

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2020년 6월 4일 (04.06.2020)



(10) 국제공개번호
WO 2020/111852 A1

- (51) 국제특허분류:
A61K 9/08 (2006.01) A61K 47/20 (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01) A61K 47/64 (2017.01)
A61K 47/18 (2006.01) A61K 38/48 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2019/016669
- (22) 국제출원일: 2019년 11월 29일 (29.11.2019)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2018-0151983 2018년 11월 30일 (30.11.2018) KR
10-2019-0101723 2019년 8월 20일 (20.08.2019) KR
- (71) 출원인: 주식회사 휴온스글로벌 (HUONS GLOBAL CO., LTD.) [KR/KR]; 13486 경기도 성남시 분당구 판교로 253, C-901, Gyeonggi-do (KR).
- (72) 발명자: 김완섭폴 (KIM, Wanseop Paul); 16822 경기도 용인시 수지구 동천로135번길 21, 1312동 602호, Gyeonggi-do (KR). 김영목 (KIM, Yeong-Mok); 04732 서

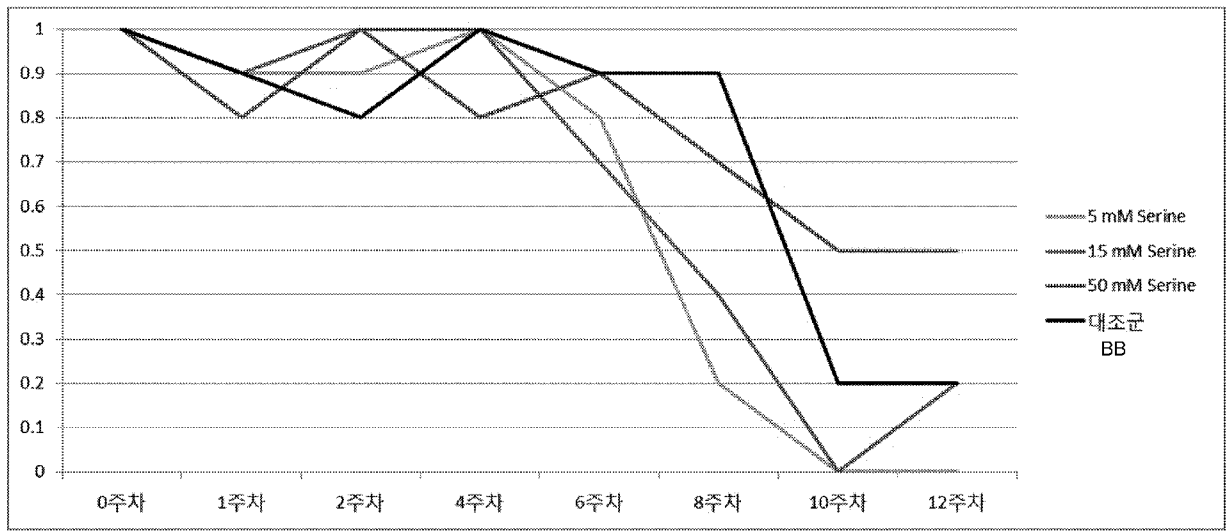
울시 성동구 독서당로 175, 105동 203호, Seoul (KR). 박기식 (PARK, Gi-Sik); 16697 경기도 수원시 영통구 매영로310번길 12, 534동 1401호, Gyeonggi-do (KR). 박재민 (PARK, Jae-Min); 16281 경기도 수원시 장안구 금당로 65, 204호, Gyeonggi-do (KR). 이애연 (LEE, Ae-Yeon); 15589 경기도 안산시 상록구 후곡안길 10, 204호, Gyeonggi-do (KR).

(74) 대리인: 이명진 (LEE, Myoung-Jin); 06180 서울시 강남구 영동대로85길 28, 6층, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): 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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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,

(54) Title: BOTULINUM TOXIN-STABILIZING LIQUID COMPOSITION

(54) 발명의 명칭: 보툴리눔 독소의 안정화 액상 조성물



AA ... Week(s)
BB ... Control

(57) Abstract: The present invention relates to a botulinum toxin-stabilizing liquid composition having the effect of improving the stability of botulinum toxin, a method for preparing same, and a pharmaceutical composition containing the stabilizing liquid composition and having improved stability of botulinum toxin. According to the present invention, since the activity of liquid botulinum toxin is maintained for a long time even at room temperature, there are advantages of excellent storage stability and conservation stability and easy administration.

(57) 요약서: 본 발명은 보툴리눔 독소의 안정성 개선에 효과가 있는 보툴리눔 독소 안정화 액상 조성물, 이의 제조방법, 그리고 상기 안정화 액상 조성물을 포함하는 보툴리눔 독소의 안정성이 개선된 약제학적 조성물에 관한 것으로, 본 발명에 따르면 상온 조건에서도 장기간 액상 보툴리눔 독소의 활성이 유지되므로 보관 안정성 및 보존 안정성이 우수하고 투여가 용이하다는 장점이 있다.

[다음 쪽 계속]



WO 2020/111852 A1

SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역
내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE,
LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유
럽 (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), OAPI
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제21조(3))
- 청구범위 보정 기한 만료 전의 공개이며, 보정서를 접수
하는 경우 그에 관하여 별도 공개함 (규칙 48.2(h))

명세서

발명의 명칭: 보툴리눔 독소의 안정화 액상 조성물

기술분야

- [1] 본 발명은 보툴리눔 독소의 안정성 개선에 효과가 있는 안정화 액상 조성물 및 이의 제조방법, 그리고 상기 안정화 액상 조성물을 포함하는 보툴리눔 독소의 안정성이 개선된 약제학적 조성물에 관한 것이다.
- [2] 본 출원은 2018년 11월 30일에 출원된 한국특허출원 제10-2018-0151983호 및 2019년 8월 20일에 출원된 한국특허출원 제10-2019-0101723호에 기초한 우선권을 주장하며, 해당 출원의 명세서 및 도면에 개시된 모든 내용은 본 출원에 원용된다.

[3]

배경기술

- [4] 클로스트리디움 속에는 형태 및 기능에 의하여 분류되는 127 종 이상이 속해있다. 혐기성, 그람 양성 박테리아 클로스트리디움 보툴리눔 (*Clostridium botulinum*)은 강력한 폴리펩타이드 신경독소인 보툴리눔 독소(이하, 본 명세서에서 "독소"도 같은 의미로 사용함)를 생성하는데, 이는 인간 및 동물에게 보툴리눔증(botulism)으로 알려진 신경마비성 병을 일으킨다. 보툴리눔 독소 중독의 증상은 보행장애, 연하장애 및 언어장애로부터 호흡기 근육의 마비 및 사망으로 이어질 수 있다.
- [5] 보툴리눔 독소의 1 유닛(unit)은 각각 약 18-20g으로 계량되는 암컷 스위스 웹스터 마우스에게 복강내 주사시의 LD₅₀으로 정의된다. 보툴리눔 독소의 1 유닛은 암컷 스위스 웹스터 마우스 그룹의 50%를 죽이는 보툴리눔 독소의 양이다.
- [6] 면역학적으로 구별되는 일곱 가지의 보툴리눔 신경독소 특징이 분석되었고, 이들은 각각 보툴리눔 신경독소 혈청형(serotype) A, B, C, D, E, F 및 G이며, 이들 각각은 유형-특이성 항체로 중화하여 구별된다. 보툴리눔 독소의 상이한 혈청형에 따라 이들이 영향을 미치는 동물 종 및 이들이 일으키는 마비의 중증도 및 지속기간에 차이가 있다. 보툴리눔 독소는 높은 친화성을 가지고 콜린작용성 모터 뉴런에 명백하게 결합하고, 뉴런으로 위치를 옮기며, 아세틸콜린의 시냅스전 방출을 차단한다.
- [7] 보툴리눔 독소는, 예를 들어 활동항진성 골격근을 특징으로 하는 신경근육 장애의 치료를 위한 임상적 상황에서 사용되어 왔다. 보툴리눔 독소 A 형은 미국 식품의약국(FDA)에 의하여 12 세 이상 환자의 본태성 안검경련, 사시 및 반측안면 경련에 대하여 승인되었고, 경부 근긴장이상증, 미간(안면) 주름의 치료 및 다한증 치료에 대하여 승인되었다. FDA는 또한 경부 근긴장이상증 및 미간(안면) 주름의 치료에 대하여 보툴리눔 독소 B 형을 승인하였다.

