ 1.25 (s, 9H, *tert*-ブチル), 3.68 (s, 3H, OCH_3), 4.59 (m, 4H, CH_2), 6.80 (s, 1H, 芳香族), 6.91 (s, 1H, 芳香族), 7.23 (d, 2H, J=9.8, 芳香族), 7.35 (d, 2H, J=9.7, 芳香族), 7.65 (bs, 1H, NH), 7.92 (bs, 1H, NH), 9.47 (s, 1H, OH).

IR (KBr) cm^{-1}: 1562 (C=S).

融点: 192-3°C

MS: *m/z* 393.3 (M^+ $C_{20}H_{25}ClN_2O_2S$).

分析 C, H, N, O ($C_{20}H_{25}ClN_2O_2S$): 計算値 C, 61.13; H, 6.41; N, 7.13; O, 8.14. 実測値 C, 61.04; H, 6.38; N, 7.04; O, 61.00.

【００４２】

実施例３

１－（４－トリフルオロメチル）－３－（２－ヨード－４－ヒドロキシ－５－メトキシベンジル）チオ尿素　Ｉｃの合成

ＴＥＡ（０．９５mmol、０．１３mL）及び４－トリフルオロメチルイソチオシアナート[3]（０．４７mmol、０．１０３g）を、塩酸　２－ヨード－４－ヒドロキシ－５－メトキシベンジルアミン（０．１５g、０．４７mmol）の乾燥ＤＭＦ（１０mL）中の懸濁液に加えた。混合物を室温で１８時間撹拌した後、溶媒を減圧下で除去し、残留物をフラッシュクロマトグラフィー（１：１酢酸エチル／軽油）により精製して、Ｉｃを淡黄色固体（９０mg、収率４０%）として得た。

【００４３】

【表１０】

^{1}H NMR(DMSO-d_6) δ 3.74 (s, 3H, OCH_3), 4.63 (bs, 2H, CH_2), 4.76 (d, 2H, J=4.2, CH_2), 6.96 (s, 1H, 芳香族), 7.10 (bs, 1H, NH), 7.22 (s, 1H, 芳香族), 7.36 (d, 2H, J=4.1, 芳香族), 7.48 (d, 2H, J=4.2, 芳香族), 7.70 (bs, 1H, NH), 8.01 (bs, 1H, OH).

IR (KBr) cm^{-1}: 1558 (C=S).

融点: 208-210°C

MS: *m/z* 497.2 (M^+ $C_{17}H_{16}F_3IN_2O_2S$).

分析 C, H, N, O ($C_{17}H_{16}F_3IN_2O_2S$): 計算値 C, 41.14; H, 3.25; N, 5.64; O, 6.45. 実測値 C, 40.98; H, 3.19; N, 5.57; O, 6.42.

【００４４】

生物学的アッセイ

新生及び成熟Sprague-Dawleyラット（～２５０g）を使用した（Harlam, Italy）。全実験は国のガイドラインに従い、また地方の倫理委員会により承認された。

【００４５】

培養ラット三叉神経節内のCa^{2+}蛍光測定

新生ラット（２日齢）に致命的な麻酔をかけ、断頭した。三叉神経節を取り出して、コラゲナーゼ／ディスパーゼ（1mg/mL、Ca^{2+}－Mg^{2+}フリーＰＢＳ中に溶解した）に移す前に、素早く、冷リン酸緩衝溶液（ＰＢＳ）中に配置し、３７℃で３５分間保った[4]。

