

(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2016-514704
(P2016-514704A)

(43) 公表日 平成28年5月23日 (2016.5.23)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/519 (2006.01)	A 6 1 K 31/519	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/445 (2006.01)	A 6 1 K 31/445	4 C 2 0 6
A 6 1 K 31/24 (2006.01)	A 6 1 K 31/24	
A 6 1 K 31/137 (2006.01)	A 6 1 K 31/137	
A 6 1 P 23/02 (2006.01)	A 6 1 P 23/02	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 44 頁)

(21) 出願番号 特願2016-503385 (P2016-503385)
 (86) (22) 出願日 平成26年3月17日 (2014.3.17)
 (85) 翻訳文提出日 平成27年9月30日 (2015.9.30)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2014/030372
 (87) 国際公開番号 W02014/145580
 (87) 国際公開日 平成26年9月18日 (2014.9.18)
 (31) 優先権主張番号 61/789,054
 (32) 優先日 平成25年3月15日 (2013.3.15)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 591044027
 ザ チルドレンズ メディカル センター
 コーポレーション
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 O
 2 1 1 5 ポストン シャタックストリー
 ト 5 5
 (74) 代理人 100078282
 弁理士 山本 秀策
 (74) 代理人 100113413
 弁理士 森下 夏樹
 (72) 発明者 ベルデ, チャールズ
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ O 2
 1 4 6, ブルックライン, ドラン ロ
 ード 1 4

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 持続する局所麻酔のためのネオサキシトキシン併用製剤

(57) 【要約】

サイトIナトリウムチャンネルブロッカーの各々は、特有の活性を有し、別のサイトIナトリウムチャンネルブロッカーの同じ有効投与量を外挿するために使用され得ないので、ネオサキシトキシン(「NeoSTX」)およびピバカインの投与量を、単独で、またはエピネフリンとの併用で同定して、ヒトにおける疼痛緩和を2~3日提供するために研究を行った。ピバカイン - NeoSTX 併用は、NeoSTXのみと比較して、より信頼性の高いブロックおよびより長い持続ブロックを生じる。NeoSTX - ピバカイン - エピネフリンの3成分併用は、NeoSTX - ピバカインの2成分併用より長い局所麻酔を生じる。このNeoSTX - ピバカイン併用にエピネフリンを追加すると、機械的刺激に対する完全なブロックの持続時間が劇的に長くなる。これら結果は、特定の併用投与製剤の開発をもたらした。

【特許請求の範囲】

【請求項1】

覚醒しているヒト、鎮静させたヒトもしくは麻酔をかけたヒトにおける疼痛の処置もしくは防止のための投与ユニットであって、有効な量の5～40mcgの間のネオサキシトキシンと、ブピバカイン、レボブピバカイン、テトラカイン、およびロビバカインからなる群より選択される0.1%(1mg/ml)～0.5%(5mg/ml)の間の濃度範囲にある局所麻酔薬と、ならびに2mcg/ml(共通用語で1:500,000)～10mcg/ml(1:100,000)の間の濃度範囲にあるエピネフリンとを含み、0.1～1mcg NeoS TX/mlの間の最小有効濃度を投与の部位において生じさせる、投与ユニット。

10

【請求項2】

0.1%(1mg/ml)～0.25%(2.5mg/ml)の間の濃度範囲にあり、成人では225mg以下もしくは小児では2.5mg/kg以下の総全身ブピバカイン用量を与えるブピバカイン;

0.1mcg/ml～1mcg/mlの濃度範囲にあり、成人では3.5～100mcgもしくは小児では0.05～1.5mcg/kgの総全身用量を与えるNeoS TX、および

2mcg/ml(共通用語において1:500,000)～10mcg/ml(1:100,000)の間の濃度範囲にあるエピネフリン、を含む、成人では35～120mlおよび小児では0.5～1.8ml/kgの高体積使用のための請求項1に記載の投与ユニット。

20

【請求項3】

全開腹術、胸腹部切開、もしくは側腹部切開の大きな外科的創傷の多層の浸潤に有効な量にある、請求項2に記載の投与ユニット。

【請求項4】

帝王切開、腹式子宮摘出、食道胃切除、腎摘出、もしくは大きな腹部癌手術(例えば、結腸切除)に有効な量にある、請求項3に記載の投与ユニット。

【請求項5】

全股関節置換(股関節形成)もしくは全膝関節置換(膝関節形成)の創部浸潤に有効な量にある、請求項3に記載の投与ユニット。

30

【請求項6】

0.125%～0.3%(1.25～3mg/ml)の濃度範囲にあり、成人では150mg以下(小児では2mg/kg以下)の全身用量を与えるブピバカイン、

0.2～2mcg/mlの濃度範囲にあり、成人では7～100mcg(小児では0.1～1.5mcg/kg)の全身用量を与えるNeoS TX、および

0～10mcg/ml(<1:100,000)の濃度範囲にあるエピネフリンを含む、15～50mlの中間体積使用のための、請求項1に記載の投与ユニット。

【請求項7】

末梢神経ブロックもしくは神経叢ブロック(神経周囲注入)に有効な量にある、請求項6に記載の投与ユニット。

40

【請求項8】

浸潤(創傷の層に沿った注入)に有効な量にある、請求項6に記載の投与ユニット。

【請求項9】

肩、手もしくは腕の手術、鼠径ヘルニア修復のための浸潤もしくは腸骨鼠径神経/腸骨下腹神経ブロック、尿道下裂修復のための陰茎ブロック、全膝関節置換もしくは前十字靭帯修復のための大腿神経ブロック、開胸手術のための肋間神経ブロック、または下肢切断もしくは足部および足関節手術のための大腿神経および坐骨神経ブロックに有効な量にある、請求項6に記載の投与ユニット。股関節手術のために、これは、腰神経叢ブロックおよび低体積坐骨神経ブロックを含み得る。

【請求項10】

50

関節置換手術のための股関節もしくは膝関節についての神経ブロック（大腿神経および坐骨神経、腰神経叢および坐骨神経）に有効な量にある、請求項6に記載の投与ユニット。

【請求項11】

3～12時間の間の期間の手術のための麻酔（ほぼ完全な無感覚）と、少なくとも24時間の手術後の痛覚脱失（長期の疼痛緩和）と、ならびに投与後24～48時間以内にいくらかの強度の四肢の運動を許容するための運動ブロックからの回復とを提供するために有効な量にある、中間体積使用のための請求項1に記載の投与ユニット。

【請求項12】

0.25%～0.5%（2.5～5mg/ml）の濃度であり、ここで5～15ml投与が成人において75mg以下の全身ブピバカイン用量を与える、ブピバカイン、

0.5～5mcg/mlの濃度範囲にあり、ここで5～15ml投与が成人において5～75mcgの全身用量を与える、NeoSTX、および

2.5～10mcg/ml（1:500,000～1:100,000）の濃度範囲にある、エピネフリン

を含む、低体積長時間持続用途の請求項1に記載の投与ユニット。

【請求項13】

複合性局所疼痛症候群/反射性交感神経性ジストロフィーもしくは脚の血管不全のための腰部交感神経節ブロック、または腓炎もしくは腓臓癌のための腹腔神経叢ブロックを提供するために有効な量にある、請求項12に記載の投与ユニット。

【請求項14】

下肢切断に関して迅速な運動回復が問題ではない長時間持続の坐骨神経ブロックを提供するために有効な量にある、請求項12に記載の投与ユニット。

【請求項15】

有効な量の5～40mcgの間のネオサキシトキシン、ならびにブピバカイン、レボブピバカインおよびロピバカインからなる群より選択される局所麻酔薬を含み、投与部位において0.5～1mcg NeoSTX/mlの間の最小有効濃度を生成する、覚醒したヒトにおける疼痛の処置もしくは防止のための投与ユニット。

【請求項16】

投与後24～48時間以内に運動ブロックからの回復を可能にする、腕および脚に対する運動効果を有する末梢神経ブロックおよび神経叢ブロックに有効な量にある、請求項15に記載の投与ユニット。

【請求項17】

請求項1～16のいずれかに記載の投与ユニットの有効な量を必要性のあるヒトに投与する工程を含む使用の方法。

【請求項18】

前記ヒトは成人である、請求項17に記載の方法。

【請求項19】

前記ヒトは小児である、請求項17に記載の方法。

【請求項20】

前記ヒトは覚醒している、請求項17に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

（関連出願への相互参照）

本出願は、2013年3月15日に出版された「Combinations of Neosaxitoxin with Bupivacaine and Epinephrine Increase Efficacy of Peripheral Nerve Block and Infiltration Local Anesthesia and Analgesia Without Increasing Toxicity」という名称の米国特許第61/789,054号（Charles Berde

10

20

30

40

50

)の優先権を主張し、当該出願の教示は本明細書に参考として援用される。

【0002】

(発明の分野)

これは、一般に、毒性の増大がない、改善された神経ブロックおよび局所浸潤麻酔ならびに痛覚脱失、具体的には、特定の全投与量および濃度投与量において、単独で、またはエピネフリンとの併用におけるネオサキシトキシンとプピバカインとの併用にある。

【背景技術】

【0003】

(発明の背景)

6～12時間の手術グレードの神経ブロック、続いて、最大約48時間までのレーザーブロックおよびさらなる処置なしの疼痛緩和を信頼性高く与える非徐放性薬剤は、望ましい。前者の期間は、術中に、同様に手術直後期間にも有用である；後者は、減少しつつある痛覚脱失を提供し、治療プロセスとして、関わった身体部分の使用の増大を可能にする。ExparelTM (市場に出ている唯一の長時間持続局所麻酔薬)は、注射後24時間でピークに達する、ヒトにおける予測外の神経ブロックを提供し、その麻酔効果は、用量に逆比例する。さらに、それは、徐放系の使用を必然的に伴い、局所組織傷害および炎症を引き起こす。

10

【0004】

類似の懸念は、プピバカイン+デキサメタゾン微粒子に関し、これは、徐放系および非常に重篤な組織傷害を伴うにも拘わらず、長時間持続局所麻酔を提供し得る。四級リドカイン誘導体QX-314は、長時間持続局所麻酔(約24時間の持続時間)を提供し得るが、非常に重症の局所組織傷害および全身毒性を伴う。

20

【0005】

アミノ-アミドおよびアミノ-エステル局所麻酔薬が過剰用量でもしくは不注意の血管内注射によって与えられる場合、それらは、悪評判があるように、蘇生しがたい心血管毒性を生じる(Polaner et al. Ped Anes 2011; 21: 737-742; Fisher, et al., Can. J. Anaesth., 1997; 44: 592-598; Butterworth, Reg. Anesth. Pain Med., 2010; 35: 167-76)。プピバカインの心血管毒性は、おそらく、サイト1ナトリウムチャンネルブロッカーによる結合および不活性化に比較的好く抵抗する心臓ナトリウムチャンネルNav1.5によって媒介される(Clarkson, et al., Anesthesiology, 1985; 62: 396-405)。

30

【0006】

藻類毒素であるネオサキシトキシン、サキシトキシンおよびゴニオトキシン(gonyaulatoxin)は、属Alexandrium sp., Piridinium sp., およびGimnodinium sp.の有害藻類異常発生によって生じる活性化化合物である(Lagos, N. Biol. Res., 31: 375-386 1998)。この15年で、これら藻類毒素はまた、海洋性渦鞭毛藻によって生成されるものの他に、光合成藍藻類のような淡水性シアノバクテリアによって生成され得ることが実証された。

40

【0007】

麻痺性の藻類毒素を生成し得るシアノバクテリアのわずか4属が同定され、各々は、生成される藻類毒素の量およびタイプの両方において、藻類毒素の種々の混合物を生成する。すなわち、それらは、麻痺性の藻類毒素の種々のプロフィールを生じる(Lagos, et al., 1999, TOXICON, 37: 1359-1373 (1999). Pereira, et al., TOXICON, 38: 1689-1702 (2000)。

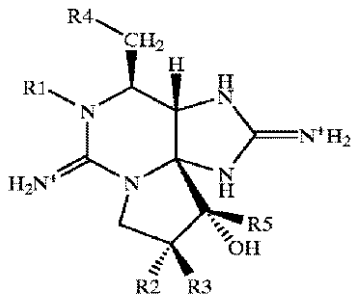
【0008】

これら藻類毒素の化学構造は、一般構造(I)を有し、その特定の構造は、以下の表に従

50

って置換基 R 1 ~ R 5 によって規定される :

【化 1】



(I)

10

【 0 0 0 9 】

【化 2】

化合物	R1	R2	R3	R4	R5
サキトキシン	H	H	H	COONH ₂	OH
ネオサキトキシン	OH	H	H	COONH ₂	OH
ゴニオトキシン 1	OH	H	OSO ⁻ ₃	COONH ₂	OH
ゴニオトキシン 2	H	H	OSO ⁻ ₃	COONH ₂	OH
ゴニオトキシン 3	OH	OSO ⁻ ₃	H	COONH ₂	OH
ゴニオトキシン 4	H	OSO ⁻ ₃	H	COONH ₂	OH
ゴニオトキシン 5	H	H	H	COONHSO ⁻ ₃	OH

20

30

【 0 0 1 0 】

これら麻痺性の藻類毒素は、興奮性細胞に存在する電位依存性ナトリウムチャネルの特異的ブロッカーとして作用する (Kao, C. Y., Pharm. Rev., 18 : 997 - 1049 (1966))。ナトリウムチャネルの障害に起因して、神経インパルスの伝達がブロックされ、神経伝達物質の放出が神経筋接合部 (neuromotor junction) のレベルで妨げられ、よって筋収縮を妨げる。これら生理学的効果に起因して、これら化合物は、注射用形態で局所適用される場合に、筋肉の過活動 (例えば、筋痙攣および限局性ジストニア) と関連する病状において筋活動インヒビターとして使用される場合、薬理学において潜在的に有用である。さらに、伝達レベルでの神経インパルスのブロックは、これら化合物が局所浸潤として適用される場合に生成されるので、それらは、遠心性神経伝達経路をブロックし得るのみならず、求心性経路をブロックし得、感覚経路の障害を引き起こし得、これら化合物が局所注射される場合に麻酔効果をも生じ得る。これは、驚くべき効果である。なぜなら米国特許第 4, 001, 413 号に記載されるように、両方の効果が同時であるからである。

40

【 0 0 1 1 】

Kohane, et al. による米国特許第 6, 326, 020 号に記載されるよう

50

に、天然に存在するサイト1ナトリウムチャンネルブロッカー（例えば、テトロドトキシン（TTX）、サキシトキシン（STX）、デカルバモイルサキシトキシン、およびネオサキシトキシン）と他の薬剤との併用は、安全性および特異性を含め、改善された特徴を有する長時間持続ブロックを与えるために開発された。一実施形態において、ブロックの持続は、トキシンと、局所麻酔薬、血管収縮薬、グルコルチコイド、および/もしくはアドレナリン作動薬（アゴニスト（エピネフリン、フェニレフリン）、および中枢-末梢混合性 - 2アゴニスト（mixed central-peripheral alpha-2 agonist）（クロニジン）の両方）、または他の薬剤とを併用することによって大いに長期化される。長期間神経ブロックは、トキシンとバニロイドとの併用を使用して得られ得る。テトロドトキシンおよびサキシトキシンでの研究に基づいた投与量範囲が提供された。しかし、有効投与量を推定するために、各トキシンで研究を行われなければならないことは、いまや知られている。なぜならトキシンのあるタイプの投与量は、トキシンの別のタイプでの効力の推定にはならないからである。以下の実施例で実証されるように、ラットもしくはヒツジからヒトに外挿して、これら毒素に関する安全性および効果的な投与量を決定できないこともまた、発見された。

【0012】

従来の局所麻酔薬は、臨床用量での局所神経毒性および過剰用量での顕著な心血管毒性と関連づけられる。全体的な発生率は低いものの、アミド麻酔薬での局所および局部麻酔の合併症として、長期の無感覚および感覚異常もまた、研究で明らかになった。これは、化学的神経傷害の組織学的徴候と関連づけられた（Myers, et al., Anesthesiology, 1986; 64: 29-35; Kalichman, et al., J. Pharm. Exper. Therapeutics, 1989; 250(1): 406-413）。局所神経毒性のこれらリスクは、おそらく、長期の疼痛緩和が放出制御送達（Padera, et al., Anesthesiology, 2008; 108: 921-8; Kohane and Langer, Chem. Sci., 2010; 1: 441-446）もしくは局所的な末梢注入（特に、より高濃度もしくは高用量がより長期間にわたって使用される場合）による従来の局所麻酔薬の投与を介して試みられる状況でさらに増大することになる。等しい効力をもった鞘内注射された用量では、サイト1ナトリウムチャンネルブロッカーは、プピバカインと比較して、神経毒性の組織学的証拠が少ないより長時間持続の麻酔を引き起こす（Sakura, et al., Anesth. Analg., 1995; 81: 338-46）。全体として、サイト1ナトリウムチャンネルブロッカーを伴う長期間の局所麻酔へのアプローチは、従来のアミノ-アミドもしくはアミノ-エステル長期投与もしくは反復投与を伴うアプローチと比較して、神経傷害のリスクを減らす。