- [8] 보툴리눔 독소 A 형은 pH 4-6.8의 묽은 수용액에 용해성인 것으로 알려져 있다. 약 7 이상의 pH에서 안정화 비-독소 단백질이 신경독소로부터 분리되어, 그 결과 독성이 점진적으로 손실되는데, 특히 pH 및 온도가 상승함에 따라 그러하다. 효소가 일반적으로 그렇듯이, 보툴리눔 독소(이는 세포내 펩티데이즈임)의 생물학적 활성은 이의 삼차원 형상에 최소한 부분적으로 의존적이다. 독소의 양을 밀리리터당 밀리그램부터 수나노그램을 함유하는 용액으로 희석하는 것은, 예를 들어 독소가 표면에 부착되어 가용 독소의 양을 감소시키는 경향과 같은 상당한 어려움이 있다. 또한, 독소는 독소 함유 약제학적 조성물이 제제화된 지 수개월 또는 수년 후에 사용되기도 하는데, 단백질의 특성 상 쉽게 산화되거나 작은 단편으로 분해되는 문제가 있다. 이에, 안정화제로 독소를 안정화할 필요가 있다.
- [9]
- [10] 이에 종래에는, 상기의 문제를 해결하기 위하여 보툴리눔 독소 단백질의 약제화 과정에서 안정화제로 주로 알부민, 수크로오스, 트레할로오스 및/또는 젤라틴이 사용되어 왔다.
- [11]
- [12] 예컨대, 후술하는 바와 같이, 보툴리눔 독소 함유 약제학적 조성물에는 안정화제로 알부민을 이용하고 있다.
- [13] 상용화되어 입수 가능한 보툴리눔 독소 함유 약제학적 조성물은 캘리포니아, 어바인 소재의 Allergan, Inc로부터 상용화되어 입수 가능한 상표명 BOTOX (보툴리눔 독소 A 형 정제된 신경독소 복합체)로 판매된다. 각각의 BOTOX 의 100 유닛 바이알은 약 5 ng의 정제된 보툴리눔 독소 A 형 복합체, 0.5 mg 인간 혈청 알부민, 및 0.9mg 염화나트륨으로 구성되고 진공-건조 형태이며, 보존제 없이(0.9% 염화나트륨 주입) 멸균 생리식염수로써 복원되도록 제조된다. 다른 상용화되어 입수 가능한 보툴리눔 독소-함유 약제학적 조성물에는 Dysport (보툴리눔 독소 약제학적 조성물 중에 락토오스 및 인간 혈청 알부민을 가지는 클로스트리디움 보툴리눔 A 형 독소 헤마글루티닌 복합체, 영국, 버크셔 소재의 Ipsen Limited로부터 상용화되어 입수 가능, 사용 전에 0.9% 염화나트륨로써 복원되어야 하는 분말), 및 MyoBloc™(보툴리눔 독소 B 형, 인간 혈청 알부민, 숙신산나트륨, 및 염화나트륨을 포함하는 약 pH 56 주사 용액, 캘리포니아, 샌 디에고 소재의 Solstice Neurosciences로부터 상용화되어 입수 가능)이 포함된다. 신경독성 성분(150 kDa 독소 분자) 및 보툴리눔 독소 복합체(300 kDa 내지 900 kDa)는, 예를 들어 캘리포니아, 캠벨 소재의 List Biological Laboratories, Inc; 영국, 포턴 다운 소재의 the Centre for Applied Microbiology and Research; Wako (일본, 오사카), 또한 미주리, 세인트 루이스 소재의 Sigma Chemicals로부터 입수될 수 있다.
- [14]
- [15] 상술한 바와 같이 주로 알부민이 많이 이용되는 이유는, 알부민은 약제학적

조성물에서 단백질 활성성분을 안정화할 수 있을 뿐만 아니라, 사람 환자에게 주사되는 경우 면역원성이 무시할 수 있을 정도라는 장점이 있기 때문이다. 그러나 알부민과 같은 혈액 제품은 환자가 혈액 유래 병원균 또는 전염성 미생물에 감염되는 잠재적인 위험성을 초래할 수 있고, 특히 바이러스의 감염이나 단백질에 의해 전달되는 크로이츠펠트-야콥 병과 같은 질병의 매개를 완전히 배제할 수 없으며, 지금까지 알려지지 않은 병원물질에 감염될 위험성 조차 있다. 이에, 상술한 알부민을 안정화제로 사용하는 경우, 이러한 감염물질의 전염의 위험을 감소시키기 위해 제조과정 중에서 공여자나 공여부위의 선별이 시행됨과 더불어 감염물질의 제거 및/또는 불활성화 시키는 과정이 포함되어야 한다.

- [16] 이외에, 젤라틴을 이용하는 경우도 있으나 이 역시 동물에서 얻어지는 단백질이기 때문에 알부민과 마찬가지로 질병을 매개할 수 있고, 약제화 과정에서 사용하지 않는 것이 권고된다.
- [17]
- [18] 보툴리눔 독소 단백질의 약제화 과정에서 동물 소스로부터 유래하지 않는 안정화제를 이용하는 기술로서 대한민국 등록특허공보 제10-0799400호에는 효모에서 생산되는 제조합 알부민(rSA)을 약제화에 이용하는 방법이 개시되어 있으나, 제조합 알부민(rSA)의 생산 및 분리 회수 과정에서 새로운 항원성 구조인 네오에피토프(Neoepitope)가 발생하여 약제의 수용자에게 면역반응을 유발할 가능성을 완전히 배제할 수 없다.
- [19] 또한, 대한민국 등록특허공보 제10-0665469호에는 보툴리눔 독소, 다당류(히드록시에틸 전분 포함), 및 아미노산으로서 리신, 글리신, 히스티딘, 또는 아르기닌을 포함하는 약제학적 조성물이 개시되어 있다. 그러나 상기 특허의 약제학적 조성물은 동결건조형태의 제형을 위한 조성물이고, 보관조건도 냉동 또는 냉장으로 한정되어 있다. 동결건조형태의 보툴리눔 독소는 사용 직전 동결된 제형을 녹이거나 희석하는 과정이 필요하고, 이 과정에서 오차가 발생할 수 있다. 아울러 동결건조형태의 보툴리눔 독소는 사용상의 불편함이 따르며 프리필드 시린지 형태(prefilled syringe type)로 개발하는 것이 불가능하다는 문제점이 존재한다.
- [20] 보툴리눔 독소를 안정화시키기 위한 조성물과 관련하여 미국공개 특허공보 제2007-0134199호에는 폴리솔베이트를 포함한 비이온성 계면활성제, 및 아미노산으로서 글루타민과 글루탐산 또는 아스파라긴과 아스파르트산을 포함하는 조성물이 개시되어 있다. 상기 특허의 액상 조성물에 보툴리눔 독소를 희석하여 냉장조건인 4°C에서 보관하는 경우 8개월이 지나도 안정하였지만, 상온인 37°C에서 보관하는 경우 1개월 이내에 활성이 감소하는 결과를 보여 상온에서 보툴리눔 독소를 포함하는 약제학적 액상 조성물을 안정화시키기에는 한계가 있다.

[21]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [22] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 동물 소스로부터 유래하지 않아 인체에 안전하고, 실온 조건에서도 보툴리눔 독소 활성이 유지되도록 보툴리눔 독소액의 안정성을 향상시키는 안정화 액상 조성물 및 안정성이 향상된 보툴리눔 독소액을 제공하는데 있다.
- [23] 그러나, 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 본 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

[24]

과제 해결 수단

- [25] 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여,
- [26] 본 발명은 폴리솔베이트 80 및 세린을 유효성분으로 포함하는, 보툴리눔 독소의 안정화 액상 조성물을 제공한다.
- [27] 본 발명의 일 구현예로서, 폴리솔베이트 80 대비 세린의 조성비는 1 (mg/mL): 5 (mM) 이상인 것을 특징으로 하는, 조성물을 제공한다.
- [28] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 조성물은 메티오닌을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는, 조성물을 제공한다.
- [29] 본 발명의 또 다른 구현예로서, 조성물에서 폴리솔베이트 80 : 세린 : 메티오닌의 조성비는 1 (mg/mL): 5 ~ 50 (mM) : 0.2 (mM) 인 것을 특징으로 하는, 조성물을 제공한다.
- [30] 또한, 본 발명은 보툴리눔 독소의 안정화 액상 조성물; 및 보툴리눔 독소를 유효성분으로 포함하는 액상제형의 약제학적 조성물을 제공한다.
- [31] 본 발명의 일 구현예로서, 폴리솔베이트 80의 농도는 보툴리눔 독소 40 unit 당 0.001 mg 이상인 것을 특징으로 하는, 조성물을 제공한다.
- [32] 본 발명의 일 구현예로서, 세린의 농도는 보툴리눔 독소 40 unit 당 5mM 이상인 것을 특징으로 하는, 조성물을 제공한다.
- [33] 본 발명의 일 구현예로서, 메티오닌의 농도는 보툴리눔 독소 40 unit 당 0.5mM 미만인 것을 특징으로 하는, 조성물을 제공한다.
- [34] 본 발명의 일 구현예로서, 보툴리눔 독소는 보툴리눔 A형, B형, C형, D형, E형, F형, 및 G형으로 이루어진 군에서 선택된 것임을 특징으로 하는, 조성물을 제공한다.
- [35] 바람직하게, 상기 보툴리눔 독소는 복합체화 단백질을 함유하지 않는 형태 또는 복합체화 단백질을 함유하는 복합체 형태인 것을 특징으로 하는, 조성물을 제공한다.
- [36] 또한, 본 발명은 폴리솔베이트 80 및 세린을 포함하는 액상 조성물을 보툴리눔

독소에 혼합하는 단계를 포함하는, 보툴리눔 독소의 안정화 방법을 제공한다.