【００４６】

酵素処理後、該神経節をCa^{2+}－Mg^{2+}フリーＰＢＳで２回濯ぎ、次いで、１０％ウシ胎児血清（ＦＢＳ、熱不活性化）、2mM Ｌ－グルタミン、１００μ/mペニシリン及び１００mg/mLストレプトマイシンを補充した、冷ＤＭＥＭ2mL中に配置した。次いで、該神経節を一連のシリンジ針（２３Ｇから２５Ｇ）に数回通過させることにより、個々の細胞に分離した。最後に、培地及び該神経節細胞を４０mmフィルターで篩いにかけて、破片を除去し、ＤＭＥＭ培地８mLで取り上げて、遠心分離にかけた（２００×ｇで５分間）。最終的な細胞ペレットをＤＭＥＭ培地（１００ng/mLマウス神経成長因子（マウス－ＮＧＦ－７Ｓ）及びサイトシン－β－Ｄ－アラビノ－フラノシドフリー塩基（ＡＲＡ－Ｃ）２．５mMを補充した）中に再懸濁させた。細胞をポリ－Ｌ－リシン（８．３mM）及びラミニン（５mM）を被覆した、２５mmガラス製カバースリップ上に配置して、５％CO_2及び空気で満たした加湿インキュベーター内にて、３７℃で２～５日間保持した。プレートした神経細胞に、以下の組成（mM）のCa^{2+}緩衝溶液（：$CaCl_2$ １．４、KCl ５．４、$MgSO_4$ ０．４、NaCl １３５、Ｄ－グルコース ５、ＢＳＡ０．１％とのＨＥＰＥＳ １０）中のＦｕｒａ－２－ＡＭ－エステル（３μM）を、ｐＨ７．４にて、３７℃で、４０分間負荷し、該Ca^{2+}緩衝溶液で２回洗浄し、Ｎｉｋｏｎ ｅｃｌｉｐｓｅ ＴＥ３００顕微鏡のステージ上のチャンバに移した。染料を、動的画像分析システム（Laboratory Automation 2.0, RCS, Florence, Italy）で記録したF_{340}／F_{380}比によって、相対的な〔Ca^{2+}〕$_i$変化を示す、３４０及び３８０nmで励起させてた。カプサイシン（０．１μM）及びイオノマイシン（５μM）をチャンバに加えた。Ｆｕｒａ－２－ＡＭ－エステルおよび決定濃度の遊離Ca^{2+}を含有する緩衝液を用いる較正曲線を使用して、F_{340}／F_{380}比から得られたデータを〔Ca^{2+}〕$_i$（nM）に変換した[5]。

【００４７】

Ｉａ、Ｉｂ及びＩｃの効果を、カプサイシン誘導によるカルシウム流動に対して試験した。サプサイシンのチャレンジに先だって、Ｉａ、Ｉｂ及びＩｃを１０分間インキュベートした。参照ＴＲＰＶ１拮抗薬、カプサゼピンの阻害効果も試験した。

【００４８】

ラットの拭い試験

ラットの結膜上に、カプサイシン０．１％（５０μL）を適用することにより、カプサイシンの刺激効果（拭い動作の誘導）を評価し、適用後６０秒の期間中、拭いの動作の回数を記録した。別の実験の一組では、ラットを、異なる投与量のＩａ及びＩｃで腹腔内処置して、カプサイシン誘導による拭いを研究した。

