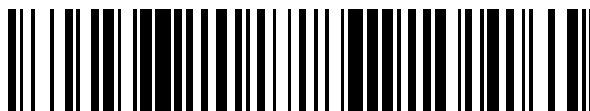


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 810 098**

51 Int. Cl.:

A61K 9/19	(2006.01)
A61K 38/48	(2006.01)
A61K 47/02	(2006.01)
A61K 47/18	(2007.01)
A61K 47/26	(2006.01)
A61P 13/10	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.03.2012 E 17168989 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.05.2020 EP 3241547**

54 Título: **Preparación liofilizada de toxina botulínica**

30 Prioridad:

31.03.2011 KR 20110029577

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

08.03.2021

73 Titular/es:

**MEDY-TOX INC. (100.0%)
78 Gak-ri 1-gil, Ochang-eup
Cheongwon-gun, Chungchongbuk-do 363-885,
KR**

72 Inventor/es:

**JUNG, HYUN HO;
YANG, GI HYEOK;
RHEE, CHANG HOON;
KIM, HACK WOO;
KIM, SUNG BUM y
BAEK, SEUNG HWAN**

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 810 098 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Preparación liofilizada de toxina botulínica

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a una preparación liofilizada de toxina botulínica sin un estabilizante de proteína derivado de animales.

10 **Técnica anterior**

La toxina botulínica, que es un producto de polipéptido de *Clostridium botulinum*, bacteria anaerobia, es un material tóxico que afecta específicamente a células nerviosas. Aunque originalmente la toxina botulínica es un material tóxico que causa la muerte, en los últimos años, se usa para tratar distonía cervical, blefaroespasma, hiperhidrosis, estrabismo, acalasia, vejiga neurógena, enfermedad urológica, migraña y similares. Como ejemplo de uso de toxina botulínica como composición farmacéutica, existe Meditoxin Inj., actualmente comercializado por los presentes inventores.

Muchas proteínas que tienen un efecto medicinal presentan una propiedad de adhesividad a una superficie sólida. Por tanto, cuando las proteínas se inyectan a un envase, algunas de las proteínas se adhieren a la pared interior del envase, produciendo de ese modo pérdida del componente activo. Además, puesto que la proteína puede oxidarse o degradarse fácilmente para dar fragmentos pequeños, es necesario añadir un estabilizante como material capaz de evitar la oxidación y degradación de la proteína.

Recientemente, se usan albúmina y gelatina como estabilizantes para toxina botulínica. La pérdida de componentes activos de proteína puede disminuirse reduciendo la desnaturalización de la proteína producida debido a adhesión o dilución de proteína cuando se inyecta albúmina a un envase. La gelatina se obtiene mediante hidrólisis de colágeno y algunas veces puede usarse en lugar de albúmina. Sin embargo, puesto que la albúmina y la gelatina son proteínas derivadas de animales, existe el peligro de patógenos derivados de la sangre o infección latente. Por tanto, se necesita un estabilizante que no se derive de animales y además que no produzca pérdida de actividad de toxina botulínica.

A este respecto, los presentes inventores divulgaron una composición líquida farmacéutica de toxina botulínica que incluye toxina botulínica, metionina y polisorbato 20 que presenta estabilidad a largo plazo a temperatura normal en la publicación de patente coreana n.º 2009-0005963. Sin embargo, en una composición líquida de este tipo, es difícil mantener la estabilidad de toxina botulínica a una temperatura alta mayor que la temperatura normal.

El documento GB 2416122 A se refiere a una composición farmacéutica sólida o líquida que comprende complejo de neurotoxina botulínica (tipo A, B, C, D, E, F o G) o neurotoxina botulínica de alta pureza (tipo A, B, C, D, E, F o G) y un tensioactivo. En particular, la invención se refiere a una composición farmacéutica sólida o líquida que comprende un agente cristalino, tal como cloruro de sodio. También puede incluirse un disacárido tal como sacarosa. El polisorbato 80 se divulga como tensioactivo.