[37] 또한, 본 발명은 폴리솔베이트 80 및 세린을 포함하는 액상 조성물의 보툴리눔 독소 안정화 용도를 제공한다.

[38] 또한, 본 발명은 보툴리눔 독소 안정화를 위해 사용되는 약제를 생산하기 위한 폴리솔베이트 80 및 세린의 용도를 제공한다.

[39]

발명의 효과

[40] 본 발명은 동물 소스로부터 유래하지 않는 안정화제를 이용하므로, 보툴리눔 독소 약제학적 조성물을 투여받는 환자가 혈액 유래 병원균 또는 전염성 미생물에 감염되는 잠재적인 위험성으로부터 안정성을 보장받을 수 있다. 또한, 본 발명은 상온 조건에서도 장기간 보툴리눔 독소의 활성이 유지되므로 보관 및 유통 안정성이 확보될 수 있다. 또한, 동결건조 과정이 필요없어, 제조 편의성이 증대된 효과가 있다.

[41]

도면의 간단한 설명

[42] 도 1은 폴리솔베이트 80의 농도 변화에 따라 보툴리눔 독소액 투여시 사망률 변화를 개시한 그래프이다.

[43] 도 2는 세린의 농도 변화에 따라 보툴리눔 독소액 투여시 사망률 변화를 개시한 그래프이다.

[44] 도 3은 메티오닌 추가에 따른 세린의 농도 변화에 따라 보툴리눔 독소액 투여시 사망률 변화를 개시한 그래프이다.

[45]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[46] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[47]

[48] 본 발명은 폴리솔베이트 80 및 세린을 유효성분으로 포함하는, 보툴리눔 독소의 안정화 액상 조성물; 그리고 상기 보툴리눔 독소의 안정화 액상 조성물 및 보툴리눔 독소를 유효성분으로 포함하는 액상제형의 약제학적 조성물에 관한 것이다.

[49] 또한, 본 발명은 폴리솔베이트 80 및 세린을 이용하여 보툴리눔 독소의 안정성을 향상시키는 방법에 관한 것이다.

[50]

[51] 본 발명자들은 동물 유래의 단백질을 사용하지 않아 안전성이 보장되면서, 메티오닌과 폴리솔베이트 20 조합의 보툴리눔 독소 안정화 액상 조성물의 대체체로서 실온 조건 또는 냉장보관에서도 장기간 안정성을 갖는 안정화제를

확보하기 위한 실험을 진행하였다. 그 결과, 세린과 폴리솔베이트 80의 조합이 실온 조건에서도 보툴리눔 독소의 활성을 장기간 유지함에 탁월한 효과가 있음을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

[52]

[53] 본 발명에 있어서, "안정성 또는 안정화"는 보툴리눔 독소의 활성이 유지되는 것을 의미하며, 예컨대 보툴리눔 독소 활성이 시험 전 또는 특정 조건 하에 있기 전과 비교하여 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 100%로 유지되는 것을 의미하며, 바람직하게 50% 이상, 가장 바람직하게 100%로 유지되는 것을 의미한다. 예컨대, 보툴리눔 독소를 주입한 개체수를 비교하여, (보툴리눔 독소 주입한 개체 중 사망 개체수/보툴리눔 독소 주입 개체수) x 100의 값이 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 100%로 유지되는 것을 의미하며, 바람직하게 50% 이상, 가장 바람직하게 100%로 유지되는 것을 의미한다. 보툴리눔 독소의 활성은 당업계에 공지된 다양한 방법에 따라 측정될 수 있으며, 예컨대 Pearce L.B. et al 1994. Measurement of Botulinum Toxin Activity: Evaluation of the Lethality Assay. Toxicology and Applied Pharmacology' 128: 69-77' 논문에서 서술된 치사율 어세이 방법을 참고하여 독소의 활성을 측정하였다. 본 발명의 실험예에 따르면, 제조된 보툴리눔 독소 액상 조성물 0.1mL(3 또는 4 유닛/0.1 mL/마우스)을 각각 4주령 ICR(Institute of Cancer Research, USA) 암컷 마우스 5 마리 혹은 10 마리에 복강 주사 후 72 시간 동안 관찰하여 사망률을 확인하였다. 또한, "안정성 또는 안정화"되는 조건은, 실온 조건에서의 보관 또는 유통 안정성을 의미할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 구체적인 실시예에 따르면, 35 ~ 45°C/50 ~ 80% RH 조건, 바람직하게 40°C/70% RH 조건을 의미할 수 있다.

[54]

[55] 본 발명에 따른 보툴리눔 독소의 안정화 액상 조성물은 폴리솔베이트 80 및 세린을 유효성분으로 포함한다.

[56]

또한, 본 발명에 따른 액상제형의 약제학적 조성물은 상기 보툴리눔 독소의 안정화 액상 조성물 및 보툴리눔 독소를 유효성분으로 포함한다. 즉, 폴리솔베이트 80 및 세린; 및 보툴리눔 독소를 유효성분으로 포함한다.

[57]

[58] 본 발명에 있어서, "세린"은 화학식이 $\text{HO}_2\text{CCH}(\text{NH}_2)\text{CH}_2\text{OH}$ 인 화합물로서, 이의 입체이성질체를 포함한다. 상기 "세린"은 당업계에 공지된 다양한 방법으로 수득할 수 있고, 화학적으로 합성하는 방법, 동물의 체내에서 합성된 세린을 분리하는 방법, 또는 상업적으로 유통되는 화합물을 입수하는 방법 등이 있으며, 예컨대 3-포스포하이드록시파이루베이트와 NADH(니코틴 아미드 아데닌 디뉴클레오티드)로부터 형성된 3-포스포글리세린산염의 산화과정에서 시작하여 글루탐산과의 아미노기 전이 반응으로 3-포스포세린과 인산기를

제거하는 방법으로 세린을 제조할 수도 있으나, 이에 제한되지 않는다. 본 발명에 있어서, 액상제형의 약제학적 조성물에 포함되는 세린의 농도는 보툴리눔 독소 40 unit 당 5mM 이상일 수 있고, 바람직하게 보툴리눔 독소 40 unit 당 5 ~ 100 mM 이며, 보다 바람직하게 보툴리눔 독소 40 unit 당 15 ~ 100 mM 이고, 가장 바람직하게 보툴리눔 독소 40 unit 당 15 ~ 50 mM 이다. 보툴리눔 독소 40 unit 당 5mM 이하의 농도에서는 장기간 보관시 세린에 의한 보툴리눔 독소의 안정화 효과가 일정 수준 이하로 나타날 수 있고, 100 mM을 초과하는 경우에는 초과에 따른 상승 효과가 더 이상 나타나지 않을 수 있으며, 비경제적일 수 있다.

[59]

[60] 본 발명에 있어서, "폴리솔베이트(Polysorbate) 80"은 화학식이 $C_{64}H_{124}O_{26}$ 인 화합물로서, 비이온성 계면활성제이고, 가용성이다.

모노올레인산폴리옥시에칠렌소르비탄, 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레이트, 에마졸4130, Tween 80, 또는 트윈79 등으로 칭하고, 예컨대 가소제, 겔화제, 계면활성제, 기제, 당의제, 방수제, 부착방지제, 부형제, 분산제, 붕해제, 습윤제, 안정화제, 연화제, 완충제, 용제, 용해보조제, 유화제, 장용피제, 코팅제, 탈색제, 현탁화제 또는 활택제의 목적으로 식품 내지 화장품의 첨가제로 사용된다. 당업계 공지된 다양한 방법으로 제조될 수 있으며, 자연계에서 분리하거나 화학적으로 합성할 수 있다. 본 발명에 있어서, 액상제형의 약제학적 조성물에 포함되는 폴리솔베이트 80의 농도는 보툴리눔 독소 40 unit 당 0.001 mg 이상일 수 있고, 바람직하게 보툴리눔 독소 40 unit 당 0.1 ~ 5 mg 이며, 보다 바람직하게 보툴리눔 독소 40 unit 당 0.1 ~ 2 mg 이고, 가장 바람직하게 보툴리눔 독소 40 unit 당 0.5 ~ 2 mg 이다. 보툴리눔 독소 40 unit 당 0.001mg 이하의 농도에서는 장기간 보관시 폴리솔베이트 80에 의한 보툴리눔 독소의 안정화 효과가 일정 수준 이하로 나타날 수 있고, 5 mg을 초과하는 경우에는 초과에 따른 상승 효과가 더 이상 나타나지 않을 수 있으며, 비경제적일 수 있다.

