



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년12월18일
(11) 등록번호 10-1810055
(24) 등록일자 2017년12월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 47/36 (2017.01) A61K 38/26 (2006.01)
A61K 38/28 (2006.01) A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-7005655
(22) 출원일자(국제) 2012년08월09일
심사청구일자 2015년11월30일
(85) 번역문제출일자 2014년02월28일
(65) 공개번호 10-2014-0051384
(43) 공개일자 2014년04월30일
(86) 국제출원번호 PCT/FR2012/051880
(87) 국제공개번호 WO 2013/021143
국제공개일자 2013년02월14일
(30) 우선권주장
11/57291 2011년08월10일 프랑스(FR)
(뒷면에 계속)
(56) 선행기술조사문헌
W02007121256 A2
W02010041138 A2
W02007116143 A1
US20110178011 A1

(73) 특허권자
아도시아
프랑스 에프-69003 리옹 아브뤼 라카쎄느 115
(72) 발명자
술라, 올리비에
프랑스공화국, 에프-69330 메이지르, 아브뤼 뒤
까로 115
술라, 제라르
프랑스공화국, 에프-69330 메이지르, 뒤 뉝게제
33
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인오리진

전체 청구항 수 : 총 26 항

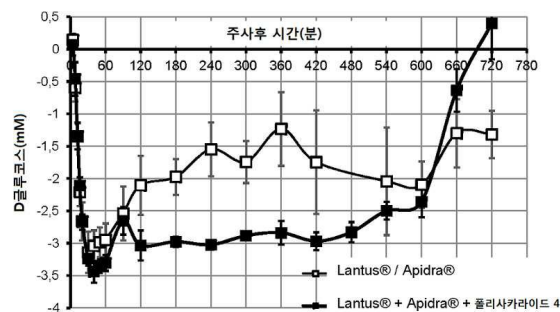
심사관 : 최승희

(54) 발명의 명칭 하나 이상의 유형의 기저 인슐린의 주사액

(57) 요약

본 발명은 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린의 하나 이상의 유형을 포함하는 pH 7의 주사가능 용액에 관한 것이다. 본 발명은 pH가 6.0 내지 8.0인 주사가능 수용액 형태의 조성물에 관한 것이며, 이는 적어도 하기를 포함한다: a) 하나 이상의 유형의 등전점 pI가 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린; b) 식 I 또는 식 II의 카복실레이트 필러(filler)를 갖는 라디칼 및 소수성 라디칼로 치환된 텍스트란, 여기서 R은 -OH이거나 또는 $-(f-[A]-COOH)_n$ 및 $-(g-[B]-k-[D])_m$ 중에서 선택되고, 여기서 D는 8개 이상의 탄소 원자를 포함하는 하나 이상의 알킬 사슬을 포함하거나, 또는 R은 -OH이거나 또는 $-(f-[A]-COOH)_n$ 라디칼이고, 여기서 R'은 $-C(O)NH-[E]-(o-[F])_t$ 및 $-CH_2N(L)_z-[E]-(o-[F])_t$ 라디칼로 이루어진 군에서 선택된다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

또나르, 제프

프랑스공화국, 에프-69003 리용, 뤼 당똥 12

제이슬러, 알렉산드르

프랑스공화국, 69007 리용, 뤼 까미유 루와 28

(30) 우선권주장

11/62445 2011년12월23일 프랑스(FR)

61/522,031 2011년08월10일 미국(US)

61/579,966 2011년12월23일 미국(US)

명세서

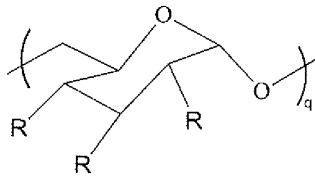
청구범위

청구항 1

적어도 하기를 포함하는, pH가 6.0 내지 8.0인 주사가능 수용액 형태의 조성물:

- 등전점 pI가 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린;
- 하기 식 I 또는 식 II의 카복실레이트 부분을 갖는 라디칼 및 소수성 라디칼로 치환된 텍스트란:

[식 I]

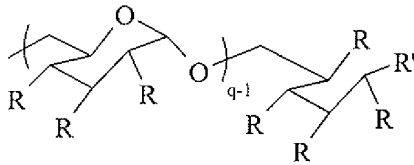


상기 식 중,

- R은 -OH이거나 또는 하기 라디칼로 이루어진 군에서 선택되고:
 - $-(f-[A]-COOH)_n$;
 - $-(g-[B]-k-[D])_m$, 여기서 D는 8개 이상의 탄소 원자를 포함하는 하나 이상의 알킬 사슬을 포함함;
- n은 $-f-[A]-COOH$ 에 의한 글루코시드 단위의 치환도를 나타내고, $0.1 \leq n \leq 2$ 이고;
- m은 $-g-[B]-k-[D]$ 에 의한 글루코시드 단위의 치환도를 나타내고, $0 < m \leq 0.5$ 이고;
- q는 글루코시드 단위로서 중합도, 즉 폴리사카라이드 사슬당 글루코시드 단위의 평균 수를 나타내고, $3 \leq q \leq 50$ 이고;
- $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서
 - -A-는 1 내지 4개의 탄소 원자를 포함하는 선형 또는 분지형 라디칼이고;
 - 상기 -A- 라디칼은 에테르, 에스테르 및 카바메이트 관능기로 이루어진 군에서 선택된 관능기 f를 통해 글루코시드 단위에 결합되고;
- $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서
 - -B-는 1 내지 4개의 탄소 원자를 포함하는 적어도 이가의 선형 또는 분지형 라디칼이고;
 - 상기 -B- 라디칼은 에테르, 에스테르 및 카바메이트 관능기로 이루어진 군에서 선택된 관능기 g를 통해 글루코시드 단위에 결합되고;
 - 상기 -B- 라디칼은 에스테르, 아마이드 및 카바메이트 관능기로 이루어진 군에서 선택된 관능기 k를 통해 -D 라디칼에 결합되고;
 - 상기 -D 라디칼은 $-X(-I-Y)_p$ 라디칼이고; 여기서 X는 카복실 또는 아민 관능기를 가질 수 있거나 또는 아미노산, 디알코올, 디아민 또는 모노- 또는 폴리에틸렌 글리콜 모노- 또는 디아민으로부터 생성될 수 있는, C, N 및 O 원자로 이루어진 군에서 선택된 1 내지 12개의 원자를 포함하는 적어도 이가의 라디칼이고; Y는 하나 이상의 C_1 내지 C_3 알킬기로 치환될 수 있는 8 내지 30개 탄소 원자의 선형 또는 고리형 알킬기, 알킬아릴기 또는 아릴알킬기이고; $p \geq 1$ 이고; I은 에스테르, 아마이드 및 카바메이트 관능기로 이루어진 군에서 선택된 관능기이고;

- f , g 및 k 는 동일하거나 상이하고;
- 유리산 관능기는 Na^+ 및 K^+ 로 이루어진 군에서 선택된 알칼리 금속 양이온의 염 형태이고;
- $p = 1$ 인 경우, Y 가 C_8 내지 C_{14} 알킬이면 $q^*m \geq 2$ 이고, Y 가 C_{15} 알킬이면 $q^*m \geq 2$ 이고, Y 가 C_{16} 내지 C_{20} 알킬이면 $q^*m \geq 1$ 이고;
- $p \geq 2$ 인 경우, Y 가 C_8 내지 C_9 알킬이면 $q^*m \geq 2$ 이고, Y 가 C_{10} 내지 C_{16} 알킬이면 $q^*m \geq 0.2$ 임;

[식 II]



상기 식 중,

- R은 -OH 또는 $-(f-[A]-\text{COOH})_n$ 라디칼이고;
 - -A-는 1 내지 4개의 탄소 원자를 포함하는 선형 또는 분지형 라디칼이고;
 - 상기 -A- 라디칼은 에테르, 에스테르 및 카바메이트 관능기로 이루어진 군에서 선택된 관능기 f 를 통해 글루코시드 단위에 결합되고;
 - n 은 $-f-[A]-\text{COOH}$ 에 의한 글루코시드 단위의 치환도를 나타내고, $0.1 \leq n \leq 2$ 이고;
- R'은 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-[\text{E}]-(\text{o}-[\text{F}])_t$ 및 $-\text{CH}_2\text{N}(\text{L})_z-[\text{E}]-(\text{o}-[\text{F}])_t$ 라디칼로 이루어진 군에서 선택되고;
 - z 는 1 또는 2의 양의 정수이고,
 - L은 하기로 이루어진 군에서 선택되고:
 - -H, 이 때 z 는 1임,
 - $-[\text{A}]-\text{COOH}$, 이 때 f 가 에테르 관능기이면 z 는 1 또는 2임,
 - $-\text{CO}-[\text{A}]-\text{COOH}$, 이 때 f 가 에스테르 관능기이면 z 는 1임, 및
 - $-\text{CO}-\text{NH}-[\text{A}]-\text{COOH}$, 이 때 f 가 카바메이트 관능기이면 z 는 1임;
 - $-\text{E}-(\text{o}-[\text{F}])_t$ 에서
 - -E-는 1 내지 8개의 탄소 원자를 포함하고 O, N 또는 S와 같은 헤테로원자를 포함할 수 있는 적어도 이가의 선형 또는 분지형 라디칼이고;
 - -F-는 하나 이상의 C_1 내지 C_3 알킬기로 치환될 수 있는 12 내지 30개 탄소 원자의 선형 또는 고리형 알킬기, 알킬아릴기 또는 아릴알킬기이고;
 - o는 에테르, 에스테르, 아마이드 및 카바메이트 관능기로 이루어진 군에서 선택된 관능기이고;
 - t 는 1 또는 2의 양의 정수이고;
- q 는 글루코시드 단위로서 중합도, 즉 폴리사카라이드 사슬당 글루코시드 단위의 평균 수를 나타내고, $3 \leq q \leq 50$ 이고;
- 유리산 관능기는 Na^+ 및 K^+ 로 이루어진 군에서 선택된 알칼리 금속 양이온의 염 형태이고;
- $z = 2$ 인 경우, 질소 원자는 사차 암모늄의 형태임.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 카복실레이트 부분을 갖는 라디칼 및 소수성 라디칼로 치환된 텍스트란은 식 I의 텍스트란에서 선택되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 3

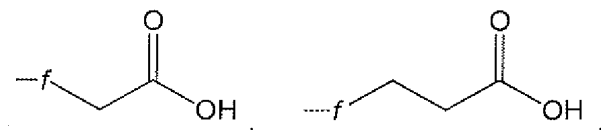
제1항에 있어서,

상기 카복실레이트 부분을 갖는 라디칼 및 소수성 라디칼로 치환된 텍스트란은 식 II의 텍스트란에서 선택되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서,

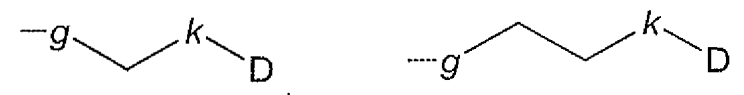
상기 카복실레이트 부분을 갖는 라디칼 및 소수성 라디칼로 치환된 텍스트란은 식 I의 텍스트란에서 선택되며, 이 때 $-(f-[A]-COOH)_n$ 라디칼은 하기로 이루어진 군에서 선택되고, 여기서 f 는 상기에서 주어진 의미를 갖는 것인, 조성물:



청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 카복실레이트 부분을 갖는 라디칼 및 소수성 라디칼로 치환된 텍스트란은 식 I의 텍스트란에서 선택되며, 이 때 $-(g-[B]-k-[D])_m$ 라디칼은 하기로 이루어진 군에서 선택되고, 여기서 g , k 및 D 는 상기에서 주어진 의미를 갖는 것인, 조성물:



청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 카복실레이트 부분을 갖는 라디칼 및 소수성 라디칼로 치환된 텍스트란은 식 I의 텍스트란에서 선택되며, 이 때 $-(g-[B]-k-[D])_m$ 라디칼에 있어서,

- $-B-$ 는 1개의 탄소 원자를 포함하는 라디칼이고, 여기서 $-B-$ 라디칼은 에테르 관능기 g 를 통해 글루코시드 단위에 결합되고,
- X 는 아미노산으로부터 생성된 라디칼인, 조성물.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 카복실레이트 부분을 갖는 라디칼 및 소수성 라디칼로 치환된 텍스트란은 식 I의 텍스트란에서 선택되며, 이 때 X 라디칼은 글리신, 루신, 페닐알라닌, 리신, 이소류신, 알라닌, 발린, 아스파르트산 및 글루탐산으로 이루어진 군에서 선택된 아미노산으로부터 생성된 적어도 하나의 라디칼인, 조성물.

청구항 8

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 카복실레이트 부분을 갖는 라디칼 및 소수성 라디칼로 치환된 텍스트란은 식 I의 텍스트란에서 선택되며, 이 때 Y 기는 소수성 알코올, 소수성 산 또는 스테롤로부터 생성되는 것인, 조성물.

청구항 9

삭제

청구항 10

제1항 또는 제3항에 있어서,

상기 카복실레이트 부분을 갖는 라디칼 및 소수성 라디칼로 치환된 텍스트란은 식 II의 텍스트란에서 선택되며, 이 때 R' 기에 있어서 -E- 라디칼은 디아민으로부터 생성된 것인, 조성물.

청구항 11

제1항 또는 제3항에 있어서,

상기 카복실레이트 부분을 갖는 라디칼 및 소수성 라디칼로 치환된 텍스트란은 식 II의 텍스트란에서 선택되며, 이 때 R' 기에 있어서 -F 라디칼은 콜레스테롤로부터 생성된 것인, 조성물.

청구항 12

제1항 또는 제2항에 있어서,

상기 카복실레이트 부분을 갖는 라디칼 및 소수성 라디칼로 치환된 텍스트란은 식 I의 하기 텍스트란으로 이루어진 군에서 선택된 것인, 조성물:

- 옥틸 글리시네이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- 세틸 글리시네이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- 옥틸 페닐알라닌에이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- 3,7-디메틸-1-옥틸 페닐알라닌에이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- 디옥틸 아스파르테이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- 디데실 아스파르테이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- 디라우릴 아스파르테이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- N-(2-아미노에틸)도데칸아미드로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- 라우릴 글리시네이트로 개질된 소듐 텍스트란숙시네이트,
- 디옥틸 아스파르테이트로 개질된 N-(소듐 메틸카복실레이트) 텍스트란 카바메이트,
- 디라우릴 아스파르테이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- 2-(2-아미노에톡시)에틸 도데카노에이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- 2-(2-{2-[도데카노일아미노]에톡시}에톡시)에틸아민으로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- 2-(2-{2-[헥사데카노일아미노]에톡시}에톡시)에틸아민으로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- 콜레스테릴 류신에이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- 콜레스테릴 1-에틸렌디아민카복실레이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트, 및
- 콜레스테릴 류신에이트로 개질된 N-(소듐 메틸카복실레이트) 텍스트란 카바메이트.

청구항 13

제1항 또는 제3항에 있어서,

상기 카복실레이트 부분을 갖는 라디칼 및 소수성 라디칼로 치환된 텍스트란은 식 II의 하기 텍스트란으로 이루어진 군에서 선택된 것인, 조성물:

환원 사슬 말단에 환원성 아민화에 의해 그래프트된 콜레스테릴 1-에틸렌디아민카복실레이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트.

청구항 14

제1항에 있어서,

상기 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린은 인슐린 글라진인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 15

제1항에 있어서,

상기 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린을 40 IU/ml 내지 500 IU/ml로 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 16

제1항에 있어서,

식전 인슐린을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 17

제1항에 있어서,

40 내지 800 IU/ml의 총 인슐린을 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 18

제16항에 있어서,

등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린과 식전 인슐린 사이의 중량 퍼센트 비율이 25/75, 30/70, 40/60, 50/50, 60/40, 70/30, 80/20 또는 90/10인 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 19

제1항에 있어서,

GLP-1, GLP-1 유사체 또는 GLP-1 유도체를 더 포함하는 것을 특징으로 하고, 상기 GLP-1 유사체 또는 GLP-1 유도체는 엑세나티드, 리라글루티드, 릭시세나티드, 및 이들의 약학적으로 허용가능한 염으로 이루어진 군에서 선택되는 조성물.

청구항 20

제1항에 있어서,

0 내지 5000 μ M의 농도로 아연 염을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 21

제1항에 있어서,

Tris, 시트레이트 및 포스페이트로 이루어진 군에서 선택된 완충액을 0 내지 100 mM의 농도로 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 22

제16항에 있어서,

상기 식전 인슐린은 인간 인슐린, 인슐린 글루리신, 인슐린 리스프로 및 인슐린 아스파르트로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 조성물.

청구항 23

pH가 6.6 내지 7.8인 제1항에 따른 조성물과 식전 인슐린을 포함하는 단일-투여 제형.

청구항 24

pH가 6.6 내지 7.8인 제1항에 따른 조성물과 GLP-1, GLP-1 유도체 또는 GLP-1 유사체를 포함하는 단일-투여 제형으로, 상기 GLP-1 유사체 또는 GLP-1 유도체는 엑세나티드, 리라글루티드, 렉시세나티드, 및 이들의 약학적으로 허용가능한 염으로 이루어진 군에서 선택되는 단일-투여 제형.

청구항 25

제23항에 있어서,

상기 식전 인슐린은 인간 인슐린으로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 단일-투여 제형.

청구항 26

제23항에 있어서,

상기 식전 인슐린은 인슐린 리스프로, 인슐린 글루리신 및 인슐린 아스파르트로 이루어진 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는 단일-투여 제형.

청구항 27

제1항에 있어서,

Tris, 시트레이트 및 포스페이트로 이루어진 군에서 선택된 완충액을 0 내지 50 mM의 농도로 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 당뇨병을 치료하기 위한 인슐린(등) 주사에 의한 요법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 인슐린 요법 또는 인슐린 주사에 의한 당뇨병 요법은 체장의 생리학적 활성을 더 양호하게 모방할 수 있도록 하는, 특히 환자의 혈당증을 바로잡는 신규 인슐린의 개발 덕분에 최근 수년내에 현저한 진보가 이루어졌다.

[0003] 일일 인슐린 요구량을 커버하기 위하여, 당뇨병 환자는 현재 개략적으로 상보적인 작용을 갖는 두가지 유형의 인슐린을 이용할 수 있으며, 이는 다음과 같다: 식전 인슐린(또는 속효성(rapid-acting) 인슐린) 및 기저 인슐린(또는 지효성(slow-acting) 인슐린).

[0004] 식전 인슐린(prandial insulin)은 식사와 간식으로부터 제공되는 글루코스를 신속하게 관리(대사과정 및/또는 저장)할 수 있다. 환자는 음식을 섭취하기 전마다 식전 인슐린이 주사되어야 한다. 즉, 매일 약 2 내지 3회 주사된다. 가장 흔히 사용되는 식전 인슐린은 다음과 같다: 재조합 인간 인슐린, NovoLog[®] (Novo Nordisk사의 인슐린 아스파르트(aspart)), Humalog[®] (Eli Lilly사의 인슐린 리스프로(lispro)) 및 Apidra[®] (Sanofi-Aventis사의 인슐린 글루리신(glulisine)).

[0005] 기저 인슐린(basal insulin)은 음식을 섭취하는 기간 외에서 환자의 혈당 항상성을 유지시킨다. 이는 본질적으로 글루코스(간의 글루코스)의 내인성 생성을 차단시킴으로써 작용한다. 기저 인슐린의 일일 투여량은 일반적으로 총 일일 인슐린 요구량의 40-50%에 상응한다. 사용되는 기저 인슐린에 따라, 상기 투여량은 1회 또는 2회 주사로 나누어지며, 그 날 동안 규칙적으로 분배된다. 가장 흔히 사용되는 기저 인슐린은 Levemir[®] (Novo Nordisk사의 인슐린 디터머(detemir)) 및 Lantus[®] (Sanofi-Aventis사의 인슐린 글라진(glargine))이다.

[0006] 완벽을 기하기 위해, NPH(NPH(Neutral Protamine Hagedorn) 인슐린; Humuline NPH[®], Insulatard[®])가 가장 오

래된 기저 인슐린이라는 점에 주목할 것이다. 이 제형은 양이온성 단백질인 프로타민에 의한 인간 인슐린(중성 pH에서 음이온성)의 침전 결과이다. 이 미세결정은 수성 현탁액에 분산되고 피하 주사 후에 천천히 용해된다. 이와 같이 느린 용해는 인슐린의 지속적인 방출을 보장한다. 그러나, 이와 같은 방출은 시간이 경과함에 따른 인슐린의 일정한 농도를 보장하지 않는다. 방출 프로파일은 벨-모양(bell-shaped)이고, 12 내지 16시간에서만 지속된다. 따라서, 매일 2회 주사된다. 이러한 NPH 기저 인슐린은 최신의 기저 인슐린 Levemir[®] 및 Lantus[®]에 비해 효과가 훨씬 덜하다. NPH는 중효성(intermediate-acting) 기저 인슐린이다.

[0007] NPH의 원리는 속효성 인슐린 유사체의 출현과 함께 변화되어, 속효성과 중효성을 모두 제공하는 "Premix" 제품이 주어졌다. NovoLog Mix[®](Novo Nordisk) 및 Humalog Mix[®](Eli Lilly)는 프로타민과 부분적으로 복합된 속효성 인슐린 유사체, Novolog[®] 및 Humalog[®]를 포함하는 제형이다. 따라서, 이들 제형은 작용이 중효성으로 나타나는 인슐린의 미세결정, 및 작용이 속효성으로 나타나고 가용성으로 남아있는 인슐린 일부를 함유한다. 실제로, 이들 제형은 속효성 인슐린의 이점을 제공하지만, NPH의 결점, 즉 12 내지 16시간으로 한정되는 작용 기간 및 인슐린의 벨-모양 방출도 또한 갖고 있다. 그러나, 이들 제품들은 환자에게 속효성 식전 인슐린과 함께 중효성 기저 인슐린의 단회 주사를 수행할 수 있도록 해준다. 사실상, 다수의 환자들은 주사 횟수를 줄이기를 원한다.

[0008] 현재 시판되고 있고 현재 임상 개발 중에 있는 기저 인슐린은 지속적인 작용을 얻기 위한 기술적 해결안으로서 분류될 수 있으며, 두 개의 접근법이 현재 사용된다.

[0009] 첫번째는 인슐린 디터머에 관한 것으로서 알부민 생체내에서 알부민에 대한 결합이다. 이는 pH 7에서 가용성인 유사체이며, 생체내에서 상기 인슐린이 알부민과 조합할 수 있도록 하는 위치 B29에 부착된 지방산 (테트라데카노일) 결사슬을 포함한다. 이의 지속적인 작용은 피하 주사 후에 알부민에 대한 친화성에 주로 기인한 것이다.

[0010] 그러나, 이의 약동학적 프로파일은 하루종일 커버할 수 있지 않으며, 이것은 매일 2회 주사로 사용되는 것이 일반적임을 의미한다.

[0011] pH 7에서 가용성인 다른 기저 인슐린, 예컨대 Degludec[®]는 현재 개발 중에 있다. Degludec[®]는 또한 인슐린에 부착된 지방산 결사슬(헥사데칸디오일-Y-L-Glu)을 포함한다.

[0012] 두번째는 인슐린 글라진에 관한 것으로서 생리학적 pH에서 침전된다. 이는 2개의 아르기닌 잔기로 인간 인슐린의 B 사슬의 C-말단부의 신장에 의해, 그리고 글리신 잔기로 아스파라긴 잔기 A21의 치환에 의해, 획득되는 인간 인슐린의 유사체이다(US 5 656 722). 2개의 아르기닌 잔기의 부가는 생리학적 pH에서 인슐린 글라진의 pI(등전점)를 조정하는 것으로 여겨졌으며, 이에 따라 생리학적 매질에 불용성인 인슐린 유사체를 만든다.

[0013] A21의 치환은 인슐린 글라진을 산성 pH에서 안정성으로 만들기 위해, 이에 따라 산성 pH에서 주사액 형태로 제형화할 수 있도록 하기 위해, 고려되었다.

[0014] 피하 주사 동안, 산성 pH(pH 4-4.5)로부터 생리학적 pH(중성 pH)까지 인슐린 글라진의 통과는 피부 아래에서 침전을 야기시킨다. 인슐린 글라진 미세입자의 느린 재용해는 느리고 지속적인 작용을 보장한다.

[0015] 인슐린 글라진의 저혈당 효과는 24시간에 걸쳐 거의 일정하며, 이에 따라 대다수의 환자들로 하여금 매일 단회 주사로 한정할 수 있게 해준다.

[0016] 요즘에 인슐린 글라진은 시판되는 것들 중 최고의 기저 인슐린으로서 여겨진다.

[0017] 그러나, 인슐린 글라진 유형의 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 제형의 산성 pH는, 다른 단백질들, 특히 식전 인슐린이 산성 pH에서 불안정하기 때문에 이들과의 약학적 조합을 방해한다.

[0018] 그러나, pH와는 독립적으로 시험관내 매질(기저 인슐린을 함유함)과 생체내 매질(피부 아래) 사이에서 용해도의 차이를 유지시키면서, 인슐린 글라진 유형의 등전점이 5.8 내지 8.5인 상기 기저 인슐린을 중성 pH에서 용해시키는 것에 대해서는, 지금까지 어느 누구도 시도한 적이 없다.

[0019] 구체적으로는, 상기에서 개략적으로 개시된 바와 같은 인슐린 글라진 유형의 기저 인슐린의 작동 원리, 즉 산성 pH에서 가용성이고 생리학적 pH에서 침전된다는 것은, 당업계 통상의 기술자로 하여금 인슐린 글라진 유형의 인슐린이 pH 6-8에서 용해되면서, 피하 매질에서 침전하는 그의 본질적인 성질은 유지되는, 어떠한 용액에 대해서도 도출해내지 못하게 한다.

- [0020] 또한, 산성 pH에서 식전 인슐린을 제형화하는 것의 불가능성은 식전 인슐린이 이러한 조건하에 위치 A21에서 탈아미드화 부반응을 겪는다는 사실로부터 발생하는 것이며, 이는 US 약전의 요구사항, 즉 30℃에서 4주 후에 5% 미만의 부산물을 충족시킬 수 있도록 하지 못한다.
- [0021] 또한, 상기 인슐린 글라진 유형의 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 제형의 산성 pH는 중성 pH에서 식전 인슐린과의 어떠한 즉석 조합조차도 방해한다.
- [0022] [69th Scientific Sessions of the American Diabetes Association, New Orleans, Louisiana, 5-9 June 2009]에 제출된 최근 임상 연구에서는 인슐린 글라진의 용도의 이러한 제한점이 입증되었다. 인슐린 글라진의 투여량과 식전 인슐린(이 경우, 인슐린 리스프로)의 투여량은 주사하기 직전에 함께 혼합되었다(E. Cengiz et al., 2010, Diabetes Care, 33(5), 1009-12). 이 실험에 의해, 식전 인슐린의 약동학적 및 약역학적 프로파일에 있어서 유의적인 딜레이가 입증될 수 있었으며, 상기 딜레이는 식후 과혈당증 및 야간 저혈당증을 야기시킬 수 있다. 실제로, 이와 같은 연구에 의해, 현재 시판되는 속효성 인슐린에 대한 인슐린 글라진의 불화합성이 확인된다.
- [0023] 더욱이, Sanofi-Aventis사에서 시판되는 인슐린 글라진에 기초한 상용제품 Lantus[®]에 대한 사용지시문은, 인슐린 글라진 및/또는 혼합되는 식전 인슐린의 약동학과 약역학을 변형시킬 수 있는 심각한 위험 때문에 식전 인슐린 용액은 무엇이 되든지간에 그것과 혼합해서는 안된다고 사용자들에게 명백하게 지시하고 있다.
- [0024] 그러나, 치료적 관점에서, [70th annual scientific sessions of the American Diabetes Association (ADA) of 2010, abstract 2163-PO and abstract number 0001-LB] 동안 공개적으로 수행된 임상 연구, 특히 Sanofi-Aventis사에서 수행된 임상 연구는 Lantus[®] 인슐린 글라진과 식전 인슐린을 조합시킨 치료법 "Premix"인 Novolog Mix[®] 또는 Humalog Mix[®] 유형의 제품에 기초한 치료에 비해 훨씬 더 효과적이라는 점을 보여주었다.
- [0025] 인슐린 글라진 및 속효성 인슐린의 조합과 관련하여, Biodel사는 특히 특허출원 US 7 718 609에서 킬레이트제 및 다중산의 존재하에 3.0 내지 4.2의 pH에서 기저 인슐린 및 식전 인슐린을 포함하는 조성물에 대해 개시하였다. 이 특허에는 인슐린 글라진 유형의 인슐린의 존재하에 산성 pH에서 화합할 수 있는(compatible) 식전 인슐린을 만드는 방법이 시사되어 있다. 이는 중성 pH에서 식전 인슐린과 인슐린 글라진 유형의 인슐린의 조합을 제조하는 방법에 대해서는 시사하고 있지 않다.
- [0026] 상기 문헌과 특허에 개시된 조성물의 분석에 기초할 때, 인슐린 글라진 유형의 기저 인슐린의 pH 7에서 불용성은 느린 작용을 나타내기 위한 전제조건인 것으로 여겨진다. 그 결과, 식전 인슐린과 같은 다른 제품들과 조합시키기 위해 제안되는 용액들 모두는 산성 pH에서 식전 인슐린의 용해 또는 안정화 시험들에 기초한다(예를 들어, WO 2007/121256 및 WO 2009/021955 참조).