【0013】

従って、本発明の目的は、ネオサキシトキシンとプピバカインとの、必要に応じて、エピネフリンとの特定の併用を提供して、1回の注射後に最大2~3日の間、ヒトにおいて安全かつ有効な疼痛緩和を提供することである。

【0014】

本発明のさらなる目的は、小児患者において安全かつ有効な局所麻酔および痛覚脱失を提供するための製剤を提供することである。

【0015】

本発明のさらに別の目的は、高体積、中間体積および低体積の局所麻酔を要する適応症を処置するための製剤を提供することである。

【0016】

本発明のさらなる目的は、局所麻酔に起因する感覚ブロックもしくは運動ブロックからの種々の速度での回復を要する適応症を処置するための製剤を提供することである。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0017】

10

20

30

40

50

【特許文献1】米国特許第4,001,413号明細書

【特許文献2】米国特許第6,326,020号明細書

【非特許文献】

【0018】

【非特許文献1】Polaner et al. Ped Anes 2011; 21: 737-742

【非特許文献2】Fisher, et al., Can. J. Anaesth., 1997; 44: 592-598

【非特許文献3】Butterworth, Reg. Anesth. Pain Med., 2010; 35: 167-76

【非特許文献4】Clarkson, et al., Anesthesiology, 1985; 62: 396-405

【非特許文献5】Lagos, N. Biol. Res., 31: 375-386 1998

【非特許文献6】Lagos, et al., 1999, TOXICON, 37: 1359-1373 (1999)

【非特許文献7】Pereira, et al., TOXICON, 38: 1689-1702 (2000)

【非特許文献8】Kao, C.Y., Pharm. Rev., 18: 997-1049 (1966)

【非特許文献9】Myers, et al., Anesthesiology, 1986; 64: 29-35

【非特許文献10】Kalichman, et al., J. Pharm. Exper. Therapeutics, 1989; 250(1): 406-413

【非特許文献11】Padera, et al., Anesthesiology, 2008; 108: 921-8

【非特許文献12】Kohane and Langer, Chem. Sci., 2010; 1: 441-446

【非特許文献13】Kohane and Langer, Chem. Sci., 2010; 1: 441-446

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0019】

(発明の要旨)

ネオサキシトキシン(「NeoSTX」)およびブピバカインの投与量を、単独で、またはエピネフリンとの併用において同定して、最大2~3日の間の疼痛緩和を提供するために研究を行った。ラットにおける坐骨神経の経皮的ブロックを使用する研究は、1)ブピバカイン-NeoSTX併用は、NeoSTX単独と比較して、全身毒性を増大させない; 2)ブピバカイン-NeoSTX併用は、NeoSTX単独と比較して、より信頼性の高いブロックおよびより長時間持続のブロックを生じる; および3)NeoSTX-ブピバカイン-エピネフリンの3成分併用は、NeoSTX-ブピバカインの2成分併用より長期間の局所麻酔を生じることを実証した。エピネフリンをこのNeoSTX-ブピバカイン併用に追加すると、機械的刺激に対する完全なブロックの持続が劇的に長期化される。

【0020】

ラットおよびヒツジの両方における研究から、NeoSTXは静脈内注射した場合すら心臓毒性を生じないことが示された。しかし、ヒト(成人もしくは小児、覚醒もしくは覚醒していない)における有効投与量を、ヒトおよび大部分の(nost)動物において決定可能な副作用を制限することに起因する動物研究を使用して決定することは不可能である。

10

20

30

40

50

【0021】

これら2成分併用および3成分併用は、相加的相互作用もしくは相乗的相互作用を使用して、効力を増強する一方で、上記併用の毒性効果は、相加的相互作用未満であり、従って、安全性および効力の全体的限界(margin)を改善する。効力に対するこれら予測外の効果に基づいて、ラットおよびヒトでの研究において、選択されたブピバカインの濃度0.2%は、標準的な市販のブピバカイン濃度0.25%、0.5%もしくは0.75%より低い。

【0022】

ヒト フェーズ1研究を、FDA承認およびIRB承認をもって医師主導(investigator-initiated)INDの下で行った。上記研究は、NeoSTX-ブピバカインの併用(単独で、またはエピネフリンとの併用において)は、種々の臨床的適応症に関して種々の比で、標準であるブピバカインと比較して、臨床的に重要な、効力の改善、疼痛緩和の持続および局所麻酔の安全性を提供することを実証した。実証された結果は、以下のとおり：

10

【0023】

1. NeoSTX-ブピバカイン 0.2%併用は、5~10mcg(濃度0.5~1mcg/ml)程度の低さのNeoSTX用量ですら、そしてエピネフリンなしですら、標準であるブピバカインと比較してブロックをおよそ4倍長期化する(図7および図8)。

【0024】

2. NeoSTX単独(すなわち、通常生理食塩水中に溶解)は、耐用量において無効でありかつ矛盾するので、ヒトデータは、NeoSTX-ブピバカイン併用の必要条件を強く裏付ける(図7および図8)

20

【0025】

3. エピネフリンは、全身症状を低下させ、よって、安全性の限界を拡げ、覚めにくいブロック(手術時麻酔に適している)の持続を長期化し、麻酔持続をさらに長期化する(例えば、48時間~72時間)(図8)。これは、股関節および膝関節手術(100ml超が慣用的である)および大きな腹部手術の創部浸潤に非常に広く使用されるようになってきた高体積適用での投与を可能にする。

【0026】

4. 副作用(刺痛、嘔吐、悪心)は、覚醒した患者においてNeoSTX-ブピバカインの耐用量を40mcg未満のNeoSTXへと制限するが、全身麻酔下の患者ではより高用量が安全なはずである。これら制限する副作用がNeoSTX-生理食塩水およびNeoSTX-ブピバカインで認められるが、NeoSTX-ブピバカイン-エピネフリンでは認められないことに注意すること。

30

【0027】

特定の臨床状況において安全性、寛容性および効力を改善する成分の具体的体積および濃度は、いまは同定されている。これら発見から、以下の併用投与量製剤を開発する研究が行われた：

【0028】

成人では35~120mlおよび小児では0.5~1.8ml/kgの高体積使用のための投与量製剤は、活性薬剤として、0.1%(1mg/ml)~0.25%(2.5mg/ml)の間の濃度範囲にあり、成人では225mg以下もしくは小児では2.5mg/kg以下の全身ブピバカイン用量を与えるブピバカイン；0.1mcg/ml~1mcg/mlの濃度範囲にあり、成人では3.5~100mcgもしくは小児では0.05~1.5mcg/kgの全身用量を与えるNeoSTX、および2mcg/ml(共通用語で1:500,000)~10mcg/ml(1:100,000)の間の濃度範囲にあるエピネフリンの3成分併用を含む。この製剤の一般的用途は、全開腹術、胸腹部切開、もしくは側腹部切開のための大きな手術創の3層もしくは4層の浸潤のためである。これら手術のうちいくつかとしては、以下が挙げられる：帝王切開、腹式子宮摘出、食道胃切除、腎摘出、または結腸切除術のような大きな腹部癌手術。全股関節置換(股関節形成)

40

50

および全膝関節置換（膝関節形成）のための創部浸潤もまた、これら製剤の理想的な用途である。

【0029】

15～50mlの中間体積使用のための投与量製剤は、活性成分として、0.125%～0.3%（1.25～3mg/ml）の濃度範囲にあり、成人では100mg以下（小児では2mg/kg以下）の全身用量を与えるピバカイン、0.2～2mcg/mlの濃度範囲にあり、成人では7～150mcg（小児では0.1～1.5mcg/kg）の全身用量を与えるNeoSTX、および0～10mcg/ml（ $\leq 1:100, 000$ ）の濃度範囲にあるエピネフリンの併用を含む。

【0030】

中間体積製剤の意図された用途のうち多くは、末梢神経ブロックもしくは神経叢ブロック（神経周囲注入）、ならびに浸潤（手術創の層に沿った注入）の両方を含む。この製剤の用途は、肩、腕、もしくは手の手術、鼠径ヘルニア修復のための浸潤もしくは腸骨鼠径神経/腸骨下腹神経ブロック、尿道下裂修復のための陰茎ブロック、全膝関節置換もしくは前十字靭帯修復のための大腿神経ブロック、開胸手術のための肋間神経ブロック、または下肢切断のための大腿神経ブロックおよび坐骨神経ブロックを含む。股関節手術に関しては、これは、腰神経叢ブロックおよび低体積坐骨神経ブロックを含み得る。この製剤はまた、関節置換手術用の股関節もしくは膝関節のための神経ブロック（大腿神経および坐骨神経ブロック、腰神経叢および坐骨神経ブロック）のために使用され得る。

【0031】

これら中間体積用途のうちいくつか、特に、末梢神経ブロックおよび神経叢ブロックでの用途については、優先順位の高いことは、3つの特徴を提供することである：

i. 3～12時間の期間の手術の間の麻酔（ほぼ完全な無感覚）

ii. 以下を確保しながら、少なくとも24時間の期間の術後の痛覚脱失（長期の疼痛緩和）

iii. 24～48時間の時間枠で四肢の運動においてある程度の強度を許容するための運動ブロックからの回復

【0032】

24～48時間の運動ブロックからの回復のための必要条件に基づいて、腕および脚に対して運動効果を有する末梢神経ブロックおよび神経叢ブロックに関しては、エピネフリンなしでNeoSTX-ピバカインを有する製剤は、以下の表に詳述されるように、おそらく理想的である。

【0033】

低体積、長時間持続のための投与量製剤は、活性成分として、0.25%～0.5%（2.5～5mg/ml）の濃度範囲にあり、5～15ml投与が成人では75mg以下の全身ピバカイン用量を与えるピバカイン、0.5～5mcg/mlの濃度範囲にあり、5～15ml投与が成人では5～75mcgの全身用量を与えるNeoSTX、および2.5～10mcg/mlの濃度範囲（1:500, 000～1:100, 000）にあるエピネフリンの併用を含む。例は、複合性局所疼痛症候群/反射性交感神経性ジストロフィーもしくは脚の血管不全のための腰部交感神経節ブロックまたは膵炎もしくは膵臓癌のための腹腔神経叢ブロックである。

【0034】

このタイプのブロックを可能な限り長く続かせることは望ましい。なぜなら小体積でX線透視ガイダンスを使用して行った場合、感覚ブロックもしくは運動ブロックはほとんどないからである。従って、3成分全ての比較的高濃度は、交感神経ブロックの持続および少なくとも3～4日間、およびおそらくより長く増大した局所血流を達成するためにこの適用に使用されるべきである。この低体積、長時間持続用途を要し得る他の適用は、下肢切断に関して迅速な運動回復が問題ではない長時間持続の坐骨神経ブロックを含む。

【図面の簡単な説明】

【0035】

10

20

30

40

50

【図1-1】図1A~1Fは、生理食塩水中のNeoSTXおよびNeoSTX-ブピカインを用いた15分間（ピーク効果）での坐骨神経ブロック強度に関するラット用量応答を示す。図1A~1Fは、脚引っ込み潜時（limb withdrawal latency）（秒）（1A、1D）；姿勢性伸筋突伸反応（g）（1B、1E）、および四肢引っ込みの力（g）（1C、1F）を比較する、注射した後肢（図1A~1C）および反対側後肢（図1D~1F）におけるホットプレート、EPT、およびVon Frey試験に関して15分で実施例1に記載されるようにラットでの坐骨神経注射後のブロックの強度のグラフである。

【図1-2】図1A~1Fは、生理食塩水中のNeoSTXおよびNeoSTX-ブピカインを用いた15分間（ピーク効果）での坐骨神経ブロック強度に関するラット用量応答を示す。図1A~1Fは、脚引っ込み潜時（limb withdrawal latency）（秒）（1A、1D）；姿勢性伸筋突伸反応（g）（1B、1E）、および四肢引っ込みの力（g）（1C、1F）を比較する、注射した後肢（図1A~1C）および反対側後肢（図1D~1F）におけるホットプレート、EPT、およびVon Frey試験に関して15分で実施例1に記載されるようにラットでの坐骨神経注射後のブロックの強度のグラフである。

10

【0036】

【図2-1】図2A~2Fは、生理食塩水中のNeoSTXおよびNeoSTX-ブピカインに関するラット坐骨神経ブロックの持続を示す。図2A~2Fは、注射した後肢（2A~2C）および反対側の後肢（2D~2F）においてホットプレート回復試験（時間）（2A、2D）、EPT回復試験（時間）（2B、2E）、およびVon Frey回復試験（時間）（2C、2E）に関して実施例1に記載されるように、ラットにおける坐骨神経注射後のブロックの持続を示すグラフである。

20

【図2-2】図2A~2Fは、生理食塩水中のNeoSTXおよびNeoSTX-ブピカインに関するラット坐骨神経ブロックの持続を示す。図2A~2Fは、注射した後肢（2A~2C）および反対側の後肢（2D~2F）においてホットプレート回復試験（時間）（2A、2D）、EPT回復試験（時間）（2B、2E）、およびVon Frey回復試験（時間）（2C、2E）に関して実施例1に記載されるように、ラットにおける坐骨神経注射後のブロックの持続を示すグラフである。

【0037】

【図3】図3は、ブピカインの追加がNeoSTXの全心毒性を低下させる（LD50を上昇させる）ことを示す。NeoSTX 4およびNeoSTX 5は、1年間隔を空けて、種々の製造施設において調製した2種の異なる製剤をいう。図3は、ラットデータに基づいて、ブピカインありおよびなしのNeoSTXの2種の製剤、Neo 4（グラフの左にある線）およびNeo 5（グラフの右側のある線）のLD50（マイクログラム単位）曲線のグラフである。

30

【0038】

【図4-1】図4A~4Cは、ブロック持続が、NeoSTX-ブピカイン-エピネフリンで最長、NeoSTX-ブピカインで中間、ブピカイン単独で最短であることを示す。図4A~4Cは、0.2% ブピカイン（図4A）、0.2% ブピカイン+3 μ g NeoSTX/kg（図4B）、および0.2% ブピカイン+3 μ g NeoSTX/kg+5 μ g エピネフリン/kg（図4C）に関して、経時的なラットにおけるVon Frey試験のグラフである。

40

【図4-2】図4A~4Cは、ブロック持続が、NeoSTX-ブピカイン-エピネフリンで最長、NeoSTX-ブピカインで中間、ブピカイン単独で最短であることを示す。図4A~4Cは、0.2% ブピカイン（図4A）、0.2% ブピカイン+3 μ g NeoSTX/kg（図4B）、および0.2% ブピカイン+3 μ g NeoSTX/kg+5 μ g エピネフリン/kg（図4C）に関して、経時的なラットにおけるVon Frey試験のグラフである。

【0039】

50

【図5】図5Aおよび図5Bは、NeoSTXへのプピバカインの追加が、NeoSTX - 生理食塩水と比較して、ラット坐骨神経ブロックによって測定してブロック信頼性および持続を改善することを示す。NeoSTX - プピバカインへのエピネフリンの追加は、ブロックのさらなる長期化を生じる。その結果は、生理食塩水中のNeoSTXが矛盾しかつ遅れた機械的間隔ブロックの開始を生じ、ブロックは、図5Bで使用されるもの(3 mcg/kg)より僅かに高いNeoSTX用量(3.5 mcg/kg)ですら、12時間で完全に回復することを示す。図5Aおよび5Bは、3.5 mcg NeoSTX(三角) コントロール(丸)と比較した場合(図5A)、ならびに0.2% プピバカイン(circle)、0.2% プピバカインおよび3 mcg NeoSTX(四角)もしくは0.2% プピバカイン 3 mcg NeoSTX 5 mcg エピネフリン/ml(三角)の関数として(図5B)、処置した脚に時間単位で経時的にVon Frey試験での機械的値からの適用(g)のグラフである。3種全ての製剤は、覚めにくい機械的感覚ブロックの迅速な開始を生じる。グラフは、プピバカイン 0.2%へのNeoSTX 3 mcg/kgの追加が、完全ブロックの4倍の長期化(4時間 対 1時間)および最大半量のブロックの6倍の長期化(12時間 対 2時間)を生じることを示す。上記結果は、プピバカイン 0.2% + NeoSTX 3 mcg/kgへのエピネフリン 5 mcg/kgの追加が、プピバカイン 0.2% + NeoSTX 3 mcg/kgと比較して、完全ブロックのさらに6倍の長期化(24時間 対 4時間)および最大半量のブロックのさらに2.5倍の長期化(30時間 対 12時間)を生じることを示した。現在の標準であるプピバカインと比較すると、プピバカイン - NeoSTX - エピネフリンの上記3成分併用は、完全ブロックの24倍の長期化および最大半量のブロックの15倍の長期化を生じる。