El documento US 2010/279953 A1 se refiere a una composición farmacéutica de toxina de *Clostridium* que comprende una toxina de *Clostridium*, tal como una toxina botulínica, en la que la toxina de *Clostridium* presente en la composición farmacéutica se estabiliza mediante un excipiente no proteico tal como una polivinilpirrolidona, un disacárido, un trisacárido, un polisacárido, un alcohol, un metal, un aminoácido, un tensioactivo y/o un polietilenglicol.

El documento WO 97/35604 A1 se refiere a composiciones farmacéuticas liofilizadas que contienen toxina botulínica o neurotoxina botulínica y cantidades eficaces de trehalosa y metionina. Según esta divulgación, estas composiciones tienen una caducidad de hasta 4 meses o más a temperatura ambiente y superior.

Divulgación**Problema técnico**

Un objeto de la presente invención es proporcionar una preparación liofilizada de toxina botulínica, en la que la estabilidad de almacenamiento puede mantenerse durante un largo periodo de tiempo a una temperatura alta mayor que la temperatura normal.

60 **Solución técnica**

Para la preparación convencional de toxina botulínica, puede mantenerse la estabilidad de toxina botulínica a una temperatura de refrigeración o a temperatura normal. Sin embargo, es difícil mantener una actividad de toxina botulínica durante un largo periodo de tiempo a una temperatura alta. Por tanto, los presentes inventores desarrollaron una preparación liofilizada de toxina botulínica que tiene una excelente estabilidad de almacenamiento, en la que puede mantenerse una actividad de toxina botulínica durante un largo periodo de tiempo incluso a lo largo de un amplio

intervalo de temperatura, por ejemplo, una temperatura de congelación, una temperatura de refrigeración, temperatura normal y una temperatura alta.

5 Por tanto, la presente invención proporciona una preparación liofilizada farmacéutica que comprende 1) toxina botulínica; 2) polisorbato; y 3) metionina; y uno o más componentes seleccionados del grupo que consiste en 4) azúcar, alcohol de azúcar y un compuesto iónico.

Efecto

10 La preparación liofilizada de toxina botulínica según la presente invención puede mantener una actividad de toxina botulínica, y también presentar una estabilidad de almacenamiento a largo plazo excelente incluso en condiciones de temperatura alta, que pueden producirse cuando se almacena, se suministra y se procesa la toxina botulínica.

Mejor modo

15 La preparación liofilizada de toxina botulínica según la presente invención comprende 1) toxina botulínica, 2) polisorbato y 3) metionina, que se han añadido a la preparación líquida convencional; e incluye además uno o más seleccionados del grupo que consiste en 4) azúcar, alcohol de azúcar y un compuesto iónico como componente adicional.

20 El componente adicional funciona manteniendo una actividad de toxina botulínica, y también estabilizando la actividad incluso a una temperatura alta mayor que la temperatura normal cuando la toxina botulínica se prepara en forma de formulación liofilizada. Para una composición que incluye 1) toxina botulínica; 2) polisorbato; y 3) metionina, su estabilidad disminuye cuando se liofiliza, y también disminuye a una temperatura alta mayor que la temperatura normal incluso cuando se prepara en una preparación líquida. Sin embargo, la preparación liofilizada de toxina botulínica según la presente invención puede mantener la actividad de toxina botulínica incluso a una temperatura alta mayor que la temperatura normal, y también puede tener una estabilidad de almacenamiento a largo plazo excelente.

30 La toxina botulínica que se incluye en la preparación liofilizada según la presente invención puede derivarse de *Clostridium botulinum*. La toxina botulínica que se incluye en la preparación liofilizada según la presente invención puede aislarse y purificarse a partir de las cepas a través de métodos conocidos, o pueden usarse productos comercialmente disponibles como toxina botulínica.