[61]

[62] 본 발명의 보툴리눔 독소의 안정화 액상 조성물에 있어서, 보툴리눔 독소 20 unit 당 폴리솔베이트 80 대비 세린의 조성비는 1 (mg/mL): 5 (mM) 이상일 수 있으며, 바람직하게 1 (mg/mL): 5 ~ 50 (mM) 일 수 있으며, 더욱 바람직하게 1 (mg/mL): 15 ~ 50 (mM) 일 수 있다. 폴리솔베이트 80 대비 세린의 조성비가 1 (mg/mL): 5 (mM) 미만의 경우에는 장기간 보관시 보툴리눔 독소의 안정화 효과가 일정 수준 이하로 나타날 수 있다.

[63]

[64] 본 발명에 있어서, "보툴리눔 독소"는 보툴리눔 A형, B형, C형, D형, E형, F형, 및 G형으로 이루어진 군에서 임의로 선택될 수 있고, 바람직하게 보툴리눔 A형일 수 있다. 상기 보툴리눔 독소는 복합체화 단백질을 함유하지 않는 형태 또는 복합체화 단백질을 함유하는 복합체 형태 모두를 포함할 수 있다. 자연적으로 형성하는 복합체화 단백질을 함유하지 않으며 A, B, C, D, E, F 또는

G형 클로스트리디움 보툴리눔으로부터 유래되는 보툴리눔 독소 단백질의 분자량은 대략 150 KDa이다. 하지만 클로스트리디움 보툴리눔 박테리아에 의해서 독소 단백질이 생산될 때 보툴리눔 독소 단백질은 보툴리눔 독소 단백질의 작용을 보조 및 보호하는 여러가지 헤마글루티닌(Hemagglutinin) 단백질 및 비헤마글루티닌 단백질과 다양한 복합체를 형성하여 생산된다. 자연적으로 형성하는 복합체화 단백질을 함유하는 보툴리눔 독소 A형은 대략 900kDa, 500kDa, 또는 300kDa의 분자량을 가진 복합체 형태이고, B형과 C형은 대략 500kDa의 분자량을 가진 복합체 형태이고, D형은 대략 300kDa, 또는 500kDa의 분자량을 가진 복합체 형태이며, E형과 F형은 대략 300kDa의 분자량을 가진 복합체 형태이다. 본 발명에 있어서, 보툴리눔 독소 1 유닛(Unit)은 체중이 18~20g인 암컷 스위스 웹스터 마우스 (Swiss Webster Mice)에 복강내 주사를 통한 사망률이 50%인 LD₅₀으로 정의할 수 있다.

[65]

[66] 본 발명에 따른 보툴리눔 독소의 안정화 액상 조성물에 유효성분으로서, 세린 및 폴리솔베이트 80 외에, 메티오닌이 추가로 포함될 수 있다.

[67] 본 발명에 있어서, 액상제형의 약제학적 조성물에 포함되는 메티오닌의 농도는 보툴리눔 독소 40 unit 당 0.5mM 미만 일 수 있으며, 보다 바람직하게 보툴리눔 독소 40 unit 당 0.2 ~ 0.4mM 일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[68]

[69] 본 발명의 보툴리눔 독소의 안정화 액상 조성물에 있어서, 보툴리눔 독소 20 unit 당 폴리솔베이트 80 : 세린 : 메티오닌의 조성비는 1 (mg/mL) : 2.5 ~ 50 (mM) : 0.2 (mM) 일 수 있으며, 바람직하게 1 (mg/mL) : 5 ~ 50 (mM) : 0.2 (mM) 일 수 있으며, 더욱 바람직하게 1 (mg/mL) : 7.5 ~ 30 (mM) : 0.2 (mM) 일 수 있으며, 더 더욱 바람직하게 1 (mg/mL) : 7.5 ~ 25 (mM) : 0.2 (mM) 일 수 있다. 폴리솔베이트 80 : 세린 : 메티오닌의 조성비는 1 (mg/mL) : 2.5 미만 50 초과 (mM) : 0.2 (mM)일 경우에는 장기간 보관시 보툴리눔 독소의 안정화 효과가 일정 수준 이하로 나타날 수 있다.

[70]

[71] 본 발명에 따른 보툴리눔 독소의 안정화 액상 조성물 또는/및 이를 포함하는 액상제형의 약제학적 조성물은 유효성분 이외에 약제학적으로 허용되는 담체를 포함할 수 있다. 이때, 약제학적으로 허용되는 담체는 제제 시에 통상적으로 이용되는 것으로서, 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아고무, 인산 칼슘, 알기네이트, 젤라틴, 규산 칼슘, 미세 결정성 셀룰로스, 폴리비닐피로리돈, 셀룰로스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로스, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필 히드록시벤조에이트, 활석, 스테아르산 마그네슘 및 미네랄 오일등을 포함하나, 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 상기 성분들 이외에 윤활제, 습윤제, 감미제, 향미제, 유화제, 현탁제, 보존제 등을 추가로 포함할 수 있다.

- [72] 본 발명의 약제학적 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여(예를 들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)할 수 있으며, 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 시간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다.
- [73] 본 발명의 약제학적 조성물은 약학적으로 유효한 양으로 투여한다. 본 발명에 있어서 "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수혜/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분한 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 질환의 종류, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 시간, 투여 경로 및 배출비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.
- [74] 본 발명에 다른 약제학적 조성물은 개별 치료제로 투여하거나 다른 치료제와 병용하여 투여될 수 있고 종래의 치료제와는 순차적 또는 동시에 투여될 수 있으며, 단일 또는 다중 투여될 수 있다. 상기한 요소들을 모두 고려하여 부작용 없이 최소한의 양으로 최대 효과를 얻을 수 있는 양을 투여하는 것이 중요하며, 이는 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다. 병용하여 투여되는 제제는 제한되지 않으며, 예컨대, 상기 제2의 조성물은 아미노글리코시드(Aminoglycoside)계 항생제 또는 근육·신경전달을 방해하는 약물(투보쿠라린계 근이완제)일 수 있다.
- [75]
- [76] 또한, 본 발명은 폴리솔베이트 80 및 세린을 포함하는 액상 조성물을 보툴리눔 독소에 혼합하는 단계를 포함하는, 보툴리눔 독소의 안정화 방법을 제공한다.
- [77] 또한, 본 발명은 폴리솔베이트 80 및 세린을 포함하는 액상 조성물의 보툴리눔 독소 안정화 용도 및 보툴리눔 독소 안정화를 위해 사용되는 약제를 생산하기 위한 폴리솔베이트 80 및 세린의 용도를 제공한다.
- [78]
- [79] 또한, 본 발명에서 "개체"란 보툴리눔 독소의 투여를 필요로 하는 대상을 의미하고, 보다 구체적으로는, 인간 또는 비-인간인 영장류, 생쥐(mouse), 개, 고양이, 말 및 소 등의 포유류를 의미한다.
- [80] 본 발명에서 "투여"란 임의의 적절한 방법으로 개체에게 소정의 본 발명의 폴리솔베이트 80 및 세린을 포함하는 액상 조성물; 및 보툴리눔 독소를 제공하는 것을 의미한다.
- [81]
- [82] 본 발명에 따른 보툴리눔 독소의 안정화 액상 조성물은 세린과 폴리솔베이트 80을 혼합하는 단계를 포함하여 제조된다.
- [83] 또한, 본 발명에 따른 액상제형의 약제학적 조성물은 세린과 폴리솔베이트 80을 혼합하여 보툴리눔 독소의 안정화 액상 조성물을 제조하는 단계; 및 상기 보툴리눔 독소의 안정화 액상 조성물과 보툴리눔 독소를 혼합하는 단계를 포함하여 제조된다.

- [84] 필요에 따라, 상기 단계 외에, 하나 이상의 단계가 추가되어 포함될 수 있으며, 순서는 무관하다. 예컨대, 상기 보툴리눔 독소의 안정화 액상 조성물은 세린과 폴리솔베이트 80을 혼합하는 단계에 메티오닌을 추가로 혼합하는 단계가 포함될 수 있다.
- [85]
- [86] <실시예>
- [87] **1. 보툴리눔 독소 액상 조성물의 제조**
- [88] 적정 농도로 조정된 보툴리눔 독소 안정화 액상 조성물을 이용하여 보툴리눔 독소액을 희석하고 최종적으로 보툴리눔 독소액의 농도를 적정 농도로 조절하여 보툴리눔 독소 액상 조성물을 제조하였다.
- [89]
- [90] <실험예>
- [91] **1. 보툴리눔 독소 안정화 액상 조성물의 선별 시험**
- [92] 클로스트리디움 보툴리툼 독소 A형의 안정화제를 선별하기 위하여 다양한 안정화제를 사용하여 보툴리눔 독소 안정화 액상 조성물의 조성을 선별하는 실험을 실시하였다.
- [93] 하기 표 1에 기재한 바와 같은 조성의 보툴리눔 독소 안정화 액상 조성물을 이용해, 보툴리눔 독소액의 농도를 300 Unit/mL가 되도록 보툴리눔 독소액을 제조하였다.
- [94] 대조군은 Innotox 특허 제형과 같이 20mM 메티오닌, 2mg/mL 폴리솔베이트 20을 10% saline에 녹여 제조하였다. 그리고 실험군(실시예 1 내지 실시예 7)은 2mg/mL 폴리솔베이트 80을 10% saline에 녹인 것과 각각의 20mM 안정화제를 Normal saline에 녹여 제조하였다.
- [95] 제조된 보툴리눔 독소액을 40°C/70% RH 조건에서 안정성 챔버에 보관하면서 일정기간 마다 샘플링하였다. 샘플링된 보툴리눔 독소액 1mL에 주사용수(Normal Saline) 9mL를 넣어 10배로 희석하고, 희석된 샘플을 4주령 ICR(Institute of Cancer Research, USA) 암컷 마우스 5마리에 3 unit/0.1ml로 복강 주사하였다 (1 unit = LD₅₀). 복강 주사 후 72시간 동안 관찰하면서 사망한 마우스의 수 및 그에 따른 사망률을 확인하였다.
- [96] 그 결과, 표 1에 나타낸 바와 같이, 실시예 1, 4와 비교예 1 외에는, 안정성이 급격히 떨어지는 것을 확인할 수 있었다. 즉, 실시예 1, 4와 비교예 1에서만 보툴리눔 독소의 활성이 장기간 유지되었다.
- [97] 상기 결과로부터 세린과 폴리솔베이트 80의 조합이 메티오닌과 폴리솔베이트의 조합을 대체할 수 있는 안정화제임을 알 수 있었다.
- [98]

