



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년04월25일
(11) 등록번호 10-1389226
(24) 등록일자 2014년04월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/127 (2006.01) A61K 38/28 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2007-7029973
(22) 출원일자(국제) 2006년05월16일
심사청구일자 2011년05월16일
(85) 번역문제출일자 2007년12월21일
(65) 공개번호 10-2008-0043742
(43) 공개일자 2008년05월19일
(86) 국제출원번호 PCT/US2006/019119
(87) 국제공개번호 WO 2006/127361
국제공개일자 2006년11월30일
(30) 우선권주장
11/384,659 2006년03월20일 미국(US)
(뒷면에 계속)
(56) 선행기술조사문헌
US04603044 A
US20050026826 A1
전체 청구항 수 : 총 51 항

(73) 특허권자
에스디지, 인코포레이티드
미국 44106 오하이오주 클리블랜드 시더 애비뉴
10000 스위트 6
(72) 발명자
라우, 존, 알.
미국 43028 오하이오주 하워드 킹 비치 드라이브
585
지호, 더블유. 블레이
미국 44691 오하이오주 우스터 비치우드 드라이브
533
(74) 대리인
양영준, 양영환

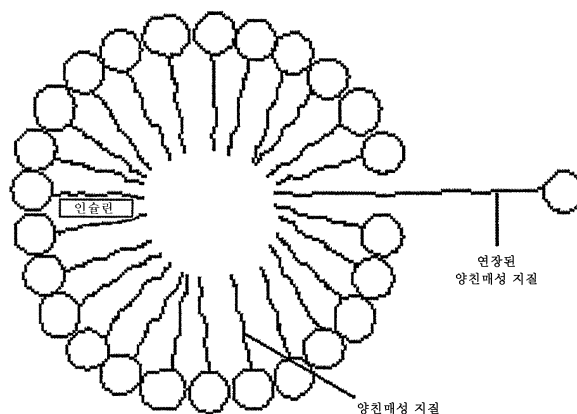
심사관 : 박제현

(54) 발명의 명칭 포유동물에게 인슐린을 전달하기 위한 지질 구조물

(57) 요약

본 발명은 간세포에 의해 제시된 수용체로 지질 구조물을 표적화하는 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하는 지질 구조물과 회합된 인슐린을 포함하는 간세포 표적화된 조성물에 관한 것이다. 상기 조성물은 유리 인슐린, 및 착체와 회합된 인슐린을 포함할 수 있다. 상기 조성물은 인슐린 및 착체를 분해로부터 보호하도록 개질될 수 있다. 본 발명은 또한 상기 조성물의 제조 방법, 상기 조성물에 인슐린을 담지하는 방법, 및 상기 조성물의 다양한 성분들을 재순환시키는 방법을 포함한다. 당뇨병에 걸린 개체의 치료 방법 또한 포함한다.

대표도 - 도1



(30) 우선권주장

11/384,728 2006년03월20일 미국(US)

60/683,878 2005년05월23일 미국(US)

특허청구의 범위

청구항 1

인슐린, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하며, 상기 연장된 양친매성 지질은 바이오틴-X DHPE, 바이오틴 DHPE 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이고, 상기 인슐린은 1종의 유리 인슐린 분자 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 1종의 인슐린 분자를 포함하는 것인 구조물.

청구항 2

삭제

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 인슐린이 인슐린 리스프로, 인슐린 아스파르트, 속효성(regular) 인슐린, 인슐린 글라르긴, 인슐린 아연, 연장된 인간 인슐린 아연, 이소판 인슐린, 인간 완충된 속효성 인슐린, 인슐린 글룰리신, 재조합 인간 속효성 인슐린, 재조합 인간 인슐린 이소판, 및 상기 언급한 인슐린의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 구조물.

청구항 4

삭제

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 양친매성 지질이 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤, 디세틸 포스페이트, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-[3-포스포-rac-(1-글리세로)], 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(숙시닐), 및 상기 화합물의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 지질을 포함하는 것인 구조물.

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 연장된 양친매성 지질 분자가 구조물의 표면으로부터 바깥으로 연장되어 있는 것인 구조물.

청구항 11

제1항에 있어서, 상기 착체가 다수개의 연결된 개별 단위를 포함하고, 상기 개별 단위가

- 전이 원소, 내부 전이 원소, 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 가교 성분, 및
- 착화 성분을 포함하되,

상기 전이 원소가 크롬인 경우, 크롬 표적 분자 착체가 형성되는 것인 구조물.

청구항 12

삭제

청구항 13

제11항에 있어서, 상기 가교 성분이 크롭인 구조물.

청구항 14

제11항에 있어서, 상기 착화 성분이 폴리(비스)-[(N-(2,6-디이소프로필페닐)카르바모일 메틸)이미노디아세트 산]을 포함하는 것인 구조물.

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

제1항에 있어서, 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트를 추가로 포함하는 구조물.

청구항 21

삭제

청구항 22

제1항에 있어서, 인슐린에 결합된 하나 이상의 하전된 유기 분자를 추가로 포함하고, 상기 하전된 유기 분자가 프로타민, 폴리리신, 고염기성 아미노산 중합체, 1:1:1 몰비의 폴리(arg-pro-thr)_n, 6:1 몰비의 폴리(DL-Ala-폴리-L-lys)_n, 히스톤, 1급 아미노기에 의해 부여된 양전하를 함유하는 당 중합체, 1급 아미노기를 갖는 폴리뉴클레오티드, 카르복실화 중합체 및 중합체성 아미노산, 카르복실(COO⁻) 또는 술폰히드랄(S⁻) 관능기를 갖는 다량의 아미노산 잔기를 함유하는 단백질, 음으로 하전된 말단 산성 카르복실기를 갖는 단백질, 산성 중합체, 음으로 하전된 카르복실기를 함유하는 당 중합체, 및 상기 언급한 화합물들의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 구조물.

청구항 23

삭제

청구항 24

a. 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하는 혼합물을 생성하는 단계;

b. 수성 매질 중에서 구조물의 현탁액을 형성하는 단계; 및

c. 상기 구조물에 인슐린을 담지(loading)하는 단계를 포함하는,

인슐린, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하며, 상기 연장된 양친매성 지질은 바이오틴-X DHPE,

바이오틴 DHPE 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이고, 상기 인슐린은 1종의 유리 인슐린 분자 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 1종의 인슐린 분자를 포함하는 것인 구조물의 제조 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 구조물에 인슐린을 담지하는 단계가 평형 담지 및 비-평형 담지를 포함하는 것인 방법.

청구항 26

제24항에 있어서, 구조물에 인슐린을 담지하는 단계가, 수성 매질 중 구조물의 혼합물에 유리 인슐린을 함유하는 용액을 첨가하고, 평형에 도달할 때까지 인슐린을 상기 혼합물과 접촉하도록 유지시키는 것을 포함하는 것인 방법.

청구항 27

제24항에 있어서,

d. 혼합물이 평형에 도달한 후, 구조물에 인슐린을 최종적으로 담지하는 단계를 추가로 포함하며, 여기서 유리 인슐린을 함유하는 용액이 상기 구조물로부터 제거되고, 추가로 상기 구조물이 인슐린을 포함하는 것인 방법.

청구항 28

제27항에 있어서,

e. 급속 여과 절차, 원심분리, 여과 원심분리, 및 바이오틴 또는 이미노바이오틴에 대해 친화성을 갖는 이온 교환 수지 또는 스트렙타비딘 아가로스 친화성-수지 겔을 사용하는 크로마토그래피로 이루어진 군으로부터 선택된 방법에 의해, 구조물과 회합된 인슐린을 함유하는 구조물로부터 유리 인슐린을 함유하는 용액을 제거하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 29

제24항에 있어서,

f. 다수개의 연결된 개별 단위를 포함하는 크롬 착체를 구조물에 첨가하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 30

제24항에 있어서,

g. 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트를 구조물에 첨가하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 31

삭제

청구항 32

제24항에 있어서, 구조물에 인슐린을 담지하는 단계가, 구조물에 인슐린을 담지하기 전에 하나의 하전된 유기 분자를 인슐린에 첨가하는 단계를 포함하고, 여기서 상기 하전된 유기 분자가 프로타민, 폴리리신, 고염기성 아미노산 중합체, 1:1:1 몰비의 폴리(arg-pro-thr)_n, 6:1 몰비의 폴리(DL-Ala-폴리-L-lys)_n, 히스톤, 1급 아미노기에 의해 부여된 양전하를 함유하는 당 중합체, 1급 아미노기를 갖는 폴리뉴클레오타이드, 카르복실화 중합체 및 중합체성 아미노산, 카르복실 (COO⁻) 또는 술폰히드랄 (S⁻) 관능기를 갖는 다량의 아미노산 잔기를 함유하는 단백질, 음으로 하전된 말단 산성 카르복실기를 갖는 단백질, 산성 중합체, 음으로 하전된 카르복실기를 함유하는 당 중합체, 및 상기 언급한 화합물들의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 33

다수개의 비-공유결합 여러 자리(multi-dentate) 결합 부위를 포함하는 구조물과 인슐린의 조합물을 포함하고, 상기 인슐린은 1종의 유리 인슐린 분자 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 1종의 인슐린 분자를 포함하는 것인, 환자에서 인슐린의 생체이용률을 증가시키기 위한 제약 조성물.

청구항 34

삭제

청구항 35

제33항에 있어서, 상기 인슐린이 인슐린 리스프로, 인슐린 아스파르트, 속효성 인슐린, 인슐린 글라르진, 인슐린 아연, 연장된 인간 인슐린 아연, 이소판 인슐린, 인간 완충된 속효성 인슐린, 인슐린 글루리신, 재조합 인간 속효성 인슐린, 재조합 인간 인슐린 이소판, 및 상기 언급한 인슐린의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 제약 조성물.

청구항 36

제33항에 있어서, 상기 구조물이 인슐린, 간세포 수용체 결합 분자, 및 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤, 디세틸 포스페이트, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-[3-포스포-rac-(1-글리세롤)], 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 및 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(숙시닐)로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 지질을 포함하는 것인 제약 조성물.

청구항 37

제33항에 있어서, 하나 이상의 하전된 유기 분자를 추가로 포함하고, 상기 하전된 유기 분자가 프로타민, 폴리리신, 고염기성 아미노산 중합체, 1:1:1 몰비의 폴리(arg-pro-thr)_n, 6:1 몰비의 폴리(DL-Ala-폴리-L-lys)_n, 히스톤, 1급 아미노기에 의해 부여된 양전하를 함유하는 당 중합체, 1급 아미노기를 갖는 폴리뉴클레오타이드, 카르복실화 중합체 및 중합체성 아미노산, 카르복실(COO⁻) 또는 술폰히드랄(S⁻) 관능기를 갖는 다량의 아미노산 잔기를 함유하는 단백질, 음으로 하전된 말단 산성 카르복실기를 갖는 단백질, 산성 중합체, 음으로 하전된 카르복실기를 함유하는 당 중합체, 및 상기 언급한 화합물들의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 제약 조성물.

청구항 38

a. 이미노바이오틴을 포함하는 지질을 통해 구조물을 pH 9.5 이상의 스트렙타비딘 아가로스 친화성-젤에 결합시킴으로써, 벌크 상 매질로부터 구조물을 제거하는 단계;

b. 상기 벌크 상 매질로부터 상기 구조물을 분리시키는 단계; 및

c. 상기 친화성 젤의 수성 혼합물의 pH를 pH 4.5로 조정함으로써 상기 친화성-젤로부터 상기 구조물을 방출시키며, 방출된 구조물은 불용성 인슐린을 함유하는 것인 단계를 포함하며;

온혈 숙주에게 상기 구조물을 투여할 때, 상기 숙주에서 생리학적 pH 상태하에 인슐린이 재가용화되는 것인, 숙주에서 인슐린의 증가된 생체 분포를 제공하는 시간-방출 조성물을 형성하는 방법.

청구항 39

인슐린, 양친매성 지질, 연장된 양친매성 지질, 및 구조물과 회합된 당뇨병 치료용 인슐린을 포함하는 유효량의 구조물을 포함하고, 상기 연장된 양친매성 지질은 바이오틴-X DHPE, 바이오틴 DHPE 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이고, 상기 인슐린은 1종의 유리 인슐린 분자 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 1종의 인슐린 분자를 포함하는 것인, 당뇨병에 걸린 환자를 치료하기 위한 제약 조성물.

청구항 40

제39항에 있어서, 상기 인슐린이 인슐린 리스프로, 인슐린 아스파르트, 속효성 인슐린, 인슐린 글라르진, 인슐린 아연, 연장된 인간 인슐린 아연, 이소판 인슐린, 인간 완충된 속효성 인슐린, 인슐린 글루리신, 재조합 인간 속효성 인슐린, 재조합 인간 인슐린 이소판, 및 상기 언급한 인슐린의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 제약 조성물.

청구항 41

제39항에 있어서, 상기 착체가 다수개의 연결된 개별 단위를 포함하며, 추가로 상기 연결된 개별 단위

- a. 전이 원소, 내부 전이 원소, 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 가교 성분, 및
 - b. 착화 성분을 포함하되,
- 상기 전이 원소가 크롬인 경우, 크롬 표적 분자 착체가 형성되는 것인 제약 조성물.

청구항 42

삭제

청구항 43

제39항에 있어서, 경구 또는 피하 투여되는 제약 조성물.

청구항 44

제39항에 있어서, 상기 구조물과 회합된 인슐린이 인슐린에 결합된 하나 이상의 하전된 유기 분자를 포함하고, 상기 하전된 유기 분자가 프로타민, 폴리리신, 고염기성 아미노산 중합체, 1:1:1 몰비의 폴리(arg-pro-thr)_n, 6:1 몰비의 폴리(DL-Ala-폴리-L-lys)_n, 히스톤, 1급 아미노기에 의해 부여된 양전하를 함유하는 당 중합체, 1급 아미노기를 갖는 폴리뉴클레오티드, 카르복실화 중합체 및 중합체성 아미노산, 카르복실 (COO⁻) 또는 술폰히드랄 (S⁻) 관능기를 갖는 다량의 아미노산 잔기를 함유하는 단백질, 음으로 하전된 말단 산성 카르복실기를 갖는 단백질, 산성 중합체, 음으로 하전된 카르복실기를 함유하는 당 중합체, 및 상기 언급한 화합물들의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 제약 조성물.

청구항 45

인슐린, 양친매성 지질, 연장된 지질을 포함하며 여러 크기로 존재하는 구조물을 포함하고, 상기 연장된 지질은 바이오틴-X DHPE, 바이오틴 DHPE 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이고, 상기 인슐린은 1종의 유리 인슐린 분자 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 1종의 인슐린 분자를 포함하는 것인, 당뇨병에 걸린 환자의 간에 있는 간세포로의 인슐린 전달을 증가시키기 위한 제약 조성물.

청구항 46

제45항에 있어서, 상기 인슐린이 인슐린 리스프로, 인슐린 아스파르트, 속효성 인슐린, 인슐린 글라르긴, 인슐린 아연, 연장된 인간 인슐린 아연, 이소판 인슐린, 인간 완충된 속효성 인슐린, 인슐린 글룰리신, 재조합 인간 속효성 인슐린, 재조합 인간 인슐린 이소판, 및 상기 언급한 인슐린의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 제약 조성물.

