

생체내 혈소판 증식호능이 향상된 신규한 트롬보포이에틴 유도체

(주)대웅제약
高盧旭 수석연구원

I. 개발과정

1) 개발동기 및 배경

우리 몸이 외부의 충격으로 땁줄인 혈관이 터졌을 때, 혈관 밖으로 나오는 피를 재빨리 응고시키는 역할을 하는 것은 혈소판(platelets)이다. 이 혈소판은 혈액 속에 존재하면서, 땁줄을 통해 온몸을 돌아다니며, 의상에 의한 출혈을 방지하여, 우리 생명을 보호한다.

혈액응고는 주로 혈액 내에 있는 혈소판의 수에 의해 좌우되는데 혈소판 수는 정상인에게서 평균 15만~40만/ μl 이나, 암환자나 백혈병환자와 같이 암치료를 받는 환자에서는 혈소판을 생성하는 빠속 골수 기능이 저하되어, 혈액내 혈소판의 수가 현저히 감소되어진다.

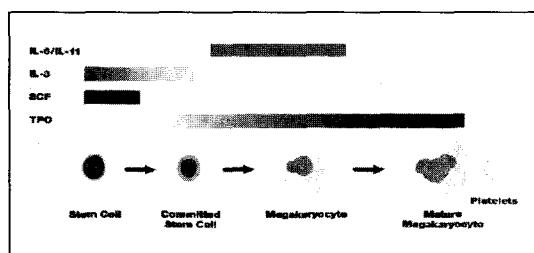
혈소판은 빠속 골수의 stem cell (pluripotent

stem cell)에서 여러 종류의 혈소판 생성을 유도하는 단백질들 (TPO, SCF, IL-3, IL-6, IL-11)의 작용에 의하여 만들하는데, 이중 가장 중요한 역할을 하는 단백질은 트롬보포이에틴(TPO)이다(그림 1).

혈소판 감소를 막는 유일한 치료 수단은 혈소판 수혈이다. 그러나 혈소판 수혈은 타인의 혈액으로부터 환자에 공급되므로, 여러 사람의 혈액 내에 존재할 수 있는 B형, C형 간염바이러스, AIDS 바이러스등에 감염될 위험성이 있다. 또한 타인의 혈소판을 주입함에 따른 항체생성 등 면역의 부작용이 종종 발생하기도 한다. 그러나 현재 혈소판 수혈의 상기 문제점을 개선 혹은 대체하는 치료약이 전무한 상황이다. 혈소판 감소증의 증상을 가진 대부분의 환자들은 치료를 위해, 타인의 혈액을 통한 혈소판 수혈에만 의존하고 있는 형편으로, 혈소판의 수를 증강시키는 생명공학 치료약의 개발이 혈소판감소에 의한 질환에 시달리는 수 많은 환자들에게 절실히 요청되고 있는 상황이다.

2) 발명자의 공헌도

본 발명자는 대웅제약 중앙연구소에 1988년 입



(그림 1) 혈소판(Platelets) 생성과정 및 생성촉진 관련 단백질들

사하여 2002년 현재까지 총 13년동안 생명공학 신약개발 연구직무에 종사하였다. 본 직무에 종사하는 동안 2가지의 신약개발연구를 수행하였는데, 그 첫째는 2001년에 시판한 세계 최초의 생명공학 신약인 EGF의 개발이고, 두번째는 현재 개발 진행중에 있는 혈소판 증강인자인 신규 트롬보포이에틴 유도체 신약이다. 이 신약연구를 진행하면서 국내 총 13건, 미, 일등 해외 8개국에 2건의 특허를 출원하였다.

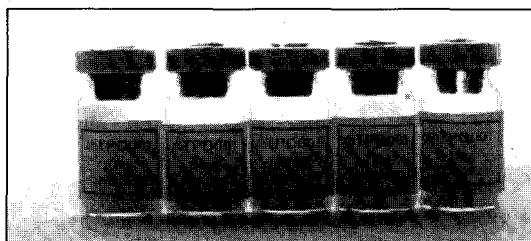
첫번째 신약개발에 성공한 상피세포성장인자(EGF, Epidermal Growth Factor)는 SK 케미컬의 선플라에 이어 국내 신약 2호의 치료제로서, 국내 제약사가 개발한 생명공학제품으로서 세계 최초의 신약이다(그림 2). EGF는 사람의 몸속에 존재하는 상처치료물질이다. 당뇨병에 의해 발생하는 족부궤양과 같이 발이 썩어들어가는 부위에 처치시 새살을 돋게하여 궤양을 치료하는 효능을 발휘한다. 본 발명자는 이 EGF 치료단백질의 핵심 원료 생산기술개발에 참여하여, 유전자재조합 및 대장균 발현, 단백질 분리정제의 생명공학 기술개발을 성공적으로 수행하였다. 7여년의 연구 결과 대장균을 이용하여 인체내에서 생성되는 것과 동일하게 고순도, 고활성의 원료를 대량 생산하는 기술개발을 성공시켜, 특허출



