

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6061508号
(P6061508)

(45) 発行日 平成29年1月18日 (2017. 1. 18)

(24) 登録日 平成28年12月22日 (2016. 12. 22)

(51) Int. Cl.

F 1

A 6 1 K 31/045 (2006. 01)

A 6 1 K 31/045

A 6 1 P 43/00 (2006. 01)

A 6 1 P 43/00 1 1 1

A 6 1 P 29/00 (2006. 01)

A 6 1 P 29/00

A 6 1 P 17/00 (2006. 01)

A 6 1 P 17/00

A 6 1 K 8/34 (2006. 01)

A 6 1 K 8/34

請求項の数 6 (全 8 頁)

(21) 出願番号 特願2012-134048 (P2012-134048)
 (22) 出願日 平成24年6月13日 (2012. 6. 13)
 (65) 公開番号 特開2013-256473 (P2013-256473A)
 (43) 公開日 平成25年12月26日 (2013. 12. 26)
 審査請求日 平成26年8月21日 (2014. 8. 21)

(73) 特許権者 000000918
 花王株式会社
 東京都中央区日本橋茅場町 1 丁目 1 4 番 1
 〇号
 (74) 代理人 110000084
 特許業務法人アルガ特許事務所
 (74) 代理人 100077562
 弁理士 高野 登志雄
 (74) 代理人 100096736
 弁理士 中嶋 俊夫
 (74) 代理人 100117156
 弁理士 村田 正樹
 (74) 代理人 100111028
 弁理士 山本 博人

最終頁に続く

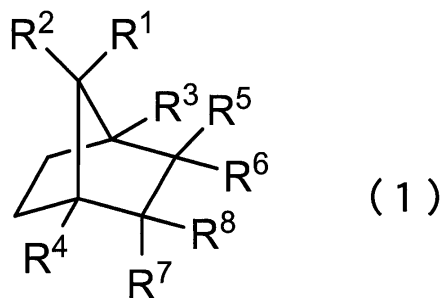
(54) 【発明の名称】 TRPA1 活性抑制剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

アリルイソチオシアネート (A I T C)、アンモニア、ブラジキニン、シンナムアルデヒド、4 - ヒドロキシノネナール、アリシン、アクロレイン、メントール、メチルサリチレート、オイゲノール、パラベン類、フェノキシエタノール、ブチルカルバミン酸ヨウ化プロピニル (I P B C)、トリクロサン、及びベンジルアルコールから選ばれる化学物質の刺激により発現する TRPA1 活性を抑制する TRPA1 活性抑制剤であって、下記式 (1) :

【化 1】



〔式中、 $R^1 \sim R^5$ 及び R^8 は独立して水素原子又はメチル基を示し、 R^6 及び R^7 は水素原子、水酸基又はメチル基を示す (但し、 R^6 及び R^7 のいずれか一方は水酸基である)。〕

で表される化合物を有効成分とする T R P A 1 活性抑制剤。

【請求項 2】

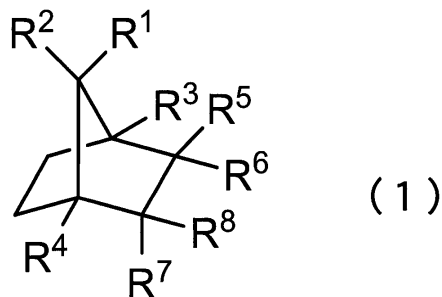
式 (1) で表される化合物が、イソボルネオール、フェンチルアルコール、ボルネオール又はメチルフェンコールである、請求項 1 記載の T R P A 1 活性抑制剤。

【請求項 3】

アリルイソチオシアネート (A I T C)、アンモニア、ブラジキニン、シンナムアルデヒド、4 - ヒドロキシノネナール、アリシン、アクロレイン、メントール、メチルサリチレート、オイゲノール、パラベン類、フェノキシエタノール、ブチルカルバミン酸ヨウ化プロピニル (I P B C)、トリクロサン、及びベンジルアルコールから選ばれる化学物質の刺激により発現する皮膚の刺激感を緩和する皮膚の刺激感緩和剤であって、下記式 (1) :

10

【化 2】



20

〔式中、 $R^1 \sim R^5$ 及び R^8 は独立して水素原子又はメチル基を示し、 R^6 及び R^7 は水素原子、水酸基又はメチル基を示す (但し、 R^6 及び R^7 のいずれか一方は水酸基である)。〕
で表される化合物を有効成分とする皮膚の刺激感緩和剤。