[표1]

구분	보툴리눔 독소 안정화 액상 조성물		사망률 (%)			안정성
	안정화제(20 mM)	폴리솔베이트(2 mg/mL)	0주차	1주차	2주차	
대조군	Methionine	Tween 20	100%	100%	100%	O
실시예 1	Methionine	Tween 80	100%	100%	100%	O
실시예 2	Glycine	Tween 80	100%	100%	0%	X
실시예 3	Cysteine	Tween 80	100%	0%	0%	X
실시예 4	Serine	Tween 80	100%	100%	100%	O
실시예 5	Zn (50 mM)	Tween 80	100%	40%	0%	X
실시예 6	Leucine	Tween 80	80%	60%	0%	X
실시예 7	Vitamin C	Tween 80	80%	0%	0%	X

[99] 단, 본 안정성 실험은 살아있는 마우스를 대상으로 하였는바, 그 특성상 동일 조성의 보툴리눔 독소 액상 조성물을 가지고 안정성 실험을 진행하는 경우에도 마우스의 상태에 따라 다른 결과를 보일 수 있다.

[100]

[101] **2. 폴리솔베이트 80의 농도 변화에 따른 보툴리눔 독소의 안정성 시험**

[102] 보툴리눔 독소의 안정화 액상 조성물의 조성으로 세린과 폴리솔베이트 80의 조합을 선별하고 폴리솔베이트 80의 농도 변화에 따른 보툴리눔 독소의 안정성 실험을 실시하였다.

[103] 하기 표 2에 기재한 바와 같은 조성의 보툴리눔 독소 안정화 액상 조성물을 이용해, 보툴리눔 독소액의 농도를 40 Unit/mL가 되도록 보툴리눔 독소액을 제조하였다. 실험군은 5mM 세린과 0.001 ~ 2mg/mL 폴리솔베이트 80을 10% Normal saline에 녹여 제조하였다. 구체적인 실험방법은 상기 실시예 1에 기재된 바와 동일하게 실시하였다. 단, 10마리의 마우스를 사용하였고, 복강 주사하는 농도는 4 unit/0.1ml로 하였다.

[104] 표 2 및 도 1에 폴리솔베이트 80의 농도 변화에 따른 보툴리눔 독소의 안정성 실험결과를 나타내었다. 폴리솔베이트 80의 농도가 0.1mg/mL 이상이면 모든 농도에서 어느 정도 이상의 안정성을 나타냈는바, 폴리솔베이트 80의 농도가 0.1mg/mL, 0.5mg/mL 및 2mg/mL인 경우 6주차까지 사망률이 50% 이상이며, 폴리솔베이트 80의 농도가 0.5mg/mL 및 2mg/mL인 경우 10주차까지도 10%의 사망률을 확인할 수 있었다.

[105]

[표2]

보툴리눔 독소액			사망률 (%)							
보툴리눔 독소 안정화 조성물	독소 액상	독소(U/mL)	0주	1주차	2주	4주	6주	8주	10주	12주
			차	차	차	차	차	차	차	차
폴리솔베 이트80 (mg/mL)	세린(mM)									
0.001	5	40	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
0.01			100%	100%	80%	60%	0%	0%	0%	0%
0.1			100%	100%	90%	90%	60%	30%	0%	0%
0.5			100%	90%	80%	70%	100%	40%	10%	0%
2			100%	70%	100%	70%	70%	40%	10%	0%

[106]

[107] **3. 세린의 농도 변화에 따른 보툴리눔 독소의 안정성 시험**

[108] 보툴리눔 독소의 안정화 액상 조성물의 조성으로 선별된 세린과 폴리솔베이트 80의 조합에서 세린의 농도 변화에 따른 보툴리눔 독소의 안정성 실험을 실시하였다.

[109] 하기 표 2에 기재한 바와 같은 조성의 보툴리눔 독소 안정화 액상 조성물을 이용해, 보툴리눔 독소액의 농도를 40 Unit/mL가 되도록 보툴리눔 독소액을 제조하였다. 대조군은 Innotox 특허 제형과 같이 20mM 메티오닌, 2mg/mL 폴리솔베이트 20을 10% saline에 녹여 제조하였다. 실험군은 0.1mg/mL 폴리솔베이트 80과 5 ~ 50mM 세린을 10% Normal saline에 녹여 제조하였다. 구체적인 실험방법은 상기 실험예 1에 기재된 바와 동일하게 실시하였다. 단, 10마리의 마우스를 사용하였으며 복강 주사하는 농도는 4 unit/0.1ml로 하였다.

[110] 표 3 및 도 2에 세린의 농도 변화에 따른 보툴리눔 독소의 안정성 실험결과를 나타내었다. 세린의 농도가 5mM, 15mM 및 50mM인 경우 6주차까지 사망률이 50% 이상인바, 보툴리눔 독소 활성이 유지됨을 알 수 있었다. 특히, 세린의 농도가 50mM인 경우 12주차까지도 사망률이 50% 이상인바, 20mM 메티오닌과 2mg/ml 폴리솔베이트 20의 조합과 비교해, 보다 장기간 보툴리눔 독소 안정성이

유지됨을 알 수 있었다.

[111] [표3]

보툴리눔 독소 안정화 액상 조성물		사망률 (%)							
세린(mM)	폴리솔베이트80 (mg/mL)	0주차	1주차	2주차	4주차	6주차	8주차	10주차	12주차
5	0.1	100%	90%	90%	100%	80%	20%	0%	0%
15		100%	90%	100%	100%	70%	40%	0%	20%
50		100%	80%	100%	80%	90%	70%	50%	50%
20mM 메티오닌, 2mg/mL 폴리솔베이트20		100%	90%	80%	100%	90%	90%	20%	20%

[112]

[113] **4. 메티오닌 추가에 따른 보툴리눔 독소의 안정성 시험**

[114] 보툴리눔 독소의 안정화 액상 조성물의 조성으로 선별된 세린과 폴리솔베이트 80의 조합에서 메티오닌 추가에 따른 보툴리눔 독소의 안정성 실험을 실시하였다.

[115] 하기 표 4에 기재한 바와 같은 조성의 보툴리눔 독소 안정화 액상 조성물을 이용해, 보툴리눔 독소액의 농도를 40 Unit/mL가 되도록 보툴리눔 독소액을 제조하였다. 대조군은 Innotox 특허 제형과 같이 20mM 메티오닌, 2mg/mL 폴리솔베이트 20을 10% saline에 녹여 제조하였다. 실험군은 2mg/mL 폴리솔베이트 80, 5 ~ 50mM 세린과 0.4mM 메티오닌을 10% Normal saline에 녹여 제조하였다. 구체적인 실험방법은 상기 실험예 1에 기재된 바와 동일하게 실시하였다. 단, 10 마리의 마우스를 사용하였으며 복강 주사하는 농도는 4 unit/0.1ml로 하였다.

[116]

[표4]

보툴리눔 독소액			사망률(%)								안정성
보툴리눔 독소 안정화 액상 조성물			독소(U/mL	0주 차	2주 차	4주 차	6주 차	8주 차	10주 차	12주 차	
메티 오닌 (mM))	세린 (mM)	폴리솔 베이트8 0 (mg/mL)	40								
0.4	5	2		100	100	70	70	80	70	70	△
0.4	15	2		100	100	80	90	80	80	70	△
0.4	50	2		100	100	80	80	90	80	80	○
메티오닌 20mM, 폴리솔베이트 20 2mg/mL				100	100	80	90	80	60	60	△

[117] 그 결과, 표 4 및 도 3에 나타난 바와 같이, 대조군 대비, 모든 제형의 메티오닌, 세린과 폴리솔베이트 80의 조합에 의해 보툴리눔 독소액의 안정성이 향상됨을 알 수 있었다.