청구항 47

제45항에 있어서, 가수분해성 효소가 인슐린에 접근하지 못하도록 하는 지질 분자의 3차원 구조 배열을 제공함으로써, 구조물 내의 인슐린이 가수분해성 분해로부터 보호되는 것인 제약 조성물.

청구항 48

제45항에 있어서, 상기 구조물에 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트를 추가로 포함하는 제약 조성물.

청구항 49

제45항에 있어서, 구조물 내의 인슐린이 불용성 투여 형태인 제약 조성물.

청구항 50

인슐린, 구조물, 생리학적 완충액, 투여기(applicator), 및 사용 지침서를 포함하며, 상기 구조물이 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하고, 상기 연장된 양친매성 지질은 바이오틴-X DHPE, 바이오틴 DHPE 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이며, 상기 인슐린은 1종의 유리 인슐린 분자 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 1종의 인슐린 분자를 포함하는 것인, 당뇨병에 걸린 포유동물을 치료하는데 사용하기 위한 키트.

청구항 51

삭제

청구항 52

a. 1종 이상의 유리 인슐린; 및

b. 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 1종 이상의 인슐린을 포함하며,

상기 표적 분자 착체는

- a. i. 전이 원소 및 내부 전이 원소로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 가교 성분, 및
- ii. 착화 성분을 포함하는 다중 연결된 개별 단위; 및

b. 1종 이상의 지질 성분을 포함하는 구조물 매트릭스의 조합물로 이루어지되,

상기 전이 원소가 크롬인 경우, 크롬 표적 분자 착체가 생성되고,

추가로 상기 표적 분자 착체가 음전하를 포함하는 것인, 간세포-표적화 조성물.

청구항 53

제52항에 있어서, 상기 인슐린이 인슐린 리스프로, 인슐린 아스파르트, 속효성 인슐린, 인슐린 글라르긴, 인슐린 아연, 연장된 인간 인슐린 아연, 이소판 인슐린, 인간 완충된 속효성 인슐린, 인슐린 글롤리신, 재조합 인간 속효성 인슐린, 재조합 인간 인슐린 이소판, 및 상기 언급한 인슐린의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된 것인 간세포-표적화 조성물.

청구항 54

삭제

청구항 55

제52항에 있어서, 상기 지질 성분이 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤, 콜레스테롤 올레이트, 디세틸포스페이트, 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스페이트, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스페이트, 및 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스페이트로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 지질을 포함하는 것인 간세포-표적화 조성물.

청구항 56

제52항에 있어서, 상기 지질 성분이 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤 및 디세틸 포스페이트로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 지질을 포함하는 것인 간세포-표적화 조성물.

청구항 57

제52항에 있어서, 상기 지질 성분이 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤 및 디세틸 포스페이트의 혼합물을 포함하는 것인 간세포-표적화 조성물.

청구항 58

제52항에 있어서, 상기 가교 성분이 크롬인 간세포-표적화 조성물.

청구항 59

제52항에 있어서, 상기 착화 성분이

N-(2,6-디이소프로필페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;

N-(2,6-디에틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;

N-(2,6-디메틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
 N-(4-이소프로필페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
 N-(4-부틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
 N-(2,3-디메틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
 N-(2,4-디메틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
 N-(2,5-디메틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
 N-(3,4-디메틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
 N-(3,5-디메틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
 N-(3-부틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
 N-(2-부틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
 N-(4-3급 부틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
 N-(3-부톡시페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
 N-(2-헥실옥시페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
 N-(4-헥실옥시페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
 아미노피롤 이미노디아세트산;
 N-(3-브로모-2,4,6-트리메틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
 벤즈이미다졸 메틸 이미노디아세트산;
 N-(3-시아노-4,5-디메틸-2-피릴카르바모일메틸)이미노디아세트산;
 N-(3-시아노-4-메틸-5-벤질-2-피릴카르바모일메틸)이미노디아세트산; 및
 N-(3-시아노-4-메틸-2-피릴카르바모일메틸)이미노디아세트산

으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 화합물을 포함하는 것인 간세포-표적화 조성물.

청구항 60

제52항에 있어서, 상기 착화 성분이 폴리(비스)[N-(2,6-디이소프로필페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산]을 포함하는 것인 간세포-표적화 조성물.

청구항 61

다중 연결된 개별 단위 및 구조물 매트릭스를 포함하는 표적 분자 착체를 생성하는 단계;
 완충액 중에서 표적 분자 착체의 현탁액을 형성하는 단계; 및
 인슐린과 상기 표적 분자 착체를 배합하는 단계를 포함하는, 제52항의 간세포-표적화 조성물의 제조 방법.

청구항 62

다중 연결된 개별 단위 및 구조물 매트릭스를 포함하는 표적 분자 착체를 생성하는 단계;
 수성 매질 중에서 표적 분자 착체의 현탁액을 형성하는 단계;
 수성 현탁액의 pH를 pH 5.3으로 조정하는 단계;
 글라르긴 인슐린의 pH를 4.8로 조정하는 단계; 및
 상기 글라르긴 인슐린과 상기 표적 분자 착체를 배합하는 단계를 포함하며,
 상기 인슐린이 글라르긴 인슐린인, 제52항의 간세포-표적화 조성물의 제조 방법.

청구항 63

다중 연결된 개별 단위 및 구조물 매트릭스를 포함하는 표적 분자 착체를 생성하는 단계;

수성 매질 중에서 표적 분자 착체의 현탁액을 형성하는 단계;

수성 현탁액의 pH를 pH 5.3으로 조정하는 단계;

글라르긴 인슐린의 pH를 4.8로 조정하는 단계; 및

상기 글라르긴 인슐린, 비-글라르긴 인슐린 및 상기 표적 분자 착체를 배합하는 단계를 포함하며,

상기 인슐린이 글라르긴 인슐린 및 1종 이상의 비-글라르긴 인슐린을 포함하는 것인, 제52항의 간세포-표적화 조성물의 제조 방법.

청구항 64

유효량의 제52항의 간세포-표적화 조성물을 포함하는, 제I형 또는 제II형 당뇨병 환자를 치료하기 위한 제약 조성물.

청구항 65

제64항에 있어서, 경구, 비경구, 피하, 폐 및 협측 투여 경로로 이루어진 군으로부터 선택되는 경로로 투여되는 제약 조성물.

청구항 66

제64항에 있어서, 경구 또는 피하 투여 경로로 투여되는 제약 조성물.

청구항 67

유효량의 제52항의 간세포-표적화 조성물을 포함하며, 인슐린이 글라르긴 인슐린 및 1종 이상의 비-글라르긴 인슐린을 포함하고, 추가로 상기 비-글라르긴 인슐린이 인슐린 리스프로, 인슐린 아스파르트, 속효성 인슐린, 인슐린 글라르긴, 인슐린 아연, 연장된 인간 인슐린 아연, 이소판 인슐린, 인간 완충된 속효성 인슐린, 인슐린 글루클리신, 재조합 인간 속효성 인슐린, 재조합 인간 인슐린 이소판, 및 상기 언급한 인슐린의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 제I형 또는 제II형 당뇨병 환자를 치료하기 위한 제약 조성물.

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

유효량의 제52항의 간세포-표적화 조성물을 포함하며, 인슐린이 재조합 인간 인슐린 이소판, 및 재조합 인간 인슐린 이소판이 아닌 1종 이상의 인슐린을 포함하는 것인, 제I형 또는 제II형 당뇨병 환자를 치료하기 위한 제약 조성물.

청구항 73

삭제

청구항 74

인슐린, 생리학적 완충액, 투여기, 사용 지침서, 및 수불용성 표적 분자 착체를 포함하며, 상기 착체는 다중 연결된 개별 단위, 및 음전하를 함유하는 구조물 매트릭스를 포함하고, 상기 다중 연결된 개별 단위는 전이 원소, 내부 전이 원소, 및 상기 원소들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 가교 성분, 및 착화 성분을 포함하되, 상기 전이 원소가 크롬인 경우 크롬 표적 분자 착체가 생성되고, 상기 다중 연결된 개별 단위가 구조물 매트릭스와 배합된 것이며, 상기 인슐린은 1종의 유리 인슐린 분자 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 1종의 인슐린 분자를 포함하는 것인, 포유동물에서 제I형 또는 제II형 당뇨병을 치료하는데 사용하기 위한 키트.

청구항 75

제74항에 있어서, 1종 이상의 인슐린을 추가로 포함하고, 상기 착체가 전하를 포함하는 것인 키트.

명세서

배경 기술

- [0001] 당뇨병은 전세계의 매우 수많은 인구가 걸려있는 질병이다. 제I형 및 제II형 당뇨병을 조절하기 위한 관리법은 주로 단기간 및 장기간 합병증을 방지하기 위해 혈중 글루코스 수준을 정상화하는 것을 목적으로 한다. 여러 환자들은 그들의 당뇨병을 조절하기 위해 인슐린을 매일 수회 주사할 필요가 있다. 여러 인슐린 제품들은 상이한 시간 간격에 걸쳐 혈당 수준을 조절하는 것으로 제조되었다. 여러 제품들은 광범위한 시간에 걸쳐 글루코스 수준을 조절하는 제제를 제공하기 위한 시도에서 여러 형태의 인슐린을 조합한다.
- [0002] 제I형 및 제II형 당뇨병 환자에서 혈중 글루코스 수준을 정상화하기 위한 종래의 시도는 다양한 시간-방출 제제, 에컨대 울트라렌트(ultralente) 및 휴물린(humulin) NPH 인슐린 제약 제품으로 인슐린을 피하 투여하는 것에 집중되었다. 이들 제제는 말초 조직으로의 인슐린 방출을 제어함으로써 인슐린의 생체 분포를 지연시키고 후속적으로 이를 조절하는 것을 시도하였으며, 인슐린 생체이용률의 지속적인 처리가 보다 양호한 글루코스 조절을 유도할 것이라고 예상하였다. 글라르긴 인슐린은 장기간 작용 인슐린으로서, 인슐린이 하루 종일 비교적 일정한 속도로 주사 부위 근처의 피하 조직으로부터 혈류로 방출된다. 글라르긴 인슐린이 하루 종일 일정한 속도로 방출되긴 하지만, 방출된 인슐린은 신체의 표적화된 영역으로 전달되기 보다는 신체내의 광범위한 시스템에 도달한다. 투여된 인슐린의 일부가 하루 종일 비교적 일정한 속도로 방출되고, 인슐린의 또다른 일부는 투여 부위로부터 시간 방출되어 간으로 전달되도록 표적화되어, 글루코스 생성을 보다 양호하게 조절하는 인슐린 조성물이 요구된다.
- [0003] 따라서, 제I형 및 제II형 당뇨병 환자에서 혈중 글루코스 수준을 관리하는 조성물 및 방법이 당 분야에서 여전히 요구된다. 본 발명은 유리 인슐린, 및 간세포에 전달되도록 표적화된 지질 구조물과 회합된 인슐린을 포함하는 장기간 작용 조성물을 제공함으로써 이러한 요구를 충족시킨다. 지질 구조물은 개별 지질 분자가 협동적으로 상호작용하여 구조물이 형성된 매질의 부분을 밀폐하고 고립시키는 양극성 지질 막을 생성하는 지질/인지질 입자이다. 상기 지질 구조물은 시간에 따라 유리 인슐린을 방출할 뿐만 아니라, 나머지 인슐린의 일부를 간에 있는 간세포로 표적화하여, 글루코스 저장 및 생성을 보다 양호하게 조절한다.
- [0004] <발명의 개요>
- [0005] 한 측면에서, 본 발명은 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하며, 상기 연장된 양친매성 지질은 근위부, 중위부 및 원위부를 포함하고, 상기 근위부는 연장된 양친매성 지질을 지질 구조물에 연결하고, 상기 원위부는 지질 구조물을 간세포에 의해 제시된 수용체에 대해 표적화하고, 상기 중위부는 근위부와 원위부를 연결하는 것인 지질 구조물을 포함한다.
- [0006] 또다른 측면에서, 상기 지질 구조물은 1종 이상의 인슐린을 추가로 포함한다.
- [0007] 또다른 측면에서, 상기 1종 이상의 인슐린이 인슐린 리스프로, 인슐린 아스파르트, 속효성(regular) 인슐린, 인슐린 글라르긴, 인슐린 아연, 연장된 인간 인슐린 아연, 이소판 인슐린, 인간 완충된 속효성 인슐린, 인슐린 글루톨리신, 재조합 인간 속효성 인슐린, 재조합 인간 인슐린 이소판, 상기 언급한 임의의 인슐린의 예비 혼합된 조합물, 이들의 유도체, 및 상기 언급한 임의의 인슐린의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0008] 또다른 측면에서, 상기 지질 구조물은 지질 구조물과 회합된 1종 이상의 인슐린의 불용성 형태를 추가로 포함한다.