【００４９】

薬物及び溶解度

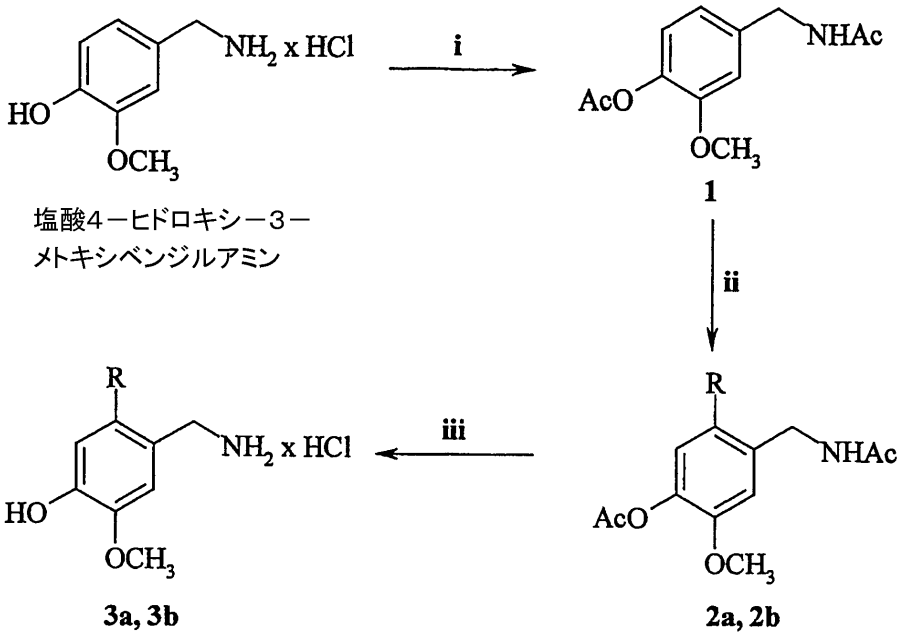
薬物及び試薬を、以下に示す会社より得た。Sigma, Italyより、カプサイシン、イオノマイシン、ラミニン、ポリ－Ｌ－リシン及びカプサゼピン；Roche Diagnostics, Italyより、マウスＮＧＦ－７Ｓ、及びコラゲナーゼ／ディスパーゼ；Gibco, Italyより、Dulbeccoの修飾イーグル培地（ＤＭＥＭ）、熱不活性化ウシ胎児血清（ＦＢＳ）、Ｌ－グルタミン（２００mM）、ペニシリン／ストレプトマイシン（１０，０００IU/mL±１０，０００UG/mL）、Ca^{2+}－Mg^{2+}フリーリン酸緩衝溶液（ＰＢＳ）；Societae、Italiana Chimici, Italyより、Ｆｕｒａ－２－ＡＭ－エステル。カプサイシン（１０mM）の保存液を、１００%エタノール中で調製した。Ｉａ（１００mM）、Ｉｂ（１００mM）、Ｉｃ（１００mM）、Ｆｕｒａ－２－ＡＭ－エステル（１００mM）及びイオノマイシン（１００mM）の母液を、ＤＭＳＯ中で調製した。次いで、Ｋｒｅｂｓ緩衝溶液で、適切な希釈を行った。

【００５０】
結果
Ｃａ$^{2+}$蛍光
大部分（９５%）のラット三叉神経細胞にて、カプサイシン（０．１μM）は、〔Ｃａ$^{2+}$〕$_i$を増大させ、従って、これらはＴＲＰＶ１発現神経細胞として同定された。阻害効果を生成したＩａ、Ｉｂ及びＩｃの閾値濃度は、それぞれ、０．１nM、０．１nM及び１nMであった。カプサイシンに対する応答の完全なる阻害は、０．１μM Ｉａ及び３μM Ｉｃにより得られた。カプサイシン誘起による〔Ｃａ$^{2+}$〕$_i$流動(mobilixation)を阻害する、Ｉａ、Ｉｂ及びＩｃのＩＣ$_{50}$値は、それぞれ、３．４８（１．４６～８．３０）nM、３．８６（２．１３～７．０）nM及び７０（５０～９８）nMであった。参照ＴＲＰＶ１拮抗薬、カプサゼピンは、２３４４（２０９０～２６５９）nMのＩＣ$_{50}$で、カプサイシン応答を阻害した。５mM ＫＣｌにより誘起された〔Ｃａ$^{2+}$〕$_i$流動は、Ｉａ、Ｉｂ及びＩｃの影響を受けなかった。結果を、平均（Ｍｅａｎ）及び９５%信頼限界として表す。

【００５１】
ラットの拭い試験
カプサイシンのチャレンジの１５分前の腹腔内Ｉａ及びＩｃは、ラットのカプサイシン誘導による拭いを有意に低下させた。ＥＤ$_{50}$値は、Ｉａについては、２．７６（２．０５～３．３５）mg/kgおよびＩｃについては、７．２０（６．３４～７．８９）mg/kgであった。

【００５２】
結論
インビトロ及びインビボ研究において、Ｉａ、Ｉｂ及びＩｃは、カプサゼピンの親和性よりも、有意に大きな親和性をもって、ＴＲＰＶ１活性化応答を阻害することができた。従って、これらは、疼痛処置用の医薬品の製造に、都合よく使用することができる。