35 La toxina botulínica que se incluye en la preparación liofilizada según la presente invención puede seleccionarse de cualquiera del grupo que consiste en serotipos de *botulinum* A, B, C, D, E, F y G. La toxina botulínica se divide en los serotipos A, B, C, D, E, F y G según un método de distinción inmunológico. Se conoce que las toxinas botulínicas de todos los serotipos inhiben la secreción de acetilcolina, que es una molécula de señalización en una unión neuromuscular, generando de ese modo un efecto de parálisis neural, y los diferentes serotipos pueden afectar a diferentes especies animales y tienen diferentes grados de parálisis, duraciones y similares.

40 Mientras tanto, cuando se produce una proteína de toxina mediante *Clostridium botulinum*, la proteína de toxina botulínica se produce formando diversos complejos con diversas proteínas de hemaglutinina y proteínas distintas de hemaglutinina, que ayudan y protegen una función de proteína de toxina botulínica. La toxina botulínica que se incluye en la preparación liofilizada según la presente invención puede incluir una forma de complejo con una proteína complejante y una forma sin una proteína complejante. La actividad de toxina botulínica no se ve afectada por si se incluye o no la proteína complejante.

50 En la preparación liofilizada de toxina botulínica según la presente invención, el polisorbato, que es uno de los estabilizantes de toxina botulínica, es un tensioactivo no iónico y se usa principalmente como agente emulsionante en el campo de los productos farmacéuticos o la alimentación. Un tipo de polisorbato incluye polisorbatos 20, 40, 60, 80 y 100 basándose en el número total de un grupo de oxietileno. Para la preparación liofilizada de toxina botulínica según la presente invención, pueden usarse todos esos polisorbatos. El polisorbato puede incluirse en una cantidad de 0,01 a 2 mg con respecto a 100 unidades de toxina botulínica. Dentro del intervalo anterior, puede mantenerse una actividad de toxina botulínica incluso a una temperatura alta mayor que la temperatura normal, y también puede mantenerse la estabilidad de almacenamiento durante un largo periodo de tiempo.

55 Además, la metionina, un estabilizante, se usa en lugar de una proteína animal tal como albúmina y gelatina como estabilizante de toxina botulínica. La metionina puede incluirse en una cantidad de 0,01 a 10 mg con respecto a 100 unidades de toxina botulínica. Dentro del intervalo anterior, puede mantenerse una actividad de toxina botulínica incluso a una temperatura alta mayor que la temperatura normal, y también puede mantenerse la estabilidad de almacenamiento durante un largo periodo de tiempo.

60 La preparación liofilizada de toxina botulínica según la presente invención incluye además al menos uno de 4) azúcar, alcohol de azúcar o un compuesto iónico como componente adicional además de metionina y polisorbato, a diferencia de la preparación líquida convencional.

65

Se sabe que el azúcar evita la desnaturalización de macromoléculas. Un ejemplo de azúcar que puede usarse para la preparación liofilizada según la presente invención incluye, pero no se limita a, trehalosa, sacarosa, maltosa, fructosa, rafinosa, lactosa, glucosa o similar. Tal azúcar puede incluirse en una cantidad de 0,1 a 50 mg con respecto a 100 unidades de toxina botulínica. Dentro del intervalo anterior, puede mantenerse una actividad de toxina botulínica incluso a una temperatura alta mayor que la temperatura normal, y también puede mantenerse la estabilidad de almacenamiento durante un largo periodo de tiempo.

Se sabe que el alcohol de azúcar estabiliza macromoléculas cuando se seca por congelación o en un estado líquido, y evita la desnaturalización. Un ejemplo de alcohol de azúcar que puede usarse para la preparación liofilizada según la presente invención incluye, pero no se limita a, ciclodextrina, manitol, sorbitol, glicerol, xilitol, inositol o similar. El alcohol de azúcar puede incluirse en una cantidad de 0,1 a 50 mg con respecto a 100 unidades de toxina botulínica. Dentro del intervalo anterior, puede mantenerse una actividad de toxina botulínica incluso a una temperatura alta mayor que la temperatura normal, y también puede mantenerse la estabilidad de almacenamiento durante un largo periodo de tiempo.