【0040】

【図6】図6Aおよび6Bは、フェーズIヒト治験での全身症状が、NeoSTX用量で変化し、症状がエピネフリンを含めることによって大いに抑制されたことを示す。NeoSTX - プピバカイン併用へのエピネフリンの追加は、フェーズ1治験において、成人において10 mcgおよび30 mcgのNeoSTX用量での全身症状の発生率および臨床的重要性を劇的に低下させる。図6Aは、0、5、10、15、20、30もしくは40 mcg NeoSTX - プピバカイン - エピネフリンの投与後のいずれかの時点で、任意の全身症状：刺痛、無感覚、目眩、悪心もしくは嘔吐を有する被験体のパーセンテージのグラフである。悪心は、40 mcg NeoSTXの被験体のうちの80%で認められた。上記グラフは、10 mcgもしくは30 mcgのNeoSTX用量でNeoSTX - プピバカイン - エピネフリン併用に関して任意の時点スコアでの全身症状の発生が、プラセボより上昇しなかったことを示す。図6Bは、臨床的に有意な全身症状(すなわち、30分以上にわたって0~10スケールで3より大きなスコア)を有する被験体のパーセンテージのグラフである。図6Bは、10 mcgもしくは30 mcgの用量を受けているNeoSTX - プピバカイン - エピネフリン被験体に関しては0を上回るスコアはなかったことを示す。

【0041】

【図7-1】図7Aおよび図7Bは、NeoSTX 10 mcgを使用するフェーズ1ヒト治験でのブロック強度および持続に対するNeoSTX - プピバカインおよびNeoSTX - プピバカイン - エピネフリン併用の効果を示す。図7A、図7B、および図7Cは、エピネフリンの追加が、NeoSTX プピバカイン併用に由来するブロックを強化しかつ長期化することを示すフェーズ1ヒト治験からのものである。図7A、図7B、および図7Cは、プラセボおよびコントロール(NeoSTXなし)と比較して、NeoSTX、NeoSTX + プピバカイン、NeoSTX + プピバカイン + エピネフリンに関して、時間単位で経時的な覚めにくいおよび部分的ブロック、機械的検出(図7A)、機械的疼痛(図7B)および寒冷検出(cool detection)(図7C)の閾値測定グラフである。その結果は、プピバカイン 0.2%が、6時間以下にわたって覚めにくいブロックおよび6~12時間の間の部分的痛覚脱失を与えることを示す。生理食塩水

中のNeoSTX 10mcgは、非常に変動性の短時間持続ブロックを与える。ピバカイン 0.2%中のNeoSTX 10mcgは、約12時間の覚めにくいブロックおよび24~72時間にわたる痛覚脱失の程度を与える。ピバカイン 0.2%中のNeoSTX 10mcgとエピネフリン 5mcg/mlは、24時間にわたる覚めにくいブロックおよび48~72時間にわたる痛覚脱失の程度を与える。

【図7-2】図7Aおよび図7Bは、NeoSTX 10mcgを使用するフェーズ1ヒト試験でのブロック強度および持続に対するNeoSTX-ピバカインおよびNeoSTX-ピバカイン-エピネフリン併用の効果を示す。図7A、図7B、および図7Cは、エピネフリンの追加が、NeoSTX-ピバカイン併用に由来するブロックを強化し、かつ長期化することを示すフェーズ1ヒト試験からのものである。図7A、図7B、および図7Cは、プラセボおよびコントロール(NeoSTXなし)と比較して、NeoSTX、NeoSTX+ピバカイン、NeoSTX+ピバカイン+エピネフリンに関して、時間単位で経時的な覚めにくいおよび部分的ブロック、機械的検出(図7A)、機械的疼痛(図7B)および寒冷検出(cool detection)(図7C)の閾値測定グラフである。その結果は、ピバカイン 0.2%が、6時間以下にわたって覚めにくいブロックおよび6~12時間の間の部分的痛覚脱失を与えることを示す。生理食塩水中のNeoSTX 10mcgは、非常に変動性の短時間持続ブロックを与える。ピバカイン 0.2%中のNeoSTX 10mcgは、約12時間の覚めにくいブロックおよび24~72時間にわたる痛覚脱失の程度を与える。ピバカイン 0.2%中のNeoSTX 10mcgとエピネフリン 5mcg/mlは、24時間にわたる覚めにくいブロックおよび48~72時間にわたる痛覚脱失の程度を与える。

10

20

【0042】

【図8-1】図8A~8Cは、NeoSTX-ピバカイン 0.2%併用においてNeoSTX用量を増大させる効果を示す。図8A、図8Bおよび図8Cは、NeoSTX-ピバカイン併用が5mcg程度の低さの用量において、ピバカイン単独と比較してブロックを長期化することを示すフェーズ1ヒト試験からのものである。図8A~Cは、10mcgのNeoSTX用量において、ピバカイン、NeoSTX-ピバカイン、およびNeoSTX-ピバカイン-エピネフリンに関して、機械的検出(図8A)および熱的検出(図8B、図8C)の覚めにくいおよび部分的ブロックの測定のグラフを示す。その結果は、NeoSTX-ピバカイン 0.2%併用は、5mcg~40mcgの範囲に及ぶ全てのNeoSTX用量において、腕および脚で運動機能に影響を及ぼす神経の末梢ブロックにおける使用に必要とされる場合、少なくとも12時間にわたる複数の感覚の種類、覚めにくいブロック、24~72時間の期間にわたる痛覚脱失、および覚めにくい機械的ブロックから48時間での信頼性の高い回復を生じることを示す。

30

【図8-2】図8A~8Cは、NeoSTX-ピバカイン 0.2%併用においてNeoSTX用量を増大させる効果を示す。図8A、図8Bおよび図8Cは、NeoSTX-ピバカイン併用が5mcg程度の低さの用量において、ピバカイン単独と比較してブロックを長期化することを示すフェーズ1ヒト試験からのものである。図8A~Cは、10mcgのNeoSTX用量において、ピバカイン、NeoSTX-ピバカイン、およびNeoSTX-ピバカイン-エピネフリンに関して、機械的検出(図8A)および熱的検出(図8B、図8C)の覚めにくいおよび部分的ブロックの測定のグラフを示す。その結果は、NeoSTX-ピバカイン 0.2%併用は、5mcg~40mcgの範囲に及ぶ全てのNeoSTX用量において、腕および脚で運動機能に影響を及ぼす神経の末梢ブロックにおける使用に必要とされる場合、少なくとも12時間にわたる複数の感覚の種類、覚めにくいブロック、24~72時間の期間にわたる痛覚脱失、および覚めにくい機械的ブロックから48時間での信頼性の高い回復を生じることを示す。

40

【発明を実施するための形態】

【0043】

(発明の詳細な説明)

NeoSTXとのピバカイン投与を低減するという安全性の利点は、全ての年齢の患者

50

にとって重要であるが、小児にとっては特に重量である。前向きレジストリからの疫学データは、より若年の小児が、局所麻酔薬全身反応に関して成人と比較すると、増大したりスクにあることを示す。局所麻酔薬および局部麻酔は、幼児および小児において手術後に疼痛緩和を提供するためにますます使用されつつある。これら併用によって提供されるより大きな安全性限界によって、小児科学における特有の用途がある。小児患者にとって、種々の適応症に関して最適な、好ましいおよび広範囲の用量、体積および濃度は、Neostixの物理化学的特性に関する懸念および身体区画のサイズならびに小児および年齢の高い方の幼児の体重での分布規模の大きさがどの程度かに基づいて導出した。

【0044】

定義：

痛覚脱失とは、意識喪失なしの疼痛への無感覚をいう。

【0045】

麻酔とは、感覚の喪失（局所；意識喪失を引き起こさない；全身，意識喪失あり）および通常は、生命機能の喪失なしの意識の喪失をいう。

【0046】

血管収縮薬は、特に血管運動作用の結果として、血管の内腔を狭くする薬剤である。

【0047】

浸潤とは、組織の複数の層もしくは領域への注入をいう。

【0048】

注射（注入）とは、組織もしくは内腔における単一の点への注射（注入）をいう。

【0049】

神経ブロックとは、神経幹に沿ったインパルスの流れを遮ることによって生じる局所麻酔をいう。

【0050】

最小有効濃度（「MEC」）は、疼痛緩和を提供するために十分な所定の位置における1種以上の薬物の最低局所濃度である。

【0051】

II. 組成物

【0052】

A. サイト1ナトリウムチャンネルブロッカー

サイト1ブロッカーは、電位開口型ナトリウムチャンネルのそれらの強力かつ特異的なブロックについて認識された分子長のファミリーである。サイトIナトリウムチャンネルブロッカーとしては、テトロドトキシン（TTX）、サキシトキシン（STX）、デカルバモイルサキシトキシン、ネオサキシトキシン、およびゴニオトキシン（本明細書ではまとめて「トキシン」といわれる）が挙げられる。テトロドトキシンは、フグのうちのいくつかの種およびカリフォルニアイモリの中のある種の卵巣および卵から得られる。化学的には、それは、アミノペルヒドロキノリン（amino perhydroquinaoline）である。Pharmacological Reviews, Vol. 18 No. 2, pp. 997-1049を参照のこと。テトロドトキシン単独は毒性が強すぎて、麻酔としては使用できない。テトロドトキシンとブピバカインとの併用は、テトロドトキシン単独と比較して、増大した全心毒性なしにラットにおいて長時間持続坐骨神経ブロックを生じた（Kohane, et al., Anesthesiology, 1998: 119-131）。最も広く知られているサイト1トキシンであるテトロドトキシンは、麻酔として有効であるものの、それは、フグ由来であることから、臨床使用には高価である；TTXを作り出す内共生細菌がエキソビボで増殖される場合には、そのTTXの生成は減少する。

【0053】

サキシトキシンは、アラスカバタークラム（Alaska butter clam）、Saxidomus giganteusから最初に抽出され、ここではGonyaulax属の藻類に存在する。報告された化学式は、 $C_{10}H_{15}N_7O_3 \cdot 2HCl$ である。

10

20

30

40

50

上記トキシンは、2個のグアニジニウム部分が組み込まれているペルヒドロプリン核を有すると考えられる。サキシトキシンはまた、毒性が強すぎて、局所麻酔薬として単独で使用できない。

【0054】

サキシトキシンの誘導体は、藻類からバイオリクター中で生成され得る。その2つの誘導体であるネオサキシトキシン(NeoSTX)およびデカルバモイルサキシトキシンは、その生成プロセスおよび効能の点から利点を有する。ある研究は、サキシトキシンシリーズのうちのいくつかのメンバー(NeoSTXを含む)でラット坐骨神経ブロックを試験した(Kohane, et al., Reg. Anesth. Pain Med., 2000; 25: 52-9)。サキシトキシンおよびこれらの2種の誘導体は全て、プピバカインもしくはエピネフリンと併用した場合、顕著な相乗効果的ブロックおよび長期間のブロック(インビボでラット坐骨神経において1~2日)を与える。

10

【0055】

ネオサキシトキシンの誘導体は、潜在的により強力であり、製剤中ではサキシトキシンを超える利点を有し得る。ネオサキシトキシン(NeoSTX)は、長時間持続局所麻酔薬として臨床開発中である(Rodriguez-Navarro, et al., Anesthesiology, 2007; 106: 339-45; Rodriguez-Navarro, et al., Neurotox. Res., 2009; 16: 408-15; Rodriguez-Navarro, et al., Reg. Anesth. Pain Med., 2011; 36: 103-9)。ヒトボランティアでの皮下浸潤のフェーズ1試験は、NeoSTXが有効な皮膚鈍麻を引き起こすことを示し(Rodriguez-Navarro, et al., Anesthesiology, 2007; 106: 339-45)、第2のフェーズ1試験は、NeoSTXもしくはプピバカイン単独と比較して、プピバカインとの併用が、より長期間の痛覚脱失を生じることを示した(Rodriguez-Navarro, et al., Neurotox. Res., 2009; 16: 408-15)。

20

【0056】

サイトIナトリウムチャンネルブロックの好ましい供給源は、チリのホライモリによって生成されるネオサキシトキシンである。

30

【0057】

B. 局所麻酔薬

本明細書で使用される場合、用語「局所麻酔薬」とは、局所的な無感覚もしくは疼痛緩和を提供する薬物を意味する。利用され得る局所麻酔薬のクラスとしては、以下が挙げられる：アミノアシルアニリド化合物(例えば、リドカイン、プリロカイン、プピバカイン、メピバカインおよび環系もしくはアミン窒素上に種々の置換基を有する関連局所麻酔薬化合物)；アミノアルキルベンゾエート化合物(例えば、プロカイン、クロロプロカイン、プロボキシカイン、ヘキシルカイン、テトラカイン、シクロメチカイン、ベノキシネート、ブタカイン、プロパラカイン、および関連局所麻酔薬化合物)；コカインおよび関連局所麻酔薬化合物；アミノカーボネート化合物(例えば、ジペロドンおよび関連局所麻酔薬化合物)；N-フェニルアミジン化合物(例えば、フェナカインおよび関連麻酔薬化合物)；N-アミノアルキルアミド化合物(例えば、ジブカインおよび関連局所麻酔薬化合物)；アミノケトン化合物(例えば、ファリカイン(fallicaine)、ジクロニンおよび関連局所麻酔薬化合物)；ならびにアミノエーテル化合物(例えば、プラモキシ、ジメチソキン(dimethisoquin)、および関連局所麻酔薬化合物)。好ましい局所麻酔薬は、アミノ-アミドおよびアミノエステルであり、最も好ましいのは、プピバカイン(プピバカインの左旋性鏡像異性体が好ましく、ここで上記局所麻酔薬の血管収縮薬活性は、望ましい)、テトラカイン、およびロピバカイン(これは、僅かにより感覚選択性である)である。

40

【0058】

50

これら薬物は、種々の部位においておよび種々のタイプの手術に対して与えられる場合に、疼痛緩和が平均6～10時間である。多くのタイプの手術に関しては、2日もしくは3日間続く疼痛緩和の持続があることは好ましい。NeoS TXと併用して使用するために好ましい局所麻酔薬は、プピバカイン、ロピバカイン、テトラカインおよびレボプピバカインである。プピバカインは、特に長時間作用性で極力な局所麻酔薬である。その他の利点としては、部分的運動ブロックのみがない十分な感覚麻酔、および広い利用可能性が挙げられる。

【0059】

C．血管収縮薬

有用な血管収縮薬は、局所的に作用して血流を制限し、そしてそれによって、上記薬物が投与される領域に上記薬物を保持するものである。これは、全身毒性を実質的に低減するという効果を有する。好ましい血管収縮薬は、アドレナリン作動性レセプター（例えば、エピネフリンおよびフェニルエピネフリン）に対して作用するものである。他の薬物および色素は、副作用として血管収縮させる（例えば、プピバカインおよびレボプピバカイン）。

【0060】

D．賦形剤および保存剤

上記製剤はまた、保存剤、pH調節剤、抗酸化剤、および等張剤を含み得る。

【0061】

好ましい実施形態において、上記麻酔薬は、生理食塩水または酸性緩衝化溶液（必要に応じて、保存剤を含む）中に製剤化される。局所的もしくは徐放性のキャリアが利用されるが、好ましくはない。

【0062】

E．投与ユニット

好ましい実施形態において、上記NeoS TX、プピバカインおよび必要に応じてエピネフリンは、水性溶液中でバイアルの中で提供される。製剤のタイプに依存して、以前におよび以下で概説されるように、上記バイアルサイズは、15～40mlの範囲に及び得、1～3本のバイアルが種々の状況において単一の患者のために使用され得る。別の実施形態において、上記NeoS TX、局所麻酔薬、および必要に応じて血管収縮薬は、1本以上のバイアルの中に提供され、必要に応じて、凍結乾燥され、次いで、使用前に再水および組み合わされる。この第2の実施形態に関しては、好ましいバイアルサイズは、5～40mlの範囲に及び得る。