발명의 내용

과제의 해결 수단

- [0027] 놀랍게도, 본 발명에 따른 조성물은 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린을 pH 7에서 용해시킬 수 있도록 해준다.
- [0028] 놀랍게도, 본 발명에 따른 조성물은 주사하기 전 pH 7에서의 용해도도 불구하고 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린의 저혈당 활성 기간을 유지시킬 수 있다. 이와 같이 주목할만한 성질은 본 발명의 조성물에서 pH 7에서 용해되는 인슐린 글라진 유형의 인슐린이 매질의 조성 변화에 의해 피하 매질에서 침전한다는 사실로부터 발생된다. 인슐린 글라진 유형의 인슐린의 침전을 촉발시키는 요인은 더 이상 pH 변화가 아니라, 생리학적 매질내로 약학 조성물이 통과하는 동안 환경의 조성 변화이다.
- [0029] 상기 pH 7에서의 용해도 문제점을 해결함으로써, 본 발명에 의해 달성될 수 있는 것은 다음과 같다:
- [0030] - 기저 인슐린의 생물학적 활성 및 작용 프로파일을 유지시키면서 pH 7에서 균질 용액의 형태로 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린을 포함하는 당뇨병 치료용 주사가능 조성물을 제안하는 것;
- [0031] - 기저 인슐린에 대해 본질적인 기저 작용 프로파일을 유지시키면서, pH 6-8에서 가용성이고 산성 pH에서 불안정한 식전 인슐린의 활성 프로파일을 변형시키지 않은 식전 인슐린과 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린의 조합을 포함하는 제형의 조성물을 제안하는 것;

[0032] - GLP-1 또는 "글루카곤-유사 펩티드-1"과 같은 위장 호르몬의 유도체 또는 유사체와 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린의 조합을 추가로 포함하는 당뇨병 치료용 주사가능 조성물을 제안하는 것;

[0033] - 환자로 하여금 주사 횟수를 줄이는 것;

[0034] - 상기 조성물로 하여금 미국 약전과 유럽 약전의 요구사항들을 충족시키는 것.

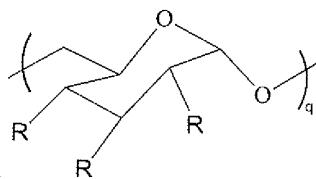
[0035] 놀랍게도, 본 발명의 주제에 해당하는 식전 인슐린과 인슐린 글라진 유형의 인슐린 조합에 있어서, 식전 인슐린의 속효성은 피하 매질에서 인슐린 글라진 유형의 인슐린의 침전에도 불구하고 보존된다.

[0036] 본 발명은 pH가 6.0 내지 8.0인 주사가능 수용액 형태의 조성물에 관한 것으로서, 상기 조성물은 적어도 하기를 포함한다:

[0037] a) 등전점 pI가 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린;

[0038] b) 하기 식 I 또는 식 II의 카복실레이트 부분(charge)을 갖는 라디칼 및 소수성 라디칼로 치환된 텍스트란:

[0039] [식 I]



[0040]
[0041] 상기 식 중,

[0042] ● R은 -OH이거나 또는 하기 라디칼로 이루어진 군에서 선택되고:

[0043] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$;

[0044] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$, 여기서 D는 8개 이상의 탄소 원자를 포함하는 하나 이상의 알킬 사슬을 포함함;

[0045] ● n은 $-f-[A]-COOH$ 에 의한 글루코시드 단위의 치환도(degree of substitution)를 나타내고, $0.1 \leq n \leq 2$ 이고;

[0046] ● m은 $-g-[B]-k-[D]$ 에 의한 글루코시드 단위의 치환도를 나타내고, $0 < m \leq 0.5$ 이고;

[0047] ● q는 글루코시드 단위로서 중합도(degree of polymerization), 즉 폴리사카라이드 사슬당 글루코시드 단위의 평균 수를 나타내고, $3 \leq q \leq 50$ 이고;

[0048] ● $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서

[0049] ○ -A-는 1 내지 4개의 탄소 원자를 포함하는 선형 또는 분지형 라디칼이고;

[0050] ○ 상기 -A- 라디칼은 에테르, 에스테르 및 카바메이트 관능기로 이루어진 군에서 선택된 관능기 f를 통해 글루코시드 단위에 결합되고;

[0051] ● $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서

[0052] ○ -B-는 1 내지 4개의 탄소 원자를 포함하는 적어도 이가(divalent)의 선형 또는 분지형 라디칼이고;

[0053] ○ 상기 -B- 라디칼은 에테르, 에스테르 및 카바메이트 관능기로 이루어진 군에서 선택된 관능기 g를 통해 글루코시드 단위에 결합되고;

[0054] ○ 상기 -B- 라디칼은 에스테르, 아미드 및 카바메이트 관능기로 이루어진 군에서 선택된 관능기 k를 통해 -D 라디칼에 결합되고;

[0055] ○ 상기 -D 라디칼은 $-X(-I-Y)_p$ 라디칼이고; 여기서 X는 카복실 또는 아민 관능기를 가질 수 있거나 및/또는 아미노산, 디알코올, 디아민 또는 모노- 또는 폴리에틸렌 글리콜 모노- 또는 디아민으로부터 생성될 수 있는, C, N 및 O 원자로 이루어진 군에서 선택된 1 내지 12개의 원자를 포함하는 적어도 이가의 라디칼이고;

Y는 하나 이상의 C₁ 내지 C₃ 알킬기로 치환될 수 있는 8 내지 30개 탄소 원자의 선형 또는 고리형 알킬기, 알킬아릴 또는 아릴알킬이고; p ≥ 1이고; I은 에스테르, 아마이드 및 카바메이트 관능기로 이루어진 군에서 선택된 관능기이고;

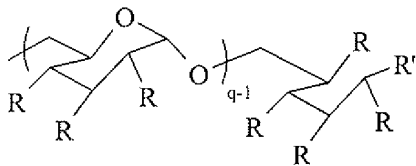
[0056] ● f, g 및 k 는 동일하거나 상이하고;

[0057] ● 유리산(free acid) 관능기는 Na⁺ 및 K⁺로 이루어진 군에서 선택된 알칼리 금속 양이온의 염 형태이고;

[0058] ● p = 1인 경우, Y가 C₈ 내지 C₁₄ 알킬이면 q*m ≥ 2이고, Y가 C₁₅ 알킬이면 q*m ≥ 2이고, Y가 C₁₆ 내지 C₂₀ 알킬이면 q*m ≥ 1이고;

[0059] ● p ≥ 2인 경우, Y가 C₈ 내지 C₉ 알킬이면 q*m ≥ 2이고, Y가 C₁₀ 내지 C₁₆ 알킬이면 q*m ≥ 0.2임;

[0060] [식 II]



[0061]

[0062] 상기 식 중,

[0063] ● R은 -OH 또는 -(f-[A]-COOH)_n 라디칼이고;

[0064] ○ -A-는 1 내지 4개의 탄소 원자를 포함하는 선형 또는 분지형 라디칼이고;

[0065] ○ 상기 -A- 라디칼은 에테르, 에스테르 및 카바메이트 관능기로 이루어진 군에서 선택된 관능기 f를 통해 글루코시드 단위에 결합되고;

[0066] ○ n은 -f-[A]-COOH에 의한 글루코시드 단위의 치환도를 나타내고, 0.1 ≤ n ≤ 2이고;

[0067] ● R'은 -C(O)NH-[E]-(o-[F])_t 및 -CH₂N(L)_z-[E]-(o-[F])_t 라디칼로 이루어진 군에서 선택되고;

[0068] ○ z는 1 또는 2의 양의 정수이고,

[0069] ○ L은 하기로 이루어진 군에서 선택되고:

[0070] ■ -H, 이 때 z는 1임, 및/또는

[0071] ■ -[A]-COOH, 이 때 f가 에테르 관능기이면 z는 1 또는 2임,

[0072] ■ -CO-[A]-COOH, 이 때 f가 에스테르 관능기이면 z는 1임, 및

[0073] ■ -CO-NH-[A]-COOH, 이 때 f가 카바메이트 관능기이면 z는 1임;

[0074] ○ -[E]-(o-[F])_t에서

[0075] ■ -E-는 1 내지 8개의 탄소 원자를 포함하고 O, N 또는 S와 같은 헤테로원자를 포함할 수 있는 적어도 하나의 선형 또는 분지형 라디칼이고;

[0076] ■ -F-는 하나 이상의 C₁ 내지 C₃ 알킬기로 치환될 수 있는 12 내지 30개 탄소 원자의 선형 또는 고리형 알킬기, 알킬아릴 또는 아릴알킬이고;

[0077] ■ o는 에테르, 에스테르, 아마이드 및 카바메이트 관능기로 이루어진 군에서 선택된 관능기이고;

[0078] ■ t는 1 또는 2의 양의 정수이고;

[0079] ● q는 글루코시드 단위로서 중합도, 즉 폴리사카라이드 사슬당 글루코시드 단위의 평균 수를 나타내고, 3 ≤ q ≤ 50이고;

- [0080] ● 유리산 관능기는 Na^+ 및 K^+ 로 이루어진 군에서 선택된 알칼리 금속 양이온의 염 형태이고;
- [0081] ● $z = 2$ 인 경우, 질소 원자는 사차 암모늄의 형태임.
- [0082] 일구현예에서, $p = 1$ 인 경우, Y가 C_{21} 내지 C_{30} 기라면 $q \cdot m \geq 1$ 이다.
- [0083] 일구현예에서, $p = 1$ 인 경우, Y가 C_{21} 내지 C_{30} 기라면 $q \cdot m \geq 0.1$ 이다.
- [0084] 일구현예에서, $-(f\text{-[A]}-\text{COOH})_n$ 라디칼에 있어서,
- [0085] ● -A-는 1개의 탄소 원자를 포함하는 라디칼이고, 이 때 상기 -A- 라디칼은 에테르 관능기 f 를 통해 글루코시드 단위에 결합된다.
- [0086] 일구현예에서, $-(g\text{-[B]}-k\text{-[D]})_m$ 라디칼에 있어서,
- [0087] ● -B-는 1개의 탄소 원자를 포함하는 라디칼이고, 이 때 상기 -B- 라디칼은 에테르 관능기 g 를 통해 글루코시드 단위에 결합되고,
- [0088] ● X는 아미노산으로부터 생성된 라디칼이다.
- [0089] 일구현예에서, $-(f\text{-[A]}-\text{COOH})_n$ 라디칼에 있어서,
- [0090] ● -A-는 1개의 탄소 원자를 포함하는 라디칼이고, 이 때 상기 -A- 라디칼은 에테르 관능기 f 를 통해 글루코시드 단위에 결합되고,
- [0091] ● $-(g\text{-[B]}-k\text{-[D]})_m$ 라디칼에서
- [0092] ● -B-는 1개의 탄소 원자를 포함하는 라디칼이고, 이 때 상기 -B- 라디칼은 에테르 관능기 g 를 통해 글루코시드 단위에 결합되고,
- [0093] ● X는 아미노산으로부터 생성된 라디칼이고,
- [0094] ● k 는 아마이드 관능기이다.
- [0095] 일구현예에서, 카복실레이트 부분(charge)을 갖는 라디칼 및 소수성 라디칼로 치환된 텍스트란은 하기 식 III을 갖는다:
- [0096] [식 III]
-
- [0097]
- [0098] 상기 식 중,
- [0099] ● R은 -OH이거나 또는 하기 라디칼로 이루어진 군에서 선택되고:
- [0100] ○ $-(f\text{-[A]}-\text{COOH})_n$;
- [0101] ○ $-(g\text{-[B]}-k\text{-[D]})_m$, 여기서 D는 8개 이상의 탄소 원자를 포함하는 하나 이상의 알킬 사슬을 포함;
- [0102] ● n 은 $-f\text{-[A]}-\text{COOH}$ 에 의한 글루코시드 단위의 치환도를 나타내고, $0.1 \leq n \leq 2$ 이고;
- [0103] ● m 은 $-g\text{-[B]}-k\text{-[D]}$ 에 의한 글루코시드 단위의 치환도를 나타내고, $0 < m \leq 0.5$ 이고;
- [0104] ● q 는 글루코시드 단위로서 중합도, 즉 폴리사카라이드 사슬당 글루코시드 단위의 평균 수를 나타내고, $3 \leq q \leq 50$ 이고;

- [0105] ● $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서
- [0106] ○ $-A-$ 는 1 내지 4개의 탄소 원자를 포함하는 선형 또는 분지형 라디칼이고;
- [0107] ○ 상기 $-A-$ 라디칼은 에테르, 에스테르 및 카바메이트 관능기로 이루어진 군에서 선택된 관능기 f 를 통해 글루코시드 단위에 결합되고;
- [0108] ● $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서
- [0109] ○ $-B-$ 는 1 내지 4개의 탄소 원자를 포함하는 적어도 이가의 선형 또는 분지형 라디칼이고;
- [0110] ○ 상기 $-B-$ 라디칼은 에테르, 에스테르 및 카바메이트 관능기로 이루어진 군에서 선택된 관능기 g 를 통해 글루코시드 단위에 결합되고;
- [0111] ○ 상기 $-B-$ 라디칼은 에스테르, 아마이드 및 카바메이트 관능기로 이루어진 군에서 선택된 관능기 k 를 통해 $-D$ 라디칼에 결합되고;
- [0112] ○ 상기 $-D$ 라디칼은 $-X(-I-Y)_p$ 라디칼이고; 여기서 X 는 카복실 또는 아민 관능기를 가질 수 있거나 및/또는 아미노산, 디알코올, 디아민 또는 모노- 또는 폴리에틸렌 글리콜 모노- 또는 디아민으로부터 생성될 수 있는, C, N 및 O 원자로 이루어진 군에서 선택된 1 내지 12개의 원자를 포함하는 적어도 이가의 라디칼이고; Y 는 하나 이상의 C_1 내지 C_3 알킬기로 치환될 수 있는 8 내지 20개 탄소 원자의 선형 또는 고리형 알킬기, 알킬 아릴 또는 아릴알킬이고; $p \geq 1$ 이고; I 은 에스테르, 아마이드 및 카바메이트 관능기로 이루어진 군에서 선택된 관능기이고;
- [0113] ● f , g 및 k 는 동일하거나 상이하고;
- [0114] ● 유리산 관능기는 Na^+ 및 K^+ 로 이루어진 군에서 선택된 알칼리 금속 양이온의 염 형태이고;
- [0115] ● $p = 1$ 인 경우, Y 가 C_8 내지 C_{14} 알킬이면 $q^*m \geq 2$ 이고, Y 가 C_{15} 알킬이면 $q^*m \geq 2$ 이고, Y 가 C_{16} 내지 C_{20} 알킬이면 $q^*m \geq 1$ 이고;
- [0116] ● $p \geq 2$ 인 경우, Y 가 C_8 내지 C_{11} 알킬이면 $q^*m \geq 2$ 이고, Y 가 C_{12} 내지 C_{16} 알킬이면 $q^*m \geq 0.3$ 임.
- [0117] 일구현예에서, 카복실레이트 부분(charge)을 갖는 라디칼 및 소수성 라디칼로 치환된 텍스트란은 하기 식 IV를 갖는다:
- [0118] [식 IV]
-
- [0119]
- [0120] 상기 식 중,
- [0121] ● R 은 $-OH$ 이거나 또는 하기 라디칼로 이루어진 군에서 선택되고:
- [0122] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$;
- [0123] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$, 여기서 D 는 8개 이상의 탄소 원자를 포함하는 하나 이상의 알킬 사슬을 포함함;
- [0124] ● n 은 글루코시드 단위당 $-f-[A]-COOH$ 에 의한 히드록실 $-OH$ 관능기의 치환도를 나타내고, $0.1 \leq n \leq 2$ 이고;
- [0125] ● m 은 글루코시드 단위당 $-g-[B]-k-[D]$ 에 의한 히드록실 $-OH$ 관능기의 치환도를 나타내고, $0 < m \leq 0.5$ 이고;

- [0126] ● q 는 글루코시드 단위로서 중합도, 즉 폴리사카라이드 사슬당 글루코시드 단위의 평균 수를 나타내고, $3 \leq q \leq 50$ 이고;
- [0127] ● $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서
- [0128] ○ $-A-$ 는 1 내지 4개의 탄소 원자를 포함하는 선형 또는 분지형 라디칼이고;
- [0129] ○ 상기 $-A-$ 라디칼은 에테르, 에스테르 및 카바메이트 관능기로 이루어진 군에서 선택된 관능기 f 를 통해 글루코시드 단위에 결합되고;
- [0130] ● $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서
- [0131] ○ $-B-$ 는 1 내지 4개의 탄소 원자를 포함하는 적어도 이가의 선형 또는 분지형 라디칼이고;
- [0132] ○ 상기 $-B-$ 라디칼은 에테르, 에스테르 및 카바메이트 관능기로 이루어진 군에서 선택된 관능기 g 를 통해 글루코시드 단위에 결합되고;
- [0133] ○ 상기 $-B-$ 라디칼은 에스테르, 아마이드 및 카바메이트 관능기로 이루어진 군에서 선택된 관능기 k 를 통해 $-D$ 라디칼에 결합되고;
- [0134] ○ 상기 $-D$ 라디칼은 $-X(-I-Y)_p$ 라디칼이고; 여기서 X 는 카복실 또는 아민 관능기를 가질 수 있거나 및/또는 아미노산, 디알코올, 디아민 또는 모노- 또는 폴리에틸렌 글리콜 모노- 또는 디아민으로부터 생성될 수 있는, C, N 및 O 원자로 이루어진 군에서 선택된 1 내지 12개의 원자를 포함하는 적어도 이가의 라디칼이고; Y 는 하나 이상의 C_1 내지 C_3 알킬기로 치환될 수 있는 8 내지 30개 탄소 원자의 선형 또는 고리형 알킬기, 알킬 아릴 또는 아릴알킬이고; $p \geq 1$ 이고; I 은 에스테르, 아마이드 및 카바메이트 관능기로 이루어진 군에서 선택된 관능기이고;
- [0135] ● f , g 및 k 는 동일하거나 상이하고;
- [0136] ● 유리산 관능기는 Na^+ 및 K^+ 로 이루어진 군에서 선택된 알칼리 금속 양이온의 염 형태이고;
- [0137] ● $p = 1$ 인 경우, Y 가 C_8 내지 C_{14} 알킬이면 $q \cdot m \geq 2$ 이고, Y 가 C_{15} 알킬이면 $q \cdot m \geq 2$ 이고, Y 가 C_{16} 내지 C_{30} 알킬이면 $q \cdot m \geq 1$ 이고;
- [0138] ● $p \geq 2$ 인 경우, Y 가 C_8 내지 C_9 알킬이면 $q \cdot m \geq 2$ 이고, Y 가 C_{10} 내지 C_{16} 알킬이면 $q \cdot m \geq 0.2$ 임.
- [0139] 상기 묘사된 구조는, 대부분 글루코시드 단위 사이의 (1,6) 연결로 구성된 폴리사카라이드인 텍스트란을 나타내는데 통상적으로 사용되는 표현에 상응하는 것이며, 이러한 표현이 채택된다. 텍스트란은 일반적으로 대략 5%로 (1,3) 연결을 또한 포함하는데, 이러한 연결은 고의적으로 나타내지 않았지만 당연히 본 발명의 범위내에 포함된다.
- [0140] 등전점이 5.8 내지 8.5인 "기저 인슐린"은 pH 7에서 불용성이고 당뇨병의 표준 모델에서 8 내지 24시간 또는 그 이상의 작용 기간을 갖는 인슐린을 의미하는 것으로 이해된다.
- [0141] 이와 같이 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린은, 주로 아르기닌 또는 리신과 같은 염기성 아미노산의 도입에 의해 개질된 일차 구조를 갖는 재조합 인슐린이다. 이는 예를 들어 다음과 같은 특허, 특허 출원 또는 공보에 개시되어 있다: WO 2003/053339, WO 2004/096854, US 5 656 722 및 US 6 100 376.
- [0142] 일구현예에서, 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린은 인슐린 글라진이다.
- [0143] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 100 IU/ml(즉, 대략 3.6 mg/ml)를 포함한다.
- [0144] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 40 IU/ml를 포함한다.
- [0145] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 200 IU/ml를 포함한다.
- [0146] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 300 IU/ml를 포함한다.
- [0147] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 400 IU/ml를 포함한다.

- [0148] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 500 IU/ml를 포함한다.
- [0149] 일구현예에서, 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 대 치환된 텍스트란의 중량비, 즉 치환된 텍스트란/기저 인슐린은 0.2 내지 5이다.
- [0150] 일구현예에서, 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 대 치환된 텍스트란의 중량비, 즉 치환된 텍스트란/기저 인슐린은 0.2 내지 4이다.
- [0151] 일구현예에서, 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 대 치환된 텍스트란의 중량비, 즉 치환된 텍스트란/기저 인슐린은 0.2 내지 3이다.
- [0152] 일구현예에서, 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 대 치환된 텍스트란의 중량비, 즉 치환된 텍스트란/기저 인슐린은 0.5 내지 3이다.
- [0153] 일구현예에서, 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 대 치환된 텍스트란의 중량비, 즉 치환된 텍스트란/기저 인슐린은 0.8 내지 3이다.
- [0154] 일구현예에서, 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 대 치환된 텍스트란의 중량비, 즉 치환된 텍스트란/기저 인슐린은 1 내지 3이다.
- [0155] 일구현예에서, 치환된 텍스트란의 농도는 1 내지 100 mg/ml이다.
- [0156] 일구현예에서, 치환된 텍스트란의 농도는 1 내지 80 mg/ml이다.
- [0157] 일구현예에서, 치환된 텍스트란의 농도는 1 내지 60 mg/ml이다.
- [0158] 일구현예에서, 치환된 텍스트란의 농도는 1 내지 50 mg/ml이다.
- [0159] 일구현예에서, 치환된 텍스트란의 농도는 1 내지 30 mg/ml이다.
- [0160] 일구현예에서, 치환된 텍스트란의 농도는 1 내지 20 mg/ml이다.
- [0161] 일구현예에서, 치환된 텍스트란의 농도는 1 내지 10 mg/ml이다.
- [0162] 일구현예에서, 폴리사카라이드의 농도는 5 내지 20 mg/ml이다.
- [0163] 일구현예에서, 폴리사카라이드의 농도는 5 내지 10 mg/ml이다.
- [0164] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 식전 인슐린을 추가로 포함한다. 식전 인슐린은 pH 7에서 가용성이다.
- [0165] "식전 인슐린"이라는 용어는 "신속(rapid)" 또는 "레귤러(regular)" 인슐린을 의미하는 것으로 이해된다.
- [0166] "신속" 식전 인슐린은 식사하는 동안 단백질과 탄수화물을 섭취함으로써 유발되는 요구량을 충족시켜야 하는 인슐린이며, 이는 30분 미만 내에 작용해야 한다.
- [0167] 일구현예에서, "레귤러" 식전 인슐린은 Humulin[®] (인간 인슐린) 및 Novolin[®] (인간 인슐린)으로 이루어진 군에서 선택된다.
- [0168] "속효성(fast-acting)" 식전 인슐린은 제조합에 의해 획득되며 작용 시간을 감소시키도록 개질된 인슐린이다.
- [0169] 일구현예에서, "속효성" 식전 인슐린은 인슐린 리스프로(Humalog[®]), 인슐린 글루리신(Apidra[®]) 및 인슐린 아스파르트(NovoLog[®])로 이루어진 군에서 선택된다.
- [0170] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 식전 인슐린과 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린의 조합으로 총 100 IU/ml(즉, 대략 3.6 mg/ml)의 인슐린을 포함한다.
- [0171] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 식전 인슐린과 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린의 조합으로 총 40 IU/ml의 인슐린을 포함한다.
- [0172] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 식전 인슐린과 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린의 조합으로 총 200 IU/ml의 인슐린을 포함한다.
- [0173] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 식전 인슐린과 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린의 조합으로 총 300 IU/ml의 인슐린을 포함한다.

- [0174] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 식전 인슐린과 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린의 조합으로 총 400 IU/ml의 인슐린을 포함한다.
- [0175] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 식전 인슐린과 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린의 조합으로 총 500 IU/ml의 인슐린을 포함한다.
- [0176] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 식전 인슐린과 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린의 조합으로 총 600 IU/ml의 인슐린을 포함한다.
- [0177] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 식전 인슐린과 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린의 조합으로 총 700 IU/ml의 인슐린을 포함한다.
- [0178] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 식전 인슐린과 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린의 조합으로 총 800 IU/ml의 인슐린을 포함한다.
- [0179] 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린과 식전 인슐린 사이의 비율은 인슐린의 총 양에 대한 퍼센트로서 나타낼 때, 40 내지 800 IU/ml의 전술한 제형들에 대해 예를 들어 25/75, 30/70, 40/60, 50/50, 60/40, 70/30, 80/20 및 90/10이다. 그러나, 어떠한 다른 비율도 만들어질 수 있다.
- [0180] 총 인슐린으로서 100 IU/ml을 포함하는 제형에 대해, 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린과 식전 인슐린 사이의 비율은, 예를 들어 IU/ml 단위로 나타낼 때 25/75, 30/70, 40/60, 50/50, 60/40, 70/30, 80/20 또는 90/10이다. 그러나, 어떠한 다른 비율도 만들어질 수 있다.
- [0181] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 GLP-1, GLP-1 유사체 또는 GLP-1 유도체를 추가로 포함한다.
- [0182] 일구현예에서, GLP-1 유사체 또는 유도체는, Eli Lilly & Co 및 Amylin Pharmaceuticals에서 개발한 엑세나티드(exenatide) 또는 Byetta[®], Novo Nordisk에서 개발한 리라글루티드(liraglutide) 또는 Victoza[®], 또는 Sanofi에서 개발한 릭시세나티드(lixisenatide) 또는 Lyxumia[®], 이들의 유사체 또는 유도체 및 이들의 약학적으로 허용가능한 염으로 이루어진 군에서 선택된다.
- [0183] 일구현예에서, GLP-1 유사체 또는 유도체는 엑세나티드 또는 Byetta[®], 이의 유사체 또는 유도체 및 이들의 약학적으로 허용가능한 염이다.
- [0184] 일구현예에서, GLP-1 유사체 또는 유도체는 리라글루티드 또는 Victoza[®], 이의 유사체 또는 유도체 및 이들의 약학적으로 허용가능한 염이다.
- [0185] 일구현예에서, GLP-1 유사체 또는 유도체는 릭시세나티드 또는 Lyxumia[®], 이의 유사체 또는 유도체 및 이들의 약학적으로 허용가능한 염이다.
- [0186] "유사체"라는 용어는 펩티드 또는 단백질과 관련하여 사용될 경우, 하나 이상의 구성 아미노산 잔기가 다른 아미노산 잔기로 대체되거나 및/또는 하나 이상의 구성 아미노산 잔기가 삭제되거나 및/또는 하나 이상의 구성 아미노산 잔기가 부가된 펩티드 또는 단백질을 의미하는 것으로 이해된다. 유사체의 본 정의에 대해 허용되는 상동성 퍼센트는 50%이다.
- [0187] "유도체"라는 용어는 펩티드 또는 단백질과 관련하여 사용될 경우, 기준 펩티드 또는 단백질 또는 유사체에 존재하지 않는 치환기에 의해 화학적으로 개질된 펩티드 또는 단백질 또는 유사체, 즉 치환기를 도입하도록 공유 결합을 생성시켜 개질된 펩티드 또는 단백질을 의미하는 것으로 이해된다.
- [0188] 일구현예에서, GLP-1, GLP-1 유사체 또는 GLP-1 유도체의 농도는 0.01 내지 10 mg/ml의 범위이다.
- [0189] 일구현예에서, 엑세나티드, 이의 유사체 또는 유도체 및 이들의 약학적으로 허용가능한 염의 농도는 0.05 내지 0.5 mg/ml의 범위이다.
- [0190] 일구현예에서, 리라글루티드, 이의 유사체 또는 유도체 및 이들의 약학적으로 허용가능한 염의 농도는 1 내지 10 mg/ml의 범위이다.
- [0191] 일구현예에서, 릭시세나티드, 이의 유사체 또는 유도체 및 이들의 약학적으로 허용가능한 염의 농도는 0.01 내지 1 mg/ml의 범위이다.