Además, un compuesto iónico significa sal o un tampón. Un compuesto iónico reacciona con macromoléculas a través de uniones específicas o no específicas. La sal puede aumentar la termoestabilidad y la solubilidad, y puede disminuir un grado de agregación. Sin embargo, es importante que se observe que una proteína puede tender a desnaturalizarse a una alta concentración de sal. Un ejemplo del compuesto iónico incluye, pero no se limita a, cloruro de sodio, fosfato de sodio, fosfato de amonio, sulfato de magnesio, acetato de sodio, lactato de sodio, succinato de sodio, propionato de sodio, fosfato de potasio o similar. El compuesto iónico puede incluirse en una cantidad de 0,1 a 10 mg con respecto a 100 unidades de toxina botulínica. Dentro del intervalo anterior, puede mantenerse una actividad de toxina botulínica incluso a una temperatura alta mayor que la temperatura normal, y también puede mantenerse la estabilidad de almacenamiento durante un largo periodo de tiempo.

La preparación liofilizada de toxina botulínica según la presente invención se prepara a partir de un cultivo de *Clostridium botulinum* cultivado en un medio específico, sin embargo la presente invención no se limita al mismo. Se purifica un complejo de toxina botulínica a partir de la disolución de cultivo a través de una serie de precipitaciones de ácido para obtener un complejo de cristal de toxina botulínica compuesto por una proteína de toxina de alto peso molecular activa y una proteína de hemaglutinina relevante. Se disuelve el complejo de cristal en una disolución que incluye agua con sal y un estabilizante, y entonces se seca por congelación para producir la preparación liofilizada de toxina botulínica.

Las ventajas y características de la presente invención, y métodos para obtener las ventajas y características de la presente invención, resultarán evidentes con referencia a las realizaciones a modo de ejemplo descritas en detalle más adelante. Sin embargo, la presente invención no se limita a ningún aspecto de las realizaciones a modo de ejemplo divulgadas a continuación y puede implementarse en diversas formas diferentes. Las realizaciones a modo de ejemplo se proporcionan solo para permitir a los expertos en la técnica la realización y puesta en práctica de la presente invención. El alcance de la presente invención está definido por las reivindicaciones adjuntas.

<Ejemplo 1> Producción de preparación liofilizada de toxina botulínica

Se preparó una preparación liofilizada de toxina botulínica según la presente invención liofilizando (o secando por congelación) una disolución de preparación esterilizada que incluía toxina botulínica, metionina y polisorbato, y azúcar o alcohol de azúcar y/o un compuesto iónico.

Prueba de estabilidad de toxina botulínica

Se determinó la estabilidad de toxina botulínica confirmando la continuidad de la actividad después del almacenamiento para un determinado periodo de tiempo y se midió la continuidad de actividad de toxina botulínica examinando la letalidad de ratones o DL₅₀ en ratones. Se almacenó una forma de dosificación de la preparación liofilizada a 40°C y una humedad relativa del 70% durante 30 días y entonces se disolvió en solución salina fisiológica. Entonces, se inyectó la toxina botulínica que corresponde a 2,5 DL₅₀ en UI por vía abdominal a tres ratones. Cuando murieron dos o más ratones, se determinó que la estabilidad continuaba, lo que se expresa como mortalidad en la siguiente tabla. Cuando la mortalidad en ratones es del 50% o más, puede estimarse que se mantiene la actividad de toxina botulínica.

Titulación

Se realizó una titulación de la siguiente manera. Se añadieron 2,8 ml de solución salina fisiológica a dos viales que incluían muestras, respectivamente. Se tomaron 4,4 ml de la muestra del vial, y entonces se añadieron 1,45 ml de solución salina fisiológica a la muestra para obtener una disolución de prueba 1. Se añadieron 1,45 ml de solución salina fisiológica a 4,4 ml de disolución de prueba 1 para obtener una disolución de prueba 2. Mediante el mismo método, se realizó repetidamente la dilución de la disolución ocho veces para obtener cada una de las disoluciones de prueba. Para las disoluciones de prueba 3 a 6, se inyectaron por vía abdominal 0,1 ml de cada una de las disoluciones de prueba a 10 ratones (CD1, hembra) que tenían un peso de 17 a 22 g, y entonces después de 3 días,

se midió la letalidad. Se procesaron estadísticamente los resultados usando un método Probit para obtener la DL₅₀ en ratones y el título.