(그림 2) 개발된 “대웅 이지에프 외용액”(제품명: EASYEF®, 성분명: EGF)

원을 통한 특허권확보 (국내등록 3건, 해외7개국 등록) 및 제품화에 기여하였다.

EGF 신약개발에 이어, 현재 본 발명자가 개발 진행중인 과제는 생체내 혈소판 증식효능이 향상된 신규 트롬보포이에틴 유도체 개발 과제이다. 이 과제는 지난 약 7여년간 수행된 대웅의 핵심 신약개발과제이다. 본 신약개발에 본 발명자는 개발 초기부터 중추적으로 참여하여 신규 혈소판 증강인자 유도체를 도출하여, 특허출원을 완료하였으며, 현재 과제총괄 책임자로서(본 신약개발 과제는 과학기술부 G7 신기능 생물소재 개발 지원과제 임) 본 직무를 수행하고 있다.



(그림 3) 생체내 기능이 향상된 신규 트롬보포이에틴 유도체 신약 원료

3) 기술동향 파악

미, 일 선진국에서는 현재 제품화를 위한 임상 연구에 박차를 가하고 있으며 그 선두 개발사로서 미국의 파마시아사, 일본의 키린사가 있다. 미국의 파마시아사는 미국의 거대 생명공학회사인 제넨텍사로부터 거액의 라이센스료를 지불하고, 현재 임상 3상에 진입하여 발매를 눈앞에 두고 있다. 그리고 미국의 거대 생명공학회사인 암젠사는 일본의 키린사와 손잡고 키린-암젠사라는 합병회사를 만들어, 천연형TPO와는 달리 활성을 나타내는 TPO분자의 일부분에 폴리에틸렌글리콜 분자를 붙인 형태의 제제(PEG-rHuMGDF)를 만들어 공동개발을 진행하고 있으며 현재 임

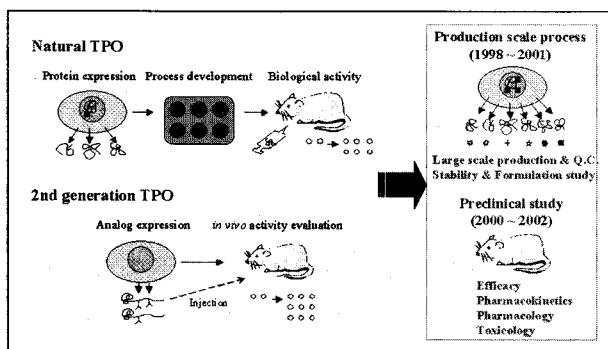
상 1상에 있다.

이외에 후발주자로서 영국의 글락소 웰컴사, 일본의 야마노우치사, 미국의 몬산토사등은 천연형TPO와는 차별화된 물질탐색 연구를 수행하여 저분자 합성물질, 펩타이드아고니스트, 항체 아고니스트등의 스크리닝을 통한 전임상 연구를 진행하면서 TPO시장에의 참여를 모색하고 있다. 국내에서는 대웅제약이 유일하게 천연형TPO와 차별화된 신약연구를 중점추진하고 있다.

4) 연구개발 계획 수립

해외 타제약사의 치열한 개발경쟁에 비해, 국내에서의 혈소판 증식인자의 개발 연구는 아주 미미하다. 이 분야의 선두주자인 대웅제약 이외에는 LG화학, 일양약품등이 해외 천연형TPO에 대한 기초 연구에 관심을 보이고 있는 정도이다. 그런데 천연형TPO는 미국 및 일본 선진국이 물질특허로서 이미 국내에 출원한 상태이므로 천연형TPO의 국내 독자개발은 당시 국내 여건에서는 어려운 상황이었다.