- [0009] 또다른 측면에서, 상기 양친매성 지질은 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤, 디세틸 포스페이트, 1,2-디팔미토일-sn-글리세롤-[3-포스포-rac-(1-글리세로)], 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(숙시닐), 이들의 유도체, 및 상기 임의의 화합물의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 지질을 포함한다.
- [0010] 한 측면에서, 상기 연장된 양친매성 지질의 근위부는 주쇄에 결합된 아실 탄화수소 장쇄를 1개 이상 2개 이하 포함하고, 각각의 탄화수소 쇄는 포화 탄화수소 쇄 및 불포화 탄화수소 쇄로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택된다.
- [0011] 또다른 측면에서, 상기 주쇄는 글리세롤을 포함한다.
- [0012] 또다른 측면에서, 상기 연장된 양친매성 지질의 원위부는 바이오틴, 바이오틴 유도체, 이미노바이오틴, 이미노바이오틴 유도체, 바이오시틴, 바이오시틴 유도체, 이미노바이오시틴, 이미노바이오시틴 유도체, 및 간세포의 수용체에 결합하는 간세포 특이적 분자로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 성분을 포함한다.
- [0013] 또다른 측면에서, 상기 연장된 양친매성 지질은 N-히드록시숙신이미드 (NHS) 바이오틴; 술포-NHS-바이오틴; N-히드록시숙신이미드 장쇄 바이오틴; 술포-N-히드록시숙신이미드 장쇄 바이오틴; D-바이오틴; 바이오시틴; 술포-N-히드록시숙신이미드-S-S-바이오틴; 바이오틴-BMCC; 바이오틴-HPDP; 요오도아세틸-LC-바이오틴; 바이오틴-히드라지드; 바이오틴-LC-히드라지드; 바이오시틴 히드라지드; 바이오틴 카다베린; 카르복시바이오틴; 포토바이오틴; ρ -아미노벤조일 바이오시틴 트리플루오로아세테이트; ρ -디아조벤조일 바이오시틴; 바이오틴 DHPE; 바이오틴-X-DHPE; 12-((바이오티닐)아미노)도데칸산; 12-((바이오티닐)아미노)도데칸산 숙신이미딜 에스테르; S-바이오티닐 호모시스테인; 바이오시틴-X; 바이오시틴 x-히드라지드; 바이오틴에틸렌디아민; 바이오틴-XL; 바이오틴-X-에틸렌디아민; 바이오틴-XX 히드라지드; 바이오틴-XX-SE; 바이오틴-XX, SSE; 바이오틴-X-카다베린; α -(t-BOC)바이오시틴; N-(바이오티닐)-N'-(요오도아세틸)에틸렌디아민; DNP-X-바이오시틴-X-SE; 바이오틴-X-히드라지드; 노르바이오틴아민 히드로클로라이드; 3-(N-말레이미딜프로피오닐)바이오시틴; ARP; 바이오틴-1-술포시드; 바이오틴 메틸 에스테르; 바이오틴-말레이미드; 바이오틴-폴리(에틸렌글리콜)아민; (+) 바이오틴 4-아미도벤조산 나트륨염; 바이오틴 2-N-아세틸아미노-2-데옥시- β -D-글루코피라노시드; 바이오틴- α -D-N-아세틸뉴라미드; 바이오틴- α -L-푸코시드; 바이오틴 락토-N-바이오시드; 바이오틴-루이스-A 트리사카라이드; 바이오틴-루이스-Y 테트라사카라이드; 바이오틴- α -D-만노피라노시드; 바이오틴 6-O-포스포- α -D-만노피라노시드; 및 폴리카복-폴리(비스)-N-[2,6-(디이소프로필페닐)카르바모일 메틸]이미노디아세트산으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0014] 한 측면에서, 상기 연장된 양친매성 지질의 중위부는 티오-아세틸 트리글리신 중합체 또는 이들의 유도체를 포함하고, 상기 연장된 양친매성 지질 분자가 지질 구조물의 표면으로부터 바깥으로 연장되어 있다.
- [0015] 또다른 측면에서, 상기 지질 구조물은 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 1종 이상의 인술린을 추가로 포함하고, 상기 착체가 다수개의 연결된 개별 단위를 포함하고, 상기 개별 단위가 전이 원소, 내부 전이 원소, 상기 전이 원소의 인접 원소, 및 상기 임의의 원소들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 가교 성분, 및 착화 성분을 포함하되, 상기 전이 원소가 크롬인 경우, 크롬 표적 분자 착체가 형성된다.
- [0016] 또다른 측면에서, 상기 지질 구조물은 표적 분자 착체와 회합되지 않은 1종 이상의 인술린을 추가로 포함한다.
- [0017] 추가의 측면에서, 상기 가교 성분은 크롬이다.
- [0018] 한 측면에서, 상기 착화 성분은 폴리(비스)-[(N-(2,6-디이소프로필페닐)카르바모일 메틸)이미노디아세트산]을 포함한다.
- [0019] 또다른 측면에서, 상기 연장된 양친매성 지질의 원위 성분은 비-극성 유도체화 벤젠 고리 또는 헤테로시클릭 고리 구조체를 포함한다.
- [0020] 또다른 측면에서, 상기 구조물은 양전하, 음전하 또는 이들의 조합물을 포함한다.
- [0021] 한 측면에서, 상기 연장된 양친매성 지질은 원위부의 말단부로부터 약 13.5 Å 이하의 거리에 위치한 하나 이상의 카르보닐 부분을 포함한다.
- [0022] 또다른 측면에서, 상기 연장된 양친매성 지질은 2급 아민을 포함하는 하나 이상의 카르바모일 부분을 포함한다.
- [0023] 또다른 측면에서, 상기 연장된 양친매성 지질은 중위 지점에 하전된 크롬을 포함한다.

- [0024] 추가의 측면에서, 상기 지질 구조물은 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트를 추가로 포함한다.
- [0025] 또다른 측면에서, 상기 지질 구조물은 인슐린에 결합된 하나 이상의 하전된 유기 분자를 추가로 포함한다.
- [0026] 한 측면에서, 상기 하전된 유기 분자는 프로타민, 폴리로신의 유도체, 고염기성 아미노산 중합체, 1:1:1 몰비의 폴리(arg-pro-thr)_n, 6:1 몰비의 폴리(DL-Ala-폴리-L-lys)_n, 히스톤, 1급 아미노기에 의해 부여된 양전하를 함유하는 당 중합체, 1급 아미노기를 갖는 폴리뉴클레오타이드, 카르복실화 중합체 및 중합체성 아미노산, 카르복실(COO⁻) 또는 술폰히드랄(S⁻) 관능기를 갖는 다량의 아미노산 잔기를 함유하는 단백질의 단편, 음으로 하전된 말단 산성 카르복실기를 갖는 단백질의 유도체, 산성 중합체, 음으로 하전된 카르복실기를 함유하는 당 중합체, 이들의 유도체, 및 상기 언급한 화합물들의 임의의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0027] 또다른 측면에서, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하는 혼합물을 생성하는 단계; 및 수성 매질 중에서 지질 구조물의 현탁액을 형성하는 단계를 포함하는, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하며, 상기 연장된 양친매성 지질은 근위부, 중위부 및 원위부를 포함하고, 상기 근위부는 연장된 양친매성 지질을 지질 구조물에 연결하고, 상기 원위부는 지질 구조물을 간세포에 의해 제시된 수용체에 대해 표적화하고, 상기 중위부는 근위부와 원위부를 연결하는 것인 지질 구조물의 제조 방법이 제공된다.
- [0028] 또다른 측면에서, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하는 혼합물을 생성하는 단계; 수성 매질 중에서 지질 구조물의 현탁액을 형성하는 단계; 및 상기 지질 구조물에 인슐린을 담지(loading)하는 단계를 포함하는, 인슐린, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하며, 상기 연장된 양친매성 지질은 근위부, 중위부 및 원위부를 포함하고, 상기 근위부는 연장된 양친매성 지질을 지질 구조물에 연결하고, 상기 원위부는 지질 구조물을 간세포에 의해 제시된 수용체에 대해 표적화하고, 상기 중위부는 근위부와 원위부를 연결하는 것인 지질 구조물의 제조 방법이 제공된다.
- [0029] 또다른 측면에서, 지질 구조물에 인슐린을 담지하는 단계는 평형 담지 및 비-평형 담지를 포함한다.
- [0030] 또다른 측면에서, 지질 구조물에 인슐린을 담지하는 단계는, 수성 매질 중 지질 구조물의 혼합물에 유리 인슐린을 함유하는 용액을 첨가하고, 평형에 도달할 때까지 인슐린을 상기 혼합물과 접촉하도록 유지시키는 것을 포함한다.
- [0031] 또다른 측면에서, 상기 방법은, 혼합물이 평형에 도달한 후, 지질 구조물에 인슐린을 최종적으로 담지하는 단계를 추가로 포함하며, 여기서 유리 인슐린을 함유하는 용액이 상기 구조물로부터 제거되고, 추가로 상기 구조물이 인슐린을 포함한다.
- [0032] 한 측면에서, 상기 방법은, 급속 여과 절차, 원심분리, 여과 원심분리, 및 바이오틴, 이미노바이오틴 또는 이들의 유도체에 대해 친화성을 갖는 이온 교환 수지 또는 스트렙타비딘 아가로스 친화성-수지 겔을 사용하는 크로마토그래피로 이루어진 군으로부터 선택된 방법에 의해, 지질 구조물과 회합된 인슐린을 함유하는 지질 구조물로부터 유리 인슐린을 함유하는 용액을 제거하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0033] 또다른 측면에서, 상기 방법은 다수개의 연결된 개별 단위를 포함하는 크롬 착체를 지질 구조물에 첨가하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0034] 또다른 측면에서, 상기 방법은 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트를 지질 구조물에 첨가하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0035] 또다른 측면에서, 상기 방법은 상기 방법으로부터 인슐린, 이온 교환 수지 및 스트렙타비딘 아가로스 친화성-겔로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 물질을 재생 이용하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0036] 또다른 측면에서, 지질 구조물에 인슐린을 담지하는 단계는, 지질 구조물에 인슐린을 담지하기 전에 하나 이상의 하전된 유기 분자를 인슐린에 첨가하는 단계를 포함한다.
- [0037] 또다른 측면에서, 다수개의 비-공유결합 여러 자리(multi-dentate) 결합 부위를 포함하는 지질 구조물을 1종 이상의 인슐린과 배합하는 단계; 및 인슐린을 함유하는 상기 구조물을 환자에게 투여하는 단계를 포함하는, 환자에서 1종 이상의 인슐린의 생체이용률을 증가시키는 방법이 제공된다.
- [0038] 또다른 측면에서, 상기 방법은 1종 이상의 활성 성분의 등전점을 조절하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0039] 또다른 측면에서, 상기 인슐린은 인슐린 리스프로, 인슐린 아스파르트, 속효성 인슐린, 인슐린 글라르긴, 인슐린 아연, 연장된 인간 인슐린 아연, 이소판 인슐린, 인간 완충된 속효성 인슐린, 인슐린 글클리신, 재조합 인간

속효성 인슐린, 제조합 인간 인슐린 이소판, 상기 언급한 임의의 인슐린의 예비 혼합된 조합물, 이들의 유도체, 및 상기 언급한 임의의 인슐린의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된다.

- [0040] 추가의 측면에서, 상기 인슐린은 인슐린 리스프로, 인슐린 아스파르트, 속효성 인슐린, 인슐린 글라르긴, 인슐린 아연, 연장된 인간 인슐린 아연, 이소판 인슐린, 인간 완충된 속효성 인슐린, 인슐린 글룰리신, 제조합 인간 속효성 인슐린, 제조합 인간 인슐린 이소판, 상기 언급한 임의의 인슐린의 예비 혼합된 조합물, 이들의 유도체, 및 상기 언급한 임의의 인슐린의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0041] 한 측면에서, 상기 방법은 인슐린과 지질 구조물을 배합하기 전에, 하나 이상의 하전된 유기 분자를 인슐린에 첨가하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0042] 또다른 측면에서, 이미노바이오틴 또는 이미노바이오틴 유도체를 포함하는 지질을 통해 지질 구조물을 pH 9.5 이상의 스트렙타비딘 아가로스 친화성-겔에 결합시킴으로써, 벌크 상 매질로부터 지질 구조물을 제거하는 단계; 상기 벌크 상 매질로부터 상기 구조물을 분리시키는 단계; 및 상기 친화성 겔의 수성 혼합물의 pH를 pH 4.5로 조정함으로써 상기 친화성-겔로부터 상기 구조물을 방출시키며, 방출된 구조물은 불용성 인슐린을 함유하는 것인 단계를 포함하며, 온혈 숙주에게 상기 구조물을 투여할 때, 상기 숙주에서 생리학적 pH 상태하에 인슐린이 재가용화되는 것인, 숙주에서 인슐린의 증가된 생체 분포를 제공하는 시간-방출 조성물을 형성하는 방법이 제공된다.
- [0043] 또다른 측면에서, 지질 구조물과 회합된 인슐린을 포함하는 유효량의 지질 구조물을 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 당뇨병에 걸린 환자를 치료하는 방법이 제공된다.
- [0044] 또다른 측면에서, 상기 인슐린은 인슐린 리스프로, 인슐린 아스파르트, 속효성 인슐린, 인슐린 글라르긴, 인슐린 아연, 연장된 인간 인슐린 아연, 이소판 인슐린, 인간 완충된 속효성 인슐린, 인슐린 글룰리신, 제조합 인간 속효성 인슐린, 제조합 인간 인슐린 이소판, 상기 언급한 임의의 인슐린의 예비 혼합된 조합물, 이들의 유도체, 및 상기 언급한 임의의 인슐린의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0045] 한 측면에서, 상기 지질 구조물이 표적 분자 착체를 추가로 포함하고, 상기 착체가 다수개의 연결된 개별 단위를 포함하며, 추가로 상기 연결된 개별 단위가 전이 원소, 내부 전이 원소, 상기 전이 원소의 인접 원소 및 상기 임의의 원소들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 가교 성분, 및 착화 성분을 포함하되, 상기 전이 원소가 크롬인 경우, 크롬 표적 분자 착체가 형성된다.
- [0046] 또다른 측면에서, 상기 지질 구조물은 표적 분자 착체와 회합되지 않은 인슐린을 추가로 포함한다.
- [0047] 또다른 측면에서, 상기 투여 경로가 경구 또는 피하이다.
- [0048] 또다른 측면에서, 상기 구조물과 회합된 인슐린은 인슐린에 결합된 하나 이상의 하전된 유기 분자를 포함한다.
- [0049] 한 측면에서, 본 발명은 인슐린, 양친매성 지질, 및 간세포 수용체에 결합하는 부분을 포함하는 연장된 지질을 포함하며, 여러 크기로 존재하는 지질 구조물을 환자에게 투여함으로써, 당뇨병에 걸린 환자의 간에 있는 간세포로의 인슐린 전달을 증가시키는 방법을 포함한다.
- [0050] 또다른 측면에서, 상기 인슐린은 인슐린 리스프로, 인슐린 아스파르트, 속효성 인슐린, 인슐린 글라르긴, 인슐린 아연, 연장된 인간 인슐린 아연, 이소판 인슐린, 인간 완충된 속효성 인슐린, 인슐린 글룰리신, 제조합 인간 속효성 인슐린, 제조합 인간 인슐린 이소판, 상기 언급한 임의의 인슐린의 예비 혼합된 조합물, 이들의 유도체, 및 상기 언급한 임의의 인슐린의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0051] 또다른 측면에서, 상기 방법은 가수분해성 효소가 인슐린에 접근하지 못하도록 하는 지질 분자의 3차원 구조 배열을 제공함으로써, 가수분해성 분해로부터 지질 구조물 내의 인슐린을 보호하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0052] 또다른 측면에서, 상기 방법은 상기 지질 구조물에 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트를 첨가하여 개별 지질 분자와 반응시키는 단계를 추가로 포함한다.
- [0053] 또다른 측면에서, 상기 방법은 지질 구조물 내의 인슐린의 불용성 투여 형태를 제조하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0054] 한 측면에서, 본 발명은 지질 구조물, 생리학적 완충액, 투여기(applicator), 및 사용 지침서를 포함하며, 상기 지질 구조물이 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하고, 상기 연장된 양친매성 지질은 근위부, 중위부 및 원위부를 포함하고, 상기 근위부는 연장된 양친매성 지질을 지질 구조물에 연결하고, 상기 원위부는 지질

구조물을 간세포에 의해 제시된 수용체에 대해 표적화하고, 상기 중위부는 근위부와 원위부를 연결하는 것인, 당뇨병에 걸린 포유동물을 치료하는데 사용하기 위한 키트를 포함한다.