【請求項 4】

式 (1) で表される化合物が、イソボルネオール、フェンチルアルコール、ボルネオール又はメチルフェンコールである、請求項 3 記載の皮膚の刺激感緩和剤。

【請求項 5】

化粧品に配合して使用される請求項 3 又は 4 記載の皮膚の刺激感緩和剤。

【請求項 6】

30

皮膚の刺激感緩和が T R P A 1 活性の抑制に基づく、請求項 3 ~ 5 記載のいずれか 1 項記載の皮膚の刺激感緩和剤。」

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、T R P A 1 活性を抑制する T R P A 1 活性抑制剤に関する。

【背景技術】

【0002】

感覚は、外部から受けた刺激が電気信号に変換され、神経細胞を通じて脳に伝達されることで生じる。外部刺激を電気信号に変換するには、その外部刺激を感知する受容体の存在が必要である。

40

T R P A 1 は、一過性受容器電位 (T R P) イオンチャネルのスーパーファミリーに属する非選択性陽イオンチャネルであり、侵害受容ニューロンにおいて低温受容器 (17) として見出された (非特許文献 1)。その後、T R P A 1 は、マスタードオイルやそれに含まれるアリルイソチオシアネート (A I T C)、シナモン、ガーリック、メチルサリチレート、オイゲノール等に反応する化学受容体であること、更には低温と機械刺激、化学刺激に応答する痛み受容体であることが報告されている (非特許文献 2 及び 3)。

【0003】

また、最近では、T R P A 1 がパラベン類やアルカリ剤に反応し、T R P A 1 を形質導入させた細胞を用いてパラベン類やアルカリ剤の刺激を抑制する物質をスクリーニングで

50

きること（特許文献１及び２）が報告されている。

【０００４】

斯様に、ＴＲＰＡ１は皮膚や粘膜の侵害受容器であり、様々な刺激によって活性化されることから、ＴＲＰＡ１の活性を抑制することは、様々な刺激による痛みなどの違和感の軽減に有効であると考えられている（特許文献３）。

【０００５】

一方、イソボルネオール、フェンチルアルコール、ボルネオール及びメチルフェンコールに代表される後述の式（１）で表される化合物は合成香料として知られているが、これらにＴＲＰＡ１活性抑制作用や痛み軽減作用があることは知られていない。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００６】

【特許文献１】特開２００８－７９５２８号公報

【特許文献２】特開２００９－８２０５３号公報

【特許文献３】特表２００９－５２８９９８号公報

【非特許文献】

【０００７】

【非特許文献１】Story et al. 2003, Cell 112, 819-829

【非特許文献２】Kwan et al. 2006, Neuron 50, 277-289

【非特許文献３】日本薬理学雑誌、第１２４巻、第２１９頁－第２２７頁、２００４年、
社団法人 日本薬理学会発行

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００８】

本発明は、様々な刺激による痛みの軽減に有効なＴＲＰＡ１活性抑制剤を提供することに関する。

【０００９】

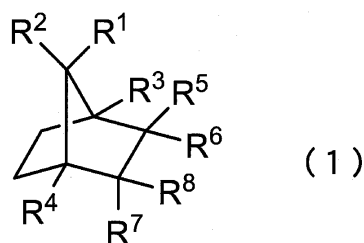
本発明者らは、ＴＲＰＡ１の活性を抑制する素材について検討したところ、一般式（１）で表される化合物にＴＲＰＡ１の活性化を効果的に抑制する作用があることを見出した。

【００１０】

すなわち本発明は、下記式（１）：

【００１１】

【化１】



〔式中、 $R^1 \sim R^5$ 及び R^8 は独立して水素原子又はメチル基を示し、 R^6 及び R^7 は水素原子、水酸基又はメチル基を示す（但し、 R^6 及び R^7 のいずれか一方は水酸基である）。〕で表される化合物を有効成分とするＴＲＰＡ１活性抑制剤に係るものである。

【発明の効果】

【００１２】

本発明のＴＲＰＡ１活性抑制剤は、ＴＲＰＡ１の活性化を効果的に抑制するという作用を有する。したがって、本発明のＴＲＰＡ１活性抑制剤は、ＴＲＰＡ１を介して生ずる刺激感や痛みを緩和するために有用である。具体的には、皮膚や鼻腔内における刺激感を抑制することにより、皮膚トラブルの原因であるピリピリ感やアンモニア製剤の使用に伴う