[118]

[119] 전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야 한다.

[120]

산업상 이용가능성

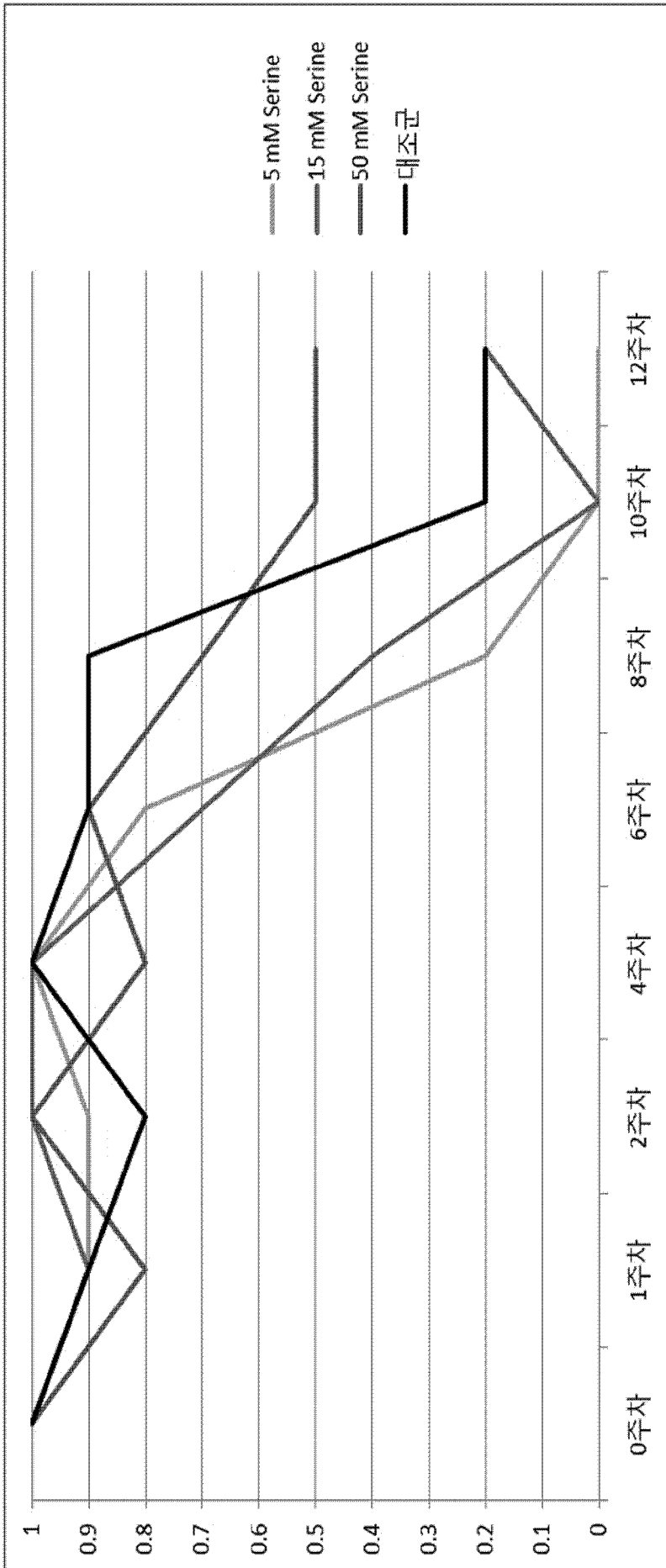
[121] 본 발명에 따른 폴리솔베이트 80 및 세린은 액상 보툴리눔 독소의 안정성 향상 및 투여의 용이성을 위한 조성물 등으로 유용하게 이용될 것으로 기대된다.

[122]

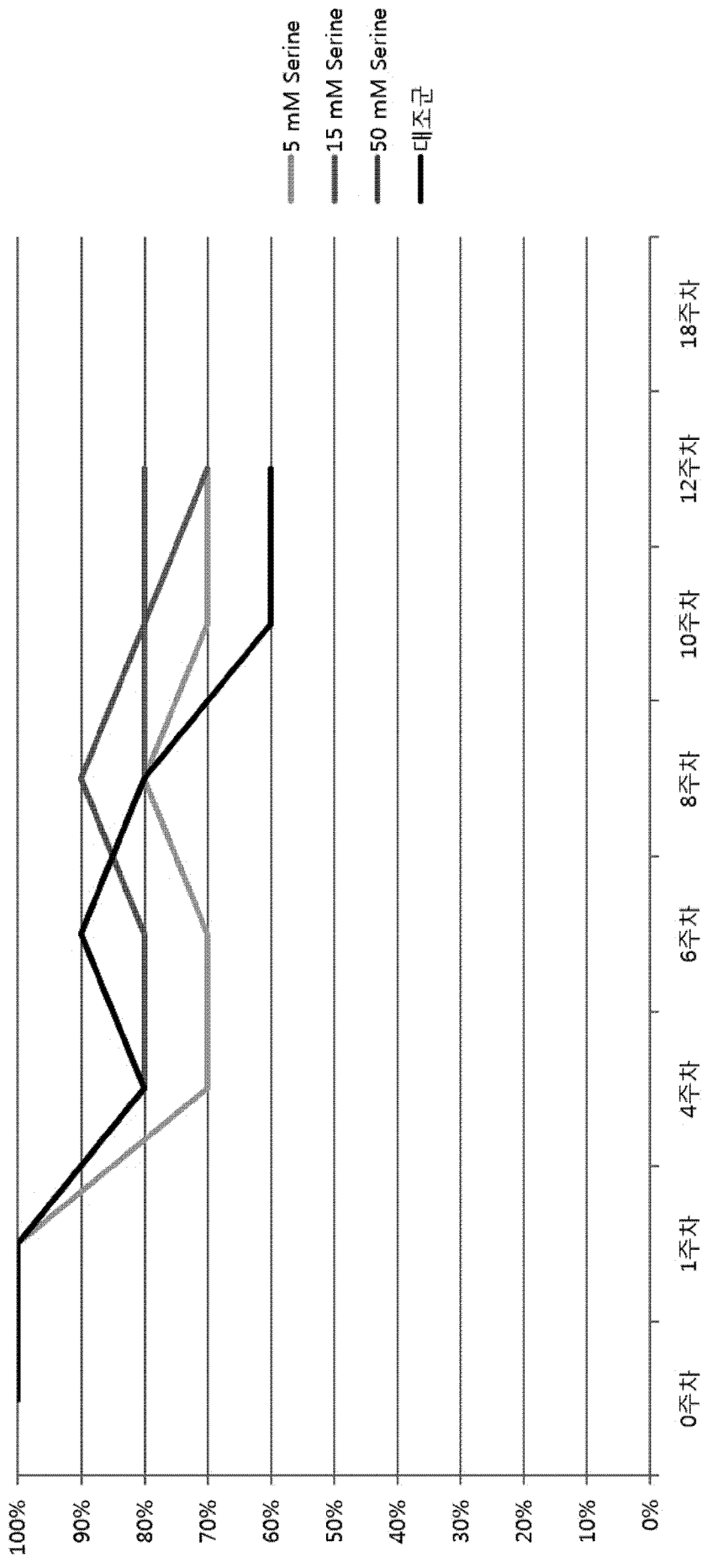
청구범위

- [청구항 1] 폴리솔베이트 80 및 세린을 유효성분으로 포함하는, 보툴리눔 독소의 안정화 액상 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 폴리솔베이트 80 대비 세린의 조성비는 1 (mg/mL): 5 (mM) 이상인 것을 특징으로 하는, 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서,
상기 조성물은 메티오닌을 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는, 조성물.
- [청구항 4] 제3항에 있어서,
상기 조성물에서 폴리솔베이트 80 : 세린 : 메티오닌의 조성비는 1 (mg/mL): 5 ~ 50 (mM) : 0.2 (mM) 인 것을 특징으로 하는, 조성물.
- [청구항 5] 제1항 내지 제4항 중 어느 한 항의 보툴리눔 독소의 안정화 액상 조성물; 및 보툴리눔 독소를 유효성분으로 포함하는 액상제형의 약제학적 조성물.
- [청구항 6] 제5항에 있어서,
폴리솔베이트 80의 농도는 보툴리눔 독소 40 unit 당 0.001 mg 이상인 것을 특징으로 하는, 조성물.
- [청구항 7] 제5항에 있어서,
세린의 농도는 보툴리눔 독소 40 unit 당 5mM 이상인 것을 특징으로 하는, 조성물.
- [청구항 8] 제5항에 있어서,
메티오닌의 농도는 보툴리눔 독소 40 unit 당 0.5mM 미만인 것을 특징으로 하는, 조성물.
- [청구항 9] 제5항에 있어서,
상기 보툴리눔 독소는 보툴리눔 A형, B형, C형, D형, E형, F형, 및 G형으로 이루어진 군에서 선택된 것임을 특징으로 하는, 조성물.
- [청구항 10] 제5항에 있어서,
상기 보툴리눔 독소는 복합체화 단백질을 함유하지 않는 형태 또는 복합체화 단백질을 함유하는 복합체 형태인 것을 특징으로 하는, 조성물.
- [청구항 11] 폴리솔베이트 80 및 세린을 포함하는 액상 조성물을 보툴리눔 독소에 혼합하는 단계를 포함하는, 보툴리눔 독소의 안정화 방법.
- [청구항 12] 폴리솔베이트 80 및 세린을 포함하는 액상 조성물의 보툴리눔 독소 안정화 용도.