대웅은 이러한 어려운 특허 여건을 예상하여, 당쇄도입 생명공학기술 및 신규 혈소판 증식 스크리닝 기술을 개발, 천연형TPO물질을 획기적으로 개량한 신약 유도체 물질 개발에 1994년부터 착수하여 하기 (그림 4)의 일련의 연구개발 과

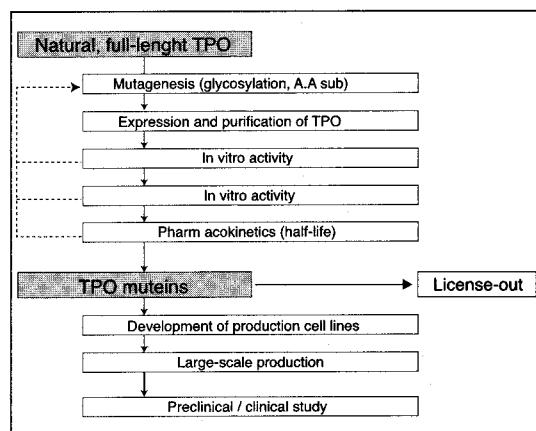


(그림 4) 신규한 트롬보포이에틴 유도체 신약 연구개발 계획

정하에 연구를 진행하여 1998년 대웅 독자적으로 개발한 신규한 트롬보포이에틴 유도체 개발에 성공하게 되었다.

5) 연구개발과정

- 1994년 연구개발계획 착수
- 1995년 천연형TPO 유전자 국내최초 클로닝
- 1996년 TPO 혈소판증강활성 스크리닝 기술 개발, 아미노산 치환 및 당쇄도입 돌연변이체 개발
- 1997년 단백질 발현, 분리정제 기술 개발 및 후보 도출연구
- 1998년 후보도출 및 한국특허출원
- 1999년 도출후보 대량생산 세포주 제조 및 국제(PCT)특허출원
- 2000년 대량정제 기술 개발 및 미, 일등 해외 8개국 개별국 특허출원
- 2001년 정제원료 양산기술 성공 및 동물 약효 실험
- 2002년 신규 트롬보포이에틴 대량생산(한국 경제신문 2002년 1월 29일)
한국 출원특허- 특허청 등록(2002, 4, 12)



(그림 5) 신규한 트롬보포이에틴 유도체 연구개발 과정

II. 권리화 과정

1) 국내외 특허출원현황 및 등록현황

국내출원 현황 : 국내 특허등록 결정됨.

- 1) 발명의 명칭 : 생체 내 혈소판 증식효능이 향상된 신규한 트롬보포이에틴 유도체.
- 2) 발명의 내용 : 유전자 재조합 방법으로 천연 형 TPO중 특정 위치의 아미노산을 아스파라진 등의 아미노산으로 치환하여 당쇄를 도입함으로써 생체 내 혈소판 증식효능을 향상시킨 신규 트롬보포이에틴 유도체.
- 3) 특허출원번호(일자) : 10-2000-7014775 (2000.12.26)
- 4) 특허 등록 번호(일자) : 제 0331977호 (2002.3.27)
- 5) 특허권 존속기간 : 2019.6.30 (국제출원의 경우, 국제출원일(1999.6.30)로부터 20년)
- 6) 발명자 : 고여욱, 정주영, 박상규, 주상명, 안혜경, 임승욱, 장우익, 박승국, 박지수.

국제 출원 및 해외개별국 출원 :

국제특허심사결과 특허성 판정으로 해외 8개국에 특허 출원 진행중

- 1) PCT 출원번호 : PCT/KR99/00347
- 2) PCT출원일 : 1999.06.30
- 3) 우선권 : 98-25935 (1998.06.30) / 99-25143 (1999.06.29)
- 4) 발명의 명칭 : 생체내 혈소판 증식효능이 향상된 신규한 트롬보 포이에틴 유도체 (A novel human thrombopoietin mutein) [TPO]
- 5) 발명자 : 고여욱, 정주영, 박상규, 주상명, 안혜경, 임승욱, 장우익, 박승국, 박지수
- 6) 대리인 : 이원희