10

20

30

40

50

刺激臭を抑制することが可能である。

【発明を実施するための形態】

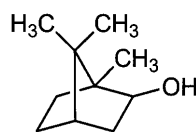
【0013】

本発明の一般式(1)で表される化合物(以下、「本発明化合物」とも称する)のうち、 R^1 、 R^2 及び R^3 が共に水素原子、或いは共にメチル基であるもの、 R^3 、 R^5 、 R^7 及び R^8 が共にメチル基であるものが好ましく、 R^1 、 R^2 及び R^3 が共に水素原子で且つ R^5 及び R^6 が共にメチル基であるもの、 R^1 、 R^2 及び R^3 が共にメチル基で且つ R^5 が水素原子であるもの、 R^1 及び R^2 が共に水素原子で且つ R^3 、 R^5 、 R^7 及び R^8 が共にメチル基であるものがより好ましい。

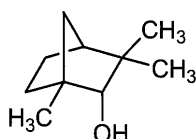
更に、下記式で示されるイソボルネオール(エキソ-1,7,7-トリメチルビシクロ(2,2,1)ヘプタン-2-オール)、フェンチルアルコール(1,3,3-トリメチルビシクロ(2,2,1)ヘプタン-2-オール)、ボルネオール(エンド-1,7,7-トリメチルビシクロ(2,2,1)ヘプタン-2-オール)、メチルフェンコール(エンド-1,2,3,3-テトラメチルビシクロ(2,2,1)ヘプタン-2-オール)が好ましい。

【0014】

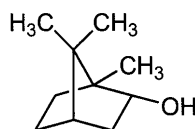
【化2】



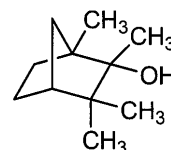
イソボルネオール



フェンチルアルコール



ボルネオール



メチルフェンコール

【0015】

本発明化合物には、光学異性体、立体異性体が存在するが、本発明においてはそれらの何れのものも包含する。

これらは、其々を単独で用いてもよく、2種以上を混合して用いてもよい。

【0016】

本発明化合物は、公知の方法によって化学合成することができ、また市販品を使用することもできる。市販品は、例えば、イソボルネオール(エキソ-1,7,7-トリメチルビシクロ(2,2,1)ヘプタン-2-オール)及びボルネオール(エンド-1,7,7-トリメチルビシクロ(2,2,1)ヘプタン-2-オール)は東京化成工業社より、フェンチルアルコール(1,3,3-トリメチルビシクロ(2,2,1)ヘプタン-2-オール)はSIGMA-ALDRICH社より、メチルフェンコール(エンド-1,2,3,3-テトラメチルビシクロ(2,2,1)ヘプタン-2-オール)は高砂香料工業社より入手可能である。

【0017】

本発明化合物は、後記実施例に示すように、TRPA1刺激物質であるアリルイソチオシアネートと共に、TRPA1を形質導入した細胞(TRPA1発現細胞)に接触させた場合に、アリルイソチオシアネートによる細胞内の陽イオン量の流入を抑制するというTRPA1活性抑制作用を有する(実施例)。

したがって、本発明化合物はTRPA1活性抑制剤となり得る。

【0018】

ここで、「TRPA1の活性抑制」とは、受容体であるTRPA1の活性を抑制すること、具体的には例えばTRPA1刺激物質(アゴニスト)がTRPA1に結合することによって発現する活性、例えばイオン流束の調節能(例えば、細胞外から細胞内へのカルシウムイオン、ナトリウムイオンなどの陽イオンの輸送能など)、膜電位の調節能(例えば、電流の発生能など)を抑制或いは阻害することを云う。

ここで、TRPA1刺激物質としては、皮膚や粘膜に対して刺激感を与える可能性があ

る化学物質（「刺激感原因物質」という）が挙げられ、例えば、アリルイソチオシアネート（ＡＩＴＣ）、アンモニア、ブラジキニン、シンナムアルデヒド、４－ヒドロキシノネナール、アリシン、アクロレイン、メントール、メチルサリチレート、オイゲノール、パラベン類、フェノキシエタノール、ブチルカルバミン酸ヨウ化プロピニル（ＩＰＢＣ）、トリクロサン、ベンジルアルコールなどが挙げられる。

【００１９】

尚、本発明化合物によるＴＲＰＡ１の活性抑制効果は、例えば、ＴＲＰＡ１発現細胞を用い、当該化合物の存在下にＴＲＰＡ１刺激物質（例えばＡＩＴＣ）と接触させたＴＲＰＡ１発現細胞内におけるカルシウムイオン濃度と、化合物の非存在下でＴＲＰＡ１刺激物質と接触させたＴＲＰＡ１発現細胞内におけるカルシウムイオン濃度との差異を比較すること等によって評価することができる。