【0063】

III．製剤および投与量

動物およびヒトでの研究は、有効投与量およびヒトの処置のための体積を決定するために必要である。例えば、インビトロ生理学実験からのサイト1ナトリウムチャンネルブロックの効能の順位からは、インビボでのそれら化合物の効能の順位は推定されない（Kohane, et al., Reg. Anesth. Pain Med., 2000; 25: 52-9）。

【0064】

以下の原理から、局所麻酔薬用量、体積および濃度には制限がある。

【0065】

種々の臨床状況によって、局所麻酔薬の安全性および効力に対して種々の要求が提起される。

【0066】

全身の安全性は、プピバカイン、NeoS TX、もしくは他の局所麻酔薬の総用量（mgもしくはmg/kg）に対する上限を決定する。取り込みの過程、血管分布などに基づいて、合計の許容可能な用量には小さな差異があるが、全体として、各局所麻酔薬は、最大の許容可能な総用量を有する。本明細書に記載されるように、NeoS TXおよびプピバカインとともにエピネフリンを含めることは、効力および全身の安全性を増大させ、より

大きな用量およびより大きな体積を許容し、疼痛緩和のより長時間持続を提供する。しかし、エピネフリンが過剰な血管収縮に起因して回避されなければならない身体の部位がいくつかある。これらとしては、指および足趾の周りの注射、および陰茎の周りの注射が挙げられる。従って、種々の臨床使用のために、エピネフリンありおよびなしの両方で、製剤を開発することは重要である。

【0067】

身体の任意の局所領域において、局所麻酔薬の十分な局所組織濃度が求心性伝達をブロックするために必要とされる。疼痛緩和を提供するために十分な所定の位置での1種以上の薬物の最低局所濃度は、「最小有効濃度」もしくはMECといわれる。

【0068】

従って、大きな組織体積への浸潤を要する臨床状況は、より小さな組織体積に伴う臨床状況より、MEC以上の局所麻酔薬のより大きな全体積を要する。MECが種々の位置において類似であれば、より大きな組織体積が、より小さな組織体積より大きな全容量を要する。

【0069】

フェーズ1ヒト治験において生理食塩水中のNeoS TXおよびNeoS TX - プピバカイン併用に関しては、全身症状（軽度の刺痛および/もしくは指、口唇および舌の無感覚が挙げられる）が、合計で10mcg程度の小さなNeoS TX用量で起こることは、予測外であった。これら症状は、10~15mcgの用量で軽度であったが、重症度が増大し、用量が40mcgへと増大すると、一過性の悪心が伴った。これら症状は予測外であった。なぜなら刺痛および悪心は、非ヒトデータからは知りようがなかったからである。これらヒト研究はまた、NeoS TX - プピバカインへのエピネフリンの追加が、10~30mcgのNeoS TX用量範囲においてこれら症状の発生率を劇的に減少させることを示した（図6を参照のこと）。従って、エピネフリンが刺痛および悪心を防止するためにそれら濃度で必要とされるということは、以前のデータから知る方法は決していない。上記ヒトフェーズ1治験において、エピネフリンはまた、NeoS TX + BPVからブロックの持続を劇的に増大させる。

【0070】

いくつかの臨床状況において、無感覚もしくは虚弱が、これら効果が望ましくないかもしくは危険ですらある身体の他の位置に拡がるのを防止するために、大体積（すなわち、20mlより大きい）の局所麻酔薬を与えないことは重要である。例えば、肩の手術のために使用される場合、斜角筋間腕神経叢ブロックのための20mlより大きな体積の注射は、喉頭を神経支配している頸部の神経付近に溢出するリスクを増大させ、嘔声および気管への液体の吸引のリスクを引き起こす。同様に、腰部交感神経節ブロックのための20mlより大きな体積は、体性神経への漏出のリスクを増大させ、脚の大きな筋肉に至る神経を麻痺させることに起因して、一時的な脚の虚弱というリスクと関連する。他の状況において、非常に大体積が使用されなければ、いくつかの組織は、網羅されず、その結果は、不適切な疼痛緩和になる。これらの例は、以下で引用される。

【0071】

ヒト治験からは、サイト1ナトリウムチャンネルブロッカーに関して以前から公知であったことに基づいて推定できなかった特定の投与懸念事項は明らかにならなかった。これらのうちのいくつかは、現在の従来からの知識および局所/局部麻酔における臨床実務に矛盾している。これら懸念事項は、ヒトにおいて安全に使用され得る特定の製剤に、理解されなかった様式で強い影響をさらに及ぼす。

【0072】

ラットでは、検出可能な神経ブロックは、0.1mLの注入物中で、350gのラットでは約1μgの用量に相当し、70kgのヒトでは約270μgの用量である30μM超で始まる（Kohane, et al., RAPM, 25(1):1-107 (2000)）。実施例1およびさらなる研究で記載されるように、その用量応答を、生理食塩水中のNeoS TX、NeoS TX - プピバカイン、およびNeoS TX - プピバカイン

10

20

30

40

50

ン - エピネフリンを使用する局所麻酔に関してラットで決定した(図1、図2、図4、および図5を参照のこと)。0.2%のプリバカイン濃度は、ラットおよびヒト両方の研究に関して同じであった。ラットでは、NeoSTX - プリバカイン併用は、2 mcg/kgのNeoSTX用量においてプリバカイン単独と比較して、ブロックの矛盾するかまたは統計的に有意でない長期化を与え、信頼性の高いかつ強い長期化は、少なくとも3 mcg/kgのNeoSTX用量でのみ達成された。これら研究は、注射体積0.3 mlを使用して行った。ラットの体重(約250 gm)に基づくと、これら注射については、3 mcg/kgのNeoSTX用量は、2.5 mcg/mlの注射物中のNeoSTX濃度に相当する。

【0073】

対照的に、ヒトフェーズ1試験では、NeoSTX - プリバカイン併用を使用して、5 mcg程度の低さ(これら成人に関しては約0.07 mcg/kg)のNeoSTX用量が、プリバカイン単独と比較して優れていた、すなわち4倍のブロックの長期化を与えたことを見出した(図7)。注射体積10 mlに関しては、これは、NeoSTX濃度5 mcg/10 ml(すなわち、0.5 mcg/ml)を使用するヒトでのNeoSTX - プリバカイン併用におけるNeoSTXの非常に強いブロック長期化効果を示す。

【0074】

従って、ヒトにおけるNeoSTXは、ラットで見出された、その相当する有効なNeoSTXの体重に合わせた用量および濃度より、体重に合わせたNeoSTX用量において少なくとも1/40倍でおよびNeoSTX濃度において少なくとも1/5倍で、NeoSTX - プリバカイン併用において信頼性の高いブロック長期化を生じる。薬物投与のスケジュールおよび結果的には、具体的な手術タイプに要求される濃度の具体的な範囲は、先行技術から導出できなかった。なぜなら動物は、全く有意な毒性を誘発しない症状に関してはインターロゲートできないからである。具体的には、全身症状(刺痛、口唇、指および舌の無感覚を含む)、および最終的に悪心が、ラット研究で使用されるもの(2~5 mcg/kg)より遙かに低い体重に合わせた投与量(15~40 mcg、もしくは約0.2~0.6 mcg/kg)で起こることがNeoSTXのヒト研究で見出され(図1~5を参照のこと)、刺痛、無感覚および悪心は、既存の局所麻酔薬からおよび麻痺性の貝類中毒からの毒性の両方に迫ることが見出される。

【0075】

まとめると：

【0076】

これら低用量でのこれら症状の発生は、NeoSTXを使用する以前のラットもしくはヒトでの研究によって予想されなかった。

【0077】

NeoSTXに関して、症状は、測定可能な生理学的効果(例えば、虚弱もしくは呼吸測定値の障害)を生じる用量の遙か下で起こる。これら症状は、麻酔を掛けた被験体より覚醒したヒトにおいてNeoSTX - プリバカインの最大用量を制限する。

【0078】

NeoSTXの症状は、類似の症状がプリバカインの過剰投与で起こる場合よりリスクが低いことを暗示する。プリバカインが刺痛を感じさせる場合、奇妙なのは、発作(seizure)、不整脈もしくは心停止のいずれかをすぐに有することである。これは、NeoSTXの場合には当てはまらない。

【0079】

エピネフリンは、これら症状の重症度を劇的に低減し、2成分併用と比較して、これら3成分併用においてより高いNeoSTX用量の寛容性を可能にする。

【0080】

薬物投与のスケジュールおよび結果的に、特定の手術タイプに関して要求される濃度の特定の範囲は、局所麻酔薬の投与において全世界で実施されていることとは矛盾している。全心毒性は、従来の局所麻酔薬を使用するにあたって希に制限となる特徴であるので、濃

10

20

30

40

50

度を調節して注射物の体積を考慮することは、不要である。NeoSTXおよび類似化合物の使用は、薬物溶液の組成の変更自体が必要とされる異なるアプローチを必要とする。

【0081】

種々の臨床状況タイプに最適化された製剤が、開発されてきた。

【0082】

「高体積浸潤痛覚脱失」

【0083】

成人に関して35～120mlおよび小児に関して0.5～1.8ml/kgの高体積使用のための投与量製剤は、活性薬剤として、0.1% (1mg/ml)～0.25% (2.5mg/ml)の間の濃度範囲にあり、成人では225mg以下もしくは小児では2.5mg/kg以下の全身プピバカイン用量を与えるプピバカイン；0.1mcg/ml～1mcg/mlの濃度範囲にあり、成人では3.5～100mcgもしくは小児では0.05～1.5mcg/kgの全身用量を与えるNeoSTX、および2mcg/ml (共通用語で1:500,000)～10mcg/ml (1:100,000)の間の濃度範囲にあるエピネフリンの3成分併用を含む。この製剤の一般的用途は、全開腹術、胸腹部切開、もしくは側腹部切開のための大きな手術創の3層もしくは4層の浸潤である。これら手術のうちいくつかとしては、以下が挙げられる：帝王切開、腹式子宮摘出、食道胃切除、腎摘出、または結腸切除のような大きな腹部癌手術。全股関節置換 (股関節形成) および全膝関節置換 (膝関節形成) の創部浸潤もまた、これら製剤の理想的な用途である。この製剤の一般的用途は、全開腹術、胸腹部切開、もしくは側腹部切開の手術創の3層

10

20

【0084】

【表 1】

表1: 高体積製剤(成人)

	最適	好適	より広範囲	
体積	70 ml	50 – 100 ml	35 – 120 ml	
NeoSTX濃度	0.3 mcg/ml	0.2 – 0.4 mcg/ml	0.1 – 0.8 Mcg/ml	
全NeoSTX用量	21 mcg	10 – 40 mcg	10 – 100 mcg	10
プピバカイン濃度	0.2 % (2 mg/ml)	0.15 – 0.25% (1.5 – 2.5 mg/ml)	0.1 – 0.3% (1 – 3 mg/ml)	
エピネフリン濃度	5 mcg/ml	2.5 – 7.5 mcg/ml	2 – 10 mcg/ml	
代表的な 臨床用途	大きな腹部手術(帝王切開、子宮摘出および結腸摘出が挙げられる)のための浸潤 股関節置換および膝関節置換のための浸潤 胸壁の神経ブロック(胸部手術および上腹部手術のための傍脊椎ブロック)および腹壁の神経ブロック(腹部手術のための腹横筋膜面ブロック)			20

【 0 0 8 5 】

30

【表 2】

表2: 高体積製剤(小児)

(「/kg」の全ての列挙は、小児の体重で合わせていることを指す)

	最適	好適	より広範囲	
体積	1 ml/kg	0.7 - 1.3 ml/kg	0.5 - 2 ml/kg	
NeoSTX濃度	0.3 mcg/ml	0.2 - 0.4 mcg/ml	0.1 - 0.8 Mcg/ml	10
全NeoSTX用量	0.3 mcg/kg	0.2 - 0.4 mcg/kg	0.1 - 1.5 mcg/kg	
ピバカイン濃度	0.2 % (2 mg/ml)	0.15 - 0.25% (1.5 - 2.5 mg/ml)	0.1 - 0.3% (1 - 3 mg/ml)	
エピネフリン濃度	5 mcg/ml	2.5 - 7.5 mcg/ml	1 - 10 mcg/ml	20
代表的な 臨床用途	<p>大きな腹部手術(癌手術および先天異常のための手術が 挙げられる)のための浸潤</p> <p>先天的股関節修復のための浸潤</p> <p>胸壁の神経ブロック(胸部手術および上腹部手術のため の傍脊椎ブロック)および腹壁の神経ブロック(腹部手術 のための腹横筋膜面ブロック)</p>			30

【0086】

「中間体積、中間時間持続」

【0087】

これら用途は、成人では約15～40mlもしくは小児では0.2～0.6ml/kgの全体積を要する。これら適用において、体積は、望ましくない標的への漏出を妨げるために比較的低いまま保持されなければならない。例えば、肩の手術に関しては、斜角筋間腕神経叢ブロックが、一般に使用される。超音波ガイダンスが、正確な鍼の配置のために使用され、全体積は、望ましくない標的(例えば、反回神経(これは喉頭の機能に影響を及ぼす))への漏出を防止するために制限される。現在利用可能なブロックは、代表的には、10時間持続し、および希に最大15～18時間まで持続する。これはしばしば、ブロックが夜間まで持続することを意味し、患者は、術後の最初の夜に重症の疼痛を有する。

【0088】

このレジメンにおいて、少なくとも24時間(すなわち、最初の夜中ずっと)、および最大48～72時間までの間、ブロックが疼痛緩和を信頼性高く引き起こすようにすることは望ましいが、覚めにくい運動ブロックおよび上記ブロックの軽い触覚要素(light-touch components)は、約24時間で消失するはずであり、その結果、上記患者は、術後の昼には、腕および手(腕神経叢ブロックに関しては)または脚(大腿神経ブロック、腰神経叢ブロック、もしくは坐骨神経ブロックに関しては)のより大きな運動性を有する。

【0089】

15～50mlの中間体積使用のための投与量製剤は、活性薬剤として、0.125%～0.3%（1.25～3mg/ml）の濃度範囲にあり、成人では150mg以下（小児では2mg/kg以下）の全身用量を与えるピピバカイン、0.2～2mcg/mlの濃度範囲にあり、成人では7～100mcg（小児では0.1～1.5mcg/kg）の全身用量を与えるNeoSTX、および0～10mcg/mlの濃度範囲（ $\leq 1:100, 000$ ）にあるエピネフリンの併用を含む。

【0090】

中間体積製剤の意図された用途のうちの多くは、末梢神経ブロックもしくは神経叢ブロック（神経周囲注入）、および浸潤（手術創の層に沿った注入）の両方を含む。この製剤の用途としては、肩、手もしくは腕の手術、鼠径ヘルニア修復のための浸潤もしくは腸骨鼠径神経/腸骨下腹神経ブロック、尿道下裂修復のための陰茎ブロック、全膝関節置換もしくは前十字靭帯修復のための大腿神経ブロック、開胸手術のための肋間神経ブロック、または下肢切断もしくは足部および足関節手術のための大腿神経ブロックおよび坐骨神経ブロックが挙げられる。股関節手術については、これは、腰神経叢ブロックおよび低体積坐骨神経ブロックを含み得る。この製剤はまた、関節置換手術のための股関節もしくは膝関節用の神経ブロック（大腿神経ブロックおよび坐骨神経ブロック、腰神経叢ブロックおよび坐骨神経ブロック）に使用され得る。

10

【0091】

これら中間体積用途のうちのいくつかに関しては、特に、末梢神経ブロックおよび神経叢ブロックでは、優先順位の高いことは、3つの特徴を提供することである：

20

3～12時間の期間の手術の間の麻酔（ほぼ完全な無感覚）、24～48時間の時間枠で四肢の運動においてある程度の強度を許容するための運動ブロックからの回復を確保しながら、少なくとも24時間の期間の術後の痛覚脱失（長期の疼痛緩和）。

【0092】

腕および脚に対する運動効果を有する末梢神経ブロックおよび神経叢ブロックに関しては、24～48時間までの運動ブロックからの回復の必要条件に基づいて、エピネフリンなしでNeoSTX-ピピバカインを有する製剤は、以下の表に詳述されるように、おそらく理想的である。

【0093】

30

【表 3】

表3: 中間体積製剤(成人)