[도2]



[도3]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2019/016669

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 9/08(2006.01)i, A61K 47/26(2006.01)i, A61K 47/18(2006.01)i, A61K 47/20(2006.01)i, A61K 47/64(2017.01)i, A61K 38/48(2006.01)i

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 9/08; A61K 35/74; A61K 38/16; A61K 38/17; A61K 38/48; A61K 47/10; A61K 47/12; A61K 47/18; A61K 47/26; A61K 47/42; A61K 47/20; A61K 47/64

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

Korean utility models and applications for utility models: IPC as above

Japanese utility models and applications for utility models: IPC as above

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

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: polysorbate 80, serine, botulinum, methionine, liquid

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KR 10-2016-0103551 A (ALLERGAN, INC.) 01 September 2016 See paragraphs [0002], [0011], [0030], [0038]; claims 1, 5, 6, 8, 9, 12.	1-12
A	KR 10-2009-0005963 A (MEDYTOX INC.) 14 January 2009 See claims 1, 8.	1-12
A	KR 10-2012-0112248 A (MEDYTOX INC.) 11 October 2012 See claims 1, 2, 4.	1-12
A	KR 10-2018-0023871 A (ABBIO CO., LTD. et al.) 07 March 2018 See the entire document.	1-12
A	US 2015-0071879 A1 (ARECOR LTD.) 12 March 2015 See the entire document.	1-12



Further documents are listed in the continuation of Box C.



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

24 MARCH 2020 (24.03.2020)

Date of mailing of the international search report

24 MARCH 2020 (24.03.2020)

Name and mailing address of the ISA/KR

 Korean Intellectual Property Office
Government Complex Daejeon Building 4, 189, Cheongsa-ro, Seo-gu,
Daejeon, 35208, Republic of Korea

Facsimile No. +82-42-481-8578

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2019/016669

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2016-0103551 A	01/09/2016	AU 2006-299366 A1	12/04/2007
		AU 2006-299366 B2	12/01/2012
		AU 2009-339292 A1	07/07/2011
		AU 2009-339292 B2	21/01/2016
		BR P10613001 A2	14/12/2010
		BR P10613001 B1	17/09/2019
		CA 2602926 A1	12/04/2007
		CA 2602926 C	21/12/2010
		CA 2746425 A1	12/08/2010
		CA 2746425 C	03/05/2016
		CN 101175478 A	07/05/2008
		CN 102307571 A	04/01/2012
		CN 105833254 A	10/08/2016
		CY 1117727 T1	17/05/2017
		DK 2679217 T3	25/07/2016
		EP 1931306 A1	18/06/2008
		EP 1931306 B1	31/07/2013
		EP 2373294 A1	12/10/2011
		EP 2373294 B1	20/04/2016
		EP 2679217 A1	01/01/2014
		EP 2679217 B1	06/04/2016
		EP 3067049 A1	14/09/2016
		ES 2580010 T3	18/08/2016
		HK 1192710 A1	07/04/2017
		HU E027810 T2	28/11/2016
		JP 2009-511485 A	19/03/2009
		JP 2012-197320 A	18/10/2012
		JP 2012-512162 A	31/05/2012
		JP 2014-139229 A	31/07/2014
		JP 2015-178505 A	08/10/2015
		JP 2017-088611 A	25/05/2017
		JP 2017-186348 A	12/10/2017
		JP 2019-108381 A	04/07/2019
		JP 5140595 B2	06/02/2013
		JP 5758856 B2	05/08/2015
		JP 6235176 B2	22/11/2017
		JP 6424135 B2	14/11/2018
		KR 10-1314952 B1	04/10/2013
		KR 10-2008-0052510 A	11/06/2008
		KR 10-2011-0106346 A	28/09/2011
MX 2007012062 A	04/12/2007		
NZ 562033 A	22/12/2011		
PL 2679217 T3	30/11/2016		
PT 2679217 T	15/07/2016		
RU 2011125601 A	20/01/2013		
RU 2535003 C2	10/12/2014		
SI 2679217 T1	31/08/2016		
US 2007-0082633 A1	12/04/2007		
US 2010-0279953 A1	04/11/2010		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2019/016669

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
		US 2012-0122802 A1	17/05/2012
		US 2012-0141619 A1	07/06/2012
		US 2012-0207787 A1	16/08/2012
		US 2014-0112908 A1	24/04/2014
		US 8137677 B2	20/03/2012
		US 8168206 B1	01/05/2012
		US 8642047 B2	04/02/2014
		WO 2007-041664 A1	12/04/2007
		WO 2007-044218 A2	19/04/2007
		WO 2007-044218 A3	08/11/2007
		WO 2010-090677 A1	12/08/2010
KR 10-2009-0005963 A	14/01/2009	BR P10813948 A2	28/06/2016
		BR P10813948 B1	06/08/2019
		CA 2690773 A1	15/01/2009
		CA 2690773 C	17/09/2013
		CN 101687046 A	31/03/2010
		CN 101687046 B	26/12/2012
		EP 2170400 A1	07/04/2010
		EP 2170400 B1	25/07/2012
		ES 2391798 T3	30/11/2012
		JP 2010-532784 A	14/10/2010
		JP 5259710 B2	07/08/2013
		RU 2009148286 A	27/06/2011
		RU 2440825 C2	27/01/2012
		US 10293034 B2	21/05/2019
		US 2010-0291136 A1	18/11/2010
		US 2014-0161783 A1	12/06/2014
		US 2016-0206710 A1	21/07/2016
		US 2019-0298813 A1	03/10/2019
		US 8617568 B2	31/12/2013
		US 9220780 B2	29/12/2015
		WO 2009-008595 A1	15/01/2009
KR 10-2012-0112248 A	11/10/2012	AU 2012-233845 A1	31/10/2013
		AU 2012-233845 B2	19/11/2015
		AU 2016-201040 A1	10/03/2016
		AU 2016-201040 B2	25/05/2017
		BR 112013025256 A2	07/02/2017
		CA 2831908 A1	04/10/2012
		CA 2831908 C	13/11/2018
		CN 103596580 A	19/02/2014
		CN 109925284 A	25/06/2019
		CO 6821888 A2	31/12/2013
		DK 2692350 T3	21/08/2017
		EP 2692350 A2	05/02/2014
		EP 2692350 B1	03/05/2017
		EP 3241547 A1	08/11/2017
		ES 2636680 T3	06/10/2017
		IL 228607 A	31/12/2013

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2019/016669

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
		JP 2014-509644 A	21/04/2014
		JP 2016-020382 A	04/02/2016
		JP 2016-199599 A	01/12/2016
		JP 5826914 B2	02/12/2015
		JP 6005239 B2	12/10/2016
		JP 6173547 B2	02/08/2017
		KR 10-1395064 B1	19/05/2014
		MX 2013011119 A	27/02/2014
		MX 338436 B	18/04/2016
		MX 355771 B	30/04/2018
		PL 2692350 T3	31/10/2017
		RU 2013148119 A	27/05/2015
		RU 2574011 G2	27/01/2016
		RU 2640922 C1	12/01/2018
		SG 10201605324 A	30/08/2016
		SG 194039 A1	29/11/2013
		US 2014-0086900 A1	27/03/2014
		US 2015-0064166 A1	05/03/2015
		US 2016-0089442 A1	31/03/2016
		US 8920795 B2	30/12/2014
		US 9198958 B2	01/12/2015
		WO 2012-134240 A2	04/10/2012
		WO 2012-134240 A3	03/01/2013
		ZA 201308115 B	30/07/2014
KR 10-2018-0023871 A	07/03/2018	BR 112019003770 A2	21/05/2019
		CA 3033729 A1	01/03/2018
		CN 109640954 A	16/04/2019
		EP 3505155 A1	03/07/2019
		JP 2019-529530 A	17/10/2019
		KR 10-1919299 B1	16/11/2018
		KR 10-1997615 B1	08/07/2019
		KR 10-2018-0023872 A	07/03/2018
		KR 10-2018-0123459 A	16/11/2018
		US 2019-0201506 A1	04/07/2019
		WO 2018-038301 A1	01/03/2018
		WO 2018-038585 A1	01/03/2018
US 2015-0071879 A1	12/03/2015	CA 2674765 A1	17/07/2008
		CA 2674765 C	05/05/2015
		EP 2114456 A2	11/11/2009
		EP 2114456 B1	04/03/2015
		ES 2537963 T3	16/06/2015
		JP 2010-515713 A	13/05/2010
		JP 5541925 B2	09/07/2014
		US 2010-0028372 A1	04/02/2010
		US 2017-0202954 A1	20/07/2017
		WO 2008-084237 A2	17/07/2008
		WO 2008-084237 A3	30/10/2008