10

【００２０】

本発明のＴＲＰＡ１活性抑制剤は、例えば、上述した刺激感原因物質を含有する組成物（皮膚洗浄剤、頭髮洗浄剤、メイクアップ剤、入浴剤、パーマメントウェーブ用剤、染毛剤、石鹸類、台所用洗剤、洗濯用洗剤、歯磨類等の化粧品、医薬部外品、医薬品、生活用品等）に配合すること、或いは組み合わせること例えば、刺激感原因物質を含有する組成物と別個に調製して同時或いは順次組み合わせることにより使用され、それにより当該刺激感原因物質により引き起こされる感覚刺激を緩和できる。

【００２１】

ＴＲＰＡ１活性抑制剤は、本発明化合物を単独で用いるものであってもよく、あるいは油分、色素、香料、防腐剤、キレート剤、顔料、酸化防止剤、ビタミン、ミネラル、甘味料、調味料、保存料、結合剤、増量剤、崩壊剤、界面活性剤、滑沢剤、分散剤、緩衝剤、被膜剤、担体、希釈剤等の、医薬品、化粧品、医薬部外品、生活用品等の各種製剤に用いられる添加剤や賦形剤等と組み合わせた組成物であってもよい。またそれらの形態も特に限定されず、例えば溶液、エマルジョン、サスペンション、ゲル、固形、粉体、粒体、エアゾールなど、任意の形態に調製できる。

20

【００２２】

本発明のＴＲＰＡ１活性抑制剤を、刺激感原因物質を含有する組成物と共に用いる場合、ＴＲＰＡ１活性抑制剤の使用量は、ＴＲＰＡ１活性抑制効果を有する限り特に限定されないが、例えば、刺激感原因物質１質量部に対し、本発明化合物を０．０１質量部以上、好ましくは０．０５質量部以上、更に好ましくは０．１質量部以上、そして１００質量部以下、好ましくは５０質量部以下、更に好ましくは１０質量部以下とすることが挙げられ、また、０．０１～１００質量部、好ましくは０．１～１０質量部とすることができる。

30

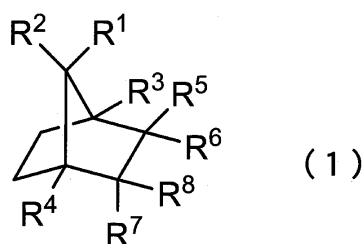
【００２３】

上述した実施形態に関し、本発明においては以下の態様が開示される。

< １ > 下記式（１）：

【００２４】

【化３】



40

【００２５】

〔式中、 $R^1 \sim R^5$ 及び R^8 は独立して水素原子又はメチル基を示し、 R^6 及び R^7 は水素原子、水酸基又はメチル基を示す（但し、 R^6 及び R^7 のいずれか一方は水酸基である）。〕で表される化合物を有効成分とするＴＲＰＡ１活性抑制剤。

【００２６】

50

< 2 > T R P A 1 活性抑制剤を製造するための、上記式 (1) で表される化合物の使用。

< 3 > T R P A 1 活性抑制に使用するための上記式 (1) で表される化合物。

< 4 > 上記式 (1) で表される化合物を、刺激感原因物質を含有する組成物と共に用いる、当該刺激感原因物質により引き起こされる感覚刺激の緩和方法。

【実施例】

【 0 0 2 7 】

実施例 1 T R P A 1 活性抑制作用

(1) ヒト T R P A 1 安定発現株の作製

ヒト T R P A 1 遺伝子は、その全長を Open biosystems 社より pENTR 2 2 3 . 1 に挿入された状態で購入した。購入したエントリーベクターより TRPA1 遺伝子を発現用ベクター p cDNA 3 . 2 - V 5 / D E S T (インビトロジェン社) ヘサブクロニングし、リポフェクトアミン 2 0 0 0 (インビトロジェン社) により H E K 2 9 3 細胞へ形質導入した。形質導入された細胞を G - 4 1 8 (4 5 0 μ g / m l ; プロメガ社) を含有する D M E M 培地中で増殖させることにより選抜した。なお H E K 2 9 3 細胞は内在性 T R P A 1 を発現しないため、T R P A 1 形質導入株に対する対照 (コントロール) として使用できる。