<Ejemplo 2> Selección de estabilizante de toxina botulínica

(1) Selección de la combinación de metionina y polisorbato

En la combinación de albúmina de suero humana y polisorbato, que son componentes de un estabilizante conocido convencionalmente de toxina botulínica, se seleccionó un estabilizante para el intercambio de la albúmina de suero humana.

[Tabla 1]

Composición de formulación líquida			Mortalidad después del almacenamiento durante 30 días (%)
Polisorbato 20 (mg/ml)	Toxina botulínica (unidad/ml)	Estabilizante (concentración)	
2	100	-	0
		HSA (5 mg/ml)	100
		L-metionina (20 mM)	100
		L-arginina (50 mM)	0
		Histidina (10 mM)	0
		Manitol (50 mg/ml)	0
		Sorbitol (50 mg/ml)	0
		Sacarosa (50 mg/ml)	0
		Lactosa (50 mg/ml)	0

A partir de los resultados anteriores, se estimó que la combinación de HSA y polisorbato 20 podía reemplazarse por la combinación de metionina y polisorbato 20 como estabilizante.

A continuación, para la combinación de metionina y polisorbato 20 seleccionada como estabilizante de toxina botulínica, se realizaron pruebas de estabilidad de toxina botulínica según diversos cambios en la concentración de metionina y polisorbato 20.

La tabla 2 muestra resultados de prueba de estabilidad (mortalidad (%)) de toxina botulínica en condiciones de diversas concentraciones de metionina y polisorbato 20 en el caso de almacenamiento durante 30 días, y la tabla 3 muestra resultados de prueba de estabilidad (mortalidad (%)) de toxina botulínica en condiciones de diversas concentraciones de metionina y polisorbato 20 en el caso de almacenamiento durante 60 días. La concentración de toxina botulínica en la composición líquida de toxina botulínica de la prueba anterior fue de 100 unidades/ml.

[Tabla 2]

Concentración		Metionina (mM)						
		1	5	10	25	50	75	100
Polisorbato 20 (mg/ml)	0,1	100	100	80	100	100	100	100
	0,5	100	100	80	100	100	100	100
	2,5	100	100	100	100	100	100	100
	10	100	100	100	100	100	100	100
	20	100	100	100	100	100	100	100
	25	80	100	100	80	80	100	100

[Tabla 3]

Concentración		Metionina (mM)						
		1	5	10	25	50	75	100
Polisorbato 20 (mg/ml)	0,1	100	100	80	100	100	80	100
	0,5	100	100	80	100	100	100	100
	2,5	100	100	100	80	100	100	100
	10	0	40	0	100	100	100	40
	20	0	80	80	100	-	100	60
	25	0	0	0	0	80	-	0

Como resultado de la realización de un análisis estadístico usando los resultados enumerados en las tablas 2 y 3, se

supuso que la combinación de 25 a 75 mM de metionina y de 0,1 a 2,5 mg/ml de polisorbato 20 estabilizaba al máximo la toxina botulínica.

(2) Selección de componente adicional

5 Cuando se usaron la metionina y el polisorbato 20 seleccionados de las tablas 2 y 3 como preparación liofilizada, se calculó que el contenido de metionina y polisorbato 20 estaba en los intervalos de 0,01 a 10 mg y de 0,01 a 1 mg, respectivamente. Sin embargo, cuando se usó el estabilizante que tenía una combinación de este tipo como preparación liofilizada, no se mantuvo la estabilidad después del almacenamiento durante 30 días. Por tanto, se seleccionó un estabilizante adicional capaz de mantener la estabilidad, tal como se enumera en la tabla 4. En ese momento, se usaron 100 unidades de toxina botulínica, 3 mg de metionina y 2 mg de polisorbato 20.