	最適	好適	より広範囲	
体積	25 ml	20-40 ml	15 - 50 ml	
NeoSTX 濃度	0.4 mcg/ml	0.3 - 0.5 mcg/ml	0.2 - 2 Mcg/ml	
全NeoSTX用量	10 mcg	8 - 20 mcg	8 - 150 mcg	10
ブピバカイン濃度	0.2 % (2 mg/ml)	0.15 - 0.25% (1.5 - 2.5 mg/ml)	0.1 - 0.3% (1 - 3 mg/ml)	
エピネフリン濃度	0 mcg/ml	0 mcg/ml	1 - 5 mcg/ml	
代表的 臨床用途	肩、腕もしくは手の手術のための斜角筋間ブロック 股関節置換のための腰神経叢ブロック 股関節置換もしくは膝の靭帯再構築のための大腿神経ブ ロックもしくは伏在神経ブロック 足部および足関節手術のための坐骨神経ブロック 下肢切断、脚および足関節手術のための大腿神経ブロック および坐骨神経ブロック 関節置換手術のための股関節もしくは膝関節の神経ブロッ ク（大腿神経および坐骨神経、腰神経叢および坐骨神 経）			20

30

【 0 0 9 4 】

【表 4】

表4: 中間体積製剤(小児)

(「/kg」の全ての列挙は、小児の体重で合わせていることを指す)

	最適	好適	より広範囲	
体積	0.4 ml/kg	0.3 – 0.5 ml/kg	0.2 – 0.6 ml/kg	
NeoSTX 濃度	0.4 mcg/ml	0.3 – 0.5 mcg/ml	0.2 – 2 Mcg/ml	
全NeoSTX用量	0.2 mcg/kg	0.1 – 0.3 mcg/kg	0.1 – 1.5 mcg/kg	
ブピバカイン濃度	0.2 % (2 mg/ml)	0.15 – 0.25% (1.5 – 2.5 mg/ml)	0.1 – 0.3% (1 – 3 mg/ml)	
エピネフリン濃度	0 mcg/ml	0 mcg/ml	1 – 5 mcg/ml	
代表的 臨床用途	肩手術のための斜角筋間ブロック 先天的股関節修復のための腰神経叢ブロック 膝の靭帯再構成のための大腿神経ブロックもしくは伏在神 経ブロック 足部および足関節手術のための坐骨神経ブロック			

10

20

【0095】

「低体積長時間持続」

30

【0096】

この製剤は、非常に長時間の効果が設計され、その体積が他の部位への漏出を回避するために少ないまま維持される位置のためである。例は、複合性局所疼痛症候群/反射性交感神経性ジストロフィーもしくは脚の血管不全のための腰部交感神経節ブロック、または膵炎もしくは膵臓癌のための腹腔神経叢ブロックである。

【0097】

腰部交感神経節ブロックに関しては、注射は、脚において血管収縮を生じる神経の群をブロックするために行われる。これら神経がブロックされる場合、その結果は、脚の血流の増大および特定の疾患に由来する疼痛の低減である。この神経ブロックに関しては、体積は、腰神経叢の体性神経への漏出（これは、脚を虚弱にする）を回避するために比較的低くなければならない（好ましくは、8 ~ 20 ml）。しかし、中間体積中間時間持続とは異なって、このブロックタイプが可能な限り続くようにすることは望ましい。なぜならX線透視ガイダンスを使用して小体積で行われる場合、感覚神経ブロックもしくは運動ブロックがほとんどないからである。従って、3種全ての成分の比較的高濃度が交感神経ブロックの持続および少なくとも4日間にわたる局所血流の増大を達成するためにこの適用に使用されるべきである。

40

【0098】

低体積長時間持続のための投与量製剤は、活性薬剤として、0.25% ~ 0.5% (2.5 ~ 5 mg/ml) の濃度であり、5 ~ 15 ml 投与が成人では75 mg 以下の全身ブピ

50

バカイン用量を与えるブピバカイン、0.5～5mcg/mlの濃度範囲にあり、5～15ml投与が成人では5～75mcgの全身用量を与えるNeoSTX、および2.5～10mcg/ml(1:500,000～1:100,000)の濃度範囲にあるエピネフリンの併用を含む。例は、複合性局所疼痛症候群/反射性交感神経性ジストロフィーもしくは脚の血管不全のための腰部交感神経節ブロック、または膵炎もしくは膵臓癌のための腹腔神経叢ブロックである。

【0099】

このブロックタイプを可能な限り長く続くようにすることは望ましい。なぜならX線透視ガイダンスを使用して小体積で行われる場合、感覚神経ブロックもしくは運動ブロックがほとんどないからである。従って、3種全ての成分の比較的高濃度が交感神経ブロックの持続および少なくとも3～4日間にわたって、およびおそらくより長く局所血流の増大を達成するためにこの適用に使用されるべきである。この低体積長時間持続用途を要し得る他の適用としては、下肢切断に関するような迅速な運動回復が問題ではない長時間持続の坐骨神経ブロックが挙げられる。

10

【0100】

【表5】

表5: 低体積製剤(成人)

	最適	好適	より広範囲	
体積	15 ml	8 - 20 ml	5 - 25 ml	
NeoSTX 濃度	1 mcg/ml	0.6 - 1.5 mcg/ml	0.4 - 5 Mcg/ml	
全NeoSTX用量	15 mcg	10 - 30 mcg	5 - 80 mcg	
ブピバカイン濃度	0.2 % (2 mg/ml)	0.2 - 0.4% (2 - 4 mg/ml)	0.1 - 0.5% (1 - 5 mg/ml)	
エピネフリン濃度	5 mcg/ml	2.5 - 7.5 mcsg/ml	1 - 5 mcg/ml	
代表的 臨床用途	反射性交感神経性ジストロフィーもしくは末梢血管疾患のための腰部交感神経ブロック 慢性膵炎もしくは膵臓癌のための腹腔神経叢ブロック 下肢切断に関するような迅速な運動回復が問題ではない 長時間持続の坐骨神経ブロック			

20

30

40

【0101】

【表 6】

表6: 低体積製剤(小児)

	最適	好適	より広範囲	
体積	0.25 ml/kg	0.15 - 0.4 ml/kg	0.1 - 0.5 ml/kg	
NeoSTX 濃度	1 mcg/ml	0.6 - 1.5 mcg/ml	0.4 - 5 Mcg/ml	10
全NeoSTX用量	0.25 mcg/kg	0.1 - 0.5 mcg/kg	0.05 - 1.2 mcg/kg	
プピバカイン濃度	0.2 % (2 mg/ml)	0.2 - 0.4% (2 - 4 mg/ml)	0.1 - 0.5% (1 - 5 mg/ml)	
エピネフリン濃度	5 mcg/ml	2.5 - 7.5 mcg/ml	1 - 5 mcg/ml	20
代表的 臨床用途	青年期のヒトにおける反射性交感神経性ジストロフィーの ための腰部交感神経ブロック 先天的形成異常もしくは癌のための下肢切断のための坐 骨神経ブロック			

【 0 1 0 2 】

NeoSTX + BPV の 2 種薬物併用

【 0 1 0 3 】

6 ~ 12 時間の手術グレードの神経ブロック、続いて、さらなる処置なしに最大約 48 時間までのレーザーブロックを信頼性高く与える非徐放性薬剤が望ましい。前者の期間は、手術中に、および術後直ぐの期間に有効である；後者は、痛覚脱失の低下を提供し、治療が進行するにつれて関わった身体部分の使用の増大を可能にする。NeoSTX + BPV は、このブロックの持続を生じる。

30

【 0 1 0 4 】

本発明は、以下の非限定的な実施例を参照することでさらに理解される。

【 実施例 】

【 0 1 0 5 】

実施例 1：ネオサキシトキシン (NeoSTX) とプピバカインは、毒性の増大なしに治療において長時間持続局所痛覚脱失を提供する

40

【 0 1 0 6 】

皮下注射を使用するヒツジでの NeoSTX の近年の研究から、プピバカインは、NeoSTX からの呼吸器系毒性および神経筋毒性の代替測定値を悪化させないことが示された。別個のモデルでは、NeoSTX の故意の静脈内注入から、プピバカインの匹敵する以前の研究におけるより遙かに低い、顕著に軽微な心血管毒性が示された。本研究は、ラット坐骨神経ブロックの神経行動測定に対する、ならびにこれら併用の局所毒性および全毒性に対する NeoSTX および NeoSTX - プピバカイン併用の用量応答をさらに調査する。これら実験を、計画されたフェーズ 1 治療における臨床用途のために製造された NeoSTX 製剤を使用して、臨床試験実施申請資料のための前臨床試験として行った。

【 0 1 0 7 】

50

仮定は、以下であった： 1) 固定した NeoSTX 用量において、ブピバカインの追加は、ラット坐骨神経ブロックの強度および持続を増大させる； 2) ブピバカインの存在下もしくは非存在下で、ブロックの強度および持続は、NeoSTX 用量とともに増大する； 3) ラット坐骨神経に対する NeoSTX (生理食塩水中もしくはブピバカインとの併用で) の組織学的効果は、意図された用量範囲にわたって良好であり、ビヒクルもしくは処置されていない神経のものとは統計学的に差異はない； 4) 迅速な偶発的静脈内注入のモデルにおいて、NeoSTX およびブピバカインは、別個の過程で、呼吸エンドポイントおよび心電計エンドポイントを別個に生じる。NeoSTX およびブピバカインの両方の全濃度を使用する併用は、全身毒性をより迅速に (すなわち、より短い注入時間およびより低い蓄積容量で) 発生させた一方で、各成分の 1/2 濃度併用は、毒性をよりゆっくりと (すなわち、より大きな蓄積用量で) 発生させた。

10

【0108】

材料および方法

【0109】

方法： NeoSTX、0.25% ブピバカイン、もしくは併用を、Sprague-Dawley ラットへの坐骨神経注射で与えた。感覚 - 侵害防御機能を、ホットプレートおよび Von Frey フィラメント試験によって評価した。運動 - 侵害防御機能を、姿勢性伸筋突伸反応によって評価した。7日後、坐骨神経を切断し、毒性について組織学検査した。LD50 もまた、坐骨神経注射後に、NeoSTX および NeoSTX - ブピバカイン併用後に計算した。偶発的静脈内過剰投与を模倣するために、イソフルラン麻酔し、自発呼吸しているラットに、それらが呼吸エンドポイントおよび心電計エンドポイントに達するまで、NeoSTX 単独、ブピバカイン単独、もしくは NeoSTX - ブピバカイン併用のいずれかの注入を与えた。

20

【0110】

薬物

【0111】

坐骨神経注射モデルでは、薬物を実験日に調製し、注射物体積を 0.3 mL で固定した。NeoSTX (Proteus SA, Chile) を輸送し、Children's Hospital Boston 安全性基準に従って、Harvard Committee on Microbiological Safety に従って貯蔵した。NeoSTX ストックは、pH 4.5 において 20 mcg/mL のネオサキシトキシンを含む。

30

【0112】

NeoSTX を、0.9% 生理食塩水もしくはブピバカインヒドロクロリド (SENSORCAINE (登録商標), APP Pharmaceuticals, Schaumburg, IL) 中で希釈した。Depending on その意図された最終 NeoSTX 濃度に依存して、市販のブピバカインのバイアル (ブピバカイン 5 mg/mL (0.5%) もしくはブピバカイン 2.5 mg/mL (0.25%) のいずれかとして) を、最終注射物中で 2 mg/mL (0.2%) の最終ブピバカイン濃度を達成するために使用した。IV 過剰用量モデルにおいて、注入濃度は以下のとおりであった：ブピバカイン 2 mg/mL、NeoSTX 1.88 mcg/mL、全濃度併用：ブピバカイン 2 mg/mL および NeoSTX 1.88 mcg/mL、1/2 濃度併用：ブピバカイン 1 mg/mL および NeoSTX 0.94 mcg/mL。注入速度は、動物の体重に従って調節して、一定の体重に合わせた薬物送達速度の送達を確実にした。従って、単一薬物として、ブピバカインを 3.2 mg/kg/分、および 3 mcg/kg/分として NeoSTX を投与した。全用量併用動物には、ブピバカイン 3.2 mg/kg/分、および 3 mcg/kg/分として NeoSTX の両方を与えた一方で、1/2 用量併用動物には、1.6 mg/kg/分 でブピバカインをおよび NeoSTX 1.5 mcg/kg/分 を与え、全ての動物に、1.6 mL/kg/分の一定の体重に合わせた流体投与速度を与えた。

40

50

【0113】

動物ケア

【0114】

雄性 Sprague - Dawley ラットを、Charles River Laboratories (Wilmington, MA) から得た：体重 200 ~ 250 g の若い成体を坐骨神経注射モデルのために使用し、IV 過剰用量モデルのために 325 ~ 400 g の動物を使用した。動物を、Children's Hospital of Institutional Animal Care and Use Committee によって承認されたプロトコルに従って、ケアおよび屠殺した。取り扱い手順を、試験パラダイムに動物をならし、ストレス誘発性の痛覚脱失を最小限にするために開発した。

10

【0115】

坐骨神経注射

【0116】

ラットに、ノーズコーンによってイソフルランで短時間麻酔をかけた。針を、大転子に対して後内側から入れ、前内側方向に刺した。いったん骨に触れたら、0.3 mL の溶液を注入した。ブロックのために左脚を常に使用した；右脚をコントロールおよび全心毒性の尺度として供した (Kohane, et al., Anesthesiology, 1998: 119 - 131)。

【0117】

神経行動試験

20

【0118】

感覚 - 侵害防御および運動 - 侵害防御の障害の尺度を使用して、坐骨神経周囲注入後のブロックの持続および強度を評価する Thalhammer et al. (Thalhammer, et al., Anesthesiology, 1995; 82: 1013 - 1025) から改変された神経行動評価バッテリーを、使用した。調査者を、用量および処置割り当てに対して盲検状態にした。まず、Von Frey フィラメント (VF) 試験 (Touch-Test Sensory Evaluator, North Coast Medical Inc., CA) を使用して感覚を評価した。ワイヤメッシュケージに短期間慣らした後、上行性の力の Von Frey 毛状物を、足引っ込めが観察されるまで適用した。坐骨神経によって確実な神経支配を受けている外側足底表面にのみフィラメントを適用するように注意を払った。引っ込めが観察されるまで、もしくは最大 300 g に達するまで (Yahalom, et al., Anesthesiology, 2011; 114 (6): 1325 - 1335)、フィラメントを、徐々に増大させて適用した。平衡を保つのに働かせた姿勢性伸筋突伸反応 (EPT) の強度 (グラム単位) および 56 に設定したホットプレートから引っ込めるまでの時間を、Kohane, et al. (Kohane 2000) に記載されるように測定した。

30

【0119】

神経行動測定を、1日目に注射前ベースライン、15分、1時間、2時間、3時間、4時間、6時間、8時間、10時間、および12時間、次いで、2日目に4時間ごとに運動が回復するまで行った。各時点で、EPT力およびホットプレート潜時の3回の測定値をとり、平均した。このパラダイムを使用するサイト1ナトリウムブロッカーの以前の研究は、より高用量が神経行動測定の一過性の反対側障害を引き起こし、全身痛覚脱失および/もしくは全身虚弱を示すことが示された (Kohane, et al., Reg. Anesth. Pain Med., 2001; 26 (3) 239 - 45)。

40

【0120】

以前の研究では、0.3 mL のピバカイン 2.5 mg / mL の注射は、動物のうちの > 98% に対して完全ブロック (この段落で後に定義されるカットオフに基づいて) 生じた。分析では、試験製剤での不完全ブロックが、技術的な注射失敗ではなく、その用量の真の薬理学的効果を示すという仮説を立てた。以前の研究は、感覚ブロックもしくは運

50

動ブロックを達成する場合に、動物に資格を与えるためにカットオフを使用した：熱的潜時については7秒、姿勢性伸筋突伸反応については40g。50%回復を、7秒として定義し、カットオフが達成されなければ、ブロック持続をゼロとみなした。これらカットオフの使用は、潜在的臨床的意義の感覚障害および運動障害の程度を減少させ得ることを見出した。これらカットオフに関して改善するために、ベースラインからのビヒクル注射の15分後までの最大の変化を計算し、これら値を、ホットプレートおよびEPTブロックに関する閾値（それぞれ、0.8秒および8g）として使用した。ブロック閾値は、Von Frey試験に関しては60gであるとみなした。回復は、同じ値まで戻ったとして定義した。