- [0192] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린의 시판 용액과 GLP-1, GLP-1 유사체 또는 GLP-1 유도체의 시판 용액을 10/90 내지 90/10 범위의 부피비로 혼합함으로써 제조된다.
- [0193] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 일일 투여량의 기저 인슐린 및 일일 투여량의 GLP-1, GLP-1 유사체 또는 GLP-1 유도체를 포함한다.
- [0194] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 500 IU/ml의 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 및 0.05 내지 0.5 mg/ml의 엑세나티드를 포함한다.
- [0195] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 500 IU/ml의 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 및 1 내지 10 mg/ml의 리라글루티드를 포함한다.
- [0196] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 500 IU/ml의 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 및 0.05 내지 0.5 mg/ml의 릭시세나티드를 포함한다.
- [0197] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 100 IU/ml의 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 및 0.05 내지 0.5 mg/ml의 엑세나티드를 포함한다.
- [0198] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 100 IU/ml의 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 및 1 내지 10 mg/ml의 리라글루티드를 포함한다.
- [0199] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 100 IU/ml의 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 및 0.05 내지 0.5 mg/ml의 릭시세나티드를 포함한다.
- [0200] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 40 IU/ml의 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 및 0.05 내지 0.5 mg/ml의 엑세나티드를 포함한다.
- [0201] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 40 IU/ml의 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 및 1 내지 10 mg/ml의 리라글루티드를 포함한다.
- [0202] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 40 IU/ml의 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 및 0.05 내지 0.5 mg/ml의 릭시세나티드를 포함한다.
- [0203] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 200 IU/ml의 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 및 0.05 내지 0.5 mg/ml의 엑세나티드를 포함한다.
- [0204] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 200 IU/ml의 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 및 1 내지 10 mg/ml의 리라글루티드를 포함한다.
- [0205] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 200 IU/ml의 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 및 0.05 내지 0.5 mg/ml의 릭시세나티드를 포함한다.
- [0206] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 0 내지 5000 μ m의 농도로 아연 염을 추가로 포함한다.
- [0207] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 50 내지 4000 μ m의 농도로 아연 염을 추가로 포함한다.
- [0208] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 200 내지 3000 μ m의 농도로 아연 염을 추가로 포함한다.
- [0209] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 0 내지 1000 μ m의 농도로 아연 염을 추가로 포함한다.
- [0210] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 20 내지 600 μ m의 농도로 아연 염을 추가로 포함한다.
- [0211] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 50 내지 500 μ m의 농도로 아연 염을 추가로 포함한다.
- [0212] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 Tris, 시트레이트 및 포스페이트로 이루어진 군에서 선택된 완충액을 0 내지 100mM, 바람직하게는 0 내지 50mM 또는 15 내지 50mM의 농도로 포함한다.
- [0213] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 보존제를 추가로 포함한다.
- [0214] 일구현예에서, 상기 보존제는 m-크레졸 및 페놀로 이루어진 군에서 단독으로 또는 혼합물로 선택된다.
- [0215] 일구현예에서, 보존제의 농도는 10 내지 50mM이다.
- [0216] 일구현예에서, 보존제의 농도는 10 내지 40mM이다.

- [0243] 일구현예에서, D에 있어서 X 라디칼은 에탄올아민, 디에틸렌 글리콜 아민 및 트리에틸렌 글리콜 아민으로 이루어진 군에서 선택된 모노- 또는 폴리에틸렌 글리콜 아민으로부터 생성된 적어도 이가의 라디칼이다.
- [0244] 일구현예에서, D에 있어서 X 라디칼은 모노- 또는 폴리에틸렌 글리콜 디아민으로부터 생성된 적어도 이가의 라디칼이다.
- [0245] 일구현예에서, D에 있어서 X 라디칼은 에틸렌디아민으로부터 생성된 적어도 이가의 라디칼이다.
- [0246] 일구현예에서, D에 있어서 X 라디칼은 디에틸렌 글리콜 디아민 및 트리에틸렌 글리콜 디아민으로 이루어진 군에서 선택된 모노- 또는 폴리에틸렌 글리콜 디아민으로부터 생성된 적어도 이가의 라디칼이다.
- [0247] 일구현예에서, D에 있어서 Y 기는 소수성 알코올로부터 생성된 알킬기이다.
- [0248] 일구현예에서, D에 있어서 Y 기는 옥탄올(카프릴 알코올), 3,7-디메틸옥탄-1-올, 데칸올(데실 알코올), 도데칸올(라우릴 알코올), 테트라데칸올(미리스틸 알코올) 및 헥사데칸올(세틸 알코올)로 이루어진 군에서 선택된 소수성 알코올로부터 생성된 알킬기이다.
- [0249] 일구현예에서, D에 있어서 Y 기는 소수성 산으로부터 생성된 알킬기이다.
- [0250] 일구현예에서, D에 있어서 Y 기는 데칸산, 도데칸산, 테트라데칸산 및 헥사데칸산으로 이루어진 군에서 선택된 소수성 산으로부터 생성된 알킬기이다.
- [0251] 일구현예에서, D에 있어서 Y 기는 스테롤로부터 생성된 기이다.
- [0252] 일구현예에서, D에 있어서 Y 기는 콜레스테롤 및 그의 유도체로 이루어진 군에서 선택된 스테롤로부터 생성된 기이다.
- [0253] 일구현예에서, D에 있어서 Y 기는 토코페롤로부터 생성된 기이다.
- [0254] 일구현예에서, D에 있어서 Y 기는 α -토코페롤의 라세미체, L 이성질체 또는 D 이성질체 중에서 선택된 토코페롤 유도체로부터 생성된 기이다.
- [0255] 일구현예에서, D에 있어서 X 라디칼은 글리신으로부터 생성된 것이고, $p = 1$ 이고, Y 기는 옥탄올로부터 생성된 것이고, 관능기 I은 에스테르 관능기이다.
- [0256] 일구현예에서, D에 있어서 X 라디칼은 글리신으로부터 생성된 것이고, $p = 1$ 이고, Y 기는 도데칸올로부터 생성된 것이고, 관능기 I은 에스테르 관능기이다.
- [0257] 일구현예에서, D에 있어서 X 라디칼은 글리신으로부터 생성된 것이고, $p = 1$ 이고, Y 기는 헥사데칸올로부터 생성된 것이고, 관능기 I은 에스테르 관능기이다.
- [0258] 일구현예에서, D에 있어서 X 라디칼은 페닐알라닌으로부터 생성된 것이고, $p = 1$ 이고, Y 기는 옥탄올로부터 생성된 것이고, 관능기 I은 에스테르 관능기이다.
- [0259] 일구현예에서, D에 있어서 X 라디칼은 페닐알라닌으로부터 생성된 것이고, $p = 1$ 이고, Y 기는 3,7-디메틸옥탄-1-올로부터 생성된 것이고, 관능기 I은 에스테르 관능기이다.
- [0260] 일구현예에서, D에 있어서 X 라디칼은 아스파르트산으로부터 생성된 것이고, $p = 2$ 이고, Y 기는 옥탄올로부터 생성된 것이고, 관능기 I은 에스테르 관능기이다.
- [0261] 일구현예에서, D에 있어서 X 라디칼은 아스파르트산으로부터 생성된 것이고, $p = 2$ 이고, Y 기는 데칸올로부터 생성된 것이고, 관능기 I은 에스테르 관능기이다.
- [0262] 일구현예에서, D에 있어서 X 라디칼은 아스파르트산으로부터 생성된 것이고, $p = 2$ 이고, Y 기는 도데칸올로부터 생성된 것이고, 관능기 I은 에스테르 관능기이다.
- [0263] 일구현예에서, D에 있어서 X 라디칼은 에틸렌디아민으로부터 생성된 것이고, Y 기는 도데칸산로부터 생성된 것이고, 관능기 I은 아마이드 관능기이다.
- [0264] 일구현예에서, D에 있어서 X 라디칼은 디에틸렌 글리콜 아민으로부터 생성된 것이고, $p = 1$ 이고, Y 기는 도데칸산로부터 생성된 것이고, 관능기 I은 에스테르 관능기이다.
- [0265] 일구현예에서, D에 있어서 X 라디칼은 트리에틸렌 글리콜 디아민으로부터 생성된 것이고, $p = 1$ 이고, Y 기는

도데칸산로부터 생성된 것이고, 관능기 I 은 아마이드 관능기이다.

- [0266] 일구현예에서, D에 있어서 X 라디칼은 트리에틸렌 글리콜 디아민으로부터 생성된 것이고, $p = 1$ 이고, Y 기는 헥사데칸산으로부터 생성된 것이고, 관능기 I 은 아마이드 관능기이다.
- [0267] 일구현예에서, D에 있어서 X 라디칼은 류신으로부터 생성된 것이고, $p = 1$ 이고, Y 기는 콜레스테롤로부터 생성된 것이고, 관능기 I 은 에스테르 관능기이다.
- [0268] 일구현예에서, D에 있어서 X는 에틸렌디아민으로부터 생성된 것이고, $p = 1$ 이고, Y 기는 콜레스테롤로부터 생성된 것이고, 관능기 I 은 카바메이트 관능기이다.
- [0269] 일구현예에서, E 라디칼은 글리신, 류신, 페닐알라닌, 리신, 이소류신, 알라닌, 발린, 세린, 트레오닌, 아스파르트산 및 글루탐산으로 이루어진 군에서 선택된 아미노산으로부터 생성된 적어도 하나의 라디칼이다.
- [0270] 아미노산으로부터 생성된 라디칼은 좌선성이거나 또는 우선성일 수 있다.
- [0271] 일구현예에서, E 라디칼은 모노- 또는 폴리에틸렌 글리콜 아민으로부터 생성된 적어도 하나의 라디칼이다.
- [0272] 일구현예에서, E 라디칼은 에탄올아민, 디에틸렌 글리콜 아민 및 트리에틸렌 글리콜 아민으로 이루어진 군에서 선택된 모노- 또는 폴리에틸렌 글리콜 아민으로부터 생성된 적어도 하나의 라디칼이다.
- [0273] 일구현예에서, E 라디칼은 모노- 또는 폴리에틸렌 글리콜 디아민으로부터 생성된 적어도 하나의 라디칼이다.
- [0274] 일구현예에서, E 라디칼은 에틸렌디아민으로부터 생성된 적어도 하나의 라디칼이다.
- [0275] 일구현예에서, E 라디칼은 디에틸렌 글리콜 디아민 및 트리에틸렌 글리콜 디아민으로 이루어진 군에서 선택된 모노- 또는 폴리에틸렌 글리콜 디아민으로부터 생성된 적어도 하나의 라디칼이다.
- [0276] 일구현예에서, F 기는 소수성 알코올로부터 생성된 알킬기이다.
- [0277] 일구현예에서, F 기는 도데칸올(라우릴 알코올), 테트라데칸올(미리스틸 알코올) 및 헥사데칸올(세틸 알코올)로 이루어진 군에서 선택된 소수성 알코올로부터 생성된 기이다.
- [0278] 일구현예에서, F 기는 소수성 산으로부터 생성된 기이다.
- [0279] 일구현예에서, F 기는 도데칸산, 테트라데칸산 및 헥사데칸산으로 이루어진 군에서 선택된 소수성 산으로부터 생성된 기이다.
- [0280] 일구현예에서, F 기는 스테롤로부터 생성된 기이다.
- [0281] 일구현예에서, F 기는 콜레스테롤 및 그의 유도체로 이루어진 군에서 선택된 스테롤로부터 생성된 기이다.
- [0282] 일구현예에서, F 기는 토코페롤로부터 생성된 기이다.
- [0283] 일구현예에서, F 기는 α -토코페롤의 라세미체, L 이성질체 또는 D 이성질체 중에서 선택된 토코페롤 유도체로부터 생성된 기이다.
- [0284] 일구현예에서, E 라디칼은 에틸렌디아민으로부터 생성된 것이고, $t = 1$ 이고, o 는 카바메이트 관능기이고, F 기는 콜레스테롤로부터 생성된 것이다.
- [0285] 일구현예에서:
- [0286] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f 는 에테르 관능기이고;
- [0287] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g 는 에테르 관능기이고, B는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k 는 아마이드 관능기이고, D에 있어서 X는 글리신으로부터 생성된 것이고 I 은 에스테르 관능기이고 Y는 옥탄올로부터 생성된 것이고;
- [0288] ○ $q = 38$, $n = 0.9$ 및 $m = 0.2$ 이다.
- [0289] 일구현예에서:
- [0290] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f 는 에테르 관능기이고;
- [0291] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g 는 에테르 관능기이고, B는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k 는 아마이드 관능기이고, D에 있어서 X는 글리신으로부터 생성된 것이고 $p = 1$ 이고 I 은 에스테르 관능기이고 Y는 헥사데칸올로부터 생성된 것이다

고;

[0292] ○ $q = 19$, $n = 1.0$ 및 $m = 0.1$ 이다.

[0293] 일구현예에서:

[0294] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f는 에테르 관능기이고;

[0295] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g는 에테르 관능기이고, B는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k는 아미드 관능기이고, D에 있어서 X는 페닐알라닌으로부터 생성된 것이고 $p = 1$ 이고 l은 에스테르 관능기이고 Y는 옥탄올로부터 생성된 것이고;

[0296] ○ $q = 38$, $n = 1.0$ 및 $m = 0.1$ 이다.

[0297] 일구현예에서:

[0298] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f는 에테르 관능기이고;

[0299] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g는 에테르 관능기이고, B는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k는 아미드 관능기이고, D에 있어서 X는 페닐알라닌으로부터 생성된 것이고 $p = 1$ 이고 l은 에스테르 관능기이고 Y는 옥탄올로부터 생성된 것이고;

[0300] ○ $q = 19$, $n = 1.0$ 및 $m = 0.2$ 이다.

[0301] 일구현예에서:

[0302] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f는 에테르 관능기이고;

[0303] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g는 에테르 관능기이고, B는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k는 아미드 관능기이고, D에 있어서 X는 페닐알라닌으로부터 생성된 것이고 $p = 1$ 이고 l은 에스테르 관능기이고 Y는 3,7-디메틸옥탄-1-올로부터 생성된 것이고;

[0304] ○ $q = 38$, $n = 1.0$ 및 $m = 0.1$ 이다.

[0305] 일구현예에서:

[0306] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f는 에테르 관능기이고;

[0307] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g는 에테르 관능기이고, B는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k는 아미드 관능기이고, D에 있어서 X는 아스파르트산으로부터 생성된 것이고 $p = 2$ 이고 l은 에스테르 관능기이고 Y는 옥탄올로부터 생성된 것이고;

[0308] ○ $q = 38$, $n = 1.05$ 및 $m = 0.05$ 이다.

[0309] 일구현예에서:

[0310] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f는 에테르 관능기이고;

[0311] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g는 에테르 관능기이고, B는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k는 아미드 관능기이고, D에 있어서 X는 아스파르트산으로부터 생성된 것이고 $p = 2$ 이고 l은 에스테르 관능기이고 Y는 데칸올로부터 생성된 것이고;

[0312] ○ $q = 38$, $n = 1.05$ 및 $m = 0.05$ 이다.

[0313] 일구현예에서:

[0314] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f는 에테르 관능기이고;

[0315] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g는 에테르 관능기이고, B는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k는 아미드 관능기이고, D에 있어서 X는 아스파르트산으로부터 생성된 것이고 $p = 2$ 이고 l은 에스테르 관능기이고 Y는 도데칸올로부터 생성된 것이고;

- [0316] ○ $q = 19$, $n = 1.05$ 및 $m = 0.05$ 이다.
- [0317] 일구현예에서:
- [0318] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f 는 에테르 관능기이고;
- [0319] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g 는 에테르 관능기이고, B는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k 는 아마이드 관능기이고, D에 있어서 X는 에틸렌디아민으로부터 생성된 것이고 $p = 1$ 이고 l 은 아마이드 관능기이고 Y는 도데칸산으로부터 생성된 것이고;
- [0320] ○ $q = 38$, $n = 1.0$ 및 $m = 0.1$ 이다.
- [0321] 일구현예에서:
- [0322] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-CH_2-$ 라디칼이고, f 는 에스테르 관능기이고;
- [0323] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g 는 에스테르 관능기이고, B는 $-CH_2-CH_2-$ 라디칼이고, k 는 아마이드 관능기이고, D에 있어서 X는 글리신으로부터 생성된 것이고 $p = 1$ 이고 l 은 에스테르 관능기이고 Y는 도데칸올로부터 생성된 것이고;
- [0324] ○ $q = 38$, $n = 1.3$ 및 $m = 0.1$ 이다.
- [0325] 일구현예에서:
- [0326] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f 는 카바메이트 관능기이고;
- [0327] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g 는 카바메이트 관능기이고, B는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k 는 아마이드 관능기이고, D에 있어서 X는 아스파르트산으로부터 생성된 것이고 $p = 2$ 이고 l 은 에스테르 관능기이고 Y는 옥탄올로부터 생성된 것이고;
- [0328] ○ $q = 38$, $n = 1.3$ 및 $m = 0.1$ 이다.
- [0329] 일구현예에서:
- [0330] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f 는 에테르 관능기이고;
- [0331] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g 는 에테르 관능기이고, B는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k 는 아마이드 관능기이고, D에 있어서 X는 아스파르트산으로부터 생성된 것이고 $p = 2$ 이고 l 은 에스테르 관능기이고 Y는 도데칸올로부터 생성된 것이고;
- [0332] ○ $q = 4$, $n = 0.96$ 및 $m = 0.07$ 이다.
- [0333] 일구현예에서:
- [0334] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f 는 에테르 관능기이고;
- [0335] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g 는 에테르 관능기이고, B는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k 는 아마이드 관능기이고, D에 있어서 X는 디에틸렌 글리콜 아민으로부터 생성된 것이고 $p = 1$ 이고 l 은 에스테르 관능기이고 Y는 도데칸산으로부터 생성된 것이고;
- [0336] ○ $q = 38$, $n = 1.0$ 및 $m = 0.1$ 이다.
- [0337] 일구현예에서:
- [0338] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f 는 에테르 관능기이고;
- [0339] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g 는 에테르 관능기이고, B는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k 는 아마이드 관능기이고, D에 있어서 X는 트리에틸렌 글리콜 디아민으로부터 생성된 것이고 $p = 1$ 이고 l 은 아마이드 관능기이고 Y는 도데칸산으로부터 생성된 것이고;
- [0340] ○ $q = 38$, $n = 1.0$ 및 $m = 0.1$ 이다.

- [0341] 일구현예에서:
- [0342] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f는 에테르 관능기이고;
- [0343] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g는 에테르 관능기이고, B는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k는 아마이드 관능기이고, D에 있어서 X는 트리에틸렌 글리콜 디아민으로부터 생성된 것이고 $p = 1$ 이고 l은 아마이드 관능기이고 Y는 헥사데칸산으로부터 생성된 것이고;
- [0344] ○ $q = 38$, $n = 1.05$ 및 $m = 0.05$ 이다.
- [0345] 일구현예에서:
- [0346] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f는 에테르 관능기이고;
- [0347] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g는 에테르 관능기이고, B는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k는 아마이드 관능기이고, D에 있어서 X는 글리신으로부터 생성된 것이고 $p = 1$ 이고 l은 에스테르 관능기이고 Y는 헥사데칸올로부터 생성된 것이고;
- [0348] ○ $q = 19$, $n = 1.05$ 및 $m = 0.05$ 이다.
- [0349] 일구현예에서:
- [0350] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f는 에테르 관능기이고;
- [0351] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g는 에테르 관능기이고, B는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k는 아마이드 관능기이고, D에 있어서 X는 글리신으로부터 생성된 것이고 $p = 1$ 이고 l은 에스테르 관능기이고 Y는 헥사데칸올로부터 생성된 것이고;
- [0352] ○ $q = 38$, $n = 0.37$ 및 $m = 0.05$ 이다.
- [0353] 일구현예에서:
- [0354] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f는 에테르 관능기이고;
- [0355] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g는 에테르 관능기이고, B는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k는 아마이드 관능기이고, D에 있어서 X는 류신으로부터 생성된 것이고 $p = 1$ 이고 l은 에스테르 관능기이고 Y는 콜레스테롤로부터 생성된 것이고;
- [0356] ○ $q = 19$, $n = 1.61$ 및 $m = 0.04$ 이다.
- [0357] 일구현예에서:
- [0358] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f는 에테르 관능기이고;
- [0359] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g는 에테르 관능기이고, B는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k는 아마이드 관능기이고, D에 있어서 X는 류신으로부터 생성된 것이고 $p = 1$ 이고 l은 에스테르 관능기이고 Y는 콜레스테롤로부터 생성된 것이고;
- [0360] ○ $q = 19$, $n = 1.06$ 및 $m = 0.04$ 이다.
- [0361] 일구현예에서:
- [0362] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f는 에테르 관능기이고;
- [0363] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g는 에테르 관능기이고, B는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k는 아마이드 관능기이고, D에 있어서 X는 류신으로부터 생성된 것이고 $p = 1$ 이고 l은 에스테르 관능기이고 Y는 콜레스테롤로부터 생성된 것이고;
- [0364] ○ $q = 19$, $n = 0.66$ 및 $m = 0.04$ 이다.
- [0365] 일구현예에서:

- [0366] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f 는 에테르 관능기이고;
- [0367] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g 는 에테르 관능기이고, B는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k 는 아미드 관능기이고, D에 있어서 X는 류신으로부터 생성된 것이고 $p = 1$ 이고 l 은 에스테르 관능기이고 Y는 콜레스테롤로부터 생성된 것이고;
- [0368] ○ $q = 19$, $n = 0.46$ 및 $m = 0.04$ 이다.
- [0369] 일구현예에서:
- [0370] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f 는 에테르 관능기이고;
- [0371] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g 는 에테르 관능기이고, B는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k 는 아미드 관능기이고, D에 있어서 X는 류신으로부터 생성된 것이고 $p = 1$ 이고 l 은 에스테르 관능기이고 Y는 콜레스테롤로부터 생성된 것이고;
- [0372] ○ $q = 4$, $n = 1.61$ 및 $m = 0.05$ 이다.
- [0373] 일구현예에서:
- [0374] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f 는 에테르 관능기이고;
- [0375] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g 는 에테르 관능기이고, B는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k 는 아미드 관능기이고, D에 있어서 X는 에틸렌디아민으로부터 생성된 것이고 $p = 1$ 이고 l 은 카바메이트 관능기이고 Y는 콜레스테롤로부터 생성된 것이고;
- [0376] ○ $q = 19$, $n = 1.61$ 및 $m = 0.04$ 이다.
- [0377] 일구현예에서:
- [0378] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f 는 카바메이트 관능기이고;
- [0379] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g 는 카바메이트 관능기이고, B는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k 는 아미드 관능기이고, D에 있어서 X는 류신으로부터 생성된 것이고 $p = 1$ 이고 l 은 에스테르 관능기이고 Y는 콜레스테롤로부터 생성된 것이고;
- [0380] ○ $q = 19$, $n = 1.96$ 및 $m = 0.04$ 이다.
- [0381] 일구현예에서:
- [0382] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f 는 에테르 관능기이고;
- [0383] ○ $-(E)-(o-[F])_t$ 에서 E는 에틸렌디아민으로부터 생성된 것이고, o 는 카바메이트 관능기이고, F는 콜레스테롤로부터 생성된 것이고;
- [0384] ○ $q = 19$ 및 $n = 1.65$ 이다.
- [0385] 일구현예에서:
- [0386] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f 는 에테르 관능기이고;
- [0387] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g 는 에테르 관능기이고, B는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k 는 아미드 관능기이고, D에 있어서 X는 류신으로부터 생성된 것이고 $p = 1$ 이고 l 은 에스테르 관능기이고 Y는 콜레스테롤로부터 생성된 것이고;
- [0388] ○ $q = 38$, $n = 0.99$ 및 $m = 0.05$ 이다.
- [0389] 일구현예에서:
- [0390] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f 는 에테르 관능기이고;

- [0391] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g 는 에테르 관능기이고, B 는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k 는 아마이드 관능기이고, D 에 있어서 X 는 아스파르트산으로부터 생성된 것이고 $p = 2$ 이고 l 은 에스테르 관능기이고 Y 는 도데칸올로부터 생성된 것이고;
- [0392] ○ $q = 4$, $n = 1.41$ 및 $m = 0.16$ 이다.
- [0393] 일구현예에서:
- [0394] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A 는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f 는 에테르 관능기이고;
- [0395] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g 는 에테르 관능기이고, B 는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k 는 아마이드 관능기이고, D 에 있어서 X 는 아스파르트산으로부터 생성된 것이고 $p = 2$ 이고 l 은 에스테르 관능기이고 Y 는 도데칸올로부터 생성된 것이고;
- [0396] ○ $q = 4$, $n = 1.50$ 및 $m = 0.07$ 이다.
- [0397] 일구현예에서:
- [0398] ○ $-(f-[A]-COOH)_n$ 에서 A 는 $-CH_2-$ 라디칼이고, f 는 에테르 관능기이고;
- [0399] ○ $-(g-[B]-k-[D])_m$ 에서 g 는 에테르 관능기이고, B 는 $-CH_2-$ 라디칼이고, k 는 아마이드 관능기이고, D 에 있어서 X 는 아스파르트산으로부터 생성된 것이고 $p = 2$ 이고 l 은 에스테르 관능기이고 Y 는 데칸올로부터 생성된 것이고;
- [0400] ○ $q = 4$, $n = 1.05$ 및 $m = 0.05$ 이다.
- [0401] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 식 I, III 또는 IV의 하기 텍스트란으로 이루어진 군에서 선택된 텍스트란을 포함한다:
- [0402] - 옥틸 글리시네이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- [0403] - 세틸 글리시네이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- [0404] - 옥틸 페닐알라닌에이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- [0405] - 3,7-디메틸-1-옥틸 페닐알라닌에이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- [0406] - 디옥틸 아스파르테이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- [0407] - 디데실 아스파르테이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- [0408] - 디라우릴 아스파르테이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- [0409] - N-(2-아미노에틸)도데칸아미드로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- [0410] - 라우릴 글리시네이트로 개질된 소듐 텍스트란숙시네이트,
- [0411] - 디옥틸 아스파르테이트로 개질된 N-(소듐 메틸카복실레이트) 텍스트란 카바메이트,
- [0412] - 디라우릴 아스파르테이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- [0413] - 2-(2-아미노에톡시)에틸 도데카노에이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- [0414] - 2-(2-{2-[도데카노일아미노]에톡시}에톡시)에틸아민으로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- [0415] - 2-(2-{2-[헥사데카노일아미노]에톡시}에톡시)에틸아민으로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- [0416] - 콜레스테릴 류신에이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- [0417] - 콜레스테릴 1-에틸렌디아민카복실레이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트,
- [0418] - 콜레스테릴 류신에이트로 개질된 N-(소듐 메틸카복실레이트) 텍스트란 카바메이트.
- [0419] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 하기 식 II의 텍스트란으로 이루어진 군에서 선택된 텍스트란을 포함한다:

- [0420] - 환원 사슬 말단에 환원성 아민화(reductive amination)에 의해 그래프트된 콜레스테릴 1-에틸렌디아민카복실레이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트.
- [0421] 또한, 본 발명은 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 및 식전 인슐린을 포함하는 pH 6.6 내지 7.8의 단일-투여(single-dose) 제형에 관한 것이다.
- [0422] 또한, 본 발명은 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린 및 식전 인슐린을 포함하는 pH 7 내지 7.8의 단일-투여 제형에 관한 것이다.
- [0423] 일구현예에서, 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린은 인슐린 글라진이다.
- [0424] 일구현예에서, 식전 인슐린은 Humulin[®] (인간 인슐린) 및 Novolin[®] (인간 인슐린)으로 이루어진 군에서 선택된다.
- [0425] 일구현예에서, 식전 인슐린은 인슐린 리스프로(Humalog[®]), 인슐린 글루리신(Apidra[®]) 및 인슐린 아스파르트(NovoLog[®])로 이루어진 군에서 선택된다.
- [0426] 식 I, II, III 또는 IV의 폴리사카라이드에 의한 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린의 pH 6.6 내지 7.8에서의 용해는, 용액의 외관 변화를 통해 육안으로 단순한 방식에 의해 관찰되고 조절될 수 있다.
- [0427] 식 I, II, III 또는 IV의 폴리사카라이드에 의한 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린의 pH 7 내지 7.8에서의 용해는, 용액의 외관 변화를 통해 육안으로 단순한 방식에 의해 관찰되고 조절될 수 있다.
- [0428] 또한 중요하게는, 본 출원인의 회사는 식 I, II, III 또는 IV의 폴리사카라이드의 존재하에 용해된 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린은 그의 느린 인슐린 작용의 어떠한 것도 상실하지 않았다는 점을 확인해줄 수 있었다.
- [0429] 본 발명에 따른 조성물의 제조는, 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린의 수용액, 식전 인슐린의 용액, 및 수용액 또는 동결건조 형태의 식 I, II, III 또는 IV의 폴리사카라이드를 단순 혼합함으로써 수행할 수 있다는 이점을 나타낸다. 필요하다면, 제조의 pH는 pH 7로 조정된다.
- [0430] 본 발명에 따른 조성물의 제조는, 등전점이 5.8 내지 8.5인 기저 인슐린의 수용액, 수용액 또는 동결건조 형태의 식 I, II, III 또는 IV의 폴리사카라이드, 및 수용액 또는 동결건조 형태의 식전 인슐린을 단순 혼합함으로써 수행할 수 있다는 이점을 나타낸다.
- [0431] 일구현예에서, 기저 인슐린과 폴리사카라이드의 혼합물은 수용액 또는 동결건조 형태의 식전 인슐린과 혼합하기 전에 한외여과에 의해 농축된다.
- [0432] 필요한 경우, 혼합물의 조성물은 부형제, 예컨대 글리세롤, m-크레졸, 염화아연 및 tween에서 조정되며, 혼합물에 상기 부형제의 농축액을 첨가함으로써 조정된다. 필요하다면, 제조의 pH는 7로 조정된다.