[Tabla 4]

	Composición de preparación liofilizada					Mortalidad después del almacenamiento durante 30 días (%)
	Estabilizante adicional					
	Cloruro de sodio	Fosfato de sodio	Sacarosa	Manitol	Sorbitol	
Toxina botulínica + metionina + polisorbato 20	-	-	-	-	-	0
	0,9 mg	-	-	-	-	100
	-	10 mM	-	-	-	100
	-	-	0,3 mg	-	-	100
	-	-	-	40 mg	-	100
	0,9 mg	-	-	40 mg	-	100
	-	10 mM	-	40 mg	-	100
	-	10 mM	50 mg	-	-	100
	0,9 mg	-	50 mg	-	-	100
-	10 mM	50 mg	-	40 mg	100	

15 Como se muestra en la tabla 4, pudo confirmarse que cuando se usó la preparación liofilizada que incluía solo metionina y polisorbato como estabilizante, no se mantuvo el efecto de estabilización de toxina botulínica, pero cuando se añadió adicionalmente al menos uno de azúcar, alcohol de azúcar y un compuesto iónico además de metionina y polisorbato, se mantuvo el efecto de estabilización.

20 A continuación, se sometieron a prueba un contenido apropiado y un tipo de azúcar, alcohol de azúcar o un compuesto iónico que se añaden adicionalmente a la combinación de metionina y polisorbato. En ese momento, se usaron 100 unidades de toxina botulínica, 2 mg de metionina y 0,2 mg de polisorbato 20.

[Tabla 5]

	Composición de preparación liofilizada		Mortalidad después del almacenamiento durante 30 días (%)
	Estabilizante adicional	Contenido	
Toxina botulínica + metionina + polisorbato 20	Sacarosa	0,3 mg	100
		2,0 mg	100
		4,0 mg	100
		50 mg	100
		0,3 mg	100
	Trehalosa	2,0 mg	100
		40 mg	100
	Sorbitol	40 mg	100
	Manitol	40 mg	100
	Cloruro de sodio	0,06 mg	0
		0,1 mg	100
		0,3 mg	100
		0,6 mg	100
		0,9 mg	100
10 mg		100	
Fosfato de sodio	Hidrogenofosfato de sodio, anhidro	0,05 mg	100
	Dihidrogenofosfato de sodio dihidratado	0,101 mg	

5 Como se muestra en la tabla 5, pudo confirmarse que cuando se añadieron de 0,1 a 50 mg de sacarosa y de 0,1 a 10 mg de cloruro de sodio a la combinación de metionina y polisorbato, se mantuvo el efecto de estabilización. Cuando el contenido del estabilizante adicional estaba en el intervalo anterior o menos, no había efecto de estabilización, mientras que cuando el contenido del estabilizante adicional estaba en el intervalo anterior o más, no se obtenía el tipo estable como la preparación liofilizada.

10 A continuación, se realizó la prueba de estabilidad a largo plazo de la preparación liofilizada a una temperatura alta usando titulación. En ese momento, cuando se usó la combinación de toxina botulínica + metionina + polisorbato 20 + fosfato de sodio + sacarosa como preparación liofilizada, se usaron 100 unidades de toxina botulínica, 0,8 mg de metionina, 0,02 mg de polisorbato 20, fosfato de sodio (0,05 mg de hidrógeno fosfato de sodio, anhidro + 0,101 mg de dihidrogenofosfato de sodio dihidratado) y 4 mg de sacarosa. Cuando se usó la combinación de toxina botulínica + metionina + polisorbato 20 + cloruro de sodio + sacarosa como preparación liofilizada, se usaron 100 unidades de toxina botulínica, 0,2 mg de metionina, 0,02 mg de polisorbato 20, 2 mg de cloruro de sodio y 4 mg de sacarosa.
15 Cuando se usó la preparación liofilizada que incluía albúmina de suero humana como grupo de control, se usaron 0,5 mg de albúmina de suero humana y 0,9 mg de cloruro de sodio.