【0121】

組織学的手順

【0122】

坐骨神経注射の7日後、ラットに、ペントバルビタール(150mg/kg)の過剰用量を与え、2段階の経心臓灌流によって固定した：100mLの0.9%生理食塩水を注入し、続いて、200mLの改変Karnovsky固定液(0.1Mリン酸緩衝液中に2.5%グルタルアルデヒドおよび1.25%パラホルムアルデヒドを含む)。左右の坐骨神経を切断し、4で希釈固定液中に貯蔵した。坐骨神経組織を、標準的な四酸化オスmium電子顕微鏡プロトコルを使用してプラスチック包埋し、半薄切片(semi-thin section)に切り出し、トルイジンブルーで染色した。切片を、Estebe & Myersのスコア付けシステムを使用して経験を積んだ神経科学者(G.C.)が分析した；この神経科学者は、全体を通じた群割り当てに対して盲検状態のままであった(Estebe, *Anesthesiology*, 2004; 100: 1519-25)。

【0123】

坐骨神経周囲注入での全身毒性

【0124】

致死未満の全身毒性を、上記の「神経行動試験」段落に記載されるとおりの左後肢坐骨神経注射の後に、右後肢の感覚-侵害防御および運動防御障害の測定によって評価した。NeoS TX(単独またはブピバカインと併用して)のより高用量で、無呼吸もしくはあえぎ呼吸を発生した動物の数は増大した。覚醒した動物が関わるこのパラダイムにおける苦痛を最小限にするために、無呼吸もしくはあえぎを発生している任意の動物は、腹腔内ペントバルビタール(100mg/kg)で直ぐに安楽死させ、これは、致死事象として扱った。LD50計算は、以下の統計的手順の節に記載される。

【0125】

静脈内注入での全身毒性

【0126】

偶発的なIV注射を摸倣するために、イソフルラン麻酔した、自発呼吸しているラットに、不全収縮のエンドポイントまで、薬物含有溶液を尾静脈カニューレによって注入した。26匹のラットを、上記の「薬物」という標題の節に詳述される薬物濃度および注入速度を使用して、4群に無作為に割り当てた：NeoS TXのみ(n=6)；ブピバカイン(n=7)；全濃度NeoS TX-ブピバカイン併用(n=7)；および1/2濃度NeoS TX-ブピバカイン併用(n=6)。酸素中イソフルラン3~5%の吸入によって麻酔誘導し、ノーズコーンでイソフルラン1%によって維持した。カテーテルを、尾静脈に入れ、2mLの0.9%生理食塩水を流し、Medfusionシリンジポンプ(Smiths Medical, St Paul, MN)に繋いだ。バイタルサインをモニターし、生理学的データを、Powerlab装置およびLabChartソフトウェア(AD Instruments, Sydney, Australia)を使用して連続取得した。いったん全てのモニタリング装置を較正および接続し(ECG、温度、パルスオキシメーター、脳循環圧変換器(Bain circuit pressure transducer)、および尾静脈プレストモグラフ)、尾静脈にアクセスした

10

20

30

40

50

後に、ベースライン測定を行い（その後のオフライン分析）、ラットを、少なくとも5分間にわたって酸素中1% 吸入イソフルランでの麻酔の安定な水準で維持した。上記の「薬物」という標題の段落に記載される通りの注入を、短期間のベースライン記録の直後に開始し、不全収縮が達成されるまで続けた。分析の一次エンドポイントは、以下のとおりであった：（1）無呼吸（脳循環における検出不能な圧力変化）、および（2）不全収縮。二次エンドポイントは、以下であった：徐脈（心拍数<270）、心電図波形の有害変化（心臓ブロック、広いQRS群、異常心房収縮もしくは心室収縮（*ectopic atrial or ventricular beats*）、またはQT延長（*prolonged QTc interval*）のいずれかが挙げられる）、およびプレチスモグラフィによる尾動脈脈動性の喪失（*caudal artery pulsatility*）。

10

【0127】

統計的手順

【0128】

全ての測定を、四分位数範囲もしくは平均±平均の標準偏差とともにメジアンとしてまとめる。神経行動機能試験の変化を、固定因子として処置およびNeoSTX用量とともにノンパラメトリックFriedmanモデルと、多重比較においてBonferroni調整P値で評価した（Montgomery, D., *Design and Analysis of Experiments*, 5th Ed. 2001, New York, NY: John Wiley & Sons, Inc.）。1もしくは2mcg/kgの臨床的に関連する用量の併用を、Mann-Whitney U検定でさらに調査した。Kruskal-Wallisモデルで神経組織学を分析した。最尤法を使用するプロビット分析を適用して、対数尤度法（*log-likelihood method*）のプロフィールによって得られる尤度比95%信頼区間で各薬物処置に関してメジアン致死用量（LD₅₀）を計算した。IV過剰用量モデルにおいて、事象までの時間データを、Kaplan-Meier曲線を使用してまとめた。プビバカイン単独に対する生存曲線の複数ペアワイズ比較を行い、0.017未満のP値を、統計的に有意とみなした（Finney, Arch. Toxicol., 1985; 56:215-218; Faraggi, et al., *Statist. Med.*, 2003; 22:1977-1988）。統計分析を、SPSS統計パッケージ（バージョン19.0, SPSS Inc./IBM, Chicago, IL）を使用して行った。

20

30

【0129】

結果：

【0130】

用量範囲にわたって、NeoSTXへのプビバカインの追加は、NeoSTX単独と比較して、侵害防御のより強くかつより長期のブロック、および運動-固有受容（*propriceptive*）機能を引き起こした。表7を参照のこと。組織学的傷害スコア全体は、メジアンおよびEstebe-Myersスケールで0というIQR値で、全ての群で非常に低かった。皮下注射では、NeoSTXへのプビバカインの添加は、NeoSTX単独と比較して、全身毒性（LD₅₀）で増大を生じなかった。静脈内注射では、NeoSTX、プビバカイン、および併用は、心電図エンドポイントに対して呼吸エンドポイントに達するときに種々の過程を示した。表8を参照のこと。

40

【0131】

神経行動測定

【0132】

ブロック強度

図1A~1Fは、プビバカインの存在下もしくは非存在下で投与したNeoSTXの用量に関して、15分でブロック強度の発生を示す。全てのプビバカイン含有製剤は、その時点で3つ全ての行動測定の完全なブロックと関連した。プビバカインの非存在下では、3

50

mcg/kg以下のNeoSTX単独の用量は、動物のうちの大部分に関して不完全なブロックを生じた。

【0133】

ブロックの持続

生理食塩水中のNeoSTXの注射を受けている動物と比較すると、ブピバカインの追加は、熱的および機械的感覚 - 侵害防御および運動 - 固有受容ブロックからの100%回復までの時間において実質的増大を生じた ($P < 0.001$)。結果を図2A~2Fに示す。ブピバカインありおよびなしでNeoSTXの漸増用量を受けている群のBonferroni較正ペアワイズ分析は、1mcg/kgより高い全ての用量で有意により長いブロック持続を有することを実証した (図2A)。

10

【0134】

0.25% ブピバカイン単独の注射後の100%回復までのメジアン時間は、ホットプレート試験に関しては2.2時間 (1.9~2.9)、EPT試験に関しては2.2時間 (1.8~2.6)、およびVF試験に関しては1.9時間 (1.7~2.7)であった。1mcg/kgのNeoSTXと併用した0.25% ブピバカインの注射は、Von Frey試験 (2.8時間, 2.2~3.5, $P = 0.05$) およびEPT試験 (3.1時間, 2.8~3.9, $P < 0.001$) において100%回復までの時間が有意に増大したが、ホットプレート侵害防御行動の100%回復までの時間を増大させなかった (2.5時間, 2.0~3.5, $P = 0.4$)。50%回復までの時間 (時間単位) を、全ての試験および用量について計算し、表7に示す。50% Von Frey回復までの時間は、ブピバカイン単独と比較して1mcg/kg NeoSTXおよびブピバカイン後の動物において有意に増大した (1.5時間、1.5~2.1と比較して、2.5時間, 1.7~2.9, $P = 0.03$) のに対して、EPTおよびホットプレートは、有意差がなかった。しかし、2mcg/kgのNeoSTXとブピバカインとを併用すると、ホットプレート応答 (10.8時間, 9.1~17.8, $P < 0.001$)、EPT応答 (22時間, 15~28, $P < 0.001$)、およびVon Frey応答 (4.7時間, 3~11, $P < 0.001$) の100%回復までの時間において有意かつ実質的に大きな増大を引き起こした。

20

【0135】

【表 7】

表7:ホットプレート、EPT、およびVon Frey試験による注射した足の50%回復までの時間

処置群	神経行動試験		
	ホットプレート	姿勢性伸筋 突伸反応	Von Frey
ブピバカイン (n=20)	1.5 (1.49 - 2.13)	2.01 (1.51 - 2.39)	1.55 (1.51 - 2.09)
1mcg NeoSTX (n=4)	0.00 (0.00 - 0.00)	0.00 (0.00 - 1.50)	0.00 (0.00 - 1.31)
1 mcg NeoSTX + Bup (n=8)	1.61 (1.52 - 2.72)	1.73 (0.78 - 1.92)	2.52 (1.66 - 2.92)
2 mcg NeoSTX 単独 (n=8)	0.00 (0.00 - 1.03)	0.00 (0.00 - 1.57)	0.00 (0.00 - 1.14)
2 mcg NeoSTX + Bup (n=11)	3.77 (2.61 - 10.13)	9.09 (3.84 - 17.77)	3.63 (2.53 - 8.50)
3 mcg NeoSTX 単独 (n=20)	0.16 (0.00 - 1.48)	0.00 (0.00 - 0.56)	0.00 (0.00 - 1.31)
3 mcg NeoSTX + Bup (n=27)	3.53 (2.78 - 4.63)	17.91 (12.06 - 22.51)	4.52 (3.51 - 9.00)
3.5 mcg NeoSTX 単独 (n=12)	0.92 (0.00 - 2.01)	0.00 (0.00 - 7.42)	0.00 (0.00 - 1.87)
3.5 mcg NeoSTX + Bup (n=13)	10.32 (3.66 - 11.56)	20.58 (18.12 - 24.04)	6.11 (3.28 - 11.94)

値はメジアンである(IQR)。

【 0 1 3 6 】

全身毒性

坐骨神経注射後の全身薬物分布のマーカーとして、神経行動測定を注射していない右脚から得た。ブピバカイン単独と比較すると、NeoSTXとブピバカインとの注射は、15分でのEPTブロックの増大した強度と関連した($P = 0.001$)が、ホットプレートもしくはVon Frey応答における変化とは有意に関連しなかった(図2C, 2E)。変数としてNeoSTX用量およびブピバカインの存在を使用するBonferroni較正モデルにおいて、NeoSTXとブピバカインとの併用は、3mcg/kg(それぞれ、 $P = 0.011$ および $P = 0.038$)および3.5mcg/kg(それぞれ、 $P < 0.001$ および $P = 0.036$)の用量で反対側の脚でのブピバカイン単独より有意に大きいホットプレート(2A, 2D)およびEPT(2B, 2E)ブロックを生じた。観察された比較的小さな反対側に起こるブロックに関しては、ANOVAから、NeoSTX用量が3mcg/kg未満である場合に、NeoSTX動物とNeoSTX-ブピバカイン併用動物との間の反対側の肢において、100%回復までの時間に有意差は

10

20

30

40

50

ないことが明らかになった (図 2 E)。

【 0 1 3 7 】

LD50 試験

3 mcg / kg NeoSTX 群において死亡がないとすると、その投与量を、最大 8 mcg / kg まで上昇させた。この最大用量は、NeoSTX 単独およびピバカインとの併用の両方に関して、投与の 30 分以内に 100% 死亡率を生じた。全ての動物において、死亡は、末期の無呼吸に起因した。LD₅₀ を、NeoSTX 単独に関しては 4.9 mcg / kg (95% CI = 4.2 ~ 6.2)、および NeoSTX とピバカインに関しては 5.7 mcg / kg (95% CI = 4.9 ~ 7.9) で計算した (図 4)。測定された範囲にわたって NeoSTX を上昇させると、致死率の増大と有意に関連し (Z = 5.82, P < 0.001)、ピバカインの追加による死亡率の低下の効果は、有意に近づいた (Z = 1.86, P = 0.06)。ここで強調される点は、ピバカインの共投与が、NeoSTX の全身毒性を増大ではなくむしろ低下させたことである。

【 0 1 3 8 】

【表 8】

表8:4つの処置群(n=26)の間での静脈内過剰用量モデルに関するベースラインでのバイタルサイン

特徴	処置群				P
	ピバカイン (n=7)	NeoSTX (n=6)	高用量 併用 (n=7)	低用量 併用 (n=6)	
体重 (kg)	0.34 ± 0.03	0.35 ± 0.02	0.36 ± 0.02	0.34 ± 0.03	0.19
温度 (C°)	37.7 ± 0.3	37.6 ± 0.4	37.4 ± 0.4	37.4 ± 0.5	0.59
心拍数 (BPM)	354 ± 33	377 ± 35	359 ± 32	357 ± 26	0.58
呼吸数 (BPM)	71 ± 12	82 ± 11	77 ± 12	78 ± 11	0.41
QT 間隔 (ms)	0.10 ± 0.04	0.11 ± 0.03	0.12 ± 0.02	0.14 ± 0.03	0.19
PR 間隔 (ms)	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.02	0.05 ± 0.01	0.09
QRS 間隔 (ms)	0.015 ± 0.003	0.013 ± 0.003	0.014 ± 0.003	0.015 ± 0.003	0.61

NeoSTX = ネオサキソキシソ。

平均 ± SD, P 値は、ANOVAに基づく。

【 0 1 3 9 】

神経組織学

神経傷害の Estebe - Myers スコア付けから、坐骨神経注射後の非常に良好な組織学的プロフィールが明らかになった。全ての処置条件に関して、メジアン Estebe - Myers 神経傷害スコアは、0 (IQR 0 - 0) であった。3もしくは4というスコア付けされた神経はなかった。いずれの処置群と、非注射コントロール (右) 坐骨神経

との間にも統計的差異はなかった。試験した神経の総数は、以下を含んだ：ピヒクル 19、プピバカイン 0.25%のみ 19、反対側（注射していない右側） 16、生理食塩水中のNeoS₁TX 1mcg/kg 4、プピバカイン中のNeoS₁TX 1mcg/kg 8、生理食塩水中のNeoS₁TX 2mcg/kg 4、プピバカイン中のNeoS₁TX 2mcg/kg 7、生理食塩水中のNeoS₁TX 3mcg/kg 19、プピバカイン中のNeoS₁TX 3mcg/kg 27、生理食塩水中のNeoS₁TX 3.5mcg/kg 12、プピバカイン中のNeoS₁TX 3.5mcg/kg 13、生理食塩水中のNeoS₁TX 4mcg/kg 1、プピバカイン中のNeoS₁TX 4mcg/kg 6。盲検した組織学者の解釈に対する検証チェックとして、スライドを、故意の神経傷害（緩い結紮モデル）を受けた動物から採取した陽性コントロール神経の切片から得、同じプロトコル下で加工処理した。これら陽性コントロール神経には全て、高い傷害順位が与えられ、Esteban-Myersスコアは、3もしくは4であった。

10

【0140】

このことは、NeoS₁TXとプピバカインとの併用が、皮下注射後に神経毒性の増大も、全身毒性の増大もなく（LD₅₀の低下）、坐骨神経ブロックの持続および信頼性を増大することを実証する。

【0141】

上記研究は、ラットにおいて、0.25% プピバカインとNeoS₁TXとの坐骨神経共投与が、神経毒性においても致死率においても増大させることなく、熱適刺激に対する侵害防御ブロックの強度および持続を増大させたことを実証する。プピバカインが、3mcg/kg NeoS₁TX（ヒトにおいて以前に使用されたものより約2倍高い、重量に合わせた用量）に追加される場合、有効にブロックした動物のパーセンテージは、50から100%へと増大した。NeoS₁TXとプピバカインとを併用する臨床的に関連のある用量（1mcg/kgおよび2mcg/kg）は、感覚-侵害防御ブロックの強度および持続において有意な増大をもたらした。

20

【0142】

図4A~Cにおいて、プピバカイン 0.2%のみ（図4A）、プピバカイン 0.2%とNeoS₁TX 3mcg/kg（図4B）、およびプピバカイン 0.2%とNeoS₁TX 3mcg/kgおよびエピネフリン 5mcg/ml（図4C）のいずれかを受けているラットの群の感覚ブロックの強度および持続。上記3成分併用が、上記2成分併用と比較してより強くかつ長期のブロックを与えることは、明らかである。このことは、上記3成分併用が、上記2成分併用より強くかつ長期の疼痛緩和を提供し、上記の「高体積」および「中間体積」臨床状況において特に重要であることを推定する。