- 7) 예비심사기한 : 청구함 (2000.01.14 내)
- 8) 국내단계기한 : 진입함
- 9) 국제 심사보고서 (International Search report) : 특허성 있음 판정(신규성, 진보성, 산업적 이용가능성)
- 10) 국제 예비심사 청구 : 특허성 있음 판정

해외 개별국 출원국가 (출원번호) : 2000. 12. 2일자 출원 완료

1. 미국 (09/720,410)
2. 유럽 (99929925.8)
3. 일본 (2000-557365)
4. 브라질 (9911686-3)
5. 캐나다 (2332126)
6. 중국 (99807757.7)
7. 인도네시아 (W-00200100195)
8. 인도 (IN/PCT2000, 00777/MUM)

2) 분쟁의 유무 : 한국출원특허는 등록결정되어 신규한 물질특허 권리리를 획득하였으므로, 국내 사업시 분쟁의 소지는 없을 것으로 판단됨.

3) 사내 직무발명 보상 규정상 등급 및 보상금액

사내 내규규정에 근거하여, 본 특허출원 및 등록시 우수연구사례 시상으로 A급 판정.

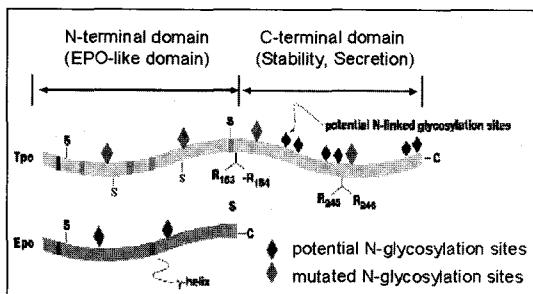
4) 권리화 진척도

대웅 출원특허가 2002년 3월 27일자로 등록 결정되었으며, 2018년까지 자사 신물질에 대한 특허권을 행사, 신약으로서의 국내 제조, 판매등의 독자적 특허권을 행사 할 수 있게 되었다.

III. 기술성

1) 독창성과 개량성

본 발명자는 천연형 TPO보다 활성 및 체내 안정성면에서 현저히 향상된 TPO유도체를 세계최초로 자체 개발하여, 1999년 한국 및 PCT 국제 특허 출원을 완료하였다. 본 발명은 1994년에 TPO 유전자의 클로닝에 착수하여, 1995년 클로닝에 성공하였고, 이 TPO 단백질의 유전자에 광범위한 아미노산 치환을 수행하여, 혈소판의 생성활성이 증강된 TPO유도체의 도출 연구를 수행하였다. 본 특허발명은 특히 TPO의 체내안정성의 증가 및 *in vivo* 활성을 증가시키기 위하여 TPO의 활성부위 이외의 부분에 새로운 당쇄 도입 부위를 단일 혹은 중복으로 추가하여 분자의 당쇄화 정도를 높였으며, 그 결과로서 체내반감기가 증가된 유도체들을 선별하였다(그림 6).

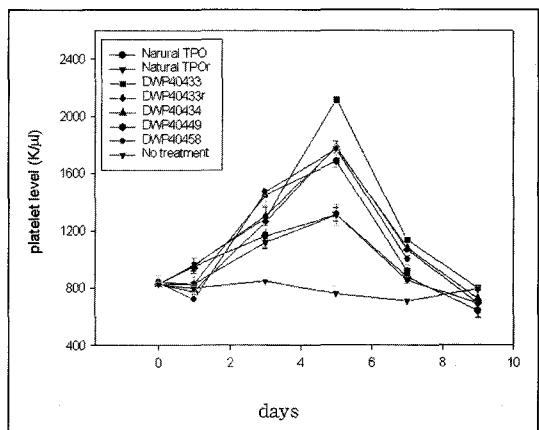


(그림 6) 아미노산 치환 돌연변이 유도체제조기술에 의한 신규 당쇄유도체의 개발

4년여 간의 연구끝에, 총 64종의 유도체를 제조하여, 활성 스크리닝 연구를 지속한 결과 천연형 TPO에 비해 혈소판 생성활성이 증강된 유도체 5종을 도출하였고, 동물실험결과 천연형에 비해 반감기가 1.5배이상, 활성이 약 30%이상 증강된 유도체인 DWP404를 최종도출 선정하여 99년 특허출원과 동시에, 이의 의약품화 연구를 본격

추진하게 되었다. 본 발명의 독창성과 개량성은 하기에 있다.