도면의 간단한 설명

- [0433] 도 1 내지 6은 글루코스에 대해 약역학적 커브의 형태로 획득한 결과를 나타낸다. 세로축은 주사후 시간(분으로 표현됨)의 함수로서 D글루코스(mM으로 표현됨)를 나타낸다.
- 도 1: 본 발명에 따른 조성물 폴리사카라이드 4/Lantus[®]/Apidra[®] (75/25)(■)와 비교하여, Apidra[®] 및 Lantus[®]의 연속 투여(□)에 대한, 평균 + 평균의 표준편차 커브.
- 도 2: Apidra[®] Lantus[®] 개별 커브(6마리의 돼지에 대해 시험됨).
- 도 3: 폴리사카라이드 4/Apidra[®]/Lantus[®] 개별 커브(6마리의 돼지에 대해 시험됨).
- 도 4: 본 발명에 따른 조성물 폴리사카라이드 4/Humalog[®]/Lantus[®]의 투여(■)와 비교하여, Humalog[®] 및 Lantus[®]의 연속 투여(□)에 대한, 평균 + 평균의 표준편차 커브.
- 도 5: Humalog[®] Lantus[®] 개별 커브(6마리의 돼지에 대해 시험됨).

도 6: 폴리스카라이드 4/Humalog®/Lantus® 개별 커브(5마리의 돼지에 대해 시험됨).

도 7 내지 12는 글루코스에 대해 약역학적 커브의 형태로 획득한 결과를 나타낸다. 세로축은 주사후 시간(h로 표현됨)의 함수로서 D글루코스(mM으로 표현됨)를 나타낸다.

도 7: 실시예 B28에 개시된 본 발명에 따른 조성물(0.53 IU/kg)(—)과 비교하여, Humalog®(100 IU/ml, 0.13 IU/kg) 및 Lantus®(100 IU/ml, 0.4 IU/kg)의 연속 투여(·····)에 대한, 평균 + 평균의 표준편차 커브.

도 8: 실시예 B27에 개시된 본 발명에 따른 조성물(0.47 IU/kg)(—)과 비교하여, Humalog®(100 IU/ml, 0.13 IU/kg) 및 Lantus®(100 IU/ml, 0.4 IU/kg)(·····)의 연속 투여에 대한, 평균 + 평균의 표준편차 커브.

도 9: 실시예 B29에 개시된 본 발명에 따른 조성물(0.53 IU/kg)(—)과 비교하여, Humalog®(100 IU/ml, 0.13 IU/kg) 및 Lantus®(100 IU/ml, 0.4 IU/kg)의 연속 투여에 대한, 평균 + 평균의 표준편차 커브.

도 10: 실시예 B31에 개시된 본 발명에 따른 조성물(0.48 IU/kg)(—)과 비교하여, Humalog®(100 IU/ml, 0.13 IU/kg) 및 Lantus®(100 IU/ml, 0.4 IU/kg)의 연속 투여(·····)에 대한, 평균 + 평균의 표준편차 커브.

도 11: 실시예 B30에 개시된 본 발명에 따른 조성물(0.64 IU/kg)(—)과 비교하여, Humalog®(100 IU/ml, 0.24 IU/kg) 및 Lantus®(100 IU/ml, 0.4 IU/kg)의 연속 투여(·····)에 대한, 평균 + 평균의 표준편차 커브.

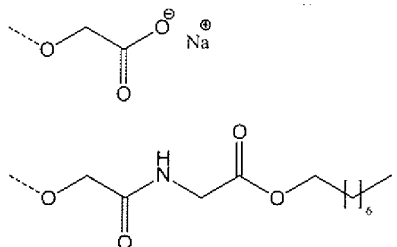
도 12: 실시예 B32에 개시된 본 발명에 따른 조성물(0.53 IU/kg)(—)과 비교하여, Humalog®(100 IU/ml, 0.13 IU/kg) 및 Lantus®(100 IU/ml, 0.4 IU/kg)의 연속 투여(·····)에 대한, 평균 + 평균의 표준편차 커브.

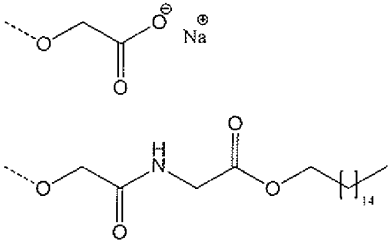
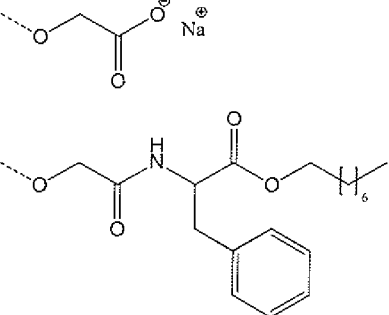
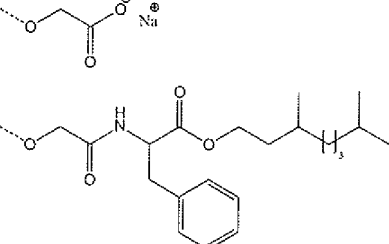
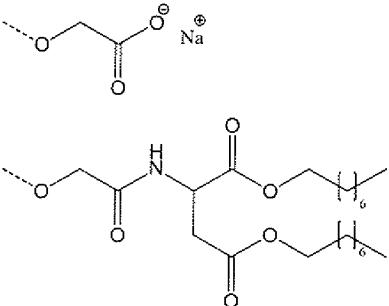
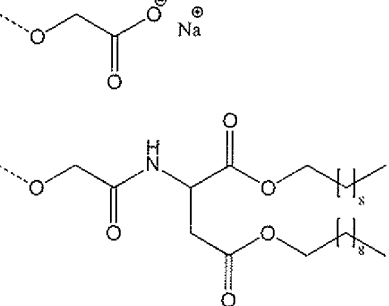
발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

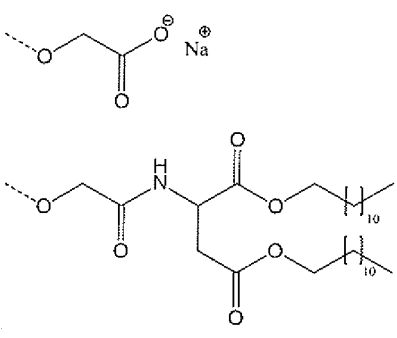
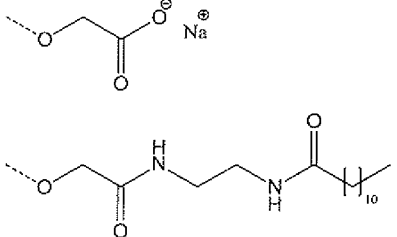
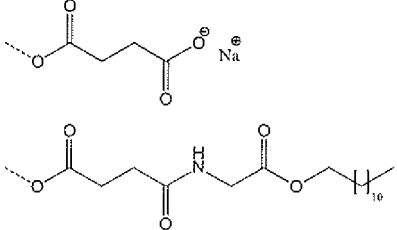
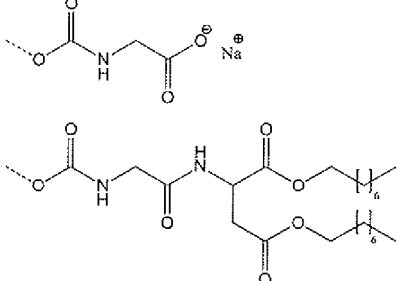
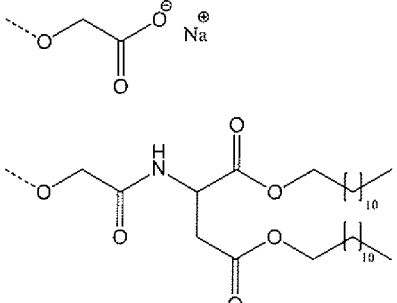
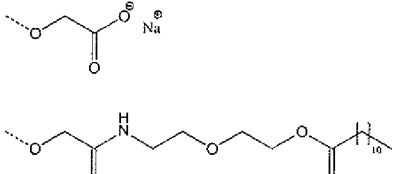
파트 A: 폴리스카라이드

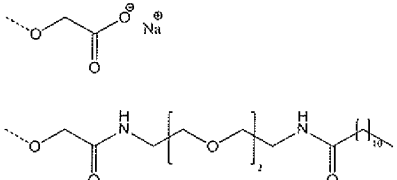
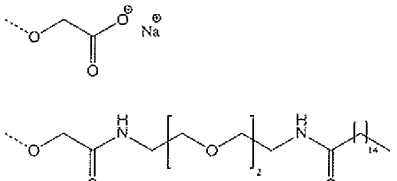

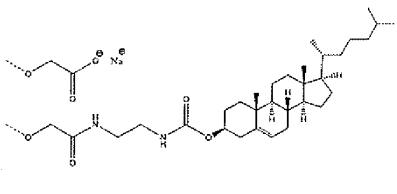
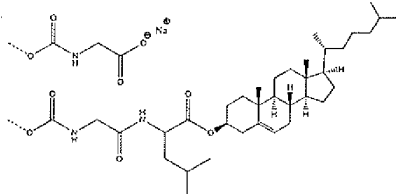
하기의 표 1은 본 발명에 따른 조성물에서 사용할 수 있는 폴리스카라이드의 예를 비제한적인 방식으로 나타낸다.

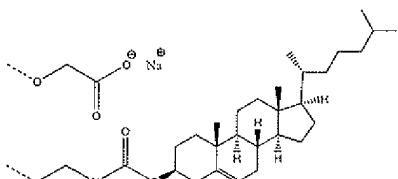
표 1

폴리스카라이드	치환제	일반명칭
폴리스카라이드 1 q: 38 n: 0.9 m: 0.2		옥틸 글리시네이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트

<p>폴리사카라이드 2 q: 19 n: 1.0 m: 0.1</p> <p>폴리사카라이드 16 q: 19 n: 1.05 m: 0.05</p> <p>폴리사카라이드 17 q: 38 n: 0.37 m: 0.05</p>		<p>세틸 글리시네이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트</p>
<p>폴리사카라이드 3 q: 38 n: 1.0 m: 0.1</p> <p>폴리사카라이드 4 q: 19 n: 1.0 m: 0.2</p>		<p>옥틸 페닐알라닌에이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트</p>
<p>폴리사카라이드 5 q: 38 n: 1.0 m: 0.1</p>		<p>3,7-디메틸-1-옥틸 페닐알라닌에이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트</p>
<p>폴리사카라이드 6 q: 38 n: 1.05 m: 0.05</p>		<p>디옥틸 아스파르테이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트</p>
<p>폴리사카라이드 7 q: 38 n: 1.05 m: 0.05</p> <p>폴리사카라이드 29 q: 4 n: 1.05 m: 0.05</p>		<p>디데실 아스파르테이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트</p>

<p>폴리사카라이드 8 q: 19 n: 1.05 m: 0.05</p> <p>폴리사카라이드 27 q: 4 n: 1.41 m: 0.16</p> <p>폴리사카라이드 28 q: 4 n: 1.50 m: 0.07</p>		<p>디라우릴 아스파르테이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트</p>
<p>폴리사카라이드 9 q: 38 n: 1.0 m: 0.1</p>		<p>N-(2-아미노에틸)도데칸아미드로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트</p>
<p>폴리사카라이드 10 q: 38 n: 1.3 m: 0.1</p>		<p>라우릴 글리시네이트로 개질된 소듐 텍스트란숙시네이트</p>
<p>폴리사카라이드 11 q: 38 n: 1.3 m: 0.1</p>		<p>디옥틸 아스파르테이트로 개질된 N-(소듐 메틸카복실레이트) 텍스트란 카바메이트</p>
<p>폴리사카라이드 12 q: 4 n: 0.96 m: 0.07</p>		<p>디라우릴 아스파르테이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트</p>
<p>폴리사카라이드 13 q: 38 n: 1.0 m: 0.1</p>		<p>2-(2-아미노에톡시)에틸 도데칸오에이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트</p>

<p>폴리사카라이드 14 q: 38 n: 1.0 m: 0.1</p>		<p>2-(2-{2-[도데카노일아미노]에톡시}에톡시)에틸아민으로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트</p>
<p>폴리사카라이드 15 q: 38 n: 1.05 m: 0.05</p>		<p>2-(2-{2-[헥사데카노일아미노]에톡시}에톡시)에틸아민으로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트</p>
<p>폴리사카라이드 18 q: 19 n: 1.61 m: 0.04 폴리사카라이드 19 q: 19 n: 1.06 m: 0.04 폴리사카라이드 20 q: 19 n: 0.66 m: 0.04 폴리사카라이드 21 q: 19 n: 0.46 m: 0.04 폴리사카라이드 22 q: 4 n: 1.61 m: 0.04 폴리사카라이드 26 q: 38 n: 0.99 m: 0.05</p>		<p>콜레스테릴 류신에이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트</p>
<p>폴리사카라이드 23 q: 19 n: 1.61 m: 0.04</p>		<p>콜레스테릴 1-에틸렌디아민카복실레이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트</p>
<p>폴리사카라이드 24 q: 19 n: 1.96 m: 0.04</p>		<p>콜레스테릴 류신에이트로 개질된 N-(소듐 메틸카복실레이트) 텍스트란카바메이트</p>

<p>폴리사카라이드 25 q: 19 n: 1.65</p>		<p>환원 사슬 말단에 환원성 아민화에 의해 그래프트된 콜레스테릴 1-에틸렌디아민카복실레이트로 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트</p>
--	---	--

- [0437] 실시예 A1: 폴리사카라이드 1의 제조
- [0438] 중량평균 물질량이 대략 10 kg/mol인 텍스트란(q = 38, Pharmacosmos) 16g(즉, 296mmol의 히드록실)이 420 g/l로 물에 용해된다. 30ml의 10N NaOH(296 mmol)가 상기 용액에 첨가된다. 상기 혼합물을 35℃로 만든 후, 46g(396mmol)의 소듐 클로로아세테이트가 첨가된다. 반응 혼합물의 온도를 0.5℃/min의 속도로 60℃로 만든 후, 100분 동안 60℃에서 유지된다. 반응 매질은 200ml의 물로 희석되고, 아세트산으로 중화되고, 6 부피의 물에 대해 5kDa PES 막을 통한 한외여과를 이용하여 정제된다. 최종 용액은 건조 추출에 의해 분석되어 폴리사카라이드의 농도가 결정되고, 이어서 50/50 (V/V) 물/아세톤에서 산/염기 적정에 의해 분석되어 글루코시드 단위당 메틸카복실레이트 단위의 평균 수가 결정된다.
- [0439] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드] = 31.5 mg/g.
- [0440] 산/염기 적정에 따르면: 글루코시드 단위당 메틸카복실레이트 단위의 평균 수는 1.1이다.
- [0441] 소듐 텍스트란메틸카복실레이트 용액을 Purolite 수지(음이온성)에 통과시켜 텍스트란메틸카복실산이 획득되고, 그 후 이것은 18시간 동안 동결건조된다.
- [0442] 옥틸 글리시네이트의 파라-톨루엔설폰산 염은 특허 US 4 826 818에 개시된 방법에 따라 획득된다.
- [0443] 10g의 텍스트란메틸카복실산(44.86mmol의 메틸카복실산)이 60g/l로 DMF에 용해되고, 이어서 0℃까지 냉각된다. 3.23g의 옥틸 글리시네이트의 파라-톨루엔설폰산 염(8.97mmol)이 100 g/l로 DMF에 현탁된다. 이어서, 0.91g의 트리에틸아민(8.97mmol)이 상기 현탁액에 첨가된다. 폴리사카라이드 용액이 0℃에 이르면, DMF 중 NMM(5.24g, 51.8mmol)의 용액(530g/l) 및 5.62g(51.8mmol)의 EtOCOC1이 이어서 첨가된다. 10분 동안 반응시킨 후에, 옥틸 글리시네이트 현탁액이 첨가된다. 이어서, 매질은 45분 동안 10℃에서 유지된다. 상기 매질은 그 후 30℃로 가열된다. 52ml의 물 및 이미다졸(17ml의 물 중 10.38g)의 용액이 상기 반응 매질에 첨가된다. 폴리사카라이드 용액은 15 부피의 0.9% NaCl 용액 및 5 부피의 물에 대해 10kDa PES 막을 통해 한외여과된다. 폴리사카라이드 용액의 농도는 건조 추출에 의해 결정된다. 용액의 분획이 동결건조되고, D₂O에서 ¹H NMR에 의해 분석되어, 글루코시드 단위당 옥틸 글리시네이트를 제공하는 메틸카복실레이트의 치환도가 결정된다.
- [0444] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 1] = 36.4 mg/g
- [0445] 산/염기 적정에 따르면: n = 0.9
- [0446] ¹H NMR에 따르면: m = 0.2.
- [0447] 실시예 A2: 폴리사카라이드 2의 제조
- [0448] 세틸 글리시네이트의 파라-톨루엔설폰산 염은 특허 US 4 826 818에 개시된 방법에 따라 획득된다.
- [0449] 중량평균 분자량이 대략 5 kg/mol인 텍스트란(q = 19, Pharmacosmos)을 사용하여 실시예 A1에 개시된 방법에 따라 합성되고 세틸 글리시네이트에 의해 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는, 실시예 A1에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0450] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 2] = 15.1 mg/g
- [0451] 산/염기 적정에 따르면: n = 1.05
- [0452] ¹H NMR에 따르면: m = 0.05.
- [0453] 실시예 A3: 폴리사카라이드 3의 제조
- [0454] 옥틸 페닐알라닌에이트의 파라-톨루엔설폰산 염은 특허 US 4 826 818에 개시된 방법에 따라 획득된다.

- [0455] 중량평균 분자량이 대략 10 kg/mol인 텍스트란($q = 38$, Pharmacosmos)을 사용하여 실시예 A1에 개시된 방법에 따라 합성되고 옥틸 페닐알라닌에이트에 의해 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는, 실시예 A1에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0456] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 3] = 27.4 mg/g
- [0457] 산/염기 적정에 따르면: $n = 1.0$
- [0458] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.1$.
- [0459] 실시예 A4: 폴리사카라이드 4의 제조
- [0460] 중량평균 분자량이 대략 5 kg/mol인 텍스트란($q = 19$, Pharmacosmos)을 사용하여 실시예 A1에 개시된 방법에 따라 합성되고 옥틸 페닐알라닌에이트에 의해 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는, 실시예 A3에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0461] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 4] = 21.8 mg/g
- [0462] 산/염기 적정에 따르면: $n = 1.0$
- [0463] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.2$.
- [0464] 실시예 A5: 폴리사카라이드 5의 제조
- [0465] 3,7-디메틸-1-옥틸 페닐알라닌에이트의 파라-톨루엔설폰산 염은 특허 US 4 826 818에 개시된 방법에 따라 획득된다.
- [0466] 중량평균 분자량이 대략 10 kg/mol인 텍스트란($q = 38$, Pharmacosmos)을 사용하여 실시예 A1에 개시된 방법에 따라 합성되고 3,7-디메틸-1-옥틸 페닐알라닌에이트에 의해 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는, 실시예 A1에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0467] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 5] = 24.3 mg/g
- [0468] 산/염기 적정에 따르면: $n = 1.0$
- [0469] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.1$.
- [0470] 실시예 A6: 폴리사카라이드 6의 제조
- [0471] 디옥틸 아스파르테이트의 파라-톨루엔설폰산 염은 특허 US 4 826 818에 개시된 방법에 따라 획득된다.
- [0472] 중량평균 분자량이 대략 10 kg/mol인 텍스트란($q = 38$, Pharmacosmos)을 사용하여 실시예 A1에 개시된 방법에 따라 합성되고 디옥틸 아스파르테이트에 의해 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는, 실시예 A1에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0473] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 6] = 22.2 mg/g
- [0474] 산/염기 적정에 따르면: $n = 1.05$
- [0475] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.05$.
- [0476] 실시예 A7: 폴리사카라이드 7의 제조
- [0477] 디데실 아스파르테이트의 파라-톨루엔설폰산 염은 특허 US 4 826 818에 개시된 방법에 따라 획득된다.
- [0478] 중량평균 분자량이 대략 10 kg/mol인 텍스트란($q = 38$, Pharmacosmos)을 사용하여 실시예 A1에 개시된 방법에 따라 합성되고 디데실 아스파르테이트에 의해 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는, 실시예 A1에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0479] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 7] = 19.8 mg/g
- [0480] 산/염기 적정에 따르면: $n = 1.05$
- [0481] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.05$.

- [0482] 실시예 A8: 폴리사카라이드 8의 제조
- [0483] 디라우릴 아스파르테이트의 파라-톨루엔설폰산 염은 특허 US 4 826 818에 개시된 방법에 따라 획득된다.
- [0484] 중량평균 분자량이 대략 5 kg/mol인 텍스트란($q = 19$, Pharmacosmos)을 사용하여 실시예 A1에 개시된 방법에 따라 합성되고 디라우릴 아스파르테이트에 의해 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는, 실시예 A1에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0485] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 8] = 22.8 mg/g
- [0486] 산/염기 적정에 따르면: $n = 1.05$
- [0487] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.05$.
- [0488] 실시예 A9: 폴리사카라이드 9의 제조
- [0489] N-(2-아미노에틸)도데칸아미드는 에틸렌디아민(Roth) 및 도데칸산(Sigma)의 메틸 에스테르로부터 특허 US 2 387 201에 개시된 방법에 따라 획득된다.
- [0490] 중량평균 분자량이 대략 10 kg/mol인 텍스트란($q = 38$, Pharmacosmos)을 사용하여 실시예 A1에 개시된 방법에 따라 합성되고 N-(2-아미노에틸)도데칸아미드에 의해 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는, 실시예 A1에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0491] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 9] = 23.8 mg/g
- [0492] 산/염기 적정에 따르면: $n = 1.0$
- [0493] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.1$.
- [0494] 실시예 A10: 폴리사카라이드 10의 제조
- [0495] 소듐 텍스트란숙시네이트는 Sanchez-Chaves 등의 1998년 논문(Manuel et al., 중합체, 1998, 39 (13), 2751-2757)에 개시된 방법에 따라 중량평균 물질량이 대략 10 kg/mol인 텍스트란($q = 38$, Pharmacosmos)으로부터 획득된다. $\text{D}_2\text{O}/\text{NaOD}$ 에서 ^1H NMR에 따르면, 글루코시드 단위당 숙시네이트기의 평균 수는 1.4이다.
- [0496] 라우릴 글리시네이트의 파라-톨루엔설폰산 염은 특허 US 4 826 818에 개시된 방법에 따라 획득된다.
- [0497] 라우릴 글리시네이트에 의해 개질된 소듐 텍스트란숙시네이트는 실시예 A1에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0498] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 10] = 16.1 mg/g
- [0499] 산/염기 적정에 따르면: $n = 1.3$
- [0500] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.1$.
- [0501] 실시예 A11: 폴리사카라이드 11의 제조
- [0502] 디옥틸 아스파르테이트의 파라-톨루엔설폰산 염은 특허 US 4 826 818에 개시된 방법에 따라 획득된다.
- [0503] 중량평균 물질량이 대략 10 kg/mol인 텍스트란($q = 38$, Pharmacosmos) 12g(즉, 0.22mol의 히드록실)이 DMF/DMSO 혼합물에 용해된다. 상기 혼합물을 교반하면서 80°C 로 만든다. 3.32g(0.03mol)의 1,4-디아자비스클로 [2.2.2]옥탄 및 이어서 14.35g(0.11mol)의 에틸 이소시아네이트아세테이트가 점진적으로 도입된다. 5시간 동안 반응시킨 후에, 매질은 물에서 희석되고, 0.1N NaOH, 0.9% NaCl 및 물에 대해 5kDa PES 막을 통한 한외여과를 이용하여 정제된다. 최종 용액은 건조 추출에 의해 분석되어 폴리사카라이드의 농도가 결정되고, 이어서 50/50 (V/V) 물/아세트론에서 산/염기 적정에 의해 분석되어 글루코시드 단위당 N-메틸카복실레이트 카바메이트 단위의 평균 수가 결정된다.
- [0504] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드] = 30.5 mg/g
- [0505] 산/염기 적정에 따르면: 글루코시드 단위당 N-메틸카복실레이트 카바메이트 단위의 평균 수는 1.4이다.
- [0506] 디옥틸 아스파르테이트에 의해 개질된 N-(소듐 메틸카복실레이트) 텍스트란 카바메이트는 실시예 A1에 개시된

것과 유사한 방법으로 획득된다.