【００５３】
スキーム１
【化６】

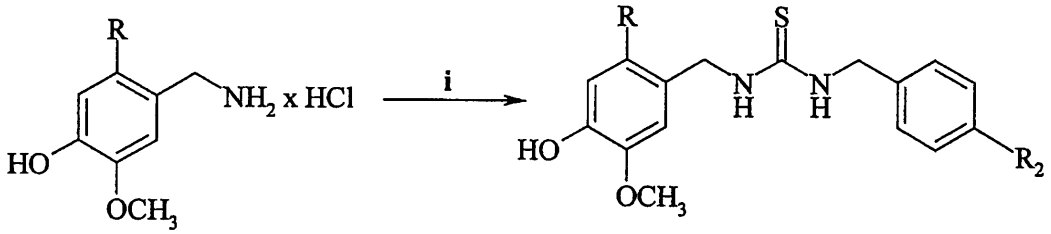


【００５４】
試薬：ｉ）無水酢酸、ピリジン、室温、ｉｉ）ＩＰｙ$_2$ＢＦ$_4$、ＣＦ$_3$ＳＯ$_3$Ｈ又はＮＣＳ、ＤＭＦ、ｉｉｉ）ＨＣｌ ３７%、ＥｔＯＨ、還流
ａ Ｒ＝Ｉ、ｂ Ｒ＝Ｃｌ

【００５５】

スキーム２　Ｉａ、Ｉｂ、Ｉｃの合成

【化７】



III　　Ia-c

【００５６】

試薬：ｉ）４－ｔｅｒｔ－ブチルイソチオシアナート又は４－トリフルオロメチルイソチオシアナート[3]、ＴＥＡ、ＤＭＦ、室温

Ｉａ：Ｒ＝Ｉ、R_2＝ｔｅｒｔ－ブチル

Ｉｂ：Ｒ＝Ｃｌ、R_2＝ｔｅｒｔ－ブチル

Ｉｃ：Ｒ＝Ｉ、R_2＝トリフルオロメチル

【００５７】

【表１１】

参考文献:

1. Barluenga, J.; Gonzales, J.M.; Garcia-Martin, M.A.; Campos, P.J.; Asensio, G. J. Org. Chem. 1993, 58, 2058-2060.

2. Barluenga, J.; Garcia-Martin, M.A.; Gonzales, J.M.; Clapes, P.; Valencia, G. Chem. Commun. 1996, 1505-1506.

3. Wrigglesworth, R.; Walpole, C.S.J.; Bevan, S.; Campbell, E.A.; Dray, A.; Hughes, G.A.; James, I.; Masdin, K.J.; Winter, J. J. Med. Chem. 1996, 39, 4942-4951.

4. Rigoni M. et al., British Journal of Pharmacology, 2003, 138, 977-985.

5. Kudo Y. et al., Japanese Journal of Pharmacology, 1986, 41, 345-151.

フロントページの続き

(72)発明者 バラルディ，ピエル・ジョヴァンニ
イタリア国、イ－４４１００ フェッラーラ、ヴィア・フォッサート・ディ・モルターラ １７／１９、ファルメステ・エス．アール．エル．
(72)発明者 ボレア，ピエル・アンドレーア
イタリア国、イ－４４１００ フェッラーラ、ヴィア・フォッサート・ディ・モルターラ １７／１９、ファルメステ・エス．アール．エル．
(72)発明者 ジェペッティ，ピエランジェロ
イタリア国、イ－４４１００ フェッラーラ、ヴィア・フォッサート・ディ・モルターラ １７／１９、ファルメステ・エス．アール．エル．

審査官 宮田 和彦

(56)参考文献 特開昭６４－０２６５５１（ＪＰ，Ａ）
特開２００３－１９２６６０（ＪＰ，Ａ）
特表２００４－５０６７１３（ＪＰ，Ａ）
WRIGGLESWORTH,R. et al, Analogs of Capsaicin with Agonist Activity as Novel Analgesic Agents: Structure-Activity Studies. 4. Potent, Orally Active Analgesics, Journal of Medicinal Chemistry, １９９６年, Vol.39, No.25, p.4942-4951
APPENDINO,G. et al, Halogenation of a capsaicin analogue leads to novel vanilloid TRPV1 receptor antagonists, British Journal of Pharmacology, ２００３年, Vol.139, No.8, p.1417-1424
Suh, et al., Novel non-vanilloid VR1 Antagonist of High Analgesic Effects and its Structural Requirement for VR1 Antagonist Effects, BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, ２００３年, Vol.13, No.24 , p.4389-4393

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
C07C
A61K 31/17
CA/REGISTRY(STN)