즉 TPO 분자에 도입되는 아미노산 치환기의 수, N-당쇄도입의 수 와 특히 치환기의 도입위치가 신규유도체의 발현양과 활성에 많은 영향을 미침을 실험적으로 확인하였으며, 제조된 돌연변이 유도체중 체내 안정성 및 활성이 향상된 신규 물질 DWP404를 도출하였다. (그림 7)에 나타난 바와 같이 신규유도체를 마우스에 주사 (10ug/kg)하였을 때, 현저히 증가된 혈소판증가 활성이 나타났다(그림 7).



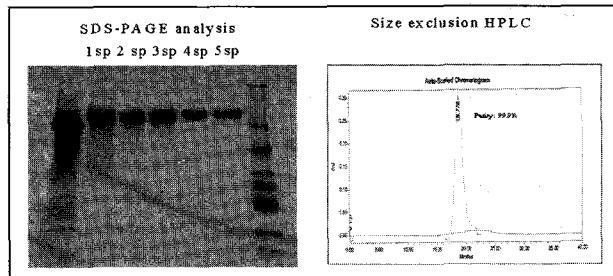
(그림 7) 생체내 혈소판 증식효능이 향상된 신규 트롬보포이에틴 유도체

이러한 본 발명의 독창성 및 개량성은 2000년 상반기에 국제조사보고서 및 특허출원 국제 예비 심사 평가결과, 특허성을 인정하는 평가를 받았다는 점과 국내 특허등록의 결과로서 확인할 수 있으며, 2000년 12월자로 미국, 일본등 세계 8개국에 개별국 특허출원을 완료 할 수 있었다.

또한 이 물질특허를 대량 양산하는 생산기술을 최근 확립 완료하여 현재 동물실험을 통한 전임상 연구를 진행하고 있으며 4년내 임상시험을 통한 신약발매를 추진 계획에 있다.

2) 독점력 및 지속력

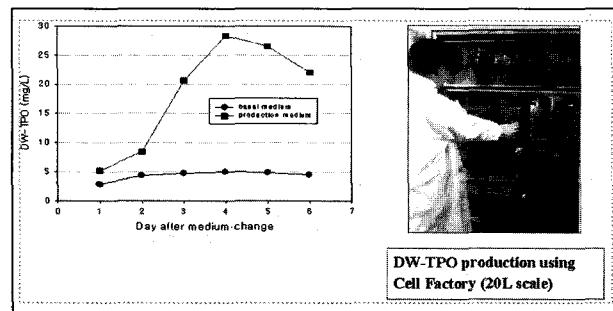
본 발명은 본 발명의 결과물인 신약이 생명공학 신약 의약품으로 시판될 경우 약 15년이상 배타적이고 독점적인 특허실시권을 가지고 시장에서 우위를 점할 수 있을 것으로 예상된다.



(그림 9) 신규 트롬보포이에틴 유도체 정제단계별 순도분석 시험

IV. 실용성

현재 본 발명을 활용하여 의약품으로 사용할 수 있는 수준의 고순도, 고품질의 원료생산을 진행하여 시약용으로의 판매를 진행하고 있다. (그림 8)은 트롬보포이에틴 유도체의 대량발현을 유도하는 세포주의 제조 및 세포주로부터 단백질 원료를 생산하는 과정을 나타낸다.



(그림 8) 트롬보포이에틴 유도체 고발현 세포주의 제조 및 원료 생산

상기 세포배양기에서 배양된 동물세포주인 CHO 세포주 (Chinese Hamster Ovarian cell line)로부터 대량 분비된 트롬보포이에틴 유도체는 하기 (그림 9)에 나타난 대웅의 정제방법에 따라 의약품으로 사용가능한 순도 99%이상으로 분리정제되어 의약용원료로서 제조되었다.

본 발명의 제품생산은 향후 2년내 전임상시험이 완료하여 국내 임상허가를 얻게되는 대로 GMP생산시설을 설치하여 수행되어진다.

본 당쇄유도체 제조를 위한 본 첨단 생명공학 발명 기술은 현재 의약품개발을 위해 적용되어 실시 중에 있으며, 본 기술의 연구성과물은 타 치료용단백질의 서방성제제의 개발에도 연구 응용될 수 있는 부분이 커서, 본 발명의 잠재적 기술 파급효과는 상당히 크다고 볼 수 있다.