- [0055] 또다른 측면에서, 상기 키트는 1종 이상의 인슐린을 추가로 포함한다.
- [0056] 한 측면에서, 본 발명은 1종 이상의 유리 인슐린; 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 1종 이상의 인슐린; 및 1종 이상의 지질 성분을 포함하는 지질 구조물을 포함하며, 상기 표적 분자 착체는 전이 원소, 내부 전이 원소, 및 상기 전이 원소의 인접 원소로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 가교 성분, 및 착화 성분을 포함하는 다중 연결된 개별 단위의 조합물로 이루어지되, 상기 전이 원소가 크롬인 경우, 크롬 표적 분자 착체가 생성되고, 추가로 상기 표적 분자 착체가 음전하를 포함하는, 간세포-표적화 조성물을 포함한다.
- [0057] 또다른 측면에서, 상기 1종 이상의 인슐린은 인슐린 리스프로, 인슐린 아스파르트, 속효성 인슐린, 인슐린 글라르긴, 인슐린 아연, 연장된 인간 인슐린 아연, 이소판 인슐린, 인간 완충된 속효성 인슐린, 인슐린 글룰리신, 재조합 인간 속효성 인슐린, 재조합 인간 인슐린 이소판, 상기 언급한 임의의 인슐린의 예비 혼합된 조합물, 이들의 유도체, 및 상기 언급한 임의의 인슐린의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0058] 또다른 측면에서, 상기 인슐린은 인슐린의 생물학적 활성을 갖는 인슐린 분자의 단편을 비롯한 인슐린-유사 부분을 포함한다.
- [0059] 또다른 측면에서, 상기 지질 성분은 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤, 콜레스테롤 올레이트, 디세틸포스페이트, 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스페이트, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스페이트, 및 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스페이트로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 지질을 포함한다.
- [0060] 한 측면에서, 상기 지질 성분은 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤 및 디세틸 포스페이트로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 지질을 포함한다.
- [0061] 또다른 측면에서, 상기 지질 성분은 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤 및 디세틸 포스페이트의 혼합물을 포함한다.
- [0062] 또다른 측면에서, 상기 가교 성분은 크롬이다.
- [0063] 또다른 측면에서, 상기 착화 성분은
- [0064] N-(2,6-디이소프로필페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
- [0065] N-(2,6-디에틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
- [0066] N-(2,6-디메틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
- [0067] N-(4-이소프로필페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
- [0068] N-(4-부틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
- [0069] N-(2,3-디메틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
- [0070] N-(2,4-디메틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
- [0071] N-(2,5-디메틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
- [0072] N-(3,4-디메틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
- [0073] N-(3,5-디메틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
- [0074] N-(3-부틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
- [0075] N-(2-부틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
- [0076] N-(4-3급 부틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
- [0077] N-(3-부톡시페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
- [0078] N-(2-헥실옥시페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
- [0079] N-(4-헥실옥시페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;

- [0080] 아미노피롤 이미노디아세트산;
- [0081] N-(3-브로모-2,4,6-트리메틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산;
- [0082] 벤즈이미다졸 메틸 이미노디아세트산;
- [0083] N-(3-시아노-4,5-디메틸-2-피릴카르바모일메틸)이미노디아세트산;
- [0084] N-(3-시아노-4-메틸-5-벤질-2-피릴카르바모일메틸)이미노디아세트산; 및
- [0085] N-(3-시아노-4-메틸-2-피릴카르바모일메틸)이미노디아세트산
- [0086] 으로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 화합물을 포함한다.
- [0087] 또다른 측면에서, 상기 착화 성분은 폴리(비스)[N-(2,6-디이소프로필페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산]을 포함한다.
- [0088] 한 측면에서, 본 발명은 다중 연결된 개별 단위 및 지질 구조물 매트릭스를 포함하는 표적 분자 착체를 생성하는 단계; 완충액 중에서 표적 분자 착체의 현탁액을 형성하는 단계; 및 인슐린과 상기 표적 분자 착체를 배합하는 단계를 포함하는, 간세포-표적화 조성물의 제조 방법을 포함한다.
- [0089] 또다른 측면에서, 다중 연결된 개별 단위 및 지질 구조물 매트릭스를 포함하는 표적 분자 착체를 생성하는 단계; 수성 매질 중에서 표적 분자 착체의 현탁액을 형성하는 단계; 수성 현탁액의 pH를 대략 pH 5.3으로 조정하는 단계; 글라르긴 인슐린의 pH를 대략 4.8로 조정하는 단계; 및 상기 글라르긴 인슐린과 상기 표적 분자 착체를 배합하는 단계를 포함하며, 상기 인슐린이 글라르긴 인슐린인, 간세포-표적화 조성물의 제조 방법이 제공된다.
- [0090] 또다른 측면에서, 다중 연결된 개별 단위 및 지질 구조물 매트릭스를 포함하는 표적 분자 착체를 생성하는 단계; 수성 매질 중에서 표적 분자 착체의 현탁액을 형성하는 단계; 수성 현탁액의 pH를 대략 pH 5.3으로 조정하는 단계; 글라르긴 인슐린의 pH를 대략 4.8로 조정하는 단계; 및 상기 글라르긴 인슐린, 비-글라르긴 인슐린 및 상기 표적 분자 착체를 배합하는 단계를 포함하며, 상기 인슐린이 글라르긴 인슐린 및 1종 이상의 비-글라르긴 인슐린을 포함하는, 간세포-표적화 조성물의 제조 방법이 제공된다.
- [0091] 한 측면에서, 본 발명은 유효량의 간세포-표적화 조성물을 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 제I형 또는 제II형 당뇨병 환자를 치료하는 방법을 포함한다.
- [0092] 또다른 측면에서, 상기 투여 경로는 경구, 비경구, 피하, 폐 및 협측으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0093] 또다른 측면에서, 상기 투여 경로는 경구 또는 피하이다.
- [0094] 한 측면에서, 본 발명은 유효량의 간세포-표적화 조성물을 환자에게 투여하는 것을 포함하며, 인슐린이 글라르긴 인슐린 및 1종 이상의 비-글라르긴 인슐린을 포함하고, 추가로 상기 비-글라르긴 인슐린이 인슐린 리스프로, 인슐린 아스파르트, 속효성 인슐린, 인슐린 글라르긴, 인슐린 아연, 연장된 인간 인슐린 아연, 이소판 인슐린, 인간 완충된 속효성 인슐린, 인슐린 글클리신, 제조합 인간 속효성 인슐린, 제조합 인간 인슐린 이소판, 상기 언급한 임의의 인슐린의 예비 혼합된 조합물, 이들의 유도체, 및 상기 언급한 임의의 인슐린의 조합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인, 제I형 또는 제II형 당뇨병 환자를 치료하는 방법을 포함한다.
- [0095] 또다른 측면에서, 상기 비-글라르긴 인슐린은 인슐린의 생물학적 활성을 갖는 인슐린 분자의 단편을 비롯한 인슐린-유사 부분을 포함한다.
- [0096] 또다른 측면에서, 본 발명은 유효량의 간세포-표적화 조성물을 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 제I형 또는 제II형 당뇨병 환자를 치료하는 방법을 포함한다.
- [0097] 또다른 측면에서, 상기 투여 경로는 경구, 비경구, 피하, 폐 및 협측으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0098] 또다른 측면에서, 상기 투여 경로는 경구 또는 피하이다.
- [0099] 또다른 측면에서, 본 발명은 유효량의 간세포-표적화 조성물을 환자에게 투여하는 것을 포함하며, 인슐린은 제조합 인간 인슐린 이소판, 및 제조합 인간 인슐린 이소판이 아닌 1종 이상의 인슐린을 포함하는, 제I형 또는 제II형 당뇨병 환자를 치료하는 방법을 포함한다.
- [0100] 또다른 측면에서, 제조합 인간 인슐린 이소판이 아닌 1종 이상의 인슐린은 인슐린의 생물학적 활성을 갖는 인슐

린 분자의 단편을 비롯한 인슐린-유사 부분을 포함한다.

[0101] 한 측면에서, 본 발명은 생리학적 완충액, 투여기, 사용 지침서, 및 수불용성 표적 분자 착체를 포함하며, 상기 착체는 다중 연결된 개별 단위, 및 음전하를 함유하는 지질 구조물 매트릭스를 포함하고, 상기 다중 연결된 개별 단위는 전이 원소, 내부 전이 원소, 상기 전이 원소의 인접 원소, 및 상기 임의의 원소들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 가교 성분, 및 착화 성분을 포함하되, 상기 전이 원소가 크롬인 경우, 크롬 표적 분자 착체가 생성되고, 상기 다중 연결된 개별 단위가 지질 구조물 매트릭스와 배합된 것인, 포유동물에서 제I형 또는 제II형 당뇨병을 치료하는데 사용하기 위한 키트를 포함한다.

[0102] 또다른 측면에서, 상기 키트는 1종 이상의 인슐린을 추가로 포함하고, 상기 인슐린이 표적 분자 착체와 회합되고, 상기 착체가 전하를 포함한다.

발명의 상세한 설명

[0127] 본 발명은 인슐린이 구조물 내에서 수불용성 표적 분자 착체와 회합되어 있으며, 환자의 간에 있는 간세포에 표적화되어 당뇨병을 관리하는 효과적인 수단을 제공하는 간세포 표적화 제약 조성물을 포함한다.

[0128] 본 발명은 인슐린, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질 (수용체 결합 분자)을 포함하는 지질 구조물을 포함한다. 연장된 양친매성 지질은 근위부, 중위부 및 원위부를 포함한다. 근위부는 연장된 지질을 구조물에 연결시키고, 원위부는 구조물을 간 내의 간세포 결합 수용체에 연결시키며, 중위부는 근위부와 원위부를 연결시킨다.

[0129] 지질 구조물은 개별 지질 분자들이 협동적으로 상호작용하여 구조물이 형성된 매질의 부분을 밀폐하고 고립시키는 양극성 지질 막을 생성하는 구형 지질 및 인지질 입자이다. 지질 구조물은 인슐린을 간에 있는 간세포로 전달하기 위해 표적화되고, 인슐린의 지속 방출을 제공하여, 당뇨병을 보다 양호하게 조절할 수 있다.

[0130] 본 발명은 또한 유리 인슐린, 및 환자의 간에 있는 간세포에 표적화된 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 인슐린을 조합한 간세포 표적화된 제약 조성물을 포함하며, 상기 조성물은 혈중 글루코스 수준을 관리하는 효과적인 수단을 제공한다. 여러 형태의 인슐린의 혼합물이 표적 분자 착체와 회합되어 인슐린 분자의 독특한 혼합물을 생성하고, 이들 인슐린이 간세포 표적화된 지질 구조물과 배합될 때 추가적인 치료적 이점이 달성된다. 본 발명의 조성물은 당뇨병에 걸린 포유동물을 치료하기 위한 목적으로 다양한 경로, 예컨대 피하 또는 경구로 투여될 수 있다.

[0131] 본 발명은 또한 인슐린, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하는 지질 구조물의 제조 방법을 제공한다. 상기 연장된 양친매성 지질 분자는 근위부, 중위부 및 원위부를 포함한다. 상기 근위부는 연장된 지질을 상기 구조물에 연결한다. 상기 원위부는 상기 구조물을 간세포에 의해 표시된 수용체에 표적화하고, 상기 중위부는 근위부와 원위부를 연결한다.

[0132] 본 발명은 또한 지질 구조물 내에 유리 인슐린, 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 인슐린을 포함하고, 상기 구조물이 상기 착체를 간세포로 전달하기 위해 표적화된 것인 조성물의 제조 방법을 제공한다. 상기 표적 분자 착체는 금속 착체에 의해 형성된 구조체의 다중 연결된 개별 단위를 함유하는 지질 구조물 매트릭스를 포함한다.

[0133] 추가로, 본 발명은 인슐린, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하는, 간세포로의 전달을 위해 표적화된 유효량의 지질 구조물을 투여함으로써 당뇨병에 걸린 개체를 치료하는 방법을 제공한다.

[0134] 본 발명은 또한 인슐린, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하는, 간세포로의 전달을 위해 표적화된 유효량의 지질 구조물을 투여함으로써 당뇨병에 걸린 개체를 치료하는 방법을 제공한다.

[0135] 본 발명은 또한 극성 유기 화합물 또는 화합물들의 혼합물이 인슐린에 결합되어 인슐린의 등전점을 변화시킴으로써 환자를 치료하는 방법을 제공한다. 등전점의 이러한 변화는 조성물로 처리한 환자의 신체로 인슐린의 방출을 변화시킬 것이다.

[0136] 추가로, 본 발명은 유리 인슐린, 및 간세포에 전달되도록 표적화된 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 인슐린을 조합한 유효량의 간세포 표적화된 제약 조성물을 투여함으로써 제I형 및 제II형 당뇨병을 가진 개체에서 혈중 글루코스 수준을 관리하는 방법을 제공한다. 유리 인슐린, 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 인슐린의 조합은 상기 두 가지 형태의 인슐린 사이에 동적 평형 과정을 생성하여, 생체내에서 지정된 시간에 걸쳐 호르몬 작용의 수용체 부위, 예컨대 당뇨병 환자의 근육 및 지방 조직으로 유리 인슐린의 이동을 조절하는데 도움이 된

다. 간세포 표적화된 인슐린은 또한 유리 인슐린에 비해 상이한 지정된 시간에 걸쳐 당뇨병 환자의 간으로 전달되며, 이로써 유리 인슐린이 지질 구조물로부터 방출되었을 때 인슐린의 새로운 약물동력학적 프로파일을 도입한다. 또한, 지질 구조물과 회합된 인슐린의 일부분은 간으로 표적화된다. 생성물의 이러한 새로운 약물동력학적 프로파일은 말초 조직에 대해 장기간 작용 기저 인슐린을 제공할 뿐 아니라, 식사하는 동안 글루코스 저장의 관리를 위한 식사 시간 간세포 인슐린 자극을 제공한다. 유리 인슐린은 투여 부위로부터 방출되어, 신체를 통해 분포된다. 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 인슐린은 간으로 전달되며, 여기서 착체로부터 시간에 걸쳐 방출된다. 표적 분자 착체와 회합된 인슐린의 방출 속도는 투여 부위로부터의 유리 인슐린의 방출 속도와는 상이하다. 이러한 인슐린 전달의 상이한 방출 속도는, 지질 구조물과 회합된 인슐린의 간으로의 표적화된 전달과 조합되어, 제I형 및 제II형 당뇨병을 가진 환자에서 글루코스 농도의 정상화를 제공한다. 간세포 표적화된 조성물은 또한 다른 유형의 인슐린, 또는 다른 유형의 인슐린의 조합물을 포함할 수 있다.

[0137] **정의**

[0138] 달리 정의하지 않는다면, 본원에서 사용된 모든 기술적이고 학술적인 용어들은 일반적으로 본 발명이 속한 당업계의 통상의 숙련가가 통상적으로 이해하고 있는 것과 동일한 의미를 갖는다. 일반적으로, 본원에서 사용된 명칭 및 유기 화학 및 단백질 화학 실험 절차는 당업계에 공지되어 있으며 통상적으로 이용되는 것들이다.

[0139] 본원에서, "a" 및 "an"의 관사는 문법적 지칭 대상을 1개 또는 1개 초과 (즉, 1개 이상)을 지칭하는데 사용된다. 예를 들어, "원소"는 1종의 원소 또는 1종 초과 원소를 의미한다.