[Tabla 6]

Composición de preparación liofilizada	Título (unidades)					
	Título a las 0 semanas	Título a las 2 semanas	Título a las 4 semanas	Título a las 8 semanas	Título a las 12 semanas	Título a las 24 semanas
Toxina botulínica + albúmina de suero humana + cloruro de sodio	-	0	0	-	-	-
Toxina botulínica + metionina + polisorbato 20 + fosfato de sodio (cloruro de sodio) + sacarosa	109 (120)	100 (95)	80 (95)	100 (120)	95	103

20 Como se muestra en la tabla 6, pudo confirmarse que cuando se usó la combinación de toxina botulínica, metionina, polisorbato, fosfato de sodio o cloruro de sodio, y sacarosa como preparación liofilizada, el efecto de estabilización se mantuvo durante aproximadamente 6 meses.

25 **Aplicabilidad industrial**

La presente invención puede usarse como medicamento para tratar distonía cervical, blefaroespasmos, hiperhidrosis, estrabismo, acalasia, vejiga neurogénica, enfermedad urológica, migraña y similares.

REIVINDICACIONES

1. Preparación liofilizada farmacéutica que comprende:
5 toxina botulínica, polisorbato y metionina; y

 uno o más componentes seleccionados del grupo que consiste en azúcar, alcohol de azúcar y un compuesto iónico.
- 10 2. Preparación liofilizada farmacéutica según la reivindicación 1, en la que la toxina botulínica se selecciona del grupo que consiste en serotipos de *botulinum* A, B, C, D, E, F y G.
3. Preparación liofilizada farmacéutica según la reivindicación 1, en la que la toxina botulínica se selecciona del grupo que consiste en una forma sin una proteína complejante y una forma con una proteína complejante.
- 15 4. Preparación liofilizada farmacéutica según la reivindicación 1, en la que el polisorbato es uno cualquiera de polisorbatos 20, 40, 60, 80 y 100.
5. Preparación liofilizada farmacéutica según la reivindicación 1, en la que el polisorbato se incluye en una cantidad de 0,01 a 2 mg con respecto a 100 unidades de la toxina botulínica.
- 20 6. Preparación liofilizada farmacéutica según la reivindicación 1, en la que la metionina se incluye en una cantidad de 0,01 a 10 mg con respecto a 100 unidades de la toxina botulínica.
7. Preparación liofilizada farmacéutica según la reivindicación 1, en la que el azúcar es uno o más seleccionado del grupo que consiste en trehalosa, sacarosa, maltosa, fructosa, rafinosa, lactosa y glucosa.
- 25 8. Preparación liofilizada farmacéutica según la reivindicación 1, en la que el azúcar se incluye en una cantidad de 0,1 a 50 mg con respecto a 100 unidades de la toxina botulínica.
9. Preparación liofilizada farmacéutica según la reivindicación 1, en la que el alcohol de azúcar es uno o más seleccionado del grupo que consiste en ciclodextrina, manitol, sorbitol, glicerol, xilitol e inositol.
- 30 10. Preparación liofilizada farmacéutica según la reivindicación 1, en la que el alcohol de azúcar se incluye en una cantidad de 0,1 a 50 mg con respecto a 100 unidades de la toxina botulínica.
- 35 11. Preparación liofilizada farmacéutica según la reivindicación 1, en la que el compuesto iónico es uno o más seleccionado del grupo que consiste en cloruro de sodio, fosfato de sodio, fosfato de amonio, sulfato de magnesio, acetato de sodio, lactato de sodio, succinato de sodio, propionato de sodio y fosfato de potasio.
- 40 12. Preparación liofilizada farmacéutica según la reivindicación 1, en la que el compuesto iónico se incluye en una cantidad de 0,1 a 10 mg con respecto a 100 unidades de la toxina botulínica.
13. Preparación liofilizada farmacéutica según la reivindicación 1, en la que los componentes seleccionados del grupo comprenden azúcar y un compuesto iónico.
- 45 14. Preparación liofilizada farmacéutica según la reivindicación 13, en la que el polisorbato es polisorbato 20, el azúcar es sacarosa y el compuesto iónico es cloruro de sodio.