30

【0143】

全身毒性の研究のモデルを使用した。筋肉内（坐骨神経周囲）注射モデルを使用して、臨床用途における神経ブロックもしくは浸潤について意図されたように、血管外部位の全身毒性を摸倣した。このモデルにおいて、NeoS₁TXとともにプピバカインを共接種すると、生理食塩水中のNeoS₁TXの同じ容量を受けている動物と比較して、全身毒性が僅かに減少する。このモデルにおいて、上記プピバカイン用量は、心臓毒性を生じる範囲より下である。推定される死亡様式は、NeoS₁TXに起因する呼吸筋虚弱およびいくらかの血管拡張に由来し、プピバカインは、注射部位における局所的血管収縮によるNeoS₁TX由来の全身毒性を低減し得、それによって、NeoS₁TXの全身取り込みを遅くする。この推測は、プピバカインの公知の局所的血管収縮効果および別のサイト-1ナトリウムチャンネルブロッカーであるテロドトキシンの坐骨神経周囲注入後のラットにおける以前の限局的血流実験に基づく。

40

【0144】

プピバカインの共注射は、その全身毒性を僅かに低減すると同時に、NeoS₁TXに由来する神経ブロックの強度および持続を増大させるので、上記NeoS₁TX-プピバカイン併用は、NeoS₁TX単独と比較して、治療指数における有意な改善を提供する。治療用

50

に開発された NeoSTX の製剤は、ラットにおいてプピバカインより長時間持続の坐骨神経ブロックを提供する。プピバカインとの共注射は、NeoSTX 単独と比較して、ブロックの信頼性の高さおよび持続を改善する。

【0145】

実施例 2：成人におけるフェーズ 1 治験

【0146】

University of Chile, Santiago および小さなバイオテクノロジー会社 Proteus S.A の治験者は、優れた純度、安定性、無菌性および非発熱物質性を有する臨床グレードの NeoSTX を効率的に生成するためのバイオリアクタープロセスを開発した。マウス、ラット、およびヒツジにおける一連の前臨床安全性および毒性学的研究を、CHB および Toxikon, Inc. で行った。IRB 支部および Chilean Instituto de Salud Publica (ISP) (チリ国の薬物承認および監督の主な監督官庁) の承認監督とともに、Dr. Rodriguez-Navarro および共同研究者らは、2 回のフェーズ 1 ボランティア治験 (Rodriguez-Navarro, et al., Anesthesiology, 106: 339-345, 2009; Rodriguez-Navarro, et al., Neurotox. Res., 2009; 16: 408-15)、および腹腔鏡下胆嚢切除を受けている患者のための長時間持続局所麻酔薬として NeoSTX の 2 回のフェーズ 2 治験を行った (Rodriguez-Navarro, et al., Reg. Anesth. Pain Med., 2011, 36: 103-109; Rodriguez-Navarro - abstract for presentation at ESRA meeting, Sept. 2010)。

10

20

【0147】

フェーズ 1 ボランティア治験において、10 mcg もしくは 50 mcg の用量は、皮膚無感覚を、優れた局所安全性および全身安全性とともに生じた。NeoSTX と、プピバカインもしくはエピネフリンのいずれかとの併用は、NeoSTX 単独と比較して、皮膚無感覚の持続を劇的に強化かつ長期化し、次に、プピバカインより長期間の皮膚無感覚を与えた (Rodriguez-Navarro, et al., Neurotox. Res., 2009; 16: 408-15)。エピネフリンの追加は、全身毒性を低減し、感覚ブロックの強い長期化を生じる。

30

【0148】

ポートサイトの浸潤のために 100 mcg NeoSTX とプピバカインとを比較する、全身麻酔下で腹腔鏡下胆嚢切除を受けている患者の 2 回のフェーズ 2 治験二重盲検下優越性治験 (double-blind superiority trials) において、NeoSTX は、プピバカインより長期間の痛覚脱失を与え、患者は、より迅速な術後回復を示す全般的評価を自己報告した。これまでのところ、チリ国の 181 名の患者が、いかなる重症の有害事象もなく、治験で NeoSTX を受けた。

【0149】

近年のヒト研究から、覚醒したボランティアでのフェーズ 1 治験において 10 mcg もしくは 50 mcg いずれかでの皮膚浸潤を使用することによって、および気管内全身麻酔下で腹腔鏡下胆嚢切除を受けている患者でのフェーズ 2 治験において 100 mcg での創傷層浸潤を使用することによって、NeoSTX の効能、安全性および長期間の鎮痛効果が実証された。

40

【0150】

覚醒したボランティアでは、虚弱の報告はなく、呼吸異常もしくは血流異常の所見はなかったが、前臨床的全身効果の詳細な代替測定を行わなかった。

【0151】

プピバカインとの二重盲検比較を行った腹腔鏡下胆嚢切除治験の患者において、注射を、呼吸を制御した全身気管内麻酔下で行った。従って、症状に対する迅速な効果および呼吸

50

筋強度を評価できなかった。しかし、全ての被験体は、手術の最後に優れた呼吸努力を示し、上記患者のいずれも、抜管の遅れがなく（種々の継続時間は、約1時間であった）、麻酔後回復室（PACU）で長く観察した際に、虚弱の低換気の徴候も示さなかった。

【0152】

にもかかわらず、手術患者におけるこれらフェーズ2治験が、麻酔した機械的換気の被験体において100mcg用量のNeoSIXの全身安全性をたとえ示唆するとしても、より小さな容量で始めて、前臨床的全身効果のより正確な代理測定を使用して、覚醒した若年の成人男性被験体において安全な用量（と最小有害事象閾値）を選択する、さらなるフェーズ1治験用量上昇研究を行うことは必須であった。

【0153】

材料および方法

【0154】

このフェーズ1治験の第1の目的は、一般に使用される局所麻酔薬であるプリバカイン、およびエピネフリンと併用して皮下注射によって与えられるネオサキシトキシン（NeoSIX）の全身安全性を評価することであった。このフェーズ1治験の第2の目的は、プリバカインおよびエピネフリンとの併用でのNeoSIXと比較して、生理食塩水中のNeoSIXの皮膚感覚ブロック（熱的および機械的刺激に対する無感覚）の強度および持続の用量依存性を確立して、皮下注射によって与えられる場合にNeoSIXの局所的安全性および許容性を確立すること、および皮下注射後のNeoSIXの薬物動態を測定することであった。フェーズI治験は、健康な若年の成人男性ボランティア被験体における皮下浸潤を介してNeoSIXの皮膚感覚ブロックのための全身のおよび局所的安全性および薬物応答をさらに確立するために、医師主導FDA INDの下で行われた。

【0155】

以下に詳述されるように、口唇、舌および指への刺痛は、生理学的に非常に安全と思われる用量で起こる。このプロトコル修正は、NeoSIXは、その後のフェーズ2治験において2つの用量範囲を使用されるという予測を示した：第1は、覚醒した被験体において最小限の全身症状を生じるもの、および第2は、手術室の状況で鎮静もしくは麻酔した被験体における使用について意図された幾分高い用量範囲。この修正は、手術室の状況における被験体の投与コホートを含み、刺痛が強いまたは非常にやっかいであると認められる場合に、ミダゾラムでの低用量不安緩解を患者が受けることを可能にする。従って、上記薬物が手術室の状況において使用される用量範囲において安全性を定義することは、重要である。続いて起こる用量上昇設計は、各用量工程において9名の被験体の群で使用される。二重盲検様式で、各被験体は、無作為化ブロック設計で、下肢（ウシ）の後ろ側の皮膚の3cm×3cm平方領域に同時に2回の注射（各側の一方に）を受けた。各被験体は、プリバカイン0.2%単独での1回の注射を一方の側に受けた。反対側には、彼らは、2つの体積溶液のうち一方を受けた：（1）生理食塩水プラセボ、もしくは（2）プリバカインおよびエピネフリンとの併用でのNeoSIX。各用量群において、注射のうち一方のみが、プラセボを含む。

【0156】

試験被験体は、若年の成人男性であった。皮下浸潤を、25ゲージ1と1/2インチニードルを使用して行った。10ml体積を、2mlが3×3cm²の側面の各々に対して皮下注射され、2mlが対角に与えられるように分配した。

【0157】

個々に、5mcg、10mcg、15mcg、20mcg、30mcgもしくは40mcgの用量のNeoSIX。0.2%プリバカインおよび5mcgエピネフリン/mlを与えた。エピネフリンは、2つの理由で局所麻酔薬注射に慣用的に追加される：（1）全身取り込みを遅らせ、全身血中濃度を下げ、それによって、全身毒性のリスクを低減するため、ならびに（2）局所麻酔の持続を長期化するため。

【0158】

プリバカインを一方の側面に、および生理食塩水中のNeoSIXもしくはプリバカイン

10

20

30

40

50

中のNeoSTXのいずれかを他方の側面に行った被験体内対化投与設計の使用は、現在使用される標準であるブピバカイン 0.2%と比較して、ブピバカイン 0.2%の固定濃度ありもしくはなしでNeoSTXの用量を上昇させて、皮膚痛覚脱失の強度および持続の被験体内比較を可能にする。

【0159】

このフェーズI治験の主な転帰測定は、ブピバカインありもしくはなしで与えられる、各用量工程でのNeoSTXの関数として21 CFR 312.32によって定義されるように、AEの非存在もしくは存在、その頻度およびそのグレードである。これら有害事象は、NeoSTXに起因する全身効果を測定する。

【0160】

その設計は、有害事象および重症の有害事象の可能性を低減すると同時に、全身効果の閾値を定義すると企図される。

【0161】

有害事象(AE)とは、薬物関連とみなされようがそうでなかろうが、21 CFR 312.32に記載されるように、ヒトにおけるネオサキシトキシンの使用と関連する何らかの望ましくない医学的なきごとをいう。各AEの強度(グレード)を、以下のスケールを使用して評価した：

グレード1(軽度)：通常は一過性であり、特別な処置を要さず、被験体の毎日の活動を妨害しない体験。

グレード2(中程度)：あるレベルの不便さもしくは懸念を被験体にもたらし、毎日の活動を幾分妨害し得るが、通常は簡単な治療的手段(薬物治療を含み得る)によって改善され得る体験。

グレード3(重度)：許容できないもしくは耐えられない、被験体の通常の毎日の活動を顕著に妨害し、そして全身薬物治療もしくは他の処置を要する体験

グレード4(生命を脅かす)：差し迫った死の危険を被験体に引き起こす経験。

グレード5(死亡)：被験体の死亡

【0162】

ブピバカインおよびエピネフリンとの併用でのNeoSTXの結果

【0163】

5mcg、10mcg、15mcg、20mcgおよび30mcgのレベルでの用量コホートの完全評価を終了したところ、40mcgコホート(n=10, まだ登録中)が、ほぼ終了した。40mcg用量では、覚醒した被験体において高率の全身効果を観察した。以前のように、これら効果は、全身症状(刺痛および無感覚、ならびに今では悪心)を含むが、切迫した生理学的リスクの徴候がない。注射後短期間(1時間)の間に悪心および嘔吐があることもまた8/10名の患者で認められた。これまでのところ、上記患者は、軽度にやっかいであるとしてこれを評価した。酸素化もしくは換気の障害はなく、吸気力もしくは肺活量(呼吸筋の強度)の障害はなく、握力の障害はなく、心調律の変化もなく、低血圧もなかった。

【0164】

浸潤の将来的な臨床用途において、より高い注射体積(例えば、30ml)が使用される可能性はある。原則として、固定濃度で使用される場合、3倍程度大きな手術野をブロックする場合、局所麻酔薬の注射体積の約3倍、従って、局所麻酔薬用量の3倍を要する。全身安全性は、全用量とともに変動する一方で、局所効力および持続は、局所薬物濃度とともに変動する。上記研究は、NeoSTX 30mcgがこれらボランティアで安全な用量であることを示した。

【0165】

10ml注射物中の10mcgの全用量では、局所的NeoSTX濃度は、30mlの体積において創部浸潤に使用される場合の予測濃度に等しい。

【0166】

高用量NeoSTX(30mcg)群は、将来的な浸潤痛覚脱失に提唱された30mlバ

10

20

30

40

50

イアルの最大全用量を与える。

【0167】

図5Aおよび図5Bは、感覚ブロックの程度を示す。Y軸は、Freyフィラメントを使用する機械的検出閾値を示す。Von Frey数値は、適用された力のグラムに対数的に関連する。数値>16は、かなり覚めにくい感覚ブロックを表す。数値10~14は、部分的ブロックを表し、おそらく術後痛覚脱失の程度を与える。X軸は、注射後の時間である。エラーバーは、SDを示す。

【0168】

図6は、0mcg、5mcg、10mcg、15mcg、20mcg、30mcgもしくは40mcg NeoSTX - プピバカイン - エピネフリンの投与後の任意の時点において全身症状：刺痛、無感覚、目眩、悪心もしくは嘔吐を有する被験体のパーセンテージのグラフである。悪心を、40mcg NeoSTXの患者のうちの80%において認めた。医学的介入もしくは酸素補充が必要な患者はいなかった。O₂飽和度、BP、NIF、VC、握力、ECG全て非常に安心。For NeoSTX - 生理食塩水およびNeoSTX - プピバカインに関して、一過性の口唇、舌および指の軽度の刺痛が、10mcgで始まり、40mcgへと上昇するにつれて刺痛が増大し、40mcgで一過性の悪心および嘔吐が始まった。症状は、1時間以内に徐々に消散した。局所的もしくは全身の続発症は示されなかった。

10

【0169】

図7Aおよび7Bは、プラセボおよびコントロール(NeoSTXなし)と比較して、経時的な(時間単位での)NeoSTX、NeoSTX+プピバカイン、NeoSTX+プピバカイン+エピネフリンに関する覚めにくいかつ部分的なブロックの閾値測定値、機械的検出(図7A)および冷却検出(図7B)のグラフである。

20

【0170】

NeoSTX - プピバカインは、NeoSTXのみもしくはプピバカインのみより長期間の機械的および熱的ブロックを生じる。NeoSTX - プピバカインは、12時間にわたる信頼性の高い手術での麻酔、>24時間にわたる信頼性の高い強い痛覚脱失を与える。

【0171】

部分的機械的ブロックの回復に基づいて、本発明者らは、これら製剤が、末梢神経ブロックのために使用される場合、運動ブロックは、>24時間持続しない(これは、望ましい)と推定する。部分的熱的検出ブロック(これは、疼痛感知と相関する)からの回復前の部分的機械的ブロックの回復に基づいて、24~48時間の範囲の、もしくはより長期間の長期間の痛覚脱失と、部分的触覚機能および運動機能の24時間までの回復とが推定される。

30

【0172】

NeoSTX - プピバカイン - エピネフリンは、NeoSTX - プピバカイン、NeoSTXのみもしくはプピバカインのみより長時間の機械的および熱的ブロックを生じる。NeoSTX - プピバカインは、信頼性の高い手術時麻酔/非常に覚めにくい痛覚脱失を少なくとも24時間にわたって与える。部分的熱検出ブロック(これは疼痛感知と相関する)に基づいて、48~72時間もしくはより長い範囲のより長期間の術後痛覚脱失が推定される。