[0140] 용어 "활성 성분"은 재조합 인간 인슐린 이소판, 재조합 인간 속효성 인슐린 및 기타 인슐린을 나타낸다.

[0141] 본원에서 사용된 바와 같이, 아미노산은 그의 완전 명칭 또는 하기 표에 표시한 것처럼 그에 상응하는 3문자 코드로 나타낸다:

[0142]

완전 명칭	3문자 코드	완전 명칭	3문자 코드
알라닌	Ala	루이신	Leu
아르기닌	Arg	리신	Lys
아스파라진	Asn	메티오닌	Met
아스파르트산	Asp	페닐알라닌	Phe
시스테인	Cys	프롤린	Pro
시스틴	Cys-Cys	세린	Ser
글루탐산	Glu	트레오닌	Thr
글루타민	Gln	트립토판	Trp
글리신	Gly	티로신	Tyr
히스티딘	His	발린	Val
이소루이신	Ile		

[0143] 용어 "저급"은 1 내지 6개의 탄소 원자를 함유하는 기를 의미한다.

[0144] 용어 "알킬"은 그 자체로 또는 다른 치환체의 일부로서 사용되며, 달리 언급하지 않는다면 표시된 수의 탄소 원자 (즉, C₁-C₆은 1개 내지 6개의 탄소를 의미함)를 갖는 직쇄, 분지쇄 또는 고리쇄 탄화수소를 의미하며, 직쇄, 분지쇄 또는 고리형 기를 포함한다. 예로는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, 이소부틸, tert-부틸, 펜틸, 네오펜틸, 헥실, 시클로헥실 및 시클로프로필메틸 등이 있다. 가장 바람직한 것은 (C₁-C₃)알킬, 특히 에틸, 메틸 및 이소프로필 등이다.

[0145] 용어 "알킬렌"은 그 자체로 또는 또다른 치환체의 일부로서 사용되며, 달리 언급하지 않는다면 2개의 치환 부위를 갖는 직쇄, 분지쇄 또는 고리쇄 탄화수소를 의미하며, 예를 들어 메틸렌 (-CH₂-), 에틸렌 (-CH₂CH₂-), 이소프로필렌 (-CH(CH₃)=CH₂) 등이 있다.

[0146] 용어 "아릴"은 단독으로 사용되거나 다른 용어와 함께 사용되며, 달리 언급하지 않는다면 포화되거나 포화되지 않고, 1개 이상의 고리 (전형적으로는 1개, 2개 또는 3개의 고리)를 함유하며, 이때의 고리는 비페닐 등과 같이 펜던트(pendant) 방식으로 함께 부착될 수도 있고, 또는 나프탈렌 등과 같이 융합될 수도 있는 시클릭 탄소 고리 구조를 의미한다. 예로는 페닐, 안트라실 및 나프틸 등이 있다. 상기 구조는 알콜, 알콕시, 아마이드, 아마

노, 시아나이드, 할로젠 및 니트로 등과 같은 관능기가 결합되는 1개 이상의 치환 부위를 가질 수 있다.

[0147] 용어 "아릴저급알킬"은 아릴기가 저급 알킬렌기에 부착된 관능기, 예를 들어 $-\text{CH}_2\text{CH}_2$ -페닐을 의미한다.

[0148] 용어 "알콕시"는 단독으로 사용되거나 다른 용어와 함께 사용되며, 달리 언급하지 않는다면 표시된 수의 탄소 원자를 갖는 알킬기 또는 히드록실기와 같은 치환체를 함유하며 표시된 수의 탄소 원자를 갖는 알킬기가 산소 원자를 통해 분자의 나머지에 연결된 것을 의미하며, 예를 들어 $-\text{CHOH}-$, $-\text{OCH}_2\text{OH}$, 메톡시 ($-\text{OCH}_3$), 에톡시 ($-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 1-프로폭시 ($-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2-프로폭시 (이소프로폭시), 부톡시 ($-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 펜톡시 ($-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$) 및 더 고급의 동족체 및 이성질체 등이 있다.

[0149] 용어 "아실"은 일반식 $-\text{C}(=\text{O})\text{R}$ (여기서, R은 수소, 히드록카르빌, 아미노 또는 알콕시임)의 관능기를 의미한다. 예로는 아세틸 ($-\text{C}(=\text{O})\text{CH}_3$), 프로피오닐 ($-\text{C}(=\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_3$), 벤조일 ($-\text{C}(=\text{O})\text{C}_6\text{H}_5$), 페닐아세틸 ($-\text{C}(=\text{O})\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 카르보에톡시 ($-\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$) 및 디메틸카르바모일 ($-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{CH}_3)_2$) 등이 있다.

[0150] 용어 "할로" 또는 "할로젠"은 그 자체로 또는 또다른 치환체의 일부로서 사용되며, 달리 언급하지 않는다면 불소, 염소, 브롬 또는 요오드 원자를 의미한다.

[0151] 용어 "헤테로사이클" 또는 "헤테로시클릴" 또는 "헤테로시클릭"은 그 자체로 또는 또다른 치환체의 일부로서 사용되며, 달리 언급하지 않는다면 치환되지 않거나 치환되고 안정하며, 탄소 원자 및 N, O 및 S를 포함하는 군에서 선택된 1개 이상의 이종원자를 포함하고 상기 질소 및 황 이종원자는 임의로 산화될 수 있고 질소 원자는 임의로 4차화될 수 있는 것인 단일 고리형 또는 다중 고리형 헤테로시클릭 고리 시스템을 의미한다. 헤테로시클릭 시스템은 달리 언급하지 않는다면 안정한 구조에 영향을 주는 임의의 이종원자 또는 탄소 원자에서 부착될 수 있다. 예로는 피롤, 이미다졸, 벤즈이미다졸, 프탈레인, 피리데닐, 피라닐, 푸라닐, 티아졸, 티오펜, 옥사졸, 피라졸, 3-피롤린, 피롤리덴, 피리미딘, 퓨린, 퀴놀린, 이소퀴놀린, 카르바졸 등이 있다.

[0152] 용어 "크롬 표적 분자 착체"는 수많은 개별 단위를 포함하는 착체를 지칭하고, 여기서의 각 단위는 다가 분자로 인한 최대 6개 이하의 리간드, 예를 들어 N-(2,6-디이소프로필페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산의 수많은 분자로부터의 리간드를 수용할 수 있는 크롬 (Cr) 원자를 포함한다. 개별 단위는 서로 연결되어, 3차원 배열로 연결된 복잡한 중합체 구조를 형성한다. 중합체성 착체는 물 중에서는 불용성이지만 유기 용매 중에서는 가용성이다.

[0153] 용어 "지질 구조물"은 개별 지질 분자들이 협동적으로 상호작용하여 구조물이 잔류하는 매질의 부분을 밀폐하고 고립시키는 양극성 지질 막을 생성하는 구형 지질 및/또는 인지질 입자를 지칭한다.

[0154] 용어 "양친매성 지질 분자"는 극성 및 비극성 말단을 갖는 지질 분자를 의미한다.

[0155] 용어 "연장된 양친매성 지질"은 지질 구조물의 일부가 지질 구조물로부터 구조물 주변 매질로 연장되고 수용체와 결합하거나 상호작용할 수 있는 구조를 갖는 양친매성 분자를 의미한다.

[0156] "착화제"는 선택된 금속 가교제, 예를 들어 크롬, 지르코늄 등의 염과 중합체성 착체를 형성하는 화합물이며, 상기 중합체성 착체는 물 중에서는 실질적으로 불용성이고 유기 용매 중에서는 가용성인 중합체 성질을 나타낸다.

[0157] "수성 매질"은 물 또는 완충제 또는 염을 함유하는 물을 의미한다.

[0158] "실질적으로 가용성"은 예를 들어 착화제로부터 형성된 조성물 중에서 결정질 또는 무정질일 수 있고 실온에서는 물 중에 불용성인 성질을 나타내는 중합체성 크롬 표적 분자 착체 또는 다른 금속 표적화 착체 등의 물질을 의미한다. 이러한 중합체성 착체 또는 그의 해리 형태는 지질 구조물 매트릭스와 회합될 경우에 온혈 숙주의 간에 있는 간세포로 인슐린을 운반하고 전달하는 기능을 하는 수송체를 형성한다.

[0159] "실질적으로 불용성"은 실온에서 물 중에 불용성인 중합체성 착체, 예컨대 중합체성 크롬 표적 분자 착체 또는 다른 금속 표적화 착체를 의미한다. 조성물 중에서 결정질 또는 무정질일 수 있는 이러한 중합체성 착체 또는 그의 해리 형태는 지질 구조물 형태와 회합될 경우에 간에 있는 간세포로 인슐린을 운반하고 전달하는 수송체를 형성한다.

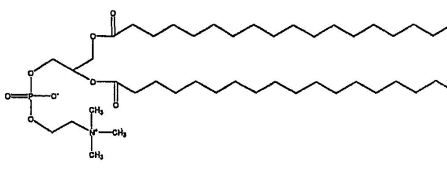
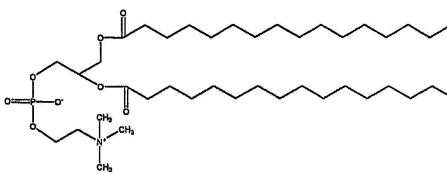
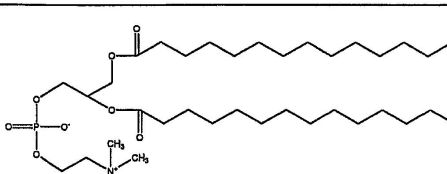
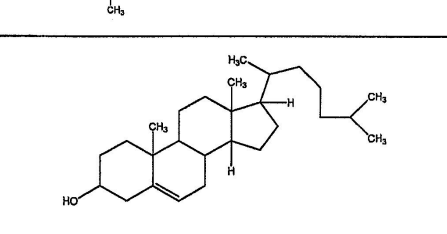
[0160] 용어 "~와 회합된"의 사용은, 언급된 물질이 지질 구조물 매트릭스 내 또는 그의 표면에 또는 그 내부에 혼입된 것을 의미한다.

- [0161] 용어 "인슐린"은 천연 또는 재조합 형태의 인슐린, 및 상기 언급한 인슐린의 유도체를 의미한다. 인슐린의 예로는 인슐린 리스프로, 인슐린 아스파르트, 속효성 인슐린, 인슐린 글라르긴, 인슐린 아연, 연장된 인간 인슐린 아연, 이소판 인슐린, 인간 완충된 속효성 인슐린, 인슐린 글룰리신, 재조합 인간 속효성 인슐린, 및 재조합 인간 인슐린 이소판이 있으나, 이로 한정되는 것은 아니다. 동물 인슐린, 예컨대 소 또는 돼지 인슐린 또한 포함된다.
- [0162] 용어 "유리 인슐린"은 표적 분자 착체와 회합되지 않은 인슐린을 나타낸다.
- [0163] 용어 "글라르긴" 및 "글라르긴 인슐린"은 둘 다 위치 A21의 아미노산 아스파라긴이 글리신으로 교체되고 2개의 아르기닌이 B-쇄의 C-말단에 첨가된 점에서 인간 인슐린과는 상이한 재조합 인간 인슐린 유사체를 나타낸다. 화학적으로 이는 $21^A\text{-Gly-}30^B\text{a-L-Arg-}30^B\text{b-L-Arg-인간 인슐린}$ 이며, $C_{267}H_{404}N_{72}O_{78}S_6$ 의 실험식 및 6063의 분자량을 갖는다. 글라르긴 인슐린의 구조식은 도 11에 제공되어 있다.
- [0164] 용어 "비-글라르긴 인슐린"은 글라르긴 인슐린이 아닌 모든 천연 또는 재조합 인슐린을 나타낸다. 상기 용어는 인슐린의 생물학적 활성을 갖는 인슐린 분자의 단편을 비롯한 인슐린-유사 부분을 포함한다.
- [0165] 용어 "재조합 인간 인슐린 이소판"은 프로타민으로 처리된 인간 인슐린을 나타낸다. 재조합 인간 인슐린 이소판 및 프로타민의 구조식은 도 12에 제공되어 있다.
- [0166] 용어 "재조합 인간 인슐린 이소판 인슐린이 아닌 1종 이상의 인슐린"은 재조합 인간 인슐린 이소판이 아닌 모든 천연 또는 재조합 인슐린을 나타낸다. 상기 용어는 인슐린의 생물학적 활성을 갖는 인슐린 분자의 단편을 비롯한 인슐린-유사 부분을 포함한다.
- [0167] "HDV" 또는 "간세포 전달 비히클"은 금속 가교제 및 착화제의 배합에 의해 형성된 구조체의 다수개 연결된 개별 단위들을 함유하는 지질 구조물 매트릭스를 포함하는 수불용성 표적 분자 착체이다. "HDV"는 WO 99/59545 (발명의 명문 명칭: Targeted Liposomal Drug Delivery System)에 기재되어 있다.
- [0168] "HDV-글라르긴"은 글라르긴 인슐린, 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 글라르긴 인슐린의 혼합물을 포함하며, 상기 착체가 금속 가교제 및 착화제의 배합에 의해 형성된 크롬 및 N-(2,6-디이소프로필페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산의 다중 연결된 개별 단위, 및 지질 구조물 매트릭스를 포함하는, 간세포 표적화된 조성물을 나타낸다.
- [0169] "HDV-NPH"는 유리 재조합 인간 인슐린 이소판, 유리 비-휴물린 인슐린, 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 재조합 인간 인슐린 이소판 및 비-휴물린 인슐린을 포함하며, 상기 착체가 금속 가교제 및 착화제의 배합에 의해 형성된 크롬 및 N-(2,6-디이소프로필페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산의 다중 연결된 개별 단위, 및 지질 구조물 매트릭스를 포함하는, 간세포 표적화된 조성물을 나타낸다.
- [0170] 용어 "생체이용률"은 인슐린이 전신 순환에 도달하고 작용 부위에서 이용가능하게 되는 속도 및 정도의 측정치를 지칭한다.
- [0171] 용어 "등전점"은 단백질상의 양전하 및 음전하의 농도가 동일하게 되어, 그 결과 단백질이 순 제로(net zero) 전하를 나타내게 되는 pH를 나타낸다. 등전점에서는, 단백질이 거의 대부분 쯔비터 이온의 형태 또는 단백질의 하이브리드 형태로 존재할 것이다. 단백질은 등전점에서 최소한 안정하며, 이 pH에서 매우 용이하게 응집 또는 침전된다. 그러나, 이 과정이 본질적으로 비가역적인지 않기 때문에, 등전점 침전시에 단백질이 변성되지는 않는다.
- [0172] 본원에서 사용된 바와 같이, 생물학적 또는 화학적 과정 또는 상태를 "조정"하거나 상기 상태의 "조정"이라는 용어는 생물학적 또는 화학적 과정의 정상적인 진행 추세가 변경되거나, 생물학적 또는 화학적 과정의 상태가 기존의 상태와 다른 새로운 상태로 변화된 것을 지칭한다. 예를 들어, 폴리펩티드의 등전점 조정은 폴리펩티드의 등전점을 증가시키는 변화를 수반할 수 있다. 별법으로, 폴리펩티드의 등전점 조정은 폴리펩티드의 등전점을 감소시키는 변화를 수반할 수 있다.
- [0173] "통계적 구조"는 하나의 지질 구조물로부터 또다른 지질 구조물로 이동할 수 있는 분자로부터 형성된 구조를 의미하며, 상기 구조는 가우스 분포로 대표될 수 있는 복수개의 입도로 존재한다.
- [0174] "여러 자리 결합"은 지질 구조물 내의 다수의 결합 부위, 예를 들어 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트, 인지질 및 인슐린 등을 이용하는 화학적 결합 과정이다. 이들 결합 부위는, 개개의 분자가 병렬식으로 작동하여 2개 이상의 분자를 결합시키거나 연결시키는 기능을 하는 비-공유결합을 형성하는 수소 결합, 이온-쌍극자

및 쌍극자-쌍극자 상호작용을 촉진시킨다.