【 0 0 2 8 】

(2) カルシウムイメージング

蛍光カルシウムイメージング法を用いて H E K 2 9 3 細胞へ形質導入した T R P A 1 活性の測定を行った。まず培養した T R P A 1 発現細胞をポリ - D - リジンコートされた 9 6 ウェルプレート (B D フアルコン社) に播種 (3 0 0 0 0 細胞 / ウェル) し、3 7 で一晚、インキュベートした後、培養液を除去し、リンガー液に溶解させた F l u o 4 - A M (2 μ g / m l ; 同仁化学社) を添加し、3 7 で 6 0 分間インキュベートした。その後、F l u o 4 - A M 液を除去し、ウェルにリンガー液を添加して蛍光プレートリーダー (F D S S 3 0 0 0 ; 浜松ホトニクス社) にセットした。装置庫内温度 2 4 にした状態で励起波長 4 8 0 n m で励起させたときの蛍光イメージを検出波長 5 2 0 n m にて C C D カメラで検出した。測定は 1 秒毎に 4 分間行い、測定開始 1 5 秒後に F D S S 3 0 0 0 内蔵の分注器により T R P A 1 刺激物質であるアリルイソチオシアネートおよび本発明化合物をそれぞれ終濃度 5 . 0 μ M および 0 . 0 1 % で添加し、その後の蛍光強度の変化により T R P A 1 活性を評価した。T R P A 1 活性は刺激物質添加後の蛍光強度のピーク (F_{peak}) を刺激物質添加前の蛍光強度 (F_0) で除算した蛍光強度比 (Ratio ; F_{peak} / F_0) で表した。対照として T R P A 1 を形質導入していない H E K 2 9 3 細胞に同様の物質を添加し、その際の蛍光強度比 (Ratio₂₉₃) を算出し、刺激物質による活性のピークが T R P A 1 活性化に由来することを確認した。

本発明化合物として、「 (+) / (-) - i s o b o r n e o l 」 (東京化成工業) 、 「 (-) - b o r n e o l 」 (東京化成工業) 、 「 f e n c h y l a l c o h o l 」 (SIGMA-AIDRICH) 、 「 m e t h y l f e n c h o l 」 (高砂香料工業) を使用した。

【 0 0 2 9 】

(3) T R P A 1 活性抑制評価

アリルイソチオシアネートによる T R P A 1 活性化に対する各化合物の効果を検証するため、アリルイソチオシアネート (5 . 0 μ M) およびエタノール (0 . 0 1 % ; 溶媒コントロール) を添加した際の T R P A 1 活性に対する各化合物の抑制作用 (活性抑制率 ; %) を評価した。アリルイソチオシアネート (刺激物質) (5 . 0 μ M) と化合物 (0 . 0 1 %) を混合し添加することによる T R P A 1 活性抑制作用は下記の式により算出した。

[数 1]

TRPA1 活性抑制率 (%) = (1 - ((刺激物質 + 化合物添加による Ratio) - (刺激物質 + 化合物添加による Ratio₂₉₃)) / ((刺激物質 + エタノール添加による Ratio) - (刺激物質 + エタノール添加による Ratio₂₉₃))) \times 1 0 0

【 0 0 3 0 】

10

20

30

40

50

(4) TRPA1 活性化抑制作用

アリルイソチオシアネート 5.0 μ M による TRPA1 活性化に対する本発明化合物の効果（活性抑制率）を表 1 に示す。本発明化合物は、公知の TRPA1 活性抑制素材である d-カンファーと比して効果の強い TRPA1 活性抑制素材であることが示された。

【0031】

【表 1】

化合物		TRPA1 活性抑制率 (%)
本発明化合物	イソボルネオール (0.01%)	89.5
	フェンチルアルコール (0.01%)	67.7
	ボルネオール (0.01%)	74.1
	メチルフェンコール (0.01%)	92.6
比較化合物	d-カンファー (0.01%)	27.2
	d-カンファー (0.03%)	91.7

フロントページの続き

- (72)発明者 木下 和樹
栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株式会社研究所内
- (72)発明者 組橋 堅太郎
栃木県芳賀郡市貝町赤羽2606 花王株式会社研究所内
- (72)発明者 藤原 裕久
アメリカ合衆国 オハイオ州シンシナティ市スプリンググローブ通り2535番地 Kao USA Inc. 内

審査官 渡部 正博

- (56)参考文献 特開2003-206239(JP, A)
国際公開第2011/117740(WO, A1)
特開2007-077143(JP, A)
中国特許出願公開第101292976(CN, A)
富永真琴, TRPチャネルと感覚 - 痛みと温度感覚に焦点をあてて -, 顕微鏡, 2011年, Vol.46, No.4, p.222-226
野口光一, 侵害受容システムにおけるシグナル伝達と疼痛関連分子の制御機構, 上原記念生命科学財団研究報告集, 2008年, 22, p.1-3
Laura Vay, et al., The thermo-TRP ion channel family: properties and therapeutic implications, Br J Pharmacol, 2012年 2月, 165, p.787-801

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 31/00 - 31/80
A61P 1/00 - 43/00
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)
CPlus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)