- [0507] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 11] = 17.8 mg/g
- [0508] 산/염기 적정에 따르면: $n = 1.3$
- [0509] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.1$.
- [0510] 실시예 A12: 폴리사카라이드 12의 제조
- [0511] 디라우릴 아스파르테이트의 파라-톨루엔설폰산 염은 특허 US 4 826 818에 개시된 방법에 따라 획득된다.
- [0512] 중량평균 분자량이 대략 1 kg/mol인 텍스트란($q = 4$, Pharmacosmos)을 사용하여 실시예 A1에 개시된 방법에 따라 합성되고 디라우릴 아스파르테이트에 의해 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는, 실시예 A1에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0513] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 12] = 12.3 mg/g
- [0514] 산/염기 적정에 따르면: $n = 0.96$
- [0515] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.07$.
- [0516] 실시예 A13: 폴리사카라이드 13의 제조
- [0517] 2-(2-아미노에톡시)에틸 도데카노에이트의 파라-톨루엔설폰산 염은 특허 US 4 826 818에 개시된 방법에 따라 획득된다.
- [0518] 중량평균 분자량이 대략 10 kg/mol인 텍스트란($q = 38$, Pharmacosmos)을 사용하여 실시예 A1에 개시된 방법에 따라 합성되고 2-(2-아미노에톡시)에틸 도데카노에이트에 의해 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는, 실시예 A1에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0519] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 13] = 25.6 mg/g
- [0520] 산/염기 적정에 따르면: $n = 1.0$
- [0521] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.1$.
- [0522] 실시예 A14: 폴리사카라이드 14의 제조
- [0523] 2-(2-(2-[도데카노일아미노]에톡시)에톡시)에틸아민은 트리에틸렌 글리콜 디아민(Huntsman) 및 도데칸산(Sigma)의 메틸 에스테르로부터 특허 US 2 387 201에 개시된 방법에 따라 획득된다.
- [0524] 중량평균 분자량이 대략 10 kg/mol인 텍스트란($q = 38$, Pharmacosmos)을 사용하여 실시예 A1에 개시된 방법에 따라 합성되고 2-(2-(2-[도데카노일아미노]에톡시)에톡시)에틸아민에 의해 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는, 실시예 A1에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0525] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 14] = 24.9 mg/g
- [0526] 산/염기 적정에 따르면: $n = 1.0$
- [0527] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.1$.
- [0528] 실시예 A15: 폴리사카라이드 15의 제조
- [0529] 2-(2-(2-[헥사데카노일아미노]에톡시)에톡시)에틸아민은 트리에틸렌 글리콜 디아민(Huntsman) 및 팔미트산(Sigma)의 메틸 에스테르로부터 특허 US 2 387 201에 개시된 방법에 따라 획득된다.
- [0530] 중량평균 분자량이 대략 10 kg/mol인 텍스트란($q = 38$, Pharmacosmos)을 사용하여 실시예 A1에 개시된 방법에 따라 합성되고 2-(2-(2-[헥사데카노일아미노]에톡시)에톡시)에틸아민에 의해 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는, 실시예 A1에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0531] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 15] = 22.2 mg/g
- [0532] 산/염기 적정에 따르면: $n = 1.05$

- [0533] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.05$.
- [0534] 실시예 A16: 폴리사카라이드 16의 제조
- [0535] 세틸 글리시네이트의 파라-톨루엔설폰산 염은 특허 US 4 826 818에 개시된 방법에 따라 획득된다.
- [0536] 중량평균 분자량이 대략 5 kg/mol 인 텍스트란($q = 19$, Pharmacosmos)을 사용하여 실시예 A1에 개시된 방법에 따라 합성되고 세틸 글리시네이트에 의해 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는, 실시예 A1에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0537] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 16] = 23 mg/g
- [0538] 산/염기 적정에 따르면: $n = 1.05$
- [0539] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.05$.
- [0540] 실시예 A17: 폴리사카라이드 17의 제조
- [0541] 중량평균 물질량이 대략 10 kg/mol 인 텍스트란($q = 38$, Pharmacosmos) 10g (즉, 185mmol 의 히드록실)이 420 g/l 로 물에 용해된다. 19ml 의 $10\text{N NaOH}(185\text{mmol})$ 가 상기 용액에 첨가된다. 상기 혼합물을 35°C 로 만든 후, $8.6\text{g}(74\text{mmol})$ 의 소듐 클로로아세테이트가 첨가된다. 반응 혼합물의 온도를 0.5°C/min 의 속도로 60°C 로 만든 후, 100분 동안 60°C 에서 유지된다. 반응 매질은 200ml 의 물로 희석되고, 아세트산으로 중화되고, 6 부피의 물에 대해 5kDa PES 막을 통한 한외여과를 이용하여 정제된다. 최종 용액은 건조 추출에 의해 분석되어 폴리사카라이드의 농도가 결정되고, 이어서 $50/50 \text{ (V/V)}$ 물/아세톤에서 산/염기 적정에 의해 분석되어 글루코시드 단위당 메틸카복실레이트 단위의 평균 수가 결정된다.
- [0542] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드] = 35.1 mg/g
- [0543] 산/염기 적정에 따르면: 글루코시드 단위당 메틸카복실레이트 단위의 평균 수는 0.42 이다.
- [0544] 소듐 텍스트란메틸카복실레이트 용액을 Purolite 수지(음이온성)에 통과시켜 텍스트란메틸카복실산이 획득되고, 그 후 이것은 18시간 동안 동결건조된다.
- [0545] 세틸 글리시네이트의 파라-톨루엔설폰산 염은 특허 US 4 826 818에 개시된 방법에 따라 획득된다.
- [0546] 세틸 글리시네이트에 의해 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는 실시예 A1에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0547] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 17] = 18 mg/g
- [0548] 산/염기 적정에 따르면: $n = 0.37$
- [0549] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.05$.
- [0550] 실시예 A18: 폴리사카라이드 18의 제조
- [0551] 글루코시드 단위당 1.10 의 메틸카복실레이트로서 치환도를 특징으로 갖는 소듐 텍스트란메틸카복실레이트 10g 이 폴리사카라이드 1에 대해 개시된 것과 유사한 방법에 따라 중량평균 물질량이 5 kg/mol 인 텍스트란($q = 19$, Pharmacosmos)으로부터 합성되고, 이어서 동결건조된다.
- [0552] 글루코시드 단위당 1.05 의 메틸카복실레이트로서 치환도를 특징으로 갖는 소듐 텍스트란메틸카복실레이트 8g (즉, 64mmol 의 히드록실)이 1000g/l 로 물에 용해된다. 6ml 의 $10\text{N NaOH}(64\text{mmol})$ 가 첨가된다. 상기 혼합물은 35°C 로 가열되고, 7.6g 의 소듐 클로로아세테이트(65mmol)가 첨가된다. 상기 혼합물을 점진적으로 60°C 의 온도까지 만들고, 이 온도에서 추가 100분 동안 유지한다. 상기 혼합물은 물로 희석되고, 아세트산으로 중화되고, 이어서 물에 대해 5kDa PES 막을 통한 한외여과를 이용하여 정제된다. 최종 용액은 건조 추출에 의해 분석되어 폴리사카라이드의 농도가 결정되고, 이어서 $50/50 \text{ (V/V)}$ 물/아세톤에서 산/염기 적정에 의해 분석되어 글루코시드 단위당 메틸카복실레이트 단위의 평균 수가 결정된다.
- [0553] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드] = 45.8 mg/g
- [0554] 산/염기 적정에 따르면: 글루코시드 단위당 메틸카복실레이트 단위의 평균 수는 1.65 이다.

- [0555] 소듐 텍스트란메틸카복실레이트 용액을 Purolite 수지(음이온성)에 통과시켜 텍스트란메틸카복실산이 획득되고, 그 후 이것은 18시간 동안 동결건조된다.
- [0556] 콜레스테릴 류신에이트의 파라-톨루엔설폰산 염은 특허 US 4 826 818에 개시된 방법에 따라 획득된다.
- [0557] 콜레스테릴 류신에이트에 의해 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는 실시예 A1에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0558] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 18] = 21 mg/g
- [0559] 산/염기 적정에 따르면: $n = 1.61$
- [0560] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.04$.
- [0561] 실시예 A19: 폴리사카라이드 19의 제조
- [0562] 중량평균 분자량이 대략 5 kg/mol인 텍스트란($q = 19$, Pharmacosmos)을 사용하여 실시예 A1에 개시된 방법에 따라 합성되고 콜레스테릴 류신에이트에 의해 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는, 실시예 A1에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0563] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 19] = 19.4 mg/g
- [0564] 산/염기 적정에 따르면: $n = 1.06$
- [0565] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.04$.
- [0566] 실시예 A20: 폴리사카라이드 20의 제조
- [0567] 중량평균 물질량이 대략 5 kg/mol인 텍스트란($q = 19$, Pharmacosmos) 16g(즉, 296mmol의 히드록실)이 420 g/l로 물에 용해된다. 30ml의 10N NaOH(296mmol)가 상기 용액에 첨가된다. 상기 혼합물을 35°C로 만든 후, 26g(222mmol)의 소듐 클로로아세테이트가 첨가된다. 반응 매질의 온도를 점진적으로 60°C로 만든 후, 100분 동안 60°C에서 유지한다. 반응 매질은 물로 희석되고, 아세트산으로 중화되고, 물에 대해 5kDa PES 막을 통한 한 외여과를 이용하여 정제된다. 최종 용액은 건조 추출에 의해 분석되어 폴리사카라이드의 농도가 결정되고, 이어서 50/50 (V/V) 물/아세톤에서 산/염기 적정에 의해 분석되어 글루코시드 단위당 메틸카복실레이트 단위의 평균 수가 결정된다.
- [0568] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드] = 33.1 mg/g
- [0569] 산/염기 적정에 따르면: 글루코시드 단위당 메틸카복실레이트 단위의 평균 수는 0.70이다.
- [0570] 소듐 텍스트란메틸카복실레이트 용액을 Purolite 수지(음이온성)에 통과시켜 텍스트란메틸카복실산이 획득되고, 그 후 이것은 18시간 동안 동결건조된다.
- [0571] 콜레스테릴 류신에이트에 의해 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는 실시예 A1에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0572] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 20] = 18.9 mg/g
- [0573] 산/염기 적정에 따르면: $n = 0.66$
- [0574] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.04$.
- [0575] 실시예 A21: 폴리사카라이드 21의 제조
- [0576] 중량평균 물질량이 대략 5 kg/mol인 텍스트란($q = 19$, Pharmacosmos) 16g(즉, 296mmol의 히드록실)이 420 g/l로 물에 용해된다. 30ml의 10N NaOH(296mmol)가 상기 용액에 첨가된다. 상기 혼합물을 35°C로 만든 후, 18g(158mmol)의 소듐 클로로아세테이트가 첨가된다. 반응 매질의 온도를 점진적으로 60°C로 만든 후, 100분 동안 60°C에서 유지한다. 반응 매질은 물로 희석되고, 아세트산으로 중화되고, 물에 대해 1kDa PES 막을 통한 한 외여과를 이용하여 정제된다. 최종 용액은 건조 추출에 의해 분석되어 폴리사카라이드의 농도가 결정되고, 이어서 50/50 (V/V) 물/아세톤에서 산/염기 적정에 의해 분석되어 글루코시드 단위당 메틸카복실레이트 단위의 평균 수가 결정된다.

- [0577] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드] = 52.6 mg/g
- [0578] 산/염기 적정에 따르면: 글루코시드 단위당 메틸카복실레이트 단위의 평균 수는 0.50이다.
- [0579] 소듐 텍스트란메틸카복실레이트 용액을 Purolite 수지(음이온성)에 통과시켜 텍스트란메틸카복실산이 획득되고, 그 후 이것은 18시간 동안 동결건조된다.
- [0580] 콜레스테릴 류신에이트에 의해 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는 실시예 A1에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0581] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 21] = 18.9 mg/g
- [0582] 산/염기 적정에 따르면: $n = 0.46$
- [0583] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.04$.
- [0584] 실시예 A22: 폴리사카라이드 22의 제조
- [0585] 중량평균 분자량이 대략 1 kg/mol인 텍스트란($q = 4$, Pharmacosmos)을 사용하여 실시예 A18에 개시된 방법에 따라 합성되고 콜레스테릴 류신에이트에 의해 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는, 실시예 A18에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0586] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 22] = 20.2 mg/g
- [0587] 산/염기 적정에 따르면: $n = 1.61$
- [0588] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.04$.
- [0589] 실시예 A23: 폴리사카라이드 23의 제조
- [0590] 콜레스테릴 1-에틸렌디아민카복실레이트 염산염은 특허 Akiyoshi, K 등의 WO 2010/053140에 개시된 방법에 따라 획득된다.
- [0591] 중량평균 분자량이 대략 5 kg/mol인 텍스트란($q = 19$, Pharmacosmos)을 사용하여 실시예 A18에 개시된 방법에 따라 합성되고 콜레스테릴 1-에틸렌디아민카복실레이트에 의해 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는, 실시예 A18에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0592] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 23] = 20.1 mg/g
- [0593] 산/염기 적정에 따르면: $n = 1.61$
- [0594] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.04$.
- [0595] 실시예 A24: 폴리사카라이드 24의 제조
- [0596] 중량평균 물질량이 대략 5 kg/mol인 텍스트란($q = 19$, Pharmacosmos) 12g(즉, 0.22mol의 히드록실)이 DMF/DMSO 혼합물에 용해된다. 상기 혼합물을 교반하면서 80°C로 만든다. 3.32g(0.03mol)의 1,4-디아자비스클로[2.2.2]옥탄 및 이어서 26.8g(0.21mol)의 에틸 이소시아네이토아세테이트가 점진적으로 도입된다. 5시간 동안 반응시킨 후에, 매질은 물에서 희석되고, 0.1N NaOH, 0.9% NaCl 및 물에 대해 5kDa PES 막을 통한 한외여과를 이용하여 정제된다. 최종 용액은 건조 추출에 의해 분석되어 폴리사카라이드의 농도가 결정되고, 이어서 50/50 (V/V) 물/아세톤에서 산/염기 적정에 의해 분석되어 글루코시드 단위당 N-메틸카복실레이트 카바메이트 단위의 평균 수가 결정된다.
- [0597] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드] = 30.1 mg/g
- [0598] 산/염기 적정에 따르면: 글루코시드 단위당 N-메틸카복실레이트 카바메이트 단위의 평균 수는 2.0이다.
- [0599] 콜레스테릴 류신에이트에 의해 개질된 N-(소듐 메틸카복실레이트) 텍스트란 카바메이트는 실시예 A1에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0600] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 24] = 17.9 mg/g
- [0601] 산/염기 적정에 따르면: $n = 1.96$

- [0602] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.04$.
- [0603] 실시예 A25: 폴리사카라이드 25의 제조
- [0604] 콜레스테릴 1-에틸렌디아민카복실레이트 염산염(hydrochlorate)은 특허 Akiyoshi, K 등의 WO 2010/053140에 개시된 방법에 따라 획득된다.
- [0605] 중량평균 물질량이 대략 5 kg/mol인 텍스트란($q = 19$, Pharmacosmos, 3.2mmol의 사슬 말단) 10g이 80℃에서 DMSO에 용해된다. 4.8g의 콜레스테릴 1-에틸렌디아민카복실레이트 염산염(9.5 mmol), 0.96g의 트리에틸아민(9.5mmol) 및 2.0g의 소듐 시아노보로하이드리드(32mmol)가 반응 매질에 첨가되고, 이는 24시간 동안 80℃에서 교반된다. 냉각시킨 후, 혼합물은 디클로로메탄으로부터 침전되고, 이어서 아세톤으로부터 침전되고, 진공하에 건조된다. ^1H NMR에 따르면, 콜레스테릴 1-에틸렌디아민카복실레이트에 의해 사슬 말단에서 개질된 텍스트란이 획득된다. 글루코시드 단위당 1.65의 메틸카복실레이트로서 치환도를 특징으로 갖고 콜레스테릴 1-에틸렌디아민카복실레이트에 의해 사슬 말단에서 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는 콜레스테릴 1-에틸렌디아민카복실레이트에 의해 사슬 말단에서 개질된 텍스트란을 사용하여 실시예 A18에 개시된 것과 유사한 방법으로 합성되었다.
- [0606] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 25] = 13.7 mg/g
- [0607] 산/염기 적정에 따르면: $n = 1.65$
- [0608] ^1H NMR에 따르면: 각각의 중합체 사슬은 환원 사슬 말단에 그래프트된 콜레스테릴 1-에틸렌디아민카복실레이트기를 갖는다.
- [0609] 실시예 A26: 폴리사카라이드 26의 제조
- [0610] 콜레스테롤 류신에이트의 파라-톨루엔설폰산 염은 특허 US 4 826 818에 개시된 방법에 따라 획득된다.
- [0611] 중량평균 분자량이 대략 10 kg/mol인 텍스트란($q = 38$, Pharmacosmos)을 사용하여 실시예 A1에 개시된 방법에 따라 합성되고 콜레스테롤 류신에이트에 의해 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는, 실시예 A1에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0612] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 26] = 26.6 mg/g
- [0613] 산/염기 적정에 따르면: $n = 0.99$
- [0614] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.05$.
- [0615] 실시예 A27: 폴리사카라이드 27의 제조
- [0616] 디라우릴 아스파르테이트의 파라-톨루엔설폰산 염은 특허 US 4 826 818에 개시된 방법에 따라 획득된다.
- [0617] 중량평균 분자량이 대략 1 kg/mol인 텍스트란($q = 4$, Pharmacosmos)을 사용하여 실시예 A18에 개시된 방법에 따라 합성되고 디라우릴 아스파르테이트에 의해 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는, 실시예 A1에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0618] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 27] = 16.7 mg/g
- [0619] 산/염기 적정에 따르면: $n = 1.41$
- [0620] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.16$.
- [0621] 실시예 A28: 폴리사카라이드 28의 제조
- [0622] 디라우릴 아스파르테이트의 파라-톨루엔설폰산 염은 특허 US 4 826 818에 개시된 방법에 따라 획득된다.
- [0623] 중량평균 분자량이 대략 1 kg/mol인 텍스트란($q = 4$, Pharmacosmos)을 사용하여 실시예 A18에 개시된 방법에 따라 합성되고 디라우릴 아스파르테이트에 의해 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는, 실시예 A1에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0624] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 28] = 25 mg/g

- [0625] 산/염기 적정에 따르면: $n = 1.50$
- [0626] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.07$.
- [0627] 실시예 A29: 폴리사카라이드 29의 제조
- [0628] 디데실 아스파르테이트의 파라-톨루엔설폰산 염은 특허 US 4 826 818에 개시된 방법에 따라 획득된다.
- [0629] 중량평균 분자량이 대략 1 kg/mol 인 텍스트란($q = 4$, Pharmacosmos)을 사용하여 실시예 A1에 개시된 방법에 따라 합성되고 디데실 아스파르테이트에 의해 개질된 소듐 텍스트란메틸카복실레이트는, 실시예 A1에 개시된 것과 유사한 방법으로 획득된다.
- [0630] 건조 추출에 따르면: [폴리사카라이드 29] = 15 mg/g
- [0631] 산/염기 적정에 따르면: $n = 1.05$
- [0632] ^1H NMR에 따르면: $m = 0.05$.
- [0633] **Part B: 본 발명에 따른 조성물의 성질의 입증**
- [0634] 실시예 B1: 100 IU/ml 의 속효성 인슐린 유사체(NovoLog[®])의 용액
- [0635] 상기 용액은 미국에서는 제품명 NovoLog[®]로 유럽에서는 제품명 Novorapid[®]로 Novo Nordisk사에서 판매하는 인슐린 아스파르트의 상용(commercial) 용액이다. 이 제품은 속효성 인슐린 유사체이다.
- [0636] 실시예 B2: 100 IU/ml 의 속효성 인슐린 유사체(Humalog[®])의 용액
- [0637] 상기 용액은 제품명 Humalog[®]로 Eli Lilly사에서 판매하는 인슐린 리스프로의 상용 용액이다. 이 제품은 속효성 인슐린 유사체이다.
- [0638] 실시예 B3: 100 IU/ml 의 속효성 인슐린 유사체(Apidra[®])의 용액
- [0639] 상기 용액은 제품명 Apidra[®]로 Sanofi-Aventis사에서 판매하는 인슐린 글루리신의 상용 용액이다. 이 제품은 속효성 인슐린 유사체이다.
- [0640] 실시예 B4: 100 IU/ml 의 지효성 인슐린 유사체(Lantus[®])의 용액
- [0641] 상기 용액은 제품명 Lantus[®]로 Sanofi-Aventis사에서 판매하는 인슐린 글라진의 상용 용액이다. 이 제품은 지효성 인슐린 유사체이다.
- [0642] 실시예 B5: 100 IU/ml 의 인간 인슐린(ActRapid[®])의 용액
- [0643] 상기 용액은 제품명 Actrapid[®]로 Novo Nordisk사에서 판매하는 상용 용액이다. 이 제품은 인간 인슐린이다.
- [0644] 실시예 B6: 치환된 텍스트란을 사용하여 pH 7에서 100 IU/ml 에서 Lantus[®]의 용해
- [0645] 실시예 A4에 기재되어 있는 폴리사카라이드 4를 정확하게 20 mg 으로 칭량한다. 이 동결건조물은 상용 제형의 Lantus[®] 2ml 에 포함된다. 일시적인 침전이 나타나지만, 약 30분 후에 용액은 맑아진다. 이 용액의 pH는 6.3이다. 이 pH는 0.1N 수산화나트륨 용액에 의해 7로 조정된다. 상기 맑은(clear) 용액은 $0.22 \mu\text{m}$ 필터를 통해 여과되고, 그 후 $+4^\circ\text{C}$ 에 놓여진다.
- [0646] 실시예 B7: pH 7에서 치환된 텍스트란/Lantus[®]/Apidra[®] 75/25 조성물의 제조
- [0647] 0.25ml 의 Apidra[®](상용 제형)가 실시예 B6에서 제조된 폴리사카라이드 4/Lantus[®] 용액 0.75ml 에 첨가되어, pH 7에서 1ml 의 조성물이 형성된다. 이 조성물은 맑으며, 이는 상기 제형화 조건하에서 Lantus[®] 및 Apidra[®]의 양

호한 가용성을 입증한다. 상기 맑은 용액은 0.22 μm 필터를 통해 여과되고, 그 후 +4℃에 놓여진다.

[0648] 실시예 B8: pH 7에서 치환된 텍스트란/Lantus[®]/Humalog[®] 75/25 조성물의 제조

[0649] 0.25ml의 Humalog[®] (상용 제형)가 실시예 B6에서 제조된 폴리사카라이드 4/Lantus[®] 용액 0.75ml에 첨가되어, pH 7에서 1ml의 조성물이 형성된다. 이 조성물은 맑으며, 이는 상기 제형화 조건하에서 Lantus[®] 및 Humalog[®]의 양호한 가용성을 입증한다. 상기 맑은 용액은 0.22 μm 필터를 통해 여과되고, 그 후 +4℃에 놓여진다.

[0650] 실시예 B9: pH 7에서 치환된 텍스트란/Lantus[®]/NovoLog[®] 75/25 조성물의 제조

[0651] 0.25ml의 NovoLog[®] (상용 제형)가 실시예 B6에서 제조된 폴리사카라이드 4/Lantus[®] 용액 0.75ml에 첨가되어, pH 7에서 1ml의 조성물이 형성된다. 이 조성물은 맑으며, 이는 상기 제형화 조건하에서 Lantus[®] 및 NovoLog[®]의 양호한 가용성을 입증한다. 상기 맑은 용액은 0.22 μm 필터를 통해 여과되고, 그 후 +4℃에 놓여진다.

[0652] 실시예 B10: pH 7에서 치환된 텍스트란/Lantus[®]/ActRapid[®] 75/25 조성물의 제조

[0653] 0.25ml의 ActRapid[®] (상용 제형)가 실시예 B6에서 제조된 폴리사카라이드 4/Lantus[®] 용액 0.75ml에 첨가되어, pH 7에서 1ml의 조성물이 형성된다. 이 조성물은 맑으며, 이는 상기 제형화 조건하에서 Lantus[®] 및 ActRapid[®]의 양호한 가용성을 입증한다. 상기 맑은 용액은 0.22 μm 필터를 통해 여과되고, 그 후 +4℃에 놓여진다.

[0654] 실시예 B11: pH 7에서 치환된 텍스트란/Lantus[®]/Apidra[®] 60/40 조성물의 제조

[0655] 0.4ml의 Apidra[®] (상용 제형)가 실시예 B6에서 제조된 폴리사카라이드 4/Lantus[®] 용액 0.6ml에 첨가되어, pH 7에서 1ml의 조성물이 형성된다. 이 조성물은 맑으며, 이는 상기 제형화 조건하에서 Lantus[®] 및 Apidra[®]의 양호한 가용성을 입증한다. 상기 맑은 용액은 0.22 μm 필터를 통해 여과되고, 그 후 +4℃에 놓여진다.

[0656] 실시예 B12: pH 7에서 치환된 텍스트란/Lantus[®]/Apidra[®] 40/60 조성물의 제조

[0657] 0.6ml의 Apidra[®] (상용 제형)가 실시예 B6에서 제조된 폴리사카라이드 4/Lantus[®] 용액 0.4ml에 첨가되어, pH 7에서 1ml의 조성물이 형성된다. 이 조성물은 맑으며, 이는 상기 제형화 조건하에서 Lantus[®] 및 Apidra[®]의 양호한 가용성을 입증한다. 상기 맑은 용액은 0.22 μm 필터를 통해 여과되고, 그 후 +4℃에 놓여진다.

[0658] 실시예 B13: Lantus[®]의 침전

[0659] 1ml의 Lantus[®]가 20 mg/ml의 BSA(소혈청 알부민)를 함유하는 PBS 용액 2ml에 첨가된다. PBS/BSA 혼합물은 피하 매질의 조성을 모방한다. 침전이 발생하는데, 이는 Lantus[®]의 작동 메카니즘(pH의 증가에 기인하여 주사할 때 침전)에 잘 들어맞는다.

[0660] 4000 rev/min에서 원심분리가 수행되어, 상청액으로부터 침전물이 분리된다. 그 후, Lantus[®]는 상청액 중에서 분석된다. 그 결과는 Lantus[®]의 86%가 침전된 형태로 발견된다는 것을 보여준다.

[0661] 실시예 B14: 치환된 텍스트란/Lantus[®] 조성물의 침전

[0662] 실시예 B6에서 제조된 폴리사카라이드 4/Lantus[®] 용액 1ml가 20 mg/ml의 BSA(소혈청 알부민)를 함유하는 PBS 용액 2ml에 첨가된다. PBS/BSA 혼합물은 피하 매질의 조성을 모방한다. 침전이 발생한다.

[0663] 4000 rev/min에서 원심분리가 수행되어, 상청액으로부터 침전물이 분리된다. 그 후, Lantus[®]는 상청액 중에서 분석된다. 그 결과는 Lantus[®]의 85%가 침전된 형태로 발견된다는 것을 보여준다. 상기 Lantus[®]의 침전율은 실시예 B13에 개시된 대조군에서 얻은 것과 동일하다.

[0664] 실시예 B6 및 B14에 개시된 것과 동일한 용해 및 침전 테스트가 100 IU/ml의 Lantus[®]마다 10 mg/ml의 폴리사카라이드의 동일한 농도로 다른 치환된 텍스트란들을 이용하여 수행되었다. 동결건조 형태의 폴리사카라이드 20mg

이 정확하게 칭량된다. 이 동결건조물은 상용 제형의 Lantus[®] 2ml에 포함된다. 일시적인 침전이 나타나지만, (폴리사카라이드의 성질에 의존하여) 약 30분 내지 수시간 후에 용액은 맑아진다. 이 용액의 pH는 6.3이다. 이 pH는 0.1N 수산화나트륨 용액에 의해 7로 조정된다. 상기 맑은 용액은 0.22 µm 필터를 통해 여과되고, 그 후 +4 °C에 놓여진다. 그 결과를 표 2에 나타낸다.