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61K 9/08(2006.01)i, A61K 47/26(2006.01)i, A61K 47/18(2006.01)i, A61K 47/20(2006.01)i, A61K 47/64(2017.01)i, A61K 38/48(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 9/08; A61K 35/74; A61K 38/16; A61K 38/17; A61K 38/48; A61K 47/10; A61K 47/12; A61K 47/18; A61K 47/26; A61K 47/42; A61K 47/20; A61K 47/64

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 폴리솔베이트 80(polysorbate 80), 세린(serine), 보툴리눔(botulinum), 메티오닌(methionine), 액상(liquid)

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	KR 10-2016-0103551 A (알러젠, 인코포레이티드) 2016.09.01 단락 [0002], [0011], [0030], [0038]; 청구항 1, 5, 6, 8, 9, 12	1-12
A	KR 10-2009-0005963 A ((주)메디톡스) 2009.01.14 청구항 1, 8	1-12
A	KR 10-2012-0112248 A ((주)메디톡스) 2012.10.11 청구항 1, 2, 4	1-12
A	KR 10-2018-0023871 A (주식회사 에이비바이오 등) 2018.03.07 전체 문헌	1-12
A	US 2015-0071879 A1 (ARECOR LTD.) 2015.03.12 전체 문헌	1-12

추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“D” 본 국제출원에서 출원인이 인용한 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후 “X”에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일

2020년 03월 24일 (24.03.2020)

국제조사보고서 발송일

2020년 03월 24일 (24.03.2020)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소



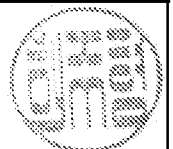
대한민국 특허청
(35208) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-481-8578

심사관

허주형

전화번호 +82-42-481-8150



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2016-0103551 A	2016/09/01	AU 2006-299366 A1	2007/04/12
		AU 2006-299366 B2	2012/01/12
		AU 2009-339292 A1	2011/07/07
		AU 2009-339292 B2	2016/01/21
		BR PI0613001 A2	2010/12/14
		BR PI0613001 B1	2019/09/17
		CA 2602926 A1	2007/04/12
		CA 2602926 C	2010/12/21
		CA 2746425 A1	2010/08/12
		CA 2746425 C	2016/05/03
		CN 101175478 A	2008/05/07
		CN 102307571 A	2012/01/04
		CN 105833254 A	2016/08/10
		CY 1117727 T1	2017/05/17
		DK 2679217 T3	2016/07/25
		EP 1931306 A1	2008/06/18
		EP 1931306 B1	2013/07/31
		EP 2373294 A1	2011/10/12
		EP 2373294 B1	2016/04/20
		EP 2679217 A1	2014/01/01
		EP 2679217 B1	2016/04/06
		EP 3067049 A1	2016/09/14
		ES 2580010 T3	2016/08/18
		HK 1192710 A1	2017/04/07
		HU E027810 T2	2016/11/28
		JP 2009-511485 A	2009/03/19
		JP 2012-197320 A	2012/10/18
		JP 2012-512162 A	2012/05/31
		JP 2014-139229 A	2014/07/31
		JP 2015-178505 A	2015/10/08
		JP 2017-088611 A	2017/05/25
		JP 2017-186348 A	2017/10/12
		JP 2019-108381 A	2019/07/04
		JP 5140595 B2	2013/02/06
		JP 5758856 B2	2015/08/05
		JP 6235176 B2	2017/11/22
		JP 6424135 B2	2018/11/14
		KR 10-1314952 B1	2013/10/04
		KR 10-2008-0052510 A	2008/06/11
		KR 10-2011-0106346 A	2011/09/28
		MX 2007012062 A	2007/12/04
		NZ 562033 A	2011/12/22
		PL 2679217 T3	2016/11/30
		PT 2679217 T	2016/07/15
		RU 2011125601 A	2013/01/20
		RU 2535003 C2	2014/12/10
SI 2679217 T1	2016/08/31		
US 2007-0082633 A1	2007/04/12		
US 2010-0279953 A1	2010/11/04		

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		US 2012-0122802 A1	2012/05/17
		US 2012-0141619 A1	2012/06/07
		US 2012-0207787 A1	2012/08/16
		US 2014-0112908 A1	2014/04/24
		US 8137677 B2	2012/03/20
		US 8168206 B1	2012/05/01
		US 8642047 B2	2014/02/04
		WO 2007-041664 A1	2007/04/12
		WO 2007-044218 A2	2007/04/19
		WO 2007-044218 A3	2007/11/08
		WO 2010-090677 A1	2010/08/12
KR 10-2009-0005963 A	2009/01/14	BR PI0813948 A2	2016/06/28
		BR PI0813948 B1	2019/08/06
		CA 2690773 A1	2009/01/15
		CA 2690773 C	2013/09/17
		CN 101687046 A	2010/03/31
		CN 101687046 B	2012/12/26
		EP 2170400 A1	2010/04/07
		EP 2170400 B1	2012/07/25
		ES 2391798 T3	2012/11/30
		JP 2010-532784 A	2010/10/14
		JP 5259710 B2	2013/08/07
		RU 2009148286 A	2011/06/27
		RU 2440825 C2	2012/01/27
		US 10293034 B2	2019/05/21
		US 2010-0291136 A1	2010/11/18
		US 2014-0161783 A1	2014/06/12
		US 2016-0206710 A1	2016/07/21
		US 2019-0298813 A1	2019/10/03
		US 8617568 B2	2013/12/31
		US 9220780 B2	2015/12/29
		WO 2009-008595 A1	2009/01/15
KR 10-2012-0112248 A	2012/10/11	AU 2012-233845 A1	2013/10/31
		AU 2012-233845 B2	2015/11/19
		AU 2016-201040 A1	2016/03/10
		AU 2016-201040 B2	2017/05/25
		BR 112013025256 A2	2017/02/07
		CA 2831908 A1	2012/10/04
		CA 2831908 C	2018/11/13
		CN 103596580 A	2014/02/19
		CN 109925284 A	2019/06/25
		CO 6821888 A2	2013/12/31
		DK 2692350 T3	2017/08/21
		EP 2692350 A2	2014/02/05
		EP 2692350 B1	2017/05/03
		EP 3241547 A1	2017/11/08
		ES 2636680 T3	2017/10/06
		IL 228607 A	2013/12/31

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		JP 2014-509644 A	2014/04/21
		JP 2016-020382 A	2016/02/04
		JP 2016-199599 A	2016/12/01
		JP 5826914 B2	2015/12/02
		JP 6005239 B2	2016/10/12
		JP 6173547 B2	2017/08/02
		KR 10-1395064 B1	2014/05/19
		MX 2013011119 A	2014/02/27
		MX 338436 B	2016/04/18
		MX 355771 B	2018/04/30
		PL 2692350 T3	2017/10/31
		RU 2013148119 A	2015/05/27
		RU 2574011 C2	2016/01/27
		RU 2640922 C1	2018/01/12
		SG 10201605324 A	2016/08/30
		SG 194039 A1	2013/11/29
		US 2014-0086900 A1	2014/03/27
		US 2015-0064166 A1	2015/03/05
		US 2016-0089442 A1	2016/03/31
		US 8920795 B2	2014/12/30
		US 9198958 B2	2015/12/01
		WO 2012-134240 A2	2012/10/04
		WO 2012-134240 A3	2013/01/03
		ZA 201308115 B	2014/07/30
KR 10-2018-0023871 A	2018/03/07	BR 112019003770 A2	2019/05/21
		CA 3033729 A1	2018/03/01
		CN 109640954 A	2019/04/16
		EP 3505155 A1	2019/07/03
		JP 2019-529530 A	2019/10/17
		KR 10-1919299 B1	2018/11/16
		KR 10-1997615 B1	2019/07/08
		KR 10-2018-0023872 A	2018/03/07
		KR 10-2018-0123459 A	2018/11/16
		US 2019-0201506 A1	2019/07/04
		WO 2018-038301 A1	2018/03/01
		WO 2018-038585 A1	2018/03/01
US 2015-0071879 A1	2015/03/12	CA 2674765 A1	2008/07/17
		CA 2674765 C	2015/05/05
		EP 2114456 A2	2009/11/11
		EP 2114456 B1	2015/03/04
		ES 2537963 T3	2015/06/16
		JP 2010-515713 A	2010/05/13
		JP 5541925 B2	2014/07/09
		US 2010-0028372 A1	2010/02/04
		US 2017-0202954 A1	2017/07/20
		WO 2008-084237 A2	2008/07/17
		WO 2008-084237 A3	2008/10/30