- [0175] 본원에서 사용된 바와 같이, "치료"한다는 것은 환자가 질환, 장애 또는 해로운 상태 등의 증상을 갖게 되는 빈도를 줄이는 것을 의미한다.
- [0176] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "제약상 허용가능한 담체"는 활성 성분과 배합될 수 있고, 배합 후에는 활성 성분을 대상체에게 투여하는데 사용될 수 있는 화학적 조성물을 의미한다.
- [0177] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "생리적으로 허용가능한"은 조성물이 투여될 대상체에게 성분이 유해하지 않음을 의미한다.
- [0178] **발명의 기재- 조성물**
- [0179] 지질 구조물
- [0180] 인슐린, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하는 인슐린 결합 지질 구조물의 도시는 도 1에 나타내었다. 수용체 결합 분자라고도 알려진 연장된 양친매성 지질은 근위부, 중위부 및 원위부를 포함하고, 여기서의 근위부는 연장된 지질을 구조물에 연결시키고, 원위부는 구조물을 간 내의 간세포 결합 수용체에 연결시키며, 중위부는 근위부와 원위부를 연결시킨다. 적합한 양친매성 지질은 일반적으로 글리세롤-주쇄를 통해 서로에게 부착된 극성 헤드(head)기 및 비극성 테일(tail)기를 포함한다.
- [0181] 적합한 양친매성 지질로는 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤, 콜레스테롤 올레이트, 디세틸 포스페이트, 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스페이트, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스페이트, 1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스페이트, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(Cap 바이오티닐), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(숙시닐), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-[포스포-rac-(1-글리세롤)](나트륨염), 트리에틸암모늄 2,3-디아세톡시프로필 2-(5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미도)에틸 포스페이트 및 임의의 상기 지질들의 혼합물이 있다.
- [0182] 한 실시양태에서, 양친매성 지질로는 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤, 디세틸 포스페이트, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(Cap 바이오티닐), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(숙시닐), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-[포스포-rac-(1-글리세롤)](나트륨염)트리에틸암모늄 2,3-디아세톡시프로필 2-(5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미도)에틸 포스페이트 및 임의의 상기 지질들의 혼합물 등이 있다.
- [0183] 연장된 양친매성 지질은 수용체 결합 분자라고도 공지되어 있으며, 근위부, 중위부 및 원위부를 포함한다. 근위부는 연장된 지질을 구조물에 연결시키고, 원위부는 상기 구조물을 간에 있는 간세포 결합 수용체에 연결시킨다. 근위부 및 원위부는 중위부를 통해 연결되어 있다. 각종 수용체 결합 분자들의 조성물은 하기에 기재한다. 지질 구조물 내에는 하기 군 중 하나 이상의 간세포 수용체 결합 분자가 존재하여 상기 구조물을 간세포 내의 수용체에 결합시킬 수 있다.
- [0184] 제1 군의 간세포 수용체 결합 분자는 말단 바이오틴 또는 이미노바이오틴 부분 및 이들의 유도체를 포함한다. 바이오틴, 이미노바이오틴, 카르복시바이오틴 및 바이오시틴의 구조식은 표 1에 나타내었다.

표 1

1	1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린 2,3-비스(스테아로일옥시)프로필 2-(트리메틸암모니오)에틸 포스페이트	
2	3. 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포콜린 2,3-비스(팔미토일옥시)프로필 2-(트리메틸암모니오)에틸 포스페이트	
3	1,2-디미리스토일-sn-글리세로-3-포스포콜린 2,3-비스(테트라데카노일옥시)프로필 2-(트리메틸암모니오)에틸 포스페이트	
4	콜레스테롤 10,13-디메틸-17-(6-메틸헵탄-2-일)-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-테트라테카히드로-1H-시클로펜타[a]페난트렌-3-올	

[0185]

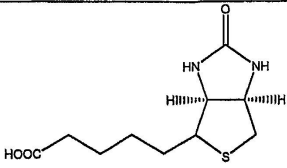
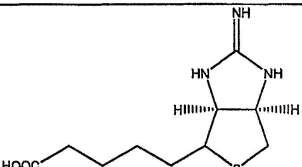
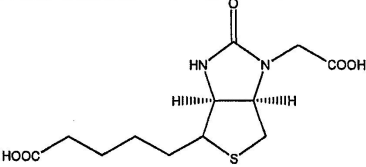
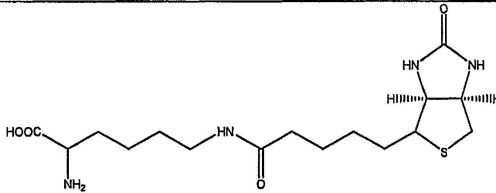
[0186]

이들 분자는 다양한 기술로 인지질 분자에 부착되어, 지질 구조물로 삽입(intercalating)될 수 있는 지질 고정 분자를 생성할 수 있다. 이들 간세포 수용체 결합 분자는 지질 구조물에 대한 근위 지점에 위치한 고정 부위를 포함한다. 고정 부위는 지질 구조물 내의 인지질 분자상에 존재하는 다른 친지성 탄화수소 쇄와 회합하고 결합할 수 있는 2개의 친지성 탄화수소 쇄를 포함한다.

[0187]

바람직한 실시양태에서, 제2 군의 간세포 수용체 결합 분자는 지질 구조물로부터의 원위 지점에 위치한 말단 바이오틴 또는 이미노바이오틴 부분을 포함한다. 이들 화합물의 구조식은 표 2에 나타내었다.

표 2

1	바이오틴 5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄산	
2	이미노바이오틴 5-((3aS,6aR)-2-이미노헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄산	
3	카르복시바이오틴 5-((3aS,6aR)-1-(카르복시메틸)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄산	
4	바이오시틴 2-아미노-6-(5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미도)헥산산	

[0188]

[0189]

바이오틴 및 이미노바이오틴 모두가 비시클릭 고리상의 4-탄소 지점에서 5-탄소 발레르산 쇄에 부착된 온화한 친지성의 비시클릭 고리 구조를 함유한다. 한 실시양태에서, 발레르산의 카르복실기를 L-리신의 N-말단 α-아미노기 또는 ε-아미노기와 반응시켜서, L-리신 아미노산을 발레르산 C-말단 카르복실 관능기에 공유결합으로 결합시킬 수 있다. 이러한 커플링 반응은 카르보디이미드 접합 방법을 이용하여 수행되며, 도 2에 예시한 바와 같이 L-리신과 바이오틴 사이에 아마이드 결합이 형성된다.

[0190]

제3 군의 간세포 수용체 결합 분자는 아미노산 L-리신의 α-아미노기 또는 ε-아미노기에 아마이드 결합을 통해 부착된 발레르산 측쇄를 갖는 이미노바이오틴, 카르복시바이오틴 및 바이오시틴을 포함한다. 바람직한 실시양태는 도 3에 나타난 바와 같이 이미노바이오시틴 부분 형성시에 이미노바이오틴을 이용한다. 간세포 수용체 결합 분자의 합성 동안, 이미노바이오시틴의 α-아미노기는 도 4에 나타난 바와 같이 활성화 에스테르 벤조일 티오아세틸 트리글리신-술포-N-히드록시숙신이미드 (BTA-3-gly-술포-NHS)과 반응하여 활성 간세포 결합 분자 (BTA-3-gly-이미노바이오시틴)을 형성할 수 있다. BTA-3-gly-이미노바이오시틴은 결국 이후의 커플링 반응에 이용될 수 있는 활성 친핵성 술포드랄 관능기를 나타내는 분자 스페이서(공간r)로서 기능한다. 상기 스페이서는 지질 구조물과의 관계에서 중위 지점에 위치하며, 말단 이미노바이오시틴 부분이 지질 구조물의 표면에서 대략 30 Å만큼 연장되도록 하여, 이미노바이오시틴이 간세포 수용체에 결합하는데 최적이며 비-제한적인 배향을 갖도록 한다. 중위 스페이서는 말단 바이오틴 부분에게 올바른 입체-화학적 배향을 제공하는 다른 유도체를 포함할 수 있다. 중위 스페이서의 주요 기능은 근위부와 원위부를 선형 배열로 적당하게 공유결합으로 연결시키는 것이다.

[0191]

간세포 수용체 결합 분자의 BTA-3-gly-술포-NHS 부위는 수많은 수단으로 합성될 수 있고, 이후의 단계에서 바이오시틴 또는 이미노바이오시틴에 연결될 수 있다. 처음 단계는 벤조일 클로라이드를 티오아세트산에 첨가하여 친핵체 첨가에 의해 활성 티오 관능성에 대한 보호기를 형성하는 것을 포함한다. 상기 반응의 생성물은 도 5에 나타난 바와 같이 벤조일 티오아세트산 착체 및 염산이다. 상기 합성에서의 추가 단계는 도 5에 도시한 바와 같이 디시클로헥실카르보디이미드 또는 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드를 커플링제로서 사용하여 벤조일 티오아세트산을 술포-N-히드록시숙신이미드와 반응시켜서, 벤조일 티오아세틸 술포-N-히드록시숙신이미드 (BTA-술포-NHS)를 형성하는 것을 수반한다. 이어서, 벤조일 티오아세틸 술포-N-히드록시숙신이미드를 아미노산 중합체 (글리신-글리신-글리신)와 반응시킨다. 도 5에 나타난 바와 같이, 트리글리신의 α-아미노기에

의한 친핵성 공격 후에는 벤조일 티오아세틸 트리글리신 (BTA-3-gly)이 형성되면서 술포-N-히드록시숙신이미드 이탈기는 수성 매질에 의해 용해된다. 도 6에 나타난 바와 같이, 벤조일 티오아세틸 트리글리신을 다시 디시클로헥실카르보디이미드 또는 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드와 반응시켜서 술포-N-히드록시숙신이미드와의 에스테르 결합을 형성한다. 이어서, 활성화 벤조일 티오아세틸 트리글리신 (BTA-3-gly-술포-NHS)의 술포-N-히드록시숙신이미드 에스테르를 바이오시틴 또는 이미노바이오시틴의 L-리신 관능기의 α -아미노기와 반응시켜서 도 7에 예시한 벤조일 티오아세틸 트리글리신-이미노바이오시틴 (BTA-3-gly-이미노바이오시틴)의 연장된 양친매성 지질 분자인 간세포 수용체 결합 부분을 형성한다.

[0192] 간세포 수용체 결합 분자의 합성을 위한 두번째 주요 커플링 반응은 벤조일 티오아세틸 트리글리신 이미노바이오시틴이 티오에테르 결합을 통해 바람직한 인지질 고정 분자인 N-파라-말레이미도페닐부티레이트 포스파티딜에탄올아민에 공유결합으로 부착되는 것으로 예시된다. 상기 반응으로, 말단 이미노바이오시틴 고리와 지질 구조물 사이에 올바른 분자 간격을 제공하는 분자가 생성된다. 연장된 양친매성 지질 분자로서 기능하는 간세포 수용체 결합 분자를 형성하기 위한 전체 반응식은 도 8에 도시되어 있다. 벤조일 티오아세틸 트리글리신 이미노바이오시틴을 N-파라-말레이미도페닐부티레이트 포스파티딜에탄올아민과 반응시켜서 티오에테르 연결부를 형성하기 전에, 가열하여 벤조일 보호기를 제거하여 유리 술포드랄 관능기를 노출시킨다. 상기 반응은 술포드랄이 디술포드로 산화되는 것을 최소로 하기 위해서 산소가 없는 환경에서 수행되어야 한다. 추가의 산화는 술포, 술폭시드, 술펜산 또는 술포산 유도체 형성을 야기할 수 있다.

[0193] 한 실시양태에서, 상기 분자의 고정 부분은 상기 분자의 지질 부위를 형성하는 한쌍의 아실 탄화수소 쇄를 함유한다. 상기 분자의 이 부위는 지질 구조물의 지질 도메인 내에서 비-공유결합으로 결합된다. 한 실시양태에서, 고정 부분은 N-파라-말레이미도페닐부티레이트 포스파티딜에탄올아민으로부터 생성된다. 다른 고정 분자가 사용될 수 있다. 한 실시양태에서, 고정 분자로는 티오-콜레스테롤, 콜레스테롤 올레에이트, 디세틸 포스페이트, 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(숙시닐), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-[포스포-rac-(1-글리세롤)](나트륨염) 및 이들의 혼합물 등을 들 수 있다. 완전히 개발되어 LA-HRBM라고 명명되는 지질 고정부 및 간세포 수용체 결합 분자의 전반적인 분자 구조는 도 8에 나타내었다.

[0194] 제4 군의 간세포 수용체 결합 분자는 수용성 부분 및 수불용성 부분을 둘다 갖는 양친매성 유기 분자를 포함한다. 수불용성 부분은 배위 및 생체접합 화학 반응으로 중위부 또는 연결기 부분과 반응하며, 수불용성 부분은 간에 있는 간세포 결합 수용체에 결합한다. 상기 분자는 예를 들어 2,6-디이소프로필벤젠 유도체 등과 같은 비극성 유도체화 벤젠 고리 구조 또는 친지성 헤테로비시클릭 고리 구조를 포함하는 원위 성분을 함유한다. 전체 간세포 수용체 결합 분자는 양전하 또는 음전하이거나 이들의 여러가지 조합인 고정 전하 또는 일시적 전하를 보유한다. 이들 분자는 원위부 말단부로부터 대략 13.5 Å 이하이지만 그를 초과하지는 않게 위치한 1개 이상의 카르보닐기 및 2급 아민 및 카르보닐기를 함유하는 1개 이상의 카르바모일 부분을 함유한다. 카르바모일 부분(들)의 존재는 상기 유기 분자의 분자 안정성을 향상시킨다. 분자 내에는 복수개의 2급 아민이 존재할 수 있다. 이들 2급 아민은 구조물 내에서 다른 분자와의 이온-쌍극자 및 쌍극자-쌍극자 결합 상호작용을 허용하는 한쌍의 미공유 전자를 함유한다. 이들 아민은 분자 안정성을 향상시키고, 원위부와 상호작용하여 간세포 수용체 결합 및 특이성을 촉진시키는 부분적으로 생성된 음전하를 제공한다. 이러한 군의 수용체 결합 분자의 예로는 폴리카륨-폴리(비스)-[N-(2,6-(디이소프로필페닐)카르바모일메틸)이미노 디아세트산] 등이 있다. 한 실시양태에서, 간세포 수용체 결합 분자의 중위 지점에 크롬 III이 위치한다. 간세포 특이적 결합 분자의 근위부는 상기 분자가 지질 구조물 내로 삽입되고 이후에는 그 안에서 결합되도록 하는 소수성 및/또는 비극성 구조를 함유한다. 중위부 및 근위부 또한 간세포 수용체 결합 분자 원위부가 올바르게 입체-화학적 배향되도록 한다.