표 2

[0665]

폴리사카라이드 번호	Lantus [®] 의 용해	Lantus [®] 의 침전	침전%
2	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	85
1	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
4	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	87
3	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
5	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	94
6	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
7	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
8	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
9	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	94
10	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
15	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
14	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
13	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
12	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
11	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
16	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
17	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
18	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
19	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
20	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
21	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
22	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
23	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
24	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
25	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
26	관찰됨(Yes)	관찰됨(Yes)	측정되지 않음

[0666]

실시에 B15: pH 7에서 치환된 텍스트란/Lantus[®]/Apidra[®] 75/25 조성물의 침전

[0667]

실시에 B7에서 제조된 1ml의 치환된 텍스트란/Lantus[®]/Apidra[®] 75/25 조성물(7.5 mg/ml의 폴리사카라이드, 75 IU/ml의 Lantus[®] 및 25 IU/ml의 Apidra[®]를 포함함)이 20 mg/ml의 BSA(소혈청 알부민)를 함유하는 PBS 용액 2ml에 첨가된다. PBS/BSA 혼합물은 피하 매질의 조성을 모방한다. 침전이 발생한다.

[0668]

4000 rev/min에서 원심분리가 수행되어, 상청액으로부터 침전물이 분리된다. 그 후, Lantus[®]는 상청액 중에서 분석된다. Lantus[®]의 침전율은 실시에 B13에 개시된 대조군에서 얻은 것과 유사하다.

[0669]

실시에 B16: 치환된 텍스트란의 성질을 변화시킨 다양한 조성물들의 침전

[0670]

실시에 B15와 동일한 조건하에서 다른 테스트들이 다른 치환된 텍스트란들의 존재하에 수행되었다.

[0671]

그 결과는 하기 표 3에 나타내며, Lantus[®]의 용해 및 침전이 유지된다는 점이 관찰된다.

표 3

[0672]

폴리사카라이드 번호	Lantus [®] /Apidra [®] 75/25의 용해	Lantus [®] 의 침전율
2	관찰됨(Yes)	85
1	관찰됨(Yes)	측정되지 않음

4	관찰됨(Yes)	87
3	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
5	관찰됨(Yes)	86
6	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
7	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
8	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
9	관찰됨(Yes)	86
10	관찰됨(Yes)	85
15	관찰됨(Yes)	87
14	관찰됨(Yes)	86
13	관찰됨(Yes)	88
12	관찰됨(Yes)	91
18	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
19	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
20	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
21	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
22	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
23	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
24	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
25	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
26	관찰됨(Yes)	측정되지 않음

[0673] 실시예 B17: 식전 인슐린의 성질을 변화시킨 다양한 조성물들의 침전

[0674] 실시예 B6에서 제조된 폴리사카라이드 4/Lantus[®] 용액 0.75ml를 0.25ml의 식전 인슐린과 혼합시킴으로써, 1ml의 치환된 텍스트란/Lantus[®]/식전 인슐린 조성물(7.5 mg/ml의 폴리사카라이드, 75 IU/ml의 Lantus[®] 및 25 IU/ml의 식전 인슐린을 포함함)이 제조된다. 이 조성물은 20 mg/ml의 BSA(소혈청 알부민)를 함유하는 PBS 용액 2ml에 첨가된다. PBS/BSA 혼합물은 피하 매질의 조성을 모방한다. 침전이 발생한다.

[0675] 4000 rev/min에서 원심분리가 수행되어, 상청액으로부터 침전물이 분리된다. 그 후, Lantus[®]는 상청액 중에서 분석된다. 테스트한 4개의 식전 인슐린의 존재하에서, Lantus[®]는 대략 90%까지 침전한다. 이와 같은 Lantus[®]의 침전율은 실시예 B13에 개시된 대조군에서 얻은 것과 유사하고, 그 결과는 표 4에 나타낸다.

표 4

식전 인슐린의 성질	Lantus [®] /식전 인슐린 75/25의 용해	Lantus [®] 의 침전율
Apidra [®]	관찰됨(Yes)	88
NovoLog [®]	관찰됨(Yes)	92
Humalog [®]	관찰됨(Yes)	89
ActRapid [®]	관찰됨(Yes)	90

[0677] 실시예 B18: 지효성 인슐린 유사체(글라진)의 농축액의 제조

[0678] 제품명 Lantus[®]로 Sanofi-Aventis사에서 판매하는 인슐린 글라진의 상용 용액이 재생 셀룰로스로 만들어진 3kDa 막(Millipore사에서 시판하는 Amicon[®] Ultra-15)을 통한 한외여과를 이용하여 농축된다. 이러한 한외여과 단계가 완료되면, 인슐린 글라진의 농도는 역상 액체 크로마토그래피(RP-HPLC)에 의해 투석유물(retentate)에서 분석된다. 그 후, 인슐린 글라진의 최종 농도는 상용 100 IU/ml 글라진 용액을 첨가하여 조정됨으로써, 원하는 최종 농도가 얻어진다. 이와 같은 방법에 의해, 100 IU/ml보다 높은 다양한 농도에서 C_{글라진}으로 표현되는 글라진의 농축액이 획득될 수 있다(예를 들어, C_{글라진} = 200, 250, 300 및 333 IU/ml). 상기 농축액은 0.22 µm 필터를 통해 여과된 후, +4℃에서 저장된다.

- [0679] 실시예 B19: 속효성 인슐린 유사체(리스프로)의 상용 용액의 투석
- [0680] 제품명 Humalog[®]로 Lilly사에서 판매하는 인슐린 리스프로의 상용 용액이 재생 셀룰로스로 만들어진 3kDa 막 (Millipore사에서 시판하는 Amicon[®] Ultra-15)을 통한 한외여과를 이용하여 투석된다. 상기 투석은 pH 7에서 1mM 포스페이트 완충액에서 수행된다. 이러한 투석 단계가 완료되면, 투석유물에서 리스프로의 농도 $C_{\text{투석된 Humalog}}$ 가 역상 액체 크로마토그래피(RP-HPLC)에 의해 결정된다. 투석된 용액은 -80℃에서 동결기 내에 저장된다.
- [0681] 실시예 B20: 상용 형태의 속효성 인슐린 유사체(리스프로) 용액의 동결건조
- [0682] 상용 형태의 농도 100 IU/ml인 속효성 인슐린 리스프로 용액의 부피 V_{Humalog} 가 오토클레이브에서 미리 멸균된 Lyoguard[®]에 위치된다. Lyoguard[®]는 온도 20℃ 및 압력 0.31 mbar에서 밤새 동결건조를 받기 전에 약 1시간 동안 -80℃에서 동결기 내에 놓여진다.
- [0683] 이에 따라 획득된 멸균 동결건조물은 주위온도에서 저장된다.
- [0684] 실시예 B21: 속효성 인슐린 유사체(리스프로)의 투석된 상용 용액의 동결건조
- [0685] $C_{\text{투석된 Humalog}}$ 의 농도로 실시예 B19에 따라 획득된 속효성 인슐린 리스프로 용액의 부피 $V_{\text{투석된 Humalog}}$ 가 오토클레이브에서 미리 멸균된 Lyoguard[®]에 위치된다. Lyoguard[®]는 온도 20℃ 및 압력 0.31 mbar에서 밤새 동결건조를 받기 전에 약 1시간 동안 -80℃에서 동결기 내에 놓여진다.
- [0686] 이에 따라 획득된 멸균 동결건조물은 주위온도에서 저장된다.
- [0687] 실시예 B22: 액체 형태(용액 중)의 글라진 및 고체 형태(동결건조된)의 폴리사카라이드를 사용한 방법에 따라, 치환된 텍스트란을 이용하여 pH 7에서 치환된 텍스트란/글라진 조성물의 제조
- [0688] 폴리사카라이드 18의 중량 $w_{\text{polys.}}$ 이 정확하게 칭량된다. 이 동결건조물은 실시예 B18에 따라 제조된 글라진의 농축액의 부피 $V_{\text{글라진}}$ 에 포함되어, 폴리사카라이드의 농도 $C_{\text{polys.}}(\text{mg/ml}) = w_{\text{polys.}}/V_{\text{글라진}}$ 및 글라진의 농도 $C_{\text{글라진}}$ (IU/ml)를 나타내는 조성물이 획득된다. 이 용액은 오팔색을 띤다. 이 용액의 pH는 대략 6.3이다. 이 pH는 농축 NaOH를 첨가하여 7로 조정되고, 그 후 용액은 약 1시간 동안 37℃에서 오븐 내에 정적 조건(static condition) 하에 놓여진다. 시각적으로 맑은 상기 용액의 부피 $V_{\text{polys.}}/V_{\text{글라진}}$ 가 +4℃에 놓여진다.
- [0689] 실시예 B23: 액체 형태(용액 중)의 글라진 및 액체 형태(용액 중)의 폴리사카라이드를 사용한 방법에 따라, 치환된 텍스트란을 이용하여 pH 7에서 치환된 텍스트란/글라진 조성물의 제조
- [0690] m-크레졸, 글리세롤 및 tween 20의 농축액이 농도 $C_{\text{polys. mother}}$ 를 나타내는 pH 7의 폴리사카라이드 20의 모액 (mother solution)에 첨가되어, 10ml 병에서 Lantus[®] 상용 용액에서 개시된 것과 등가의 함량으로 상기 부형제의 존재하에 농도 $C_{\text{polys. mother/부형제}}(\text{mg/ml})$ 를 갖는 폴리사카라이드 용액이 획득된다.
- [0691] 100 IU/ml의 농도로 제품명 Lantus[®]로 시판되는 지효성 인슐린 글라진의 상용 용액의 부피 V_{Lantus} 가 멸균 플라스크에서 농도 $C_{\text{polys. mother/부형제}}(\text{mg/ml})$ 로 폴리사카라이드 용액의 부피 $V_{\text{polys. mother/부형제}}$ 에 첨가된다. 혼탁한 외관이 나타난다. pH는 1M NaOH를 첨가하여 7로 조정되고, 그 후 용액은 약 1시간 동안 37℃에서 오븐 내에 정적 조건 하에 놓여진다. 시각적으로 맑은 상기 용액이 +4℃에 놓여진다.
- [0692] 실시예 B24: 희석 조성물의 농축 방법에 따라, 치환된 텍스트란을 이용하여 pH 7에서 농축 폴리사카라이드/글라진 조성물의 제조
- [0693] 실시예 B23에서 개시된 pH 7의 희석 폴리사카라이드 20/글라진 조성물은 재생 셀룰로스로 만들어진 3kDa 막 (Millipore사에서 시판하는 Amicon[®] Ultra-15)을 통한 한외여과를 이용하여 농축된다. 이러한 한외여과 단계가 완료되면, 투석유물은 맑으며, 조성물 중 인슐린 글라진의 농도가 역상 크로마토그래피(RP-HPLC)에 의해 분석된다. 그 후 필요한 경우, 조성물 중 인슐린 글라진의 농도는, (10ml 병에서) Lantus[®] 상용 용액에서 개시된 것과 등가의 농도를 (각 개체에 대해) 나타내는 m-크레졸/글리세롤/tween 20 부형제의 용액에서 희석시킴으로써, 원하는 값으로 조정된다. 글라진 농도 $C_{\text{글라진}}(\text{IU/ml})$ 및 폴리사카라이드 농도 $C_{\text{polys.}}(\text{mg/ml})$ 를 나타내는 pH 7의 상

기 용액은 시각적으로 맑으며, 이는 +4℃에 놓여진다.

- [0694] 실시예 B25: 상용 형태의 속효성 인슐린 리스프로에서 출발하여, pH 7에서 치환된 텍스트란/글라진/리스프로 조성물의 제조
- [0695] 실시예 B22에 따라 제조된 글라진 농도 $C_{\text{글라진}}$ (IU/ml) 및 폴리사카라이드 18 농도 $C_{\text{polys.}}$ (mg/ml)를 나타내는 pH 7의 폴리사카라이드/글라진 용액의 부피 $V_{\text{polysach./글라진}}$ 이, 비 $V_{\text{polysach./글라진}} / V_{\text{리스프로}} = 100 / C_{\text{리스프로}}$ 가 되도록, 부피 $V_{\text{리스프로}}$ 의 동결건조에 의해 획득한 인슐린 리스프로 동결건조물(이의 제조는 실시예 B19에 개시되어 있음)에 첨가된다. 여기서, $C_{\text{리스프로}}$ 는 조성물에서 표적으로 하는 리스프로의 농도(IU/ml)이다. 상기 용액은 맑다. 제형의 아연 함량은 농축 염화아연 용액을 첨가함으로써 원하는 농도 $C_{\text{아연}}$ (μM)로 조정된다. 최종 pH는 농축 NaOH 또는 HCl의 첨가에 의해 7로 조정된다.
- [0696] 제형은 맑으며, 이는 상기 제형화 조건하에서 글라진 및 리스프로의 양호한 가용성을 입증한다. 상기 용액은 0.22 μm 필터를 통해 여과되고, 그 후 +4℃에 놓여진다.
- [0697] 실시예 B26: 상용 용액의 투석에 의해 획득한 속효성 인슐린 리스프로에서 출발하여, pH 7에서 치환된 텍스트란/글라진/리스프로 조성물의 제조
- [0698] 실시예 B24에 따라 제조된 글라진 농도 $C_{\text{글라진}}$ (IU/ml) 및 폴리사카라이드 20 농도 $C_{\text{polys.}}$ (mg/ml)를 나타내는 pH 7의 폴리사카라이드/글라진 용액의 부피 $V_{\text{polysach./글라진}}$ 이, 비 $V_{\text{polysach./글라진}} / V_{\text{투석된 Humalog}} = C_{\text{투석된 Humalog}} / C_{\text{리스프로}}$ 가 되도록, 부피 $V_{\text{투석된 Humalog}}$ 의 동결건조에 의해 획득한 인슐린 리스프로 동결건조물(이의 제조는 실시예 B21에 개시되어 있음)에 첨가된다. 여기서, $C_{\text{투석된 Humalog}}$ 는 상용 용액의 투석(이 단계는 실시예 B19에 개시되어 있음)의 결과 획득한 리스프로의 농도(IU/ml)이고, $C_{\text{리스프로}}$ 는 조성물에서 표적으로 하는 리스프로의 농도(IU/ml)이다. 상기 용액은 맑다. 제형의 아연 함량은 농축 염화아연 용액을 첨가함으로써 원하는 농도 $C_{\text{아연}}$ (μM)로 조정된다. 최종 pH는 농축 NaOH 또는 HCl의 첨가에 의해 7로 조정된다. 제형은 맑으며, 이는 상기 제형화 조건하에서 글라진 및 리스프로의 양호한 가용성을 입증한다. 상기 용액은 0.22 μm 필터를 통해 여과되고, 그 후 +4℃에 놓여진다.
- [0699] 실시예 B27: 글라진 농도 200 IU/ml 및 리스프로 농도 33 IU/ml를 나타내는 pH 7의 치환된 텍스트란/글라진/리스프로 조성물의 제조(인슐린의 퍼센트 비율: 글라진/리스프로 85/15)
- [0700] 농축 200 IU/ml 글라진 용액이 실시예 B18에 따라 제조된다. 폴리사카라이드 18(13mg/ml)/글라진 300 IU/ml 조성물 pH 7이 실시예 B22에 개시된 제조방법에 따라 폴리사카라이드 18로부터 제조된다. 상기 폴리사카라이드 18/글라진 200 IU/ml 조성물이, 실시예 B25에 개시된 제조방법에 따라, 상용 형태의 속효성 유사체 용액의 동결건조에 의해 획득한 인슐린 리스프로 동결건조물에 첨가된다. 상기 용액은 맑다. 제형의 아연 함량은 농축 염화아연 용액을 첨가함으로써 농도 $C_{\text{아연}}$ (μM) = 750 μM 으로 조정된다. 최종 pH는 농축 NaOH 또는 HCl의 첨가에 의해 7로 조정된다.
- [0701] 이 조성물은 표 5에 기재된다.
- [0702] 실시예 B28: 글라진 농도 200 IU/ml 및 리스프로 농도 66 IU/ml를 나타내는 pH 7의 치환된 텍스트란/글라진/리스프로 조성물의 제조(인슐린의 퍼센트 비율: 글라진/리스프로 75/25)
- [0703] 농축 200 IU/ml 글라진 용액이 실시예 B18에 따라 제조된다. 폴리사카라이드 18(13mg/ml)/글라진 300 IU/ml 조성물 pH 7이 실시예 B22에 개시된 제조방법에 따라 폴리사카라이드 18로부터 제조된다. 상기 폴리사카라이드 18/글라진 200 IU/ml 조성물이, 실시예 B25에 개시된 제조방법에 따라, 상용 형태의 속효성 유사체 용액의 동결건조에 의해 획득한 인슐린 리스프로 동결건조물에 첨가된다. 상기 용액은 맑다. 제형의 아연 함량은 농축 염화아연 용액을 첨가함으로써 농도 $C_{\text{아연}}$ (μM) = 1500 μM 으로 조정된다. 최종 pH는 농축 NaOH 또는 HCl의 첨가에 의해 7로 조정된다.
- [0704] 제형은 맑으며, 이는 상기 제형화 조건하에서 글라진 및 리스프로의 양호한 가용성을 입증한다. 상기 용액은 0.22 μm 필터를 통해 여과되고, 그 후 +4℃에 놓여진다.
- [0705] 이 조성물은 표 5에 기재된다.

- [0706] 실시예 B29: 글라진 농도 300 IU/ml 및 리스프로 농도 100 IU/ml를 나타내는 pH 7의 치환된 텍스트란/글라진/리스프로 조성물의 제조(인슐린의 퍼센트 비율: 글라진/리스프로 75/25)
- [0707] 농축 300 IU/ml 글라진 용액이 실시예 B18에 따라 제조된다. 폴리사카라이드 18(23mg/ml)/글라진 300 IU/ml 조성물 pH 7이 실시예 B22에 개시된 제조방법에 따라 폴리사카라이드 18로부터 제조된다. 상기 폴리사카라이드 18/글라진 300 IU/ml 조성물이, 실시예 B25에 개시된 제조방법에 따라, 상용 형태의 속효성 유사체 용액의 동결건조에 의해 획득한 인슐린 리스프로 동결건조물에 첨가된다. 상기 용액은 맑다. 제형의 아연 함량은 농축 염화아연 용액을 첨가함으로써 농도 $C_{\text{아연}}(\mu\text{M}) = 2000 \mu\text{M}$ 으로 조정된다. 최종 pH는 농축 NaOH 또는 HCl의 첨가에 의해 7로 조정된다.
- [0708] 제형은 맑으며, 이는 상기 제형화 조건하에서 글라진 및 리스프로의 양호한 가용성을 입증한다. 상기 용액은 0.22 μm 필터를 통해 여과되고, 그 후 +4℃에 놓여진다.
- [0709] 이 조성물은 표 5에 기재된다.
- [0710] 실시예 B30: 글라진 농도 250 IU/ml 및 리스프로 농도 150 IU/ml를 나타내는 pH 7의 치환된 텍스트란/글라진/리스프로 조성물의 제조(인슐린의 퍼센트 비율: 글라진/리스프로 63/37)
- [0711] 농축 300 IU/ml 글라진 용액이 실시예 B18에 따라 제조된다. 폴리사카라이드 18(19mg/ml)/글라진 300 IU/ml 조성물 pH 7이 실시예 B22에 개시된 제조방법에 따라 폴리사카라이드 18로부터 제조된다. 상기 폴리사카라이드 18/글라진 250 IU/ml 조성물이, 실시예 B25에 개시된 제조방법에 따라, 상용 형태의 속효성 유사체 용액의 동결건조에 의해 획득한 인슐린 리스프로 동결건조물에 첨가된다. 상기 용액은 맑다. 제형의 아연 함량은 농축 염화아연 용액을 첨가함으로써 농도 $C_{\text{아연}}(\mu\text{M}) = 1500 \mu\text{M}$ 으로 조정된다. 최종 pH는 농축 NaOH 또는 HCl의 첨가에 의해 7로 조정된다.
- [0712] 제형은 맑으며, 이는 상기 제형화 조건하에서 글라진 및 리스프로의 양호한 가용성을 입증한다. 상기 용액은 0.22 μm 필터를 통해 여과되고, 그 후 +4℃에 놓여진다.
- [0713] 이 조성물은 표 5에 기재된다.
- [0714] 실시예 B31: 글라진 농도 333 IU/ml 및 리스프로 농도 67 IU/ml를 나타내는 pH 7의 치환된 텍스트란/글라진/리스프로 조성물의 제조(인슐린의 퍼센트 비율: 글라진/리스프로 83/17)
- [0715] 농축 333 IU/ml 글라진 용액이 실시예 B18에 따라 제조된다. 폴리사카라이드 18(20mg/ml)/글라진 300 IU/ml 조성물 pH 7이 실시예 B22에 개시된 제조방법에 따라 폴리사카라이드 18로부터 제조된다. 상기 폴리사카라이드 18/글라진 333 IU/ml 조성물이, 실시예 B25에 개시된 제조방법에 따라, 상용 형태의 속효성 유사체 용액의 동결건조에 의해 획득한 인슐린 리스프로 동결건조물에 첨가된다. 상기 용액은 맑다. 제형의 아연 함량은 농축 염화아연 용액을 첨가함으로써 농도 $C_{\text{아연}}(\mu\text{M}) = 2000 \mu\text{M}$ 으로 조정된다. 최종 pH는 농축 NaOH 또는 HCl의 첨가에 의해 7로 조정된다.
- [0716] 제형은 맑으며, 이는 상기 제형화 조건하에서 글라진 및 리스프로의 양호한 가용성을 입증한다. 상기 용액은 0.22 μm 필터를 통해 여과되고, 그 후 +4℃에 놓여진다.
- [0717] 이 조성물은 표 5에 기재된다.
- [0718] 실시예 B32: 글라진 농도 300 IU/ml 및 리스프로 농도 100 IU/ml를 나타내는 pH 7의 치환된 텍스트란/글라진/리스프로 조성물의 제조(인슐린의 퍼센트 비율: 글라진/리스프로 75/25)
- [0719] 농축 300 IU/ml 글라진 용액이 실시예 B18에 따라 제조된다. 폴리사카라이드 19(23mg/ml)/글라진 300 IU/ml 조성물 pH 7이 실시예 B22에 개시된 제조방법에 따라 폴리사카라이드 19로부터 제조된다. 상기 폴리사카라이드 19/글라진 300 IU/ml 조성물이, 실시예 B26에 개시된 제조방법에 따라, 투석된 형태의 속효성 유사체 용액의 동결건조에 의해 획득한 인슐린 리스프로 동결건조물에 첨가된다. 상기 용액은 맑다. 제형의 아연 함량은 농축 염화아연 용액을 첨가함으로써 농도 $C_{\text{아연}}(\mu\text{M}) = 3000 \mu\text{M}$ 으로 조정된다. 최종 pH는 농축 NaOH 또는 HCl의 첨가에 의해 7로 조정된다.
- [0720] 제형은 맑으며, 이는 상기 제형화 조건하에서 글라진 및 리스프로의 양호한 가용성을 입증한다. 상기 용액은 0.22 μm 필터를 통해 여과되고, 그 후 +4℃에 놓여진다.

[0721] 이 조성물은 표 5에 기재된다.

[0722] 실시예 B33: 글라진 농도 300 IU/ml 및 리스프로 농도 100 IU/ml를 나타내는 pH 7의 치환된 텍스트란/글라진/리스프로 조성물의 제조(인슐린의 퍼센트 비율: 글라진/리스프로 75/25)

[0723] 폴리사카라이드 20(23mg/ml)/글라진 300 IU/ml 조성물 pH 7이 실시예 B23에 개시된 제조방법에 따라 폴리사카라이드 20으로부터 제조된다. 상기 폴리사카라이드 20/글라진 300 IU/ml 조성물이, 실시예 B26에 개시된 제조방법에 따라, 상용 용액의 투석으로부터 생성된 속효성 유사체 용액의 동결건조에 의해 획득한 인슐린 리스프로 동결건조물에 첨가된다. 상기 용액은 맑다. 제형의 아연 함량은 농축 염화아연 용액을 첨가함으로써 농도 $C_{아연}(\mu M) = 1500 \mu M$ 으로 조정된다. 최종 pH는 농축 NaOH 또는 HCl의 첨가에 의해 7로 조정된다.

[0724] 제형은 맑으며, 이는 상기 제형화 조건하에서 글라진 및 리스프로의 양호한 가용성을 입증한다. 상기 용액은 0.22 μm 필터를 통해 여과되고, 그 후 +4°C에 놓여진다.

[0725] 이 조성물은 표 5에 기재된다.

표 5

[0726] pH 7의 치환된 텍스트란/글라진/리스프로 조성물

실시예 번호	폴리사카라이드 번호	$C_{polysach.}$ (mg/ml)	$C_{글라진}$ (IU/ml)	$C_{리스프로}$ (IU/ml)	$C_{글라진}/C_{리스프로}$ (%/%)	pH
B27	18	13	200	33	85/15	7
B28	18	13	200	66	75/25	7
B29	18	23	300	100	75/25	7
B30	18	19	250	150	63/37	7
B31	18	20	333	67	83/17	7
B32	19	23	300	100	75/25	7
B33	20	23	300	100	75/25	7

[0727] 실시예 B34: 인슐린 글라진 및 인슐린 리스프로의 다른 농도와 상기 2개 인슐린의 다른 상대비를 나타내는 pH 7의 다양한 치환된 텍스트란/글라진/리스프로 조성물들의 침전

[0728] 실시예 B27 내지 B33에서 제조된 치환된 텍스트란/Lantus®/Humalog® 조성물 1ml가 20 mg/ml의 BSA(소혈청 알부민)를 함유하는 PBS 용액 2ml에 첨가된다. PBS/BSA 혼합물은 피하 매질의 조성을 모방한다. 침전이 발생한다.

[0729] 4000 rev/min에서 원심분리가 수행되어, 상청액으로부터 침전물이 분리된다. 그 후, Lantus®는 상청액 중에서 분석된다. Lantus®의 침전율은 실시예 B13에 개시된 대조군에서 얻은 것과 유사하다. 그 결과는 표 6에 요약된다.

표 6

[0730]

실시예 번호	폴리사카라이드 번호	$C_{polysach.}$ (mg/ml)	$C_{글라진}$ (IU/ml)	$C_{리스프로}$ (IU/ml)	$C_{글라진}/C_{리스프로}$ (%/%)	pH 7에서 글라진 및 리스프로의 용해	글라진의 침전	침전%
B27	18	13	200	33	85/15	관찰됨 (Yes)	관찰됨 (Yes)	96
B28	18	13	200	66	75/25	관찰됨 (Yes)	관찰됨 (Yes)	86
B29	18	23	300	100	75/25	관찰됨 (Yes)	관찰됨 (Yes)	91
B30	18	19	250	150	63/37	관찰됨 (Yes)	관찰됨 (Yes)	90
B31	18	20	333	67	83/17	관찰됨 (Yes)	관찰됨 (Yes)	93

B32	19	23	300	100	75/25	관찰됨 (Yes)	관찰됨 (Yes)	98
B33	20	23	300	100	75/25	관찰됨 (Yes)	관찰됨 (Yes)	측정되지 않 음

[0731] 실시예 B35: 조성물의 화학적 안정성

[0732] 실시예 B7, B27, B28 및 B29에 개시된 치환된 텍스트란/Lantus®/식전 인슐린 조성물과 이에 상응하는 대조군이 4주 동안 30℃에 놓여진다. 규정은 30℃에서 4주 후에 95%의 본래(분해되지 않은) 인슐린을 필요로 한다.

[0733] 4주 후에, 시험된 제형들은 상기 규정에서 정의된 특이사항들을 충족시킨다. 그 결과는 표 7에 나타난다.