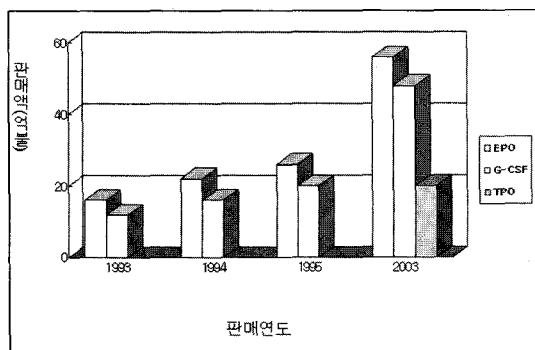
V. 경제성

현재 생명공학 제품중에서 기 발매되어 판매중인 매출 1위의 제품은 에리스로포이에틴 (EPO)인 적혈구증식인자이며, 제 2위의 제품은 G-CSF인 백혈구 증식인자이다(그림-10).

이들은 모두 혈액세포인 적혈구, 백혈구세포를 특이하게 증식시키는 사이토카인 단백질로서 EPO는 미국에서만 약 50억불의 판매고를 달성하였다. 생명공학 제품의 1g당 가격을 살펴보면 생명공학기술분야 미래가치를 짐작해 볼 수 있다. 미국 제넨텍사의 인터페론은 5000달러, 암전의 에리스로포이에틴(EPO)은 무려 67만 달러에 달한다.

이와 같이 생명공학 제품은 제품발매를 위해서는 물질도출, 대량생산, 전임상평가, IND허가, 임

상평가, 신약허가등의 일련의 복잡한 개발과정을 거쳐야하고, 이에 따른 연구기간이 10년 이상 소요되는 등, 제품화까지 넘어야 할 혼난한 산이 많은 반면 일단 제품화에 성공하면, 생명공학제품 자체의 고부가가치성 때문에 상당한 수익을 가져다 주며, 그 제품이 특허로 독점화되면 더욱 큰 부를 가져다 주므로 선진회사의 제약기업 및 생명공학기업들이 앞다투어 치열한 개발경쟁을 하고 있다.



(그림 10) 혈구세포 증식인자, EPO, G-CSF, TPO의 세계시장 규모

본 특허발명의 신규 트롬보포이에틴 유도체 신약은 이미 혈소판증강활성이 입증되었으며, 독자적인 특허권을 확보하였으므로 제품발매시 독점적 판매권의 확보가 가능한 제품이다.

본 신약의 예상 제품가는 1g당 약 6억~7억원로 예측되며, 원료 생산비는 제품가의 10% 이하 이므로 제품발매시에는 상당한 수익이 예상된다.

본 트롬보포이에틴의 신규유도체 신약도출의 성공은 현재 대부분의 국내 제약업체가 선진 생명공학제품의 복제품을 생산하는 기술에 그친데 반해, 자사의 독창적 단백질 공학 기술 및 동물세포 생산세포주 제조기술을 활용한 기술개발 성공의 개가이며, 특히 등록으로 선진국의 물질특허의 망을 피하면서도, 한국 및 해외 독점력을 보유하게 됨으로써 국내 판매 뿐아니라, 국내기술의 해외 제 3국으로의 수출도 가능하게 된다.

혈소판증식인자인 트롬보포이에틴 (TPO)은 암환자에게 있어 항암제 처치시 발생하는 혈소판 감소증에 의한 출혈을 예방하여 주는 효과를 나타냄으로써, 혈소판 수혈이라는 기존의 치료방법을 개선, 대체할수 있는 획기적인 생물공학 의약품이다.

또한 혈소판감소가 일어나는 여러 가지 질환 즉, 특발성혈소판감소성자반증 (ITP, Idiopathic thrombocytopenic purpura), 간경변증등의 간질환환자, 골수이상 (MDS, Myelodysplasia) 등에 의한 혈소판 감소증의 개선 및 치료에 유용한 의약품으로 전망되어지고 있다.

현 혈소판 수혈시장은 국내에 약 300억의 시장을 형성하고 있으며, 해외는 약 5000억~2조의 시장이 예상되며, 이 제품이 발매될 2006년 경에는 약 200~400억 이상의 매출이 기대되며, 해외로의 원료 및 제품수출로 이어지면 최대 1,000억 대의 거대 제품으로의 성장이 예상된다.

발특 2003/2