[0195] 지질 구조물의 구조 및 성질은 지질의 구조 및 지질 사이의 상호작용의 지배를 받는다. 지질의 구조는 주로 공유결합의 지배를 받는다. 공유결합은 지질 구조물의 개개의 성분을 포함하는 분자의 구조적 일체성(integrity)을 보유하는데 요구되는 분자 결합력이다. 지질 사이의 비-공유결합 상호작용을 통해, 지질 구조물은 3차원 형상으로 유지된다.

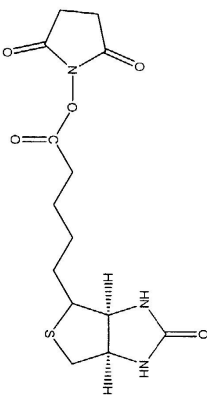
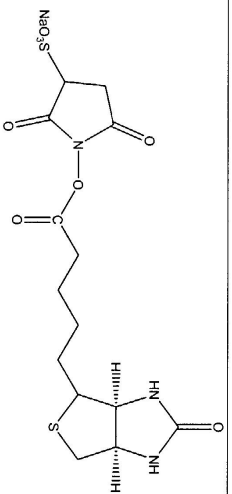
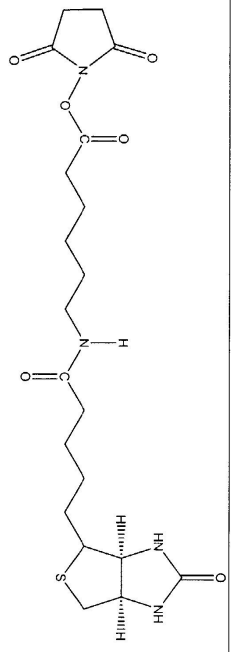
[0196] 비-공유결합은 이온-쌍극자 또는 유도된 이온-쌍극자 결합, 및 지질 헤드의 각종 극성 기와 관련된 수소 결합이라는 일반 용어로 대표될 수 있다. 소수성 결합 및 반 데르 발스 상호작용은 지질 아실 쇄 사이의 유도된 쌍극자 결합을 통해 생성될 수 있다. 이러한 결합 메커니즘은 그 성질상 일시적이며 펨토초(femtosecond)에 미치지 못하는 시간 간격으로 일어나는 결합 형성 및 결합 파괴 과정을 초래한다. 예를 들어, 반 데르 발스 상호작용은 오비탈 전자가 한 원자 또는 분자의 한쪽으로 잠시 이동해서 인접한 원자 또는 분자에서도 유사한 이동을 유

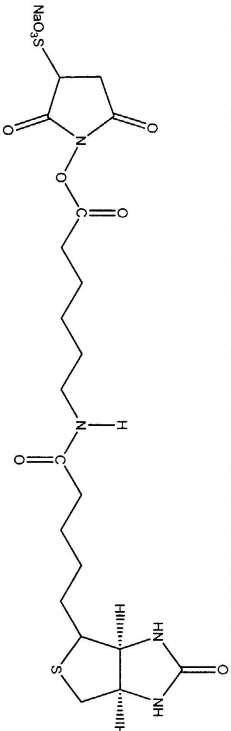
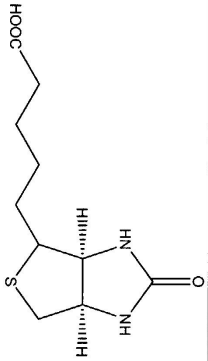
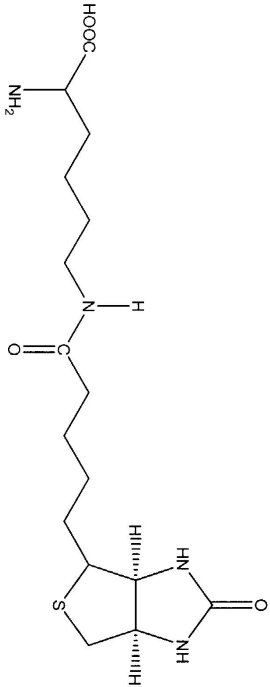
발하여 발생하는 쌍극자 모멘트의 순간적 변화로 인한다. 양성자는 δ^+ 전하 및 단일 전자 δ^- 전하로 추정되기 때문에 쌍극자를 형성한다. 쌍극자 상호작용은 양친매성 지질 분자의 탄화수소 아실 쇠 사이에서 매우 높은 빈도로 발생한다. 일단 개개의 쌍극자가 형성되면, 이것들은 메틸렌형 ($-\text{CH}_2-$) 관능기를 함유하는 인접 원자에서 새로운 쌍극자를 순간적으로 유도할 수 있다. 지질 구조물 전체에 걸쳐서 아실 지질 쇠 사이에는 복수개의 일시 유도된 쌍극자 상호작용이 형성된다. 이러한 유도된 쌍극자 상호작용은 단지 펨토초 (1×10^{-15} 초)의 일부 동안만 지속되지만, 함께 기능하면 강력한 힘을 발휘한다. 이러한 상호작용은 일정하게 변화하고 있으며 공유결합 강도의 대략 1/20에 해당하는 힘을 갖는다. 그럼에도 불구하고, 이것들은, 구조물의 3차원 통계 구조 및 지질 구조물 내 분자들의 입체-특이적 분자 배향을 결정하는 안정적인 공유결합 분자 사이의 일시적 결합을 담당한다.

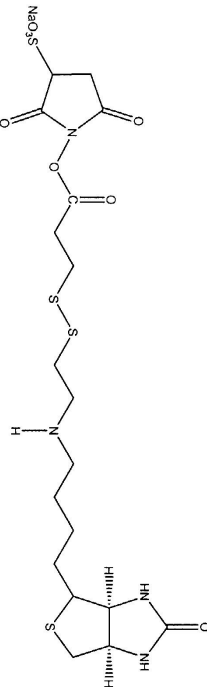
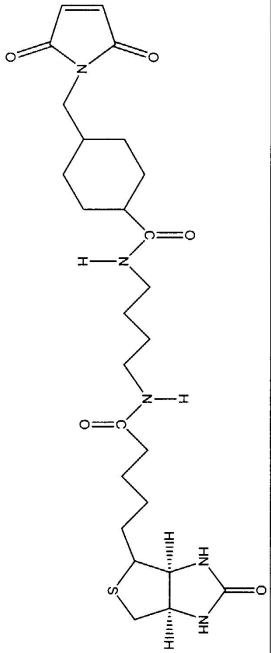
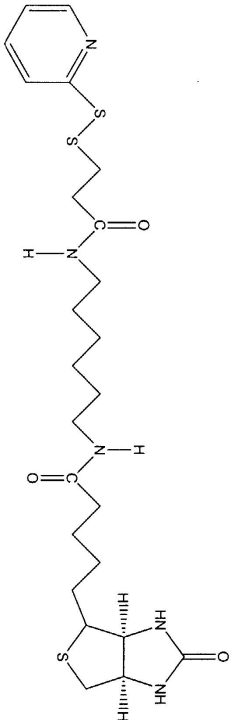
[0197] 이러한 유도된 쌍극자 상호작용의 결과로서, 지질 구조물의 구조는 구조물들 사이에서의 지질 성분 교환으로 유지된다. 구조물 개개 성분들의 조성은 고정되어 있지만, 지질 구조물의 개개의 성분은 구조물들 사이에서 교환 반응의 대상이다. 이러한 교환은 처음에 지질 성분이 지질 구조물에서 이탈될 경우에는 0차 역학에 의해 지배를 받는다. 지질 성분은 지질 구조물로부터 방출된 후에 인접하는 지질 구조물에 의해 재포획될 수 있다. 방출된 성분의 재포획은 2차 반응 역학에 의한 제어를 받는데, 이것은 상기 방출된 성분을 포획한 구조물 주변의 수성 매질 중 상기 성분의 농도 및 방출된 성분을 포획하고 있는 지질 구조물의 농도에 의한 영향을 받는다.

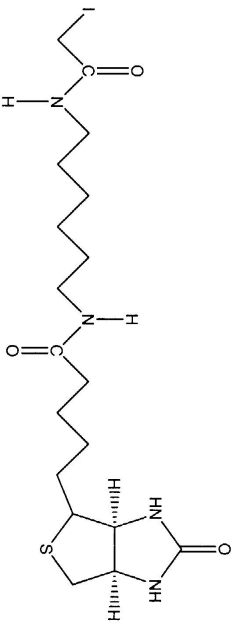
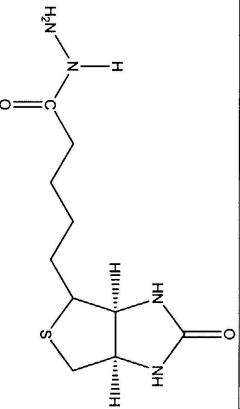
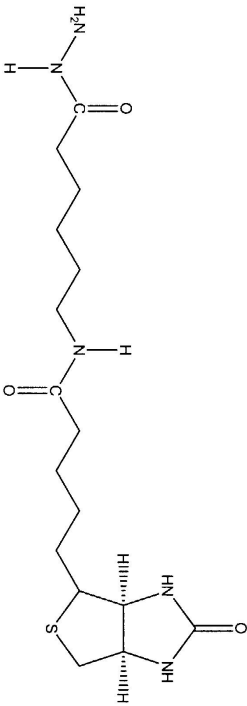
[0198] 연장된 양친매성 지질의 예 및 표 3에 나타난 이들 각각의 번호는 다음과 같다: N-히드록시숙신이미드 (NHS) 바이오틴 [1], 술포-NHS-바이오틴 [2], N-히드록시숙신이미드 장쇄 바이오틴 [3], 술포-N-히드록시숙신이미드 장쇄 바이오틴 [4], D-바이오틴 [5], 바이오시틴 [6], 술포-N-히드록시숙신이미드-S-S-바이오틴 [7], 바이오틴-BMCC [8], 바이오틴-HPDP [9], 요오도아세틸-LC-바이오틴 [10], 바이오틴-히드라지드 [11], 바이오틴-LC-히드라지드 [12], 바이오시틴 히드라지드 [13], 바이오틴 카다베린 [14], 카르복시바이오틴 [15], 포토바이오틴 [16], ρ -아미노벤조일 바이오시틴 트리플루오로아세테이트 [17], ρ -디아조벤조일 바이오시틴 [18], 바이오틴 DHPE [19], 바이오틴-X-DHPE [20], 12-((바이오티닐)아미노)도데칸산 [21], 12-((바이오티닐)아미노)도데칸산 숙신이미드 에스테르 [22], S-바이오티닐 호모시스테인 [23], 바이오시틴-X [24], 바이오시틴 x-히드라지드 [25], 바이오티네틸렌디아민 [26], 바이오틴-XL [27], 바이오틴-X-에틸렌디아민 [28], 바이오틴-XX 히드라지드 [29], 바이오틴-XX-SE [30], 바이오틴-XX, SSE [31], 바이오틴-X-카다베린 [32], α -(t-BOC)바이오시틴 [33], N-(바이오티닐)-N'-(요오도아세틸)에틸렌디아민 [34], DNP-X-바이오시틴-X-SE [35], 바이오틴-X-히드라지드 [36], 노르 바이오티나민 히드로클로라이드 [37], 3-(N-말레이미드프로피오닐)바이오시틴 [38], ARP [39], 바이오틴-1-술포시드 [40], 바이오틴 메틸 에스테르 [41], 바이오틴-말레이미드 [42], 바이오틴-폴리(에틸렌글리콜)아민 [43], (+) 바이오틴 4-아미도벤조산 나트륨염 [44], 바이오틴 2-N-아세틸아미노-2-데옥시- β -D-글루코피라노시드 [45], 바이오틴- α -D-N-아세틸뉴라미니드 [46], 바이오틴- α -L-푸코시드 [47], 바이오틴 락토-N-바이오시드 [48], 바이오틴-루이스-A 트리사카라이드 [49], 바이오틴-루이스-Y 테트라사카라이드 [50], 바이오틴- α -D-만노피라노시드 [51], 바이오틴 6-O-포스포- α -D-만노피라노시드 [52] 및 폴리크롬-폴리(비스)-[N-(2,6-(디소프로필페닐)카르바모일메틸)이미노]디아세트산 [53].