표 7

조성물	30℃에서 4주 후에 본래 글라진의 퍼센트	30℃에서 4주 후에 본래 식전 인슐린의 퍼센트
Lantus®(상용 제형)	97	na
Apidra®(상용 제형)	na	95
Humalog®(상용 제형)	na	98
B7	96	98
B27	97	99
B28	95	97
B29	98	100

[0735] 따라서, 시험된 제형이 무엇이든간에, 본래 인슐린의 퍼센트는 95%보다 더 높게 얻어지며, 이는 규정 요구사항을 충족시킨다.

[0736] 실시예 B36: 용액의 주사가능성

[0737] 제조된 모든 조성물들은 인슐린을 주사하기 위한 일반 시스템으로 주사될 수 있다. 실시예 B7 내지 B12에 개시된 용액들과 실시예 B27 내지 B33에 개시된 조성물들은 어렵지 않게 주사될 수 있는데, 예를 들어 31-게이지 니들이 장착된 인슐린 주사기를 이용하거나, 뿐만 아니라 31-게이지 니들이 장착된 Novo Nordisk에서 제품명 Novopen®으로 시판되는 인슐린 펜을 이용할 수 있다.

[0738] 실시예 B37: 인슐린 용액의 약역학을 측정하는 프로토콜

[0739] 하기 2개의 본 발명에 따른 조성물을 평가하기 위해 돼지들에 대해 전임상시험이 수행되었다:

[0740] 실시예 B7에 개시된, 폴리사카라이드 4(6 mg/ml)로 제형화된, Lantus®/Apidra® (75/25); 및

[0741] 실시예 B8에 개시된, 폴리사카라이드 4(6 mg/ml)로 제형화된, Lantus®/Humalog® (75/25).

[0742] 이들 조성물의 저혈당 효과는, 동시에 주사하였지만 Lantus®(pH 4)에 이어서 식전 인슐린 Apidra® 또는 Humalog®를 분리하여 주사한 것과 비교되었다.

[0743] 대략 50kg으로 칭량된 6마리의 사육된 돼지는 경정맥에 미리 카테터삽입되었으며, 실험을 시작하기 전에 2 내지 3시간 동안 음식이 제공되지 않는다. 인슐린을 주사하기 전 시간에, 3개의 혈액 샘플이 채취되어 기저 글루코스 수준이 측정된다.

[0744] 0.4 IU/kg의 투여량으로 인슐린 주사가 돼지의 귀 아래 목에 31 G 니들이 장착된 Novopen® 인슐린 펜을 사용하여 피하 주사된다.

[0745] 그 후, 혈액 샘플은 4, 8, 12, 16, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 240, 360, 480, 600, 660 및 720분 후에 채취된다. 각 샘플이 채취된 후에, 카테터는 희석 헤파린 용액으로 세척된다.

[0746] 한 방울의 혈액이 취해져서 글루코스 미터기를 사용하여 혈당이 측정된다. 그 후, 글루코스의 약역학적 커브가 그려진다.

- [0747] 얻은 결과들은 도 1 내지 6에서 도시된 글루코스의 약역학적 커브의 형태로 나타낸다.
- [0748] 폴리사카라이드 4(6 mg/ml)로 제형화된, Lantus[®]/Apidra[®] (75/25).
- [0749] 도 1: 본 발명에 따른 조성물 폴리사카라이드 4/Lantus[®]/Apidra[®] (75/25)와 비교하여, Apidra[®] 및 Lantus[®]의 연속 투여에 대한, 평균 + 평균의 표준편차 커브.
- [0750] 도 2: Apidra[®] Lantus[®]의 개별 커브.
- [0751] 도 3: 폴리사카라이드 4/Apidra[®]/Lantus[®] 개별 커브.
- [0752] 도 1은 각 제형에 대해 시험된 돼지들에 대해 혈당 강하를 나타내는 평균 커브 및 평균의 표준편차를 보여준다. 처음 30분에서 혈당 강하는 2개의 제형에서 비슷하며, 이는 폴리사카라이드의 존재가 Apidra[®]의 속효성 성질을 방해하지 않는다는 것을 보여주는 것이다.
- [0753] 한편, 90분과 10시간(600분) 사이에서, Apidra[®] 및 Lantus[®]의 연속 투여는 3마리의 돼지에 대해서는 균일한 플래토(plateau) 반응을 나타내고, 다른 3마리의 돼지에 대해서는 불균일한 반응을 나타내어, 글루코스의 불균일한 강하를 유발한다(도 2). 반면, 폴리사카라이드 4/Apidra[®]/Lantus[®] 제형으로 시험된 6마리의 돼지들은 균일한 반응을 나타낸다(도 3). 이것은 60분과 10시간 사이에서 변동계수(CV)의 분석에 의해 반영되는데, 이는 Apidra[®] Lantus[®] 대조군에 대해서는 평균 54%(21% 내지 113%)이고, 폴리사카라이드 4/Apidra[®]/Lantus[®]에 대해서는 평균 12%(5% 내지 25%)이다.
- [0754] 폴리사카라이드 4(6 mg/ml)로 제형화된, Lantus[®]/Humalog[®] (75/25).
- [0755] 도 4: 본 발명에 따른 조성물 폴리사카라이드 4/Humalog[®]/Lantus[®]의 투여와 비교하여, Humalog[®] 및 Lantus[®]의 연속 투여에 대한, 평균 + 평균의 표준편차 커브.
- [0756] 도 5: Humalog[®] Lantus[®]의 개별 커브.
- [0757] 도 6: 폴리사카라이드 4/Humalog[®]/Lantus[®] 개별 커브.
- [0758] 도 4는 각 제형에 대해 시험된 돼지들에 대해 혈당 강하를 나타내는 평균 커브 및 평균의 표준편차를 보여준다. 처음 30분에서 혈당 강하는 2개의 제형에서 비슷하며, 이는 폴리사카라이드 4의 존재가 Humalog[®]의 속효성 성질을 방해하지 않는다는 것을 보여주는 것이다. 한편, 60분과 8시간(480분) 사이에서, Humalog[®] 및 Lantus[®]의 연속 투여는 4마리의 돼지에 대해서는 균일한 플래토 반응을 나타내고, 다른 2마리의 돼지에 대해서는 불균일한 반응을 나타내어, 글루코스의 불균일한 강하를 유발한다(도 5). 반면, 폴리사카라이드 4/Humalog[®]/Lantus[®] 제형으로 시험된 5마리의 돼지들은 균일한 반응을 나타낸다(도 6). 이것은 60분과 8시간 사이에서 혈당 강하 데이터와 관련되는 변동계수(CV)의 분석에 의해 반영되는데, 이는 Humalog[®] Lantus[®] 대조군에 대해서는 평균 54%(31% 내지 72%)이고, 폴리사카라이드 4/Humalog[®]/Lantus[®]에 대해서는 평균 15%(6% 내지 28%)이다. 따라서, 폴리사카라이드 4의 존재는 혈당 강화와 관련하여 Lantus[®]의 가변성을 크게 감소시켰다.
- [0759] 실시예 B38: 인슐린 용액의 약역학을 측정하는 프로토콜
- [0760] 6개의 본 발명에 따른 조성물을 평가하기 위해 개들에 대해 전임상시험이 수행되었다:
- [0761] 이들 조성물의 저혈당 효과는, 동시에 주사하였지만 100 IU/ml Lantus[®] (pH 4)에 이어서 식전 인슐린 100 IU/ml Humalog[®]를 분리하여 주사한 것과 비교되었다.
- [0762] 대략 12kg으로 칭량된 10마리의 사육된 개(비글)는 실험을 시작하기 전에 18시간 동안 음식이 제공되지 않는다. 인슐린을 주사하기 전 시간에, 3개의 혈액 샘플이 채취되어 기저 글루코스 수준이 측정된다.
- [0763] (하기 실시예에서 달리 언급되지 않는다면) 0.53 IU/kg의 투여량으로 인슐린 주사가 개의 목에 31 G 니들이 장

착된 Novopen[®] 인슐린 펜을 사용하여 피하 주사된다.

- [0764] 그 후, 혈액 샘플은 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420, 480, 540, 600, 660, 720, 780, 840, 900 및 960분 후에 채취된다. 첫번째 샘플은 (180분까지) 카테터로 채취되고, 그 후에는 경정맥에서 직접 채취된다. 각 샘플이 채취된 후에, 카테터는 희석 헤파린 용액으로 세척된다.
- [0765] 한 방울의 혈액이 취해져서 글루코스 미터기를 사용하여 혈당이 측정된다. 그 후, 글루코스의 약역학적 커브가 그려진다.
- [0766] 얻은 결과들은 도 7 내지 12에서 도시된 글루코스의 약역학적 커브의 형태로 나타낸다.
- [0767] 실시예 B28의 용액
- [0768] 도 7: 실시예 B28에 개시된 본 발명에 따른 조성물(0.53 IU/kg)과 비교하여, Humalog[®](100 IU/ml, 0.13 IU/kg) 및 Lantus[®](100 IU/ml, 0.4 IU/kg)의 연속 투여에 대한, 평균 + 평균의 표준편차 커브.
- [0769] 도 7은 각 제형에 대해 시험된 개들에 대해 혈당 강하를 나타내는 평균 커브 및 평균의 표준편차를 보여준다. 2개의 커브는 12시간까지 빠른 혈당 강하를 비슷하게 나타내며, 이는 폴리사카라이드가 Humalog[®]의 속효성 효과에 영향을 미치지 않는다는 것을 보여주는 것이며, Humalog[®]에 기인한 피크와 글라진에 기인한 플레토 사이에서 뚜렷한 복귀, 그리고 12시간까지 글라진의 플레토는 글라진의 기저 효과가 잘 유지된다는 것을 보여주는 것이다.
- [0770] 실시예 B27의 용액
- [0771] 도 8: 실시예 B27에 개시된 본 발명에 따른 조성물(0.47 IU/kg)과 비교하여, Humalog[®](100 IU/ml, 0.13 IU/kg) 및 Lantus[®](100 IU/ml, 0.4 IU/kg)의 연속 투여에 대한, 평균 + 평균의 표준편차 커브.
- [0772] 도 8은 각 제형에 대해 시험된 개들에 대해 혈당 강하를 나타내는 평균 커브 및 평균의 표준편차를 보여준다. 이 비교에서, 기저 인슐린(Lantus[®])의 투여량은 동일한 반면, Humalog[®]의 투여량은 대조군과 관련하여 조성물에 대해 절반이다. 글루코스 강하는 대조군에 비해 제형 B27의 경우에 더 큰 반면, 대조군은 Humalog[®]보다 2배를 갖는다. 한편, 플레토의 기간은 대조군에 비해 조합의 경우에서 더 짧다. 이는 상기 조성물에서 Lantus[®] 부분이 주사할 때 침전되지 않고 Humalog[®]와 함께 작용한다는 것을 보여주는 것이다.
- [0773] 실시예 B29의 용액
- [0774] 도 9: 실시예 B29에 개시된 본 발명에 따른 조성물(0.53 IU/kg)과 비교하여, Humalog[®](100 IU/ml, 0.13 IU/kg) 및 Lantus[®](100 IU/ml, 0.4 IU/kg)의 연속 투여에 대한, 평균 + 평균의 표준편차 커브.
- [0775] 도 9는 각 제형에 대해 시험된 개들에 대해 혈당 강하를 나타내는 평균 커브 및 평균의 표준편차를 보여준다. 2개의 커브는 빠른 혈당 강하를 비슷하게 나타내며, 이는 폴리사카라이드가 Humalog[®]의 속효성 효과에 영향을 미치지 않는다는 것을 보여주는 것이며, Humalog[®]에 기인한 피크와 Lantus[®]에 기인한 플레토 사이에서 뚜렷한 복귀, 그리고 13시간까지 Lantus[®]의 플레토는 글라진의 기저 효과가 잘 유지된다는 것을 보여주는 것이다.
- [0776] 실시예 B31의 용액
- [0777] 도 10: 실시예 B31에 개시된 본 발명에 따른 조성물(0.48 IU/kg)과 비교하여, Humalog[®](100 IU/ml, 0.13 IU/kg) 및 Lantus[®](100 IU/ml, 0.4 IU/kg)의 연속 투여에 대한, 평균 + 평균의 표준편차 커브.
- [0778] 도 10은 각 제형에 대해 시험된 개들에 대해 혈당 강하를 나타내는 평균 커브 및 평균의 표준편차를 보여준다. 이 비교에서, 기저 인슐린(Lantus[®])의 투여량은 동일한 반면, Humalog[®]의 투여량은 대조군과 관련하여 조성물에 대해 절반이다. 글루코스 강하는 실시예 B31에 상응하는 조합에 비해 대조군의 경우에 더 크다. 이러한 반응은, 대조군의 절반이었던 조합 중 Humalog[®]의 농도 측면에서, 예상되었다. 또한, Lantus[®] 플레토의 기간은 대

조군과 관련하여 조합의 경우에 동일하다. 이는, 상기 조성물에서 그리고 실시예 B29에 개시된 조성물과 비교할 때(도 9), Lantus[®] 기저 효과를 변형시키지 않으면서 조합 중 Humalog[®]의 양을 조정할 수 있다는 것을 보여주는 것이다.

[0779] 실시예 B30의 용액

[0780] 도 11: 실시예 B30에 개시된 본 발명에 따른 조성물(0.64 IU/kg)과 비교하여, Humalog[®](100 IU/ml, 0.24 IU/kg) 및 Lantus[®](100 IU/ml, 0.4 IU/kg)의 연속 투여에 대한, 평균 + 평균의 표준편차 커브.

[0781] 도 11은 각 제형에 대해 시험된 개들에 대해 혈당 강하를 나타내는 평균 커브 및 평균의 표준편차를 보여준다. 2개의 커브는 빠른 혈당 강하를 비슷하게 나타내며, 이는 폴리사카라이드가 Humalog[®]의 속효성 효과에 영향을 미치지 않는다는 것을 보여주는 것이며, Humalog[®]에 기인한 피크와 Lantus[®]에 기인한 플레토 사이에서 뚜렷한 복귀, 그리고 10시간까지 Lantus[®]의 플레토는 글라진의 기저 효과가 잘 유지된다는 것을 보여주는 것이다.

[0782] 실시예 B32의 용액

[0783] 도 12: 실시예 B32에 개시된 본 발명에 따른 조성물(0.53 IU/kg)과 비교하여, Humalog[®](100 IU/ml, 0.13 IU/kg) 및 Lantus[®](100 IU/ml, 0.4 IU/kg)의 연속 투여에 대한, 평균 + 평균의 표준편차 커브.

[0784] 도 12는 각 제형에 대해 시험된 개들에 대해 혈당 강하를 나타내는 평균 커브 및 평균의 표준편차를 보여준다. 2개의 커브는 10시간까지 빠른 혈당 강하를 비슷하게 나타내며, 이는 폴리사카라이드가 Humalog[®]의 속효성 효과에 영향을 미치지 않는다는 것을 보여주는 것이며, Humalog[®]에 기인한 피크와 Lantus[®]에 기인한 플레토 사이에서 뚜렷한 복귀, 그리고 글라진의 플레토는 글라진의 기저 효과가 10시간까지 유지된다는 것을 보여주는 것이다.

[0785] 결론적으로, 도 7 내지 12는, 리스프로 및 글라진의 농도 및 폴리사카라이드의 조성을 조정함으로써, 다른 비율의 속효성 인슐린과 기저 인슐린으로 이중 주사(double injection)와 동일한 프로파일을 얻을 수 있다는 것을 보여준다. 또한, 속효성 인슐린에 영향을 주지 않으면서 기저 인슐린의 기간을 조정할 수 있으며, 또는 기저 인슐린의 효과에 영향을 미치지 않으면서 속효성 인슐린의 양을 조정할 수 있다.

[0786] **파트 C: 본 발명에 따른 GLP-1 유사체 또는 유도체를 포함하는 조성물의 성질의 입증**

[0787] 실시예 C1: GLP-1 유사체 엑세나티드(Byetta[®])의 용액 0.25 mg/ml

[0788] 상기 용액은 제품명 Byetta[®]로 Eli Lilly 및 Company사에서 판매하는 엑세나티드 용액이다.

[0789] 실시예 C2: 유도체 리라글루티드(Victoza[®])의 용액 6 mg/ml

[0790] 상기 용액은 제품명 Victoza[®]로 Novo Nordisk사에서 판매하는 리라글루티드 용액이다.

[0791] 실시예 C3: 10 mg/ml의 농도의 치환된 텍스트란을 사용한, 100 IU/ml 및 pH 7에서 Lantus[®]의 용해

[0792] 표 1에 기재된 것들 중에 선택된 20 mg의 치환된 텍스트란이 정밀하게 칭량된다. 폴리사카라이드 농도가 10 mg/ml인 용액을 획득하기 위해, 실시예 B4의 인슐린 글라진 용액 2 ml에 상기 동결건조물이 첨가된다. 주위 온도의 롤(roll) 상에서의 기계적인 교반 후에, 용액은 맑아진다. 상기 용액의 pH는 6.3이다. pH는 0.1N 수산화나트륨 용액에 의해 7로 조절된다. 상기 맑은 용액은 막(0.22 μm) 필터를 통해 여과되고, 그 후 +4℃에 놓인다.

[0793] 일반화: 100 IU/ml 및 pH 7의 Lantus[®]의 맑은 용액이 또한 20 및 40 mg/ml의 치환된 텍스트란 농도에 의해 실시예 C3에 기재된 것과 동일한 프로토콜에 따라 획득되었다. 따라서, 표 1에 기재된 것들 중 동결건조된 폴리사카라이드의 중량이 정밀하게 측정되었다. 상기 동결건조물은 치환된 텍스트란의 농도가 20 또는 40 mg/ml인 용액을 획득하기 위해, 실시예 B4의 인슐린 글라진 용액에 첨가되었다. 주위 온도의 롤 상에서의 기계적인 교반 후에, 용액은 맑아진다. 상기 용액의 pH는 7 미만이다. pH는 그 후 0.1N 수산화나트륨 용액에 의해 7로 조절된

다. 상기 맑은 최종 용액은 막(0.22 μ m) 필터를 통해 여과되고, 그 후 +4℃에 놓인다.

표 8

[0794] 10, 20 또는 40 mg/ml의 농도의 치환된 텍스트란을 사용한 100 IU/ml 및 pH 7의 Lantus[®] 용액의 제조

치환된 텍스트란의 (mg/ml)	최종 농도 (mg)	첨가된 실시예 B4의 인슐린 글라진 용액의 부피(ml)
10	20	2
20	40	2
40	80	2

[0795] 실시예 C4: pH 7.5의 Lantus[®]/Byetta[®] 70/30 조성물의 제조

[0796] 혼합시 pH가 4.5인 조성물 0.3 ml를 획득하기 위해, 실시예 C1의 엑세나티드 용액 0.09 ml가 실시예 B4의 인슐린 글라진 용액 0.21 ml에 첨가된다. 70 IU/ml의 Lantus[®] 및 0.075 mg/ml의 Byetta[®]를 포함하는 상기 조성물은 맑고, 이는 상기 제형 조건(pH 4.5)에서 Lantus[®] 및 Byetta[®]의 양호한 가용성을 입증한다. pH는 그 후 0.1N 수산화나트륨 용액에 의해 7.5로 조절된다. 조성물은 그 후 탁해지고, 이는 pH 7.5에서 Lantus[®]/Byetta[®] 조성물의 낮은 가용성을 입증한다.

[0797] 70/30 Lantus[®]/Byetta[®] 조성물이 또한 실시예 C4에 기재된 것과 유사한 프로토콜에 따라 pH 4.5, 5.5, 6.5, 8.5 및 9.5에서 제조되었다. 상기 각각의 조성물에 대해, 실시예 C1의 엑세나티드 용액이 0.09 ml가 실시예 B4의 인슐린 글라진 용액 0.21 ml에 첨가되어, 혼합시 pH가 4.5인 조성물 0.3 ml를 획득한다. 상기 조성물은 맑고, 이는 상기 제형 조건(pH 4.5)에서 Lantus[®] 및 Byetta[®]의 양호한 가용성을 입증한다. pH는 0.1N 수산화나트륨 용액에 의해 5.5 또는 6.5 또는 8.5 또는 9.5로 조절된다. pH를 조절한 후에, pH 5.5의 조성물은 약간 탁해지고, pH 6.5 - 7.5 및 pH 8.5의 조성물은 매우 탁하며, pH 9.5의 조성물은 맑다. 상기 조성물들은 +4℃에 48시간 동안 놓인다. +4℃에서 48h 후에는, pH 4.5의 조성물만이 맑게 유지된다. 다른 pH 값들의 70/30 Lantus[®]/Byetta[®] 조성물의 48 h 후 시각적 모습은 표 9에 요약된다.

표 9

[0798] 다른 pH 값들의 70/30 Lantus[®]/Byetta[®] 조성물의 48시간 후 시각적 모습

다른 pH 값들의 70/30 Lantus [®] /Byetta [®] 조성물	
pH	t = 48h에서 시각적 모습
4.5	맑음
5.5	침전물 존재
6.5	침전물 존재
7.5	침전물 존재
8.5	침전물 존재
9.5	침전물 존재

[0799] 실시예 C5: pH 7.5의 70/30 Lantus[®]/Victoza[®] 조성물의 제조

[0800] 혼합시 pH가 7인 조성물 0.3 ml를 획득하기 위해, 실시예 C2의 리라글루티드 용액 0.09 ml가 실시예 B4의 인슐린 글라진 용액 0.21 ml에 첨가된다. 70 IU/ml의 글라진 및 1.8 mg/ml의 엑세나티드를 포함하는 조성물은 탁해지고, 이는 상기 제형 조건에서 Lantus[®] 및 Victoza[®]의 낮은 가용성을 입증한다. pH는 0.1N 수산화나트륨 용액에 의해 7.5로 조절된다. pH를 조절한 후에, 조성물은 탁하게 유지된다. 상기 조성물은 +4℃에 48시간 동안 놓인다.

[0801] 70/30 Lantus[®]/Victoza[®] 조성물이 또한 실시예 C5에 기재된 것과 유사한 프로토콜에 따라 pH 4.5 - 5.5 - 6.5 - 8.5 및 9.5에서 제조되었다. 상기 각각의 조성물에 대해, 실시예 B4의 인슐린 글라진 용액 0.21 ml에 실시예

C1의 리라글루티드 용액 0.09 ml을 첨가하여, pH가 7인 조성물 0.3 ml를 획득한다. 상기 조성물은 탁하고, 이는 상기 제형 조건(pH 7)에서 Lantus[®]/Victoza[®] 조성물의 낮은 가용성을 입증한다. pH는 0.1N 염산 용액에 의해 pH4.5 또는 pH 5.5 또는 pH 6.5로, 또는 0.1N 수산화나트륨 용액에 의해 pH 9.5로 조절된다. pH를 조절한 후에, pH 4.5 - 5.5 및 pH 6.5의 조성물은 탁하고, 이는 상기 제형 조건에서 Lantus[®]/Victoza[®] 조성물의 낮은 가용성을 입증한다. 상기 조성물들은 +4℃에 48시간 동안 놓인다. 4℃에서 48시간 후에, pH 9.5의 조성물만이 맑다. 다른 pH 값들의 70/30 Lantus[®]/Victoza[®] 조성물의 48 h 후 시각적 모습은 표 10에 요약된다.

표 10

[0802] 다른 pH 값들의 70/30 Lantus[®]/Victoza[®] 조성물의 48 h 후 시각적 모습

다른 pH 값들의 70/30 Lantus [®] /Victoza [®] 조성물	
pH	t = 48h에서 시각적 모습
4.5	침전물 존재
5.5	침전물 존재
6.5	침전물 존재
7.5	침전물 존재
8.5	침전물 존재
9.5	맑음

[0803] 실시예 C6: pH 7의 치환된 텍스트란-70/30 Lantus[®]/Byetta[®] 조성물의 제조

[0804] 실시예 C3에서 제조된 치환된 텍스트란/Lantus[®] 용액 0.21 ml에 실시예 C1의 액세나티드 용액 0.09 ml이 첨가되어, pH 5.3의 조성물 0.3 ml을 획득한다. pH는 0.1N 수산화나트륨 용액에 의해 7로 조절된다. 7mg/ml의 폴리사카라이드, 70 IU/ml의 Lantus[®] 및 0.075 mg/ml의 Byetta[®]를 포함하는 조성물은 맑고, 이는 pH 7에서 치환된 텍스트란의 존재하에 Lantus[®] 및 Byetta[®]의 양호한 가용성을 입증한다. 상기 맑은 용액은 +4℃에 놓인다.

[0805] 일반화: pH 7의 치환된 텍스트란-Lantus[®]/Byetta[®] 조성물이 또한 실시예 C6에 기재된 것과 동일한 프로토콜에 따라 90/10, 50/50, 30/70 및 10/90의 V_{Lantus}/V_{Byetta} 부피비로 제조되었다. 따라서, 실시예 C1의 액세나티드 용액의 부피 V_{Byetta}가 실시예 C3에서 제조된 치환된 텍스트란/Lantus[®]의 부피 V_{Lantus}에 첨가되어, pH가 0.1N 수산화나트륨 용액에 의해 7로 조절된 조성물을 획득한다. 획득된 조성물(표 11 참조)은 맑고, 이는 pH 7에서 치환된 텍스트란의 존재하에 Lantus[®] 및 Byetta[®]의 양호한 가용성을 입증한다. 상기의 맑은 용액은 +4℃에 놓인다.

[0806] 실시예 C7: pH 7의 치환된 텍스트란-100/50 Lantus[®]/Byetta[®] 조성물의 제조

[0807] 실시예 C1의 액세나티드 용액 0.150 ml이 동결건조되고, 그 후 실시예 C3에서 제조된 치환된 텍스트란/Lantus[®] 용액 0.3 ml가 상기 동결건조물에 첨가되어, pH가 0.1N 수산화나트륨 용액에 의해 7로 조절된 조성물을 획득한다. 10 mg/ml의 폴리사카라이드, 100 IU/ml의 Lantus[®] 및 0.125 mg/ml의 Byetta[®]를 포함하는 조성물은 맑고, 이는 pH 7에서 치환된 텍스트란의 존재하에 Lantus[®] 및 Byetta[®]의 양호한 가용성을 입증한다. 상기의 맑은 용액은 +4℃에 놓인다.

표 11

[0808] 실시예 C6 및 실시예 C7에서 획득된 조성물의 Lantus[®], 치환된 텍스트란 및 Byetta[®]의 최종 농도

	Lantus [®]		[폴리사카라이드 번호] (mg/ml)	Byetta [®] (mg/ml)
	IU/ml	mg/ml		
100/50	100	3.5	10	0.125
90/10	90	3.15	9	0.025
70/30	70	2.45	7	0.075

50/50	50	1.75	5	0.125
30/70	30	1.05	3	0.175

[0809] 실시예 C8: pH 7의 치환된 텍스트란-70/30 Lantus[®]/Victoza[®] 조성물의 제조

[0810] 실시예 C2의 리라글루티드 용액 0.09 ml가 실시예 C3에서 제조된 치환된 텍스트란/Lantus[®] 용액 0.21 ml에 첨가되어, pH 7.6의 조성물 0.3 ml를 획득한다. pH는 0.1N 염산 용액에 의해 7로 조절된다. 7 mg/ml의 폴리사카라이드, 70 IU/ml의 Lantus[®] 및 1.8 mg/ml의 Victoza[®]를 포함하는 조성물은 맑고, 이는 pH 7에서 치환된 텍스트란의 존재하에 Lantus[®] 및 Victoza[®]의 양호한 가용성을 입증한다. 상기 맑은 용액은 +4℃에 놓인다.