40

【 図 1 - 1 】

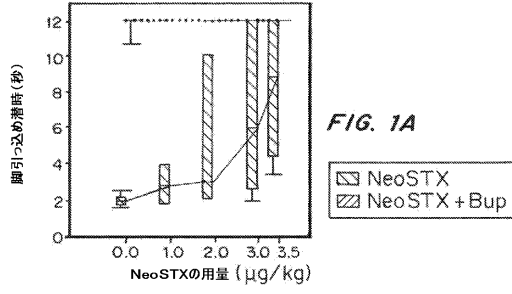


FIG. 1A

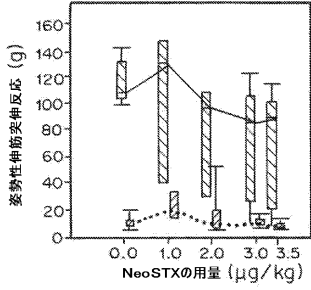


FIG. 1B

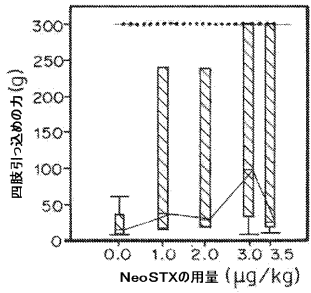


FIG. 1C

【 図 1 - 2 】

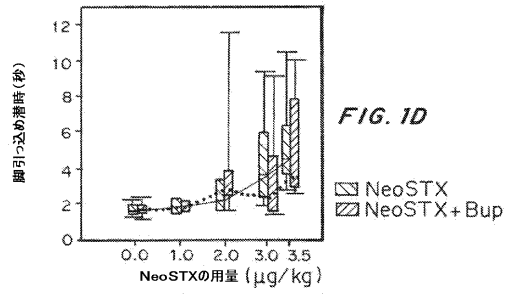


FIG. 1D

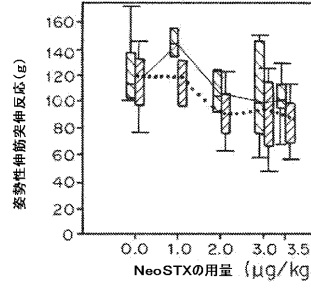


FIG. 1E

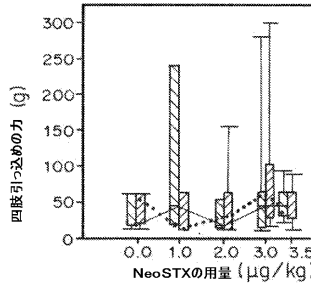


FIG. 1F

【 図 2 - 1 】

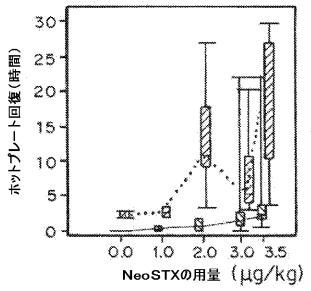


FIG. 2A

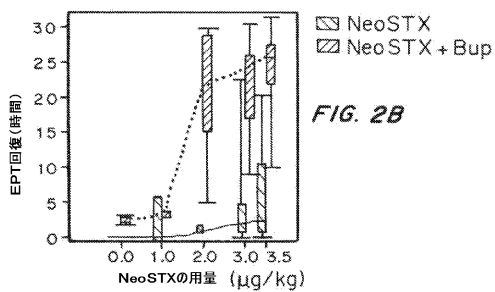


FIG. 2B

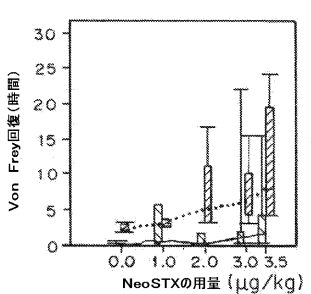


FIG. 2C

【 図 2 - 2 】

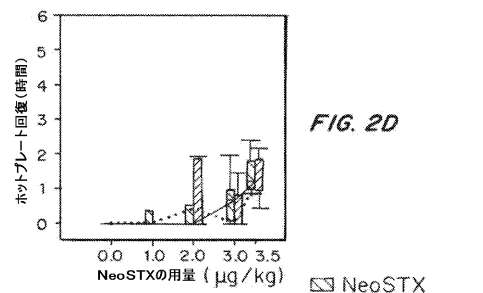


FIG. 2D

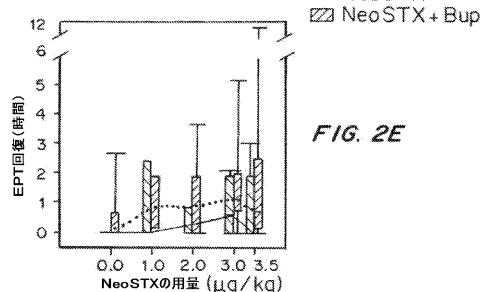


FIG. 2E

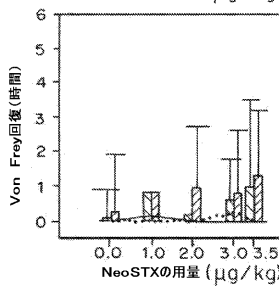
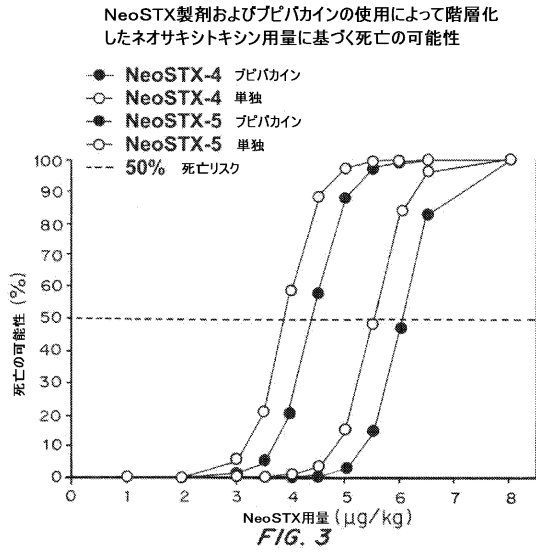
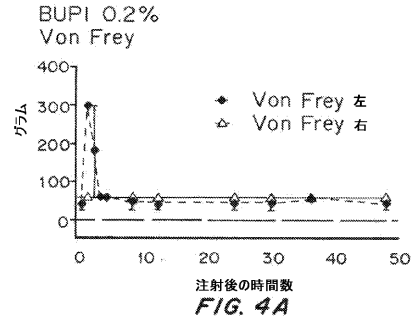


FIG. 2F

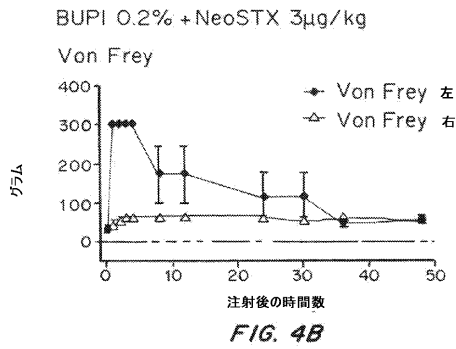
【 図 3 】



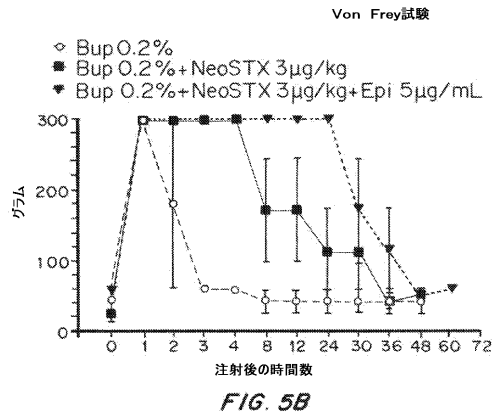
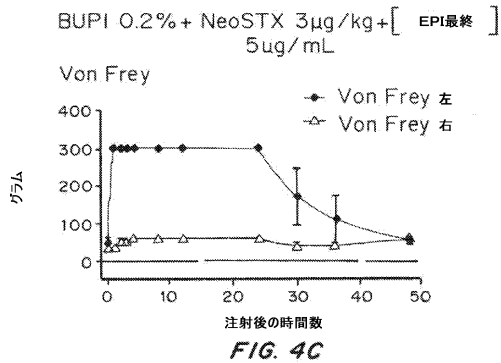
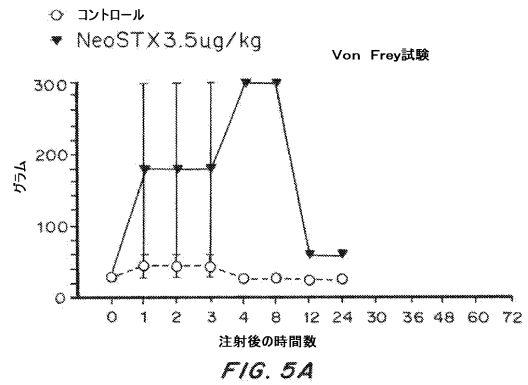
【 図 4 - 1 】



【 図 4 - 2 】



【 図 5 】



【 図 6 】

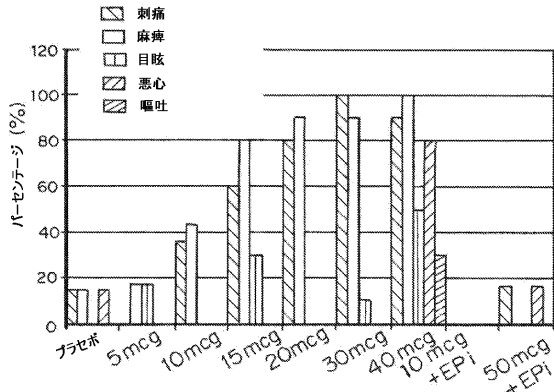


FIG. 6A

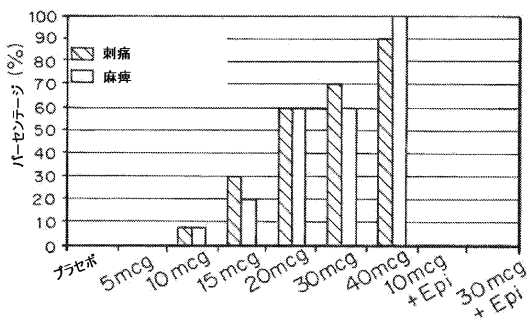


FIG. 6B

【 図 7 - 1 】

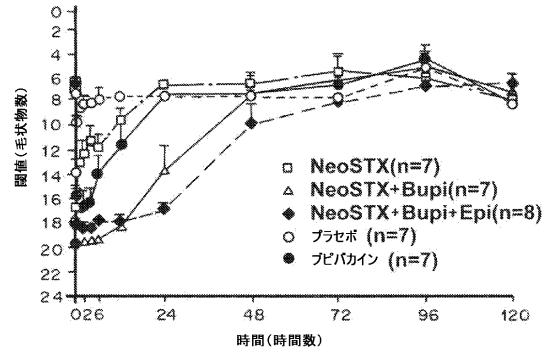


FIG. 7A

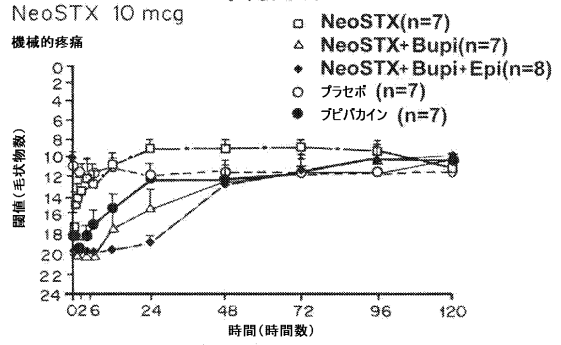


FIG. 7B

【 図 7 - 2 】

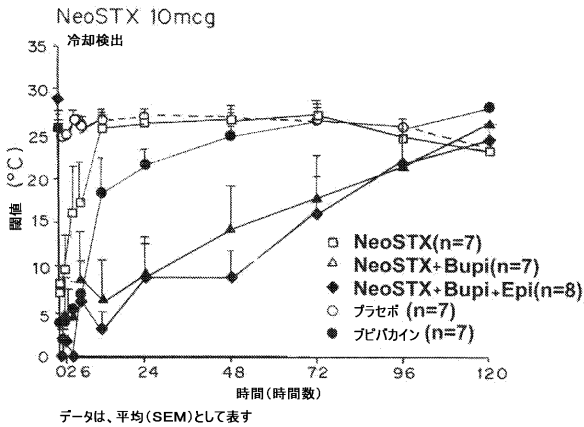


FIG. 7C

【 図 8 - 1 】

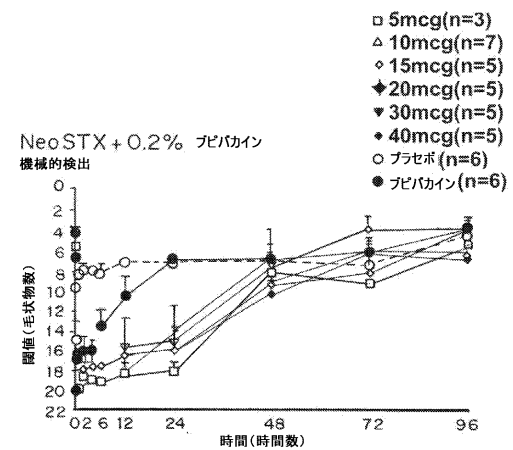
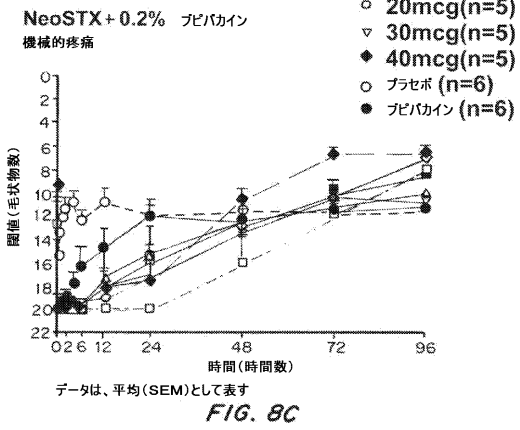
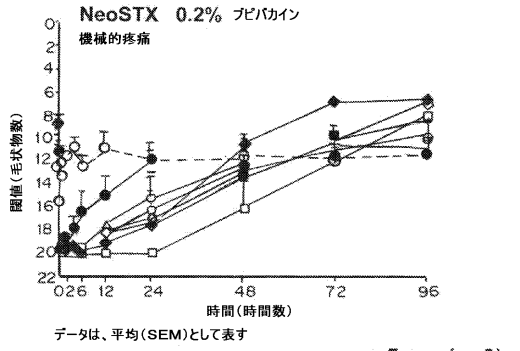


FIG. 8A

【 図 8 - 2 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2014/030372

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K31/137 A61K31/445 A61K31/52 A61P43/00 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 A61P		
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, WPI Data, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ALBERTO J. RODRIGUEZ-NAVARRO ET AL: "Potentiation of Local Anesthetic Activity of Neosaxitoxin with Bupivacaine or Epinephrine: Development of a Long-Acting Pain Blocker", NEUROTOXICITY RESEARCH, vol. 16, no. 4, 28 July 2009 (2009-07-28), pages 408-415, XP055122925, ISSN: 1029-8428, DOI: 10.1007/s12640-009-9092-3 cited in the application	15-20
Y	abstract figures 1-5 ----- -/--	1-14
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input 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 16 June 2014		Date of mailing of the international search report 27/06/2014
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Rodríguez-Palmero, M

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2014/030372

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Anonymous: "NCT01786655 on 2013_02_11: ClinicalTrials.gov Archive", 11 February 2013 (2013-02-11), XP055122935, Retrieved from the Internet: URL:http://clinicaltrials.gov/archive/NCT0 1786655/2013_02_11 [retrieved on 2014-06-12]	15-20
Y	title page 2, paragraph 2 -----	1-14
Y	CHARLES B. BERDE ET AL: "Tetrodotoxin-Bupivacaine-Epinephrine Combinations for Prolonged Local Anesthesia", MARINE DRUGS, vol. 9, no. 12, 15 December 2011 (2011-12-15), pages 2717-2728, XP055123244, ISSN: 1660-3397, DOI: 10.3390/md9122717 abstract figure 1 page 2726, "Conclusions" -----	1-14
A	RODRÍGUEZ-NAVARRO ALBERTO J ET AL: "Comparison of neosaxitoxin versus bupivacaine via port infiltration for postoperative analgesia following laparoscopic cholecystectomy: a randomized, double-blind trial.", REGIONAL ANESTHESIA AND PAIN MEDICINE, vol. 36, no. 2, March 2011 (2011-03), pages 103-109, XP009178508, ISSN: 1532-8651 cited in the application abstract -----	1-15
A	ALBERTO J. RODRIGUEZ-NAVARRO ET AL: "Neosaxitoxin as a Local Anesthetic", ANESTHESIOLOGY, vol. 106, no. 2, February 2007 (2007-02), pages 339-345, XP055122946, ISSN: 0003-3022, DOI: 10.1097/00000542-200702000-00023 cited in the application abstract -----	1-20

フロントページの続き

(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, KM, 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, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, 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, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(72)発明者 コヘイン, ダニエル エス.

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02461, ニュートン, ウィラード ストリート 119

Fターム(参考) 4C086 AA01 AA02 BC21 CB05 MA03 MA04 MA66 NA06 NA07 NA14
ZA21
4C206 AA01 AA02 FA37 KA01 MA03 MA04 MA14 MA17 MA86 NA06
NA07 NA14 ZA21