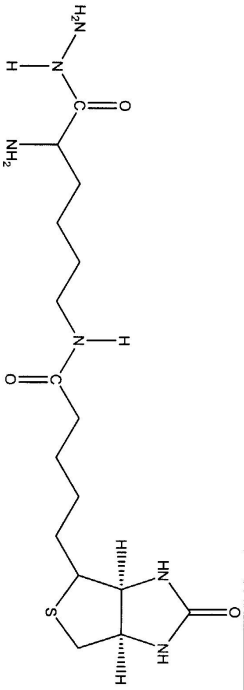
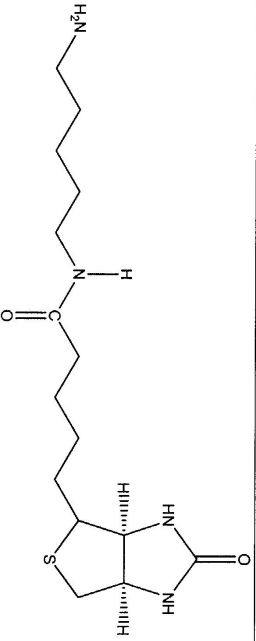
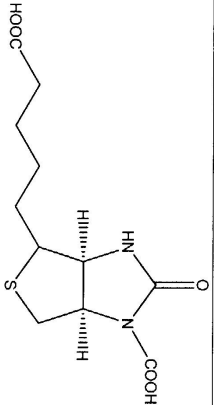
표 3

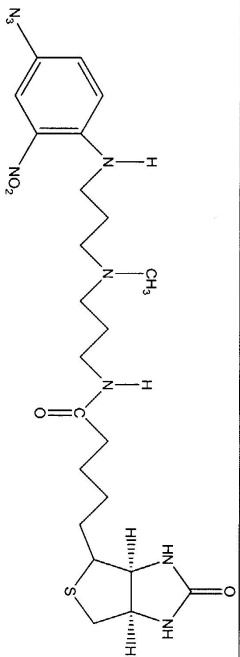
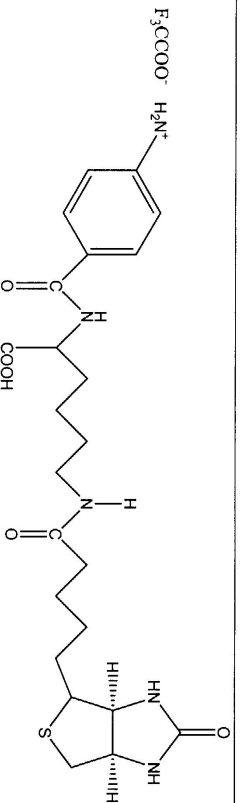
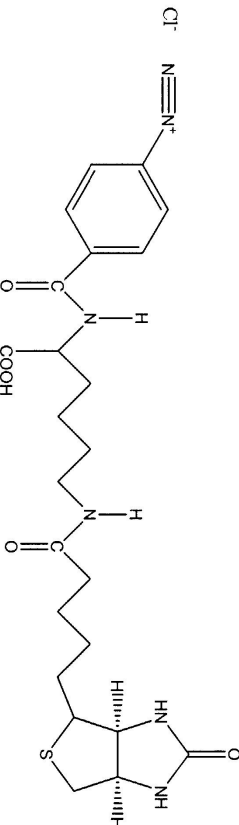
1	N-히드록시숙신아미드 (NHS) 바이오틴	
2	숯포-NHS-바이오틴	
3	N-히드록시숙신아미드 정제 바이오틴	

4	술폰-N-히드록시숙신아미드 장쇄 바이오틴	
5	D-바이오틴	
6	바이오틴	

7	술포-N-히드록시숙신아미드-S-S-바이오틴 나트륨 2,5-디옥소-3-(트리옥시다닐티오) 피롤리딘-1-일 3-(2-(4-(3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)부틸아미노)에틸)디술포닐)프로파노에이트	
8	바이오틴-BMCC 4-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)메틸)-N-(4-(5-(3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미도)부틸)시클로헥산카르복스아미드	
9	바이오틴-HPDP 5-(3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)-N-(6-(3-(피리딘-2-일디술포닐)프로판아미도)헥실)펜탄아미드	

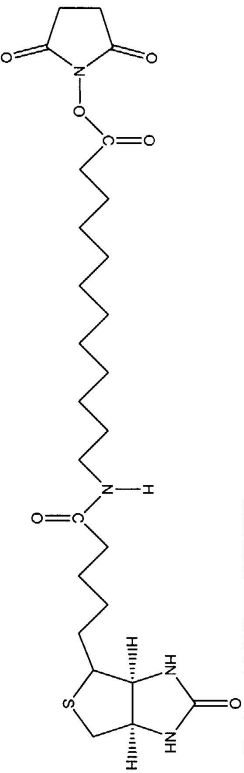
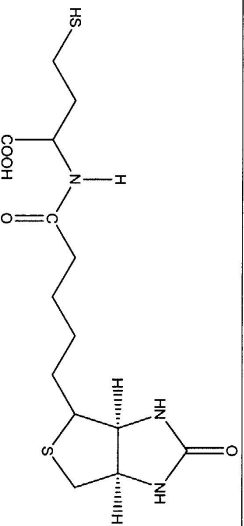
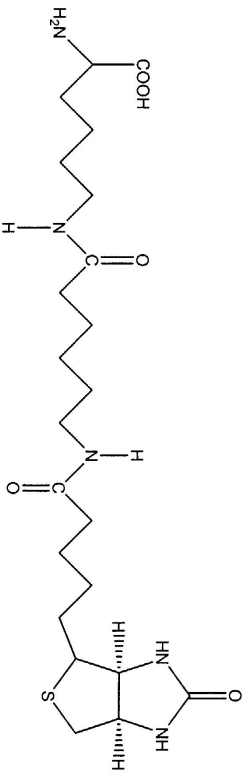
10	요오도아세틸-LC-바이오틴 N-(6-(2- 요오도아세트아미도)헥실)-5- (3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H- 티에노[3,4-d]이미다졸-4- 일)펜탄아미드	
11	바이오틴-히드라지드 5-((3aS,6aR)-2- 옥소헥사히드로-1H- 티에노[3,4-d]이미다졸-4- 일)펜탄히드라지드	
12	바이오틴-LC-히드라지드 N-(6-히드라지닐-6-옥소헥실)- 5-((3aS,6aR)-2- 옥소헥사히드로-1H- 티에노[3,4-d]이미다졸-4-일) 펜탄아미드	

13	바이오시틴 히드라지드 N-(5-아미노-6-히드라지닐-6-옥소헥실)-5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미드	
14	바이오틴 카다베린 N-(5-아미노펜틸)-5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미드	
15	카르복시바이오틴 (3aS,6aR)-4-(4-카르복시부틸)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-1-카르복실산	

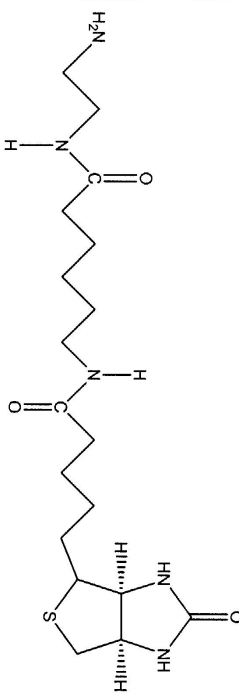
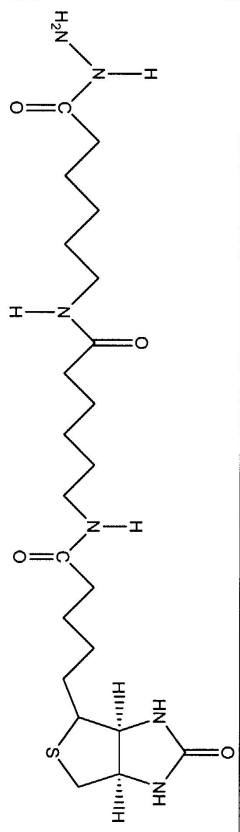
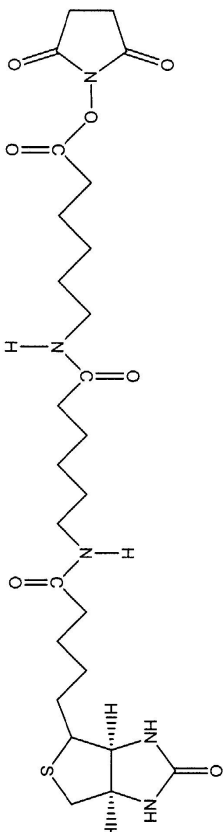
16	포토바이오틴 N-(3-((3-(4-아지도-2-니트로페닐아미노)프로필)(메틸)아미노)프로필)-5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미드	
17	p-아미노벤조일 바이오틴 트리플루오로아세테이트 2-(4-아미노벤즈아미드)-6-(5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미드)헥산산 2,2,2-트리플루오로아세테이트	
18	p-다이조벤조일 바이오틴 4-(1-카르복시-5-(5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미드)펜틸카르바모일)벤젠다이조폼 클로라이드	

[0204]

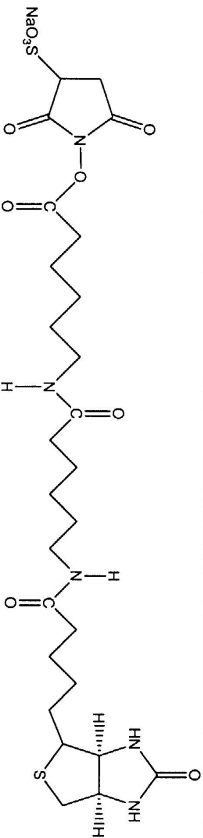
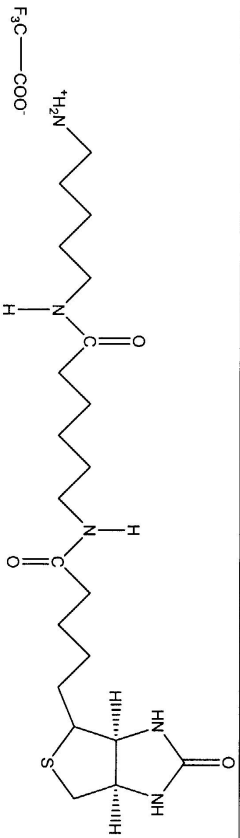
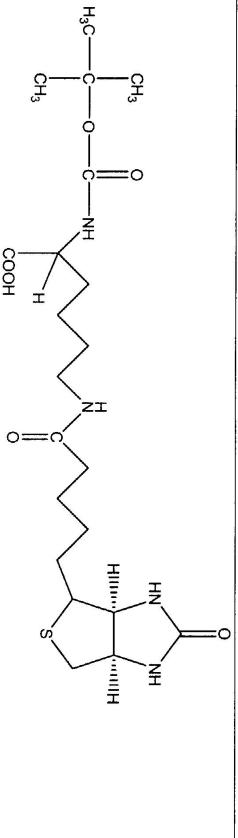
19	바이오틴 DHPE 트리에틸암모늄 2,3-디아세톡시프로필 2-(5- (3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로- 1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4- 일) 펜탄아미도)에틸 포스페이트	
20	바이오틴-X-DHPE 트리에틸암모늄 2,3-디아세톡시프로필 2-(6-(5- (3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로- 1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4- 일) 펜탄아미도)헥산아미도)에틸 포스페이트	
21	12- (바이오틴)아미도)도데칸산	

22	12- ([바]이오타닐)아미노)도데칸산 숙신아미딜 에스테르	
23	S-파이오티닐 호모스테인	
24	바]이오시틸-X	

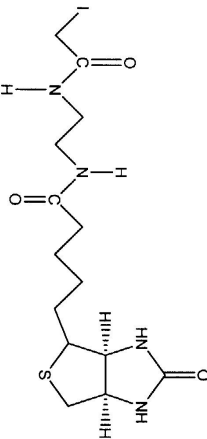
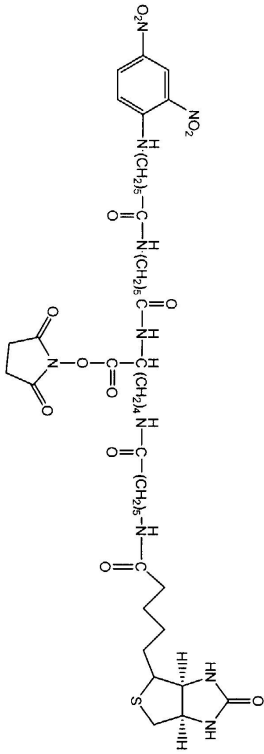
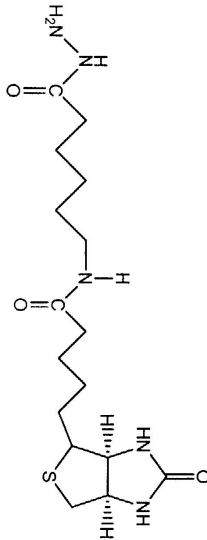
25	바이오틴 x-히드라이드 N-(5-아미노-6-히드라지널-6-옥소헥실)-6-(5-(3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미드	
26	바이오틴에틸렌디아민 N-(2-아미노에틸)-5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미드	
27	바이오틴-X 6-(5-(3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미드) 헥산산	

28	비이오틴-X-에틸렌디아민 N-(2-아미노에틸)-6-(5-(3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미드	
29	비이오틴-XX 히드라지드 N-(6-히드라지닐-6-옥소헥실)-6-(5-(3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미드	
30	비이오틴-XX-SB 2,5-다옥소피롤리딘-1-일 6-(6-(5-(3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미도)헥사노에이트	

[0208]

31	바이오틴-XX,SSE 나트륨 2,5-디옥소-1-(6-(6-(5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미도)헥산아미도)헥사노일옥시)피롤리딘-3-술포네이트	
32	바이오틴-X-카다베린 5-(6-(5-(3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미도)헥산아미도)펜탄-1-아미노 2,2,2-트리플루오로아세테이트	
33	α-(t-BOC)바이오틴 2-(tert-부톡시카르보닐아미도)-6-(5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미도)헥산산	

[0209]

34	N-(바이오티닐)-N'-(요오도아세틸)에틸렌디아민	
35	DNP-X-바이오티린-X-SE	
36	바이오티린-X-히드라지드	

37	노르바이오틴아민 히드로클로라이드 4-((3aS,6aR)-2- 옥소헥사하드로-1H- 티에노[3,4-d]이미다졸-4-일) 부탄-1-아미늄 클로라이드	
38	3-(N-말레이미딜프로피오닐) 바이오시틴 2-(3-(2,5-디옥소-2,5-디하드로- 1H-피롤-1-일)프로판아미도)- 6-(5-((3aS,6aR)-2- 옥소헥사하드로-1H- 티에노[3,4-d]이미다졸-4-일) 펜탄아미도)헥산산	
39	ARP; N'-(2-(아미노옥시)아세틸)-5- ((3aS,6aR)-2-옥소헥사하드로- 1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4- 일) 펜탄히드라지드	

40	바이오틴-1-술폰시드 5-(3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티아노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄산술폰시드	
41	바이오틴 메틸 에스테르 메틸 5-(3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티아노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜타노에이트	
42	바이오틴-말레이미드 6-(2,5-디옥소-2,5-디히드로-1H-피롤-1-일)-N-(5-(3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티아노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜타노일)헥산히드라지드	

43	바이오틴-폴리(에틸렌글리콜)아민 아미노메틸 폴리에틸렌 5-(3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일) 펜타노에이트	
44	(+) 바이오틴 4-아미도벤조산 나트륨염 나트륨염 나트륨 4-(5-(3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일) 펜타아미도) 벤조에이트	
45	바이오틴 2-N-아세틸아미노-2-테루시-β-D-글루코피라노시드 2,3,4,5,6-펜타메틸테트라히드로-2H-피란-2-일) 메틸 5-(3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일) 펜타노에이트	

46	바이오틴- α -D-N-아세틸뉴라미드 (2S,5R)-5-아세트아미도-4-히드록시-3,3,4,5,6-펜타메틸-2-((5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜타노일옥시)메틸)-6-(1,2,3-트리히드록시프로필)테트라히드로-2H-피란-2-카르복실산	
47	바이오틴- α -L-푸코시드 (2R,5S)-3,4,5-트리히드록시-2,3,4,5,6,6-헥사메틸테트라히드로-2H-피란-2-일)메틸 5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜타노에이트	
48	바이오틴 락토-N-바이오틴 명칭에 대해서는 표의 말단부 참조	

[0214]

52	바이오틴 6-O-포스포-α-D-만노피라노시드 ((2R,5S)-3,4,5-트리히드록시-2,3,4,5,6-펜타메틸-6-(포스포노옥시메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)메틸 5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일) 펜타노에이트	
53	폴리크롬-폴리(비스)-[N-(2,6-(다이소프로필페닐)카르바모일 메틸)이미노디아세트산]	

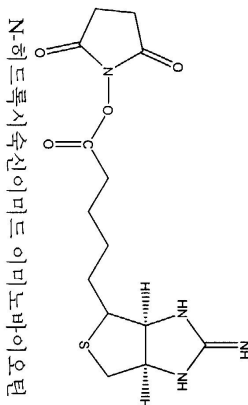