[0811] 일반화: pH 7의 치환된 텍스트란-Lantus[®]/Victoza[®] 조성물이 또한 실시예 C6에 기재된 것과 동일한 프로토콜에 따라 90/10, 50/50, 30/70, 및 90/10의 V_{Lantus}/V_{Victoza} 부피비로 제조되었다. 따라서, 실시예 C2의 리라글루티드 용액의 부피 V_{Victoza}가 실시예 B3에서 제조된 치환된 텍스트란/Lantus[®] 용액의 부피 V_{Lantus}에 첨가되어, pH가 0.1N 염산 용액에 의해 7로 조절된 조성물을 획득한다. 획득된 조성물(표 12 참조)은 맑고, 이는 pH 7에서 치환된 텍스트란의 존재하에 Lantus[®] 및 Victoza[®]의 양호한 가용성을 입증한다. 상기의 맑은 용액은 +4℃에 놓인다.

[0812] 실시예 C9: pH 7의 치환된 텍스트란-100/50 Lantus[®]/Victoza[®] 조성물의 제조

[0813] 실시예 C2의 리라글루티드 용액 0.150 ml이 동결건조되고, 그 후 실시예 C3에서 제조된 치환된 텍스트란/Lantus[®] 용액 0.3 ml가 상기 동결건조물에 첨가되어, pH가 0.1N 수산화나트륨 용액에 의해 7로 조절된 조성물을 획득한다. 10 mg/ml의 폴리사카라이드, 100 IU/ml의 Lantus[®] 및 3 mg/ml의 Victoza[®]를 포함하는 조성물은 맑고, 이는 pH 7에서 치환된 텍스트란의 존재하에 Lantus[®] 및 Victoza[®]의 양호한 가용성을 입증한다. 상기의 맑은 용액은 +4℃에 놓인다.

표 12

[0814] 실시예 C8 및 실시예 C9에서 획득된 조성물 내의 Lantus[®], 치환된 텍스트란 및 Victoza[®]의 최종 농도

	Lantus [®]		[폴리사카라이드 번호] (mg/ml)	Victoza [®] (mg/ml)
	IU/ml	mg/ml		
100/50	100	3.5	10	3
90/10	90	3.15	9	0.6
70/30	70	2.45	7	1.8
50/50	50	1.75	5	3
30/70	30	1.05	3	4.2

[0815] 실시예 C10: pH 7의 치환된 텍스트란-60/20/20 Lantus[®]/Apidra[®]/Byetta[®]의 제조

[0816] 실시예 A3에 기재된 20mg의 동결건조된 폴리사카라이드 4가 정밀하게 칭량된다. 상기 동결건조물은 실시예 B4의 인슐린 글라진 용액에 첨가된다. 주위온도에서 물 상의 기계적인 교반 후에, 용액은 맑아진다. 상기 용액의 pH는 6.3이다. pH는 0.1N 수산화나트륨 용액에 의해 7로 조절된다. 실시예 C1의 엑세나티드 용액 0.2 ml 및 실시예 B3의 인슐린 글루리신 용액 0.2 ml가 상기에 제조된 치환된 텍스트란/Lantus[®] 용액 0.6 ml에 첨가되어, pH 7의 조성물 1 ml를 획득한다.

[0817] 6 mg/ml의 폴리사카라이드, 60 IU/ml의 Lantus[®], 20 IU/ml의 Apidra[®] 및 0.05 mg/ml의 Byetta[®]를 포함하는 조성물은 맑고, 이는 pH 7에서 치환된 텍스트란의 존재하에 Lantus[®], Apidra[®] 및 Byetta[®]의 양호한 가용성을 입증한다. 상기의 맑은 용액은 막(0.22 μm)을 통해 여과되고, 그 후 +4℃에 놓인다.

- [0818] 실시예 C11: Lantus[®]의 침전
- [0819] Lantus[®] 0.250 ml가 BSA(소혈청 알부민) 20 mg/ml를 포함하는 PBS(Phosphate Buffer Solution) 용액 0.5 ml에 첨가된다. PBS/BSA 혼합물은 피하 매질의 조성을 모방한다.
- [0820] 침전물이 나타나고, 이는 Lantus[®]의 작동 메커니즘과 잘 부합한다(pH의 증가에 따라 주입시 침전).
- [0821] 상청액으로부터 침전물을 분리시키기 위해 4000 rev/min의 원심분리가 수행된다. 그 후, Lantus[®]는 상청액에서 분석된다. 상기의 결과는 90%의 Lantus[®]가 침전된 형태로 발견된다는 점이다.
- [0822] 실시예 C12: 치환된 텍스트란/Lantus[®] 조성물의 침전
- [0823] 실시예 C3에서 제조된 치환된 텍스트란/Lantus[®] 용액 0.250 ml가 BSA 20 mg/ml를 포함하는 PBS 용액 0.5 ml에 첨가된다. PBS/BSA 혼합물은 피하 매질의 조성을 모방한다. 침전물이 나타난다.
- [0824] 상청액으로부터 침전물을 분리시키기 위해 4000 rev/min의 원심분리가 수행된다. 그 후, Lantus[®]는 상청액에서 분석된다. 상기의 결과는 90%의 Lantus[®]가 침전된 형태로 발견된다는 점이다. 상기 Lantus[®]의 침전율은 실시예 C11에 기재된 대조군에 대해 획득된 것과 동일하다.
- [0825] 실시예 C13: 치환된 텍스트란-Lantus[®]/Byetta[®] 조성물의 침전
- [0826] 실시예 C6에서 제조된 치환된 텍스트란-Lantus[®]/Byetta[®] 조성물 0.250 ml가 BSA 20 mg/ml를 포함하는 PBS 용액 0.5 ml에 첨가된다. PBS/BSA 혼합물은 피하 매질의 조성을 모방한다. 침전물이 나타난다.
- [0827] 상청액으로부터 침전물을 분리시키기 위해 4000 rev/min의 원심분리가 수행된다. 그 후, Lantus[®] 및 Byetta[®]는 상청액에서 분석된다. 상기 Lantus[®]의 침전율은 실시예 C11에 기재된 대조군과 동일하다.
- [0828] 실시예 C14: 치환된 텍스트란-70/30 Lantus[®]/Victoza[®] 조성물의 침전
- [0829] 실시예 C8에서 제조된 치환된 텍스트란-Lantus[®]/Victoza[®] 조성물 0.250 ml가 BSA(소혈청 알부민) 20 mg/ml를 포함하는 PBS 용액 0.5 ml에 첨가된다. PBS/BSA 혼합물이 피하 매질의 조성을 모방한다. 침전물이 나타난다.
- [0830] 상청액으로부터 침전물을 분리시키기 위해 4000 rev/min의 원심분리가 수행된다. 그 후, Lantus[®] 및 Victoza[®]는 상청액에서 분석된다. 상기 Lantus[®]의 침전율은 실시예 C11에 기재된 대조군과 유사하다.
- [0831] 실시예 C15: 치환된 텍스트란의 특성이 다양한 개별적인 조성물의 침전
- [0832] 실시예 C13 및 실시예 C14와 동일한 조건에서 다른 실험이 텍스트란의 존재 중에 수행되었다.
- [0833] 최대 20 mg/ml의 치환된 텍스트란 및 70/30 Lantus[®]/Byetta[®] 조성물에 의한 결과가 하기의 표 13에 나타난다. Lantus[®]의 용해 및 침전이 유지되는 것이 관찰된다.

표 13

- [0834] 최대 20 mg/ml의 치환된 텍스트란 및 70/30 Lantus[®]/Byetta[®] 조성물에 의해 획득된 용해 및 침전 실험의 결과

폴리사카라이드 번호	용해 70/30 Lantus [®] /Byetta [®]	Lantus [®] 의 침전율
1	관찰됨(Yes)	94
2	관찰됨(Yes)	96
5	관찰됨(Yes)	88
7	관찰됨(Yes)	95
10	관찰됨(Yes)	측정되지 않음

11	관찰됨(Yes)	81
14	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
16	관찰됨(Yes)	96
26	관찰됨(Yes)	81
27	관찰됨(Yes)	96
28	관찰됨(Yes)	96
29	관찰됨(Yes)	95

[0835] 최대 20 mg/ml의 치환된 텍스트란 및 다양한 Lantus[®]/Byetta[®] 조성물에 의한 결과가 하기의 표 14에 나타난다. Lantus[®]의 용해 및 침전이 유지되는 것이 관찰된다.

표 14

[0836] 최대 20 mg/ml의 치환된 텍스트란 및 다양한 Lantus[®]/Byetta[®] 조성물에 의해 획득된 용해 및 침전 실험의 결과

폴리사카라이드 번호	비율 Lantus [®] /Byetta [®]	용해 Lantus [®] /Byetta [®]	Lantus [®] 의 침전을
4	100/50	관찰됨(Yes)	95
4	90/10	관찰됨(Yes)	94
4	70/30	관찰됨(Yes)	95
4	50/50	관찰됨(Yes)	90
4	30/70	관찰됨(Yes)	82
8	100/50	관찰됨(Yes)	96
8	90/10	관찰됨(Yes)	94
8	70/30	관찰됨(Yes)	96
8	50/50	관찰됨(Yes)	90
8	30/70	관찰됨(Yes)	81

[0837] 최대 40 mg/ml의 치환된 텍스트란 및 70/30 Lantus[®]/Victoza[®] 조성물에 의한 결과가 하기의 표 15에 나타난다. Lantus[®]의 용해 및 침전이 유지되는 것이 관찰된다.

표 15

[0838] 최대 40 mg/ml의 치환된 텍스트란 및 70/30 Lantus[®]/Victoza[®] 조성물에 의해 획득된 용해 및 침전 실험의 결과

폴리사카라이드 번호	용해 70/30 Lantus [®] /Victoza [®]	Lantus [®] 의 침전을
1	관찰됨(Yes)	95
2	관찰됨(Yes)	97
5	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
7	관찰됨(Yes)	97
10	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
11	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
14	관찰됨(Yes)	90
16	관찰됨(Yes)	97
26	관찰됨(Yes)	74
27	관찰됨(Yes)	96
28	관찰됨(Yes)	95
29	관찰됨(Yes)	94

[0839] 최대 20 mg/ml의 치환된 텍스트란 및 다양한 Lantus[®]/Victoza[®] 조성물에 의한 결과가 하기의 표 16에

나타난다. Lantus[®]의 용해 및 침전이 유지되는 것이 관찰된다.

표 16

[0840] 최대 20 mg/ml의 치환된 덱스트란 및 다양한 Lantus[®]/Victoza[®] 조성물에 의해 획득된 용해 및 침전 실험의 결과

폴리사카라이드 번호	비율 Lantus [®] /Victoza [®]	용해 Lantus [®] /Victoza [®]	Lantus [®] 의 침전율
4	90/10	관찰됨(Yes)	94
4	70/30	관찰됨(Yes)	측정되지 않음
4	50/50	관찰됨(Yes)	90
4	30/70	관찰됨(Yes)	86
8	100/50	관찰됨(Yes)	93
8	90/10	관찰됨(Yes)	95
8	70/30	관찰됨(Yes)	98
8	50/50	관찰됨(Yes)	89
8	30/70	관찰됨(Yes)	85

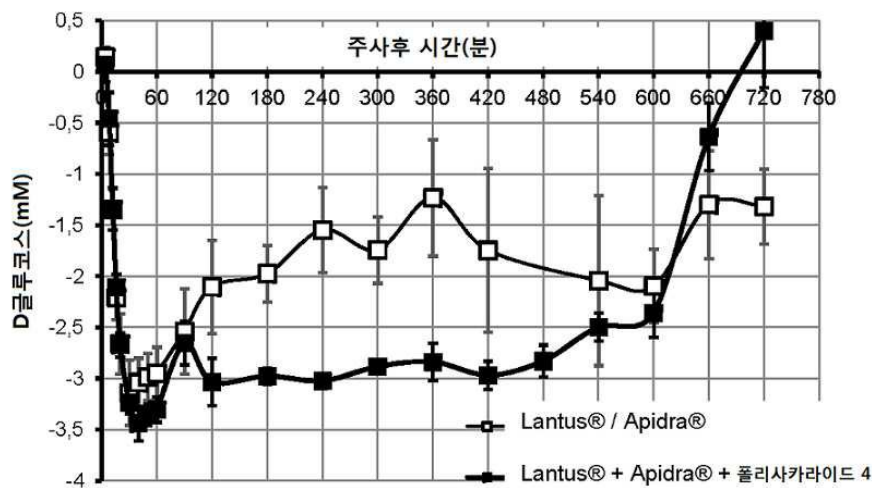
[0841] 실시예 C16: pH 7의 치환된 덱스트란-60/20/20 Lantus[®]/Apidra[®]/Byetta[®] 조성물의 침전

[0842] 실시예 C10에서 제조된 치환된 덱스트란-Lantus[®]/Apidra[®]/Byetta[®] 조성물 0.250 ml가 BSA 20 mg/ml를 포함하는 PBS 용액 0.5 ml에 첨가된다. PBS/BSA 혼합물은 피하 매질의 조성을 모방한다. 침전물이 나타난다.

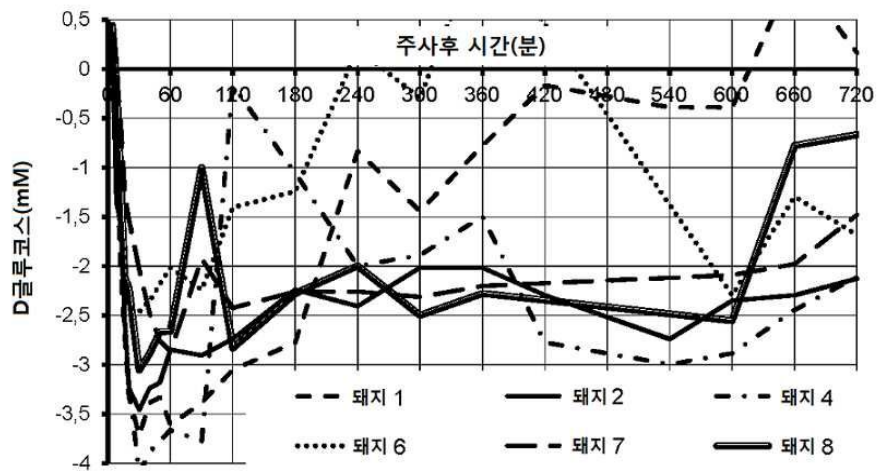
[0843] 상청액으로부터 침전물을 분리시키기 위해 4000 rev/min의 원심분리가 수행된다. 그 후, Lantus[®]는 상청액에서 분석된다. 상기의 결과는 90%의 Lantus[®]가 침전된 형태로 발견된다는 점이다. 상기 Lantus[®]의 침전율은 실시예 C11에 기재된 대조군과 유사하다.

도면

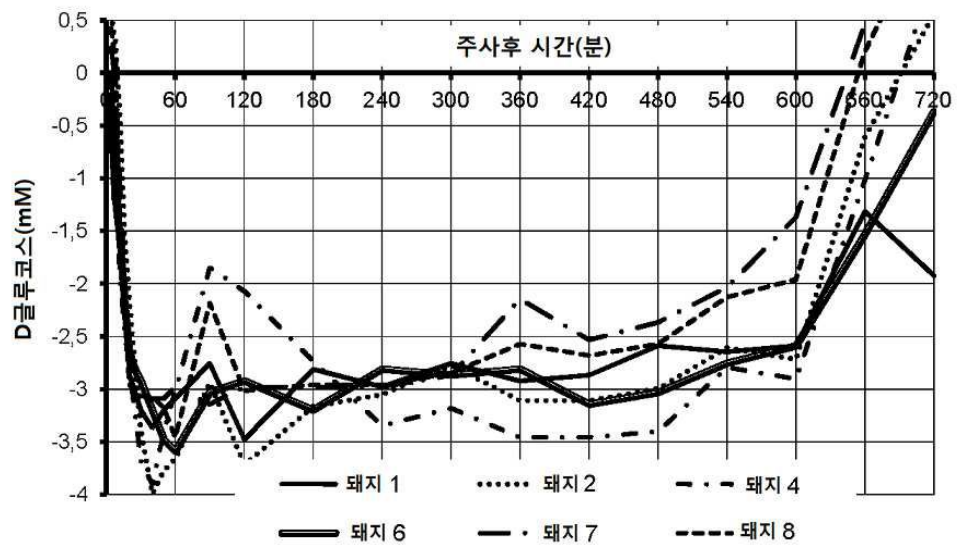
도면1



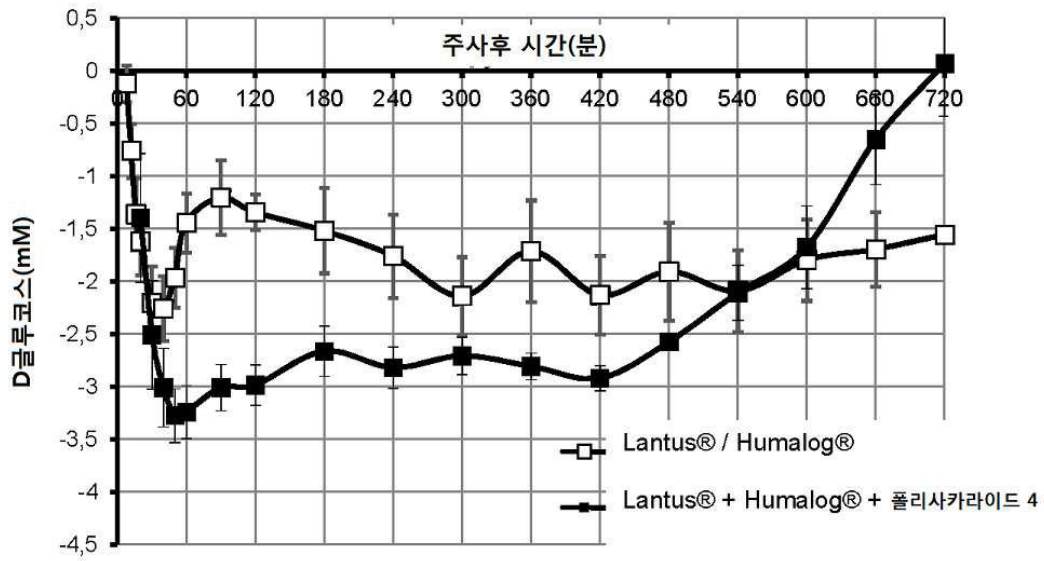
도면2



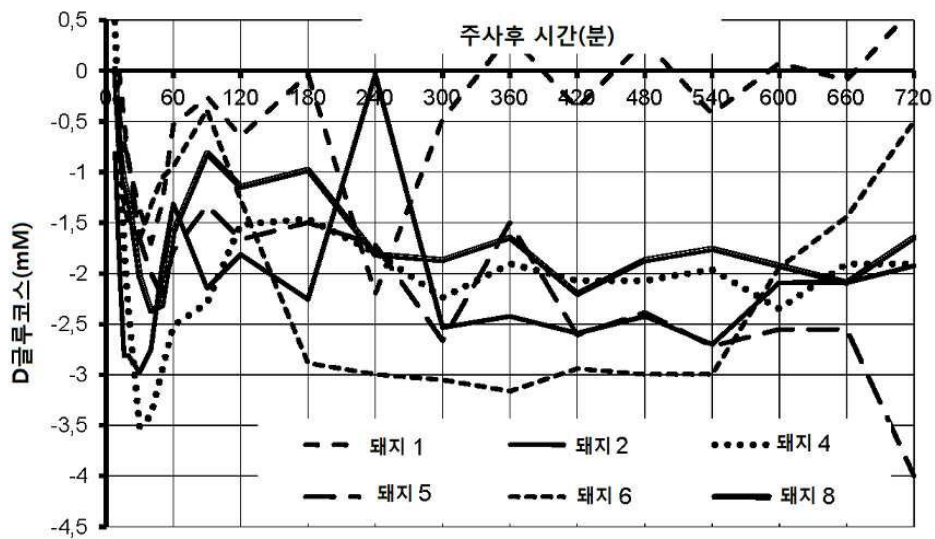
도면3



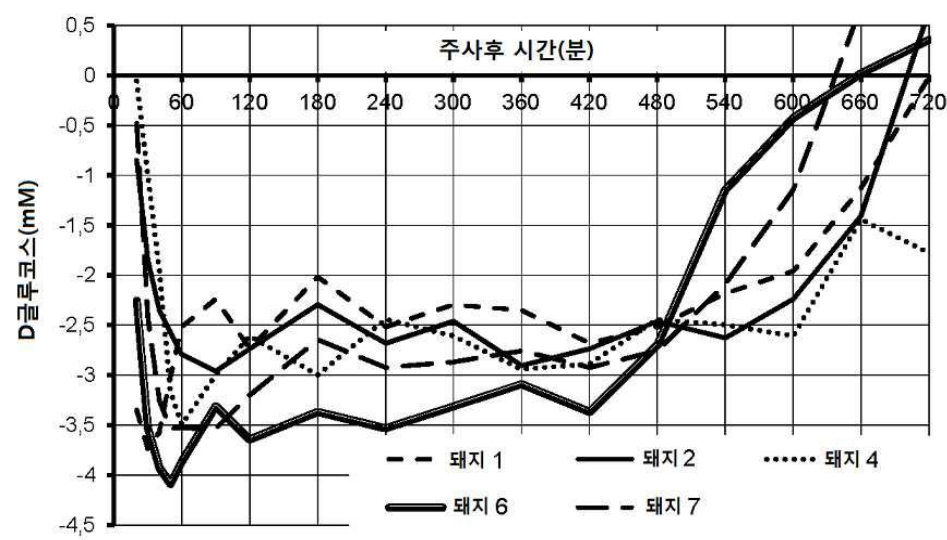
도면4



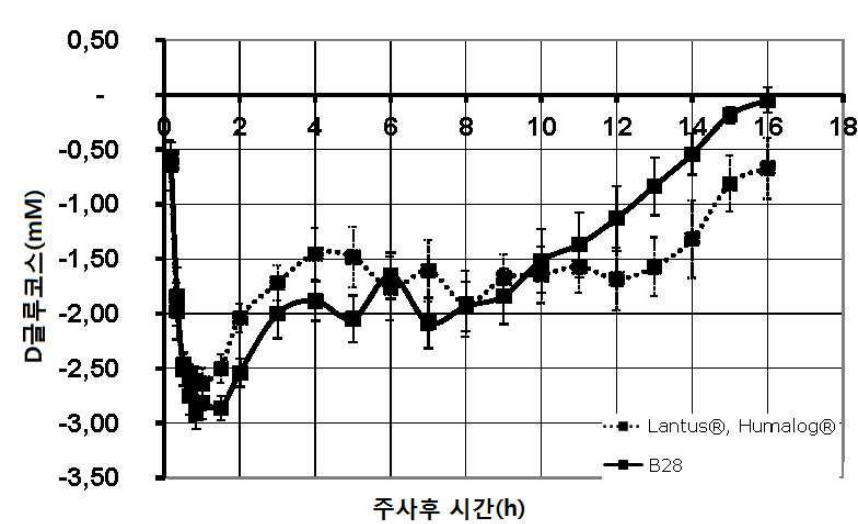
도면5



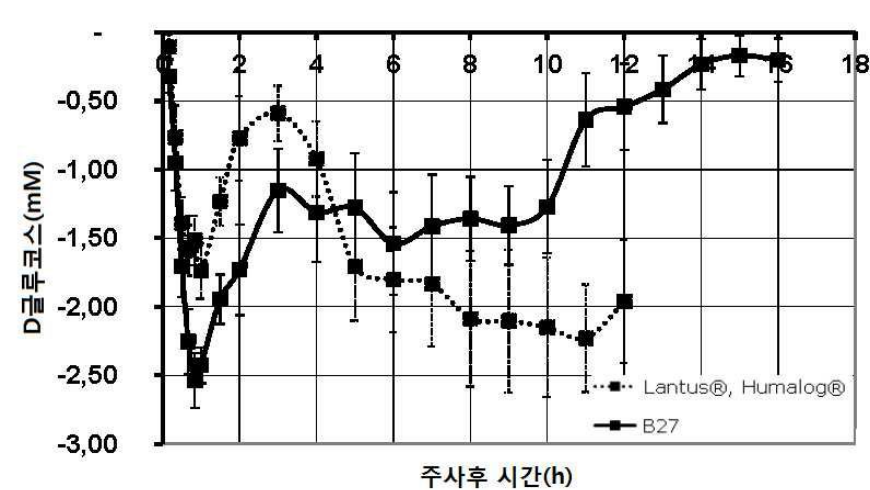
도면6



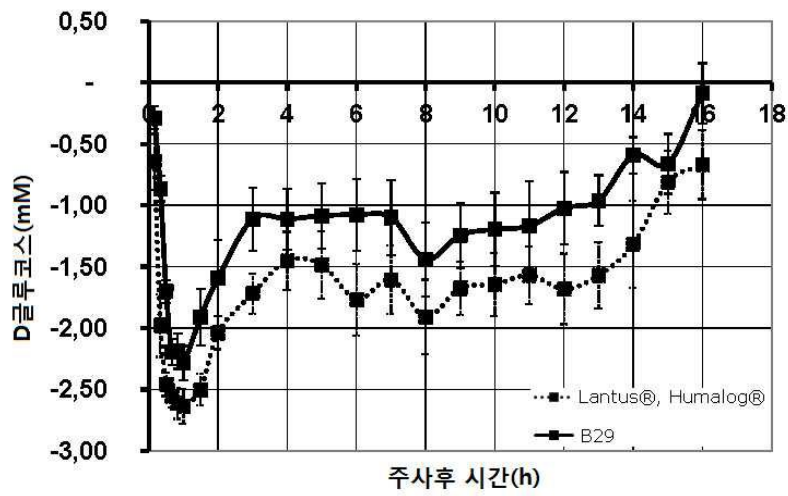
도면7



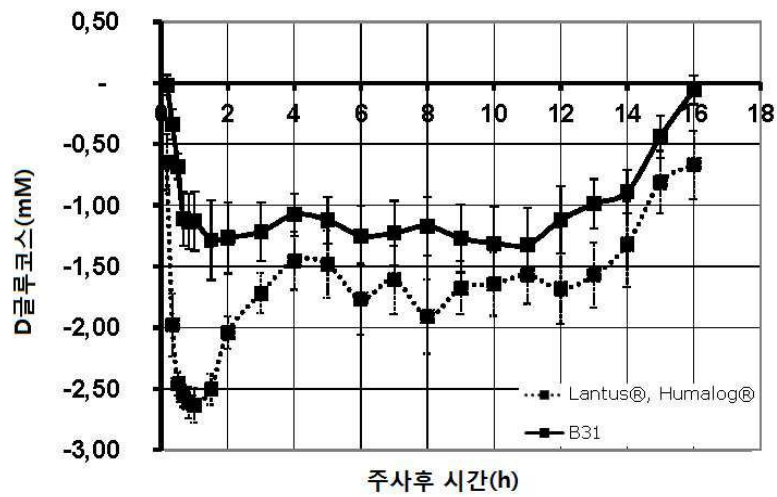
도면8



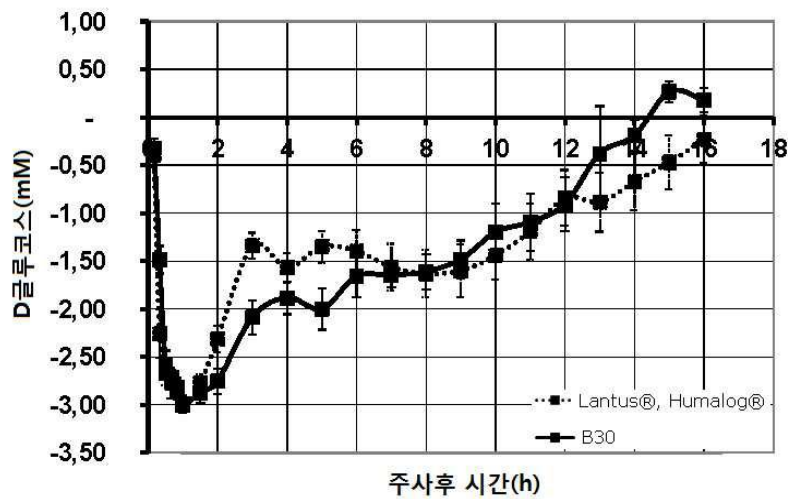
도면9



도면10



도면11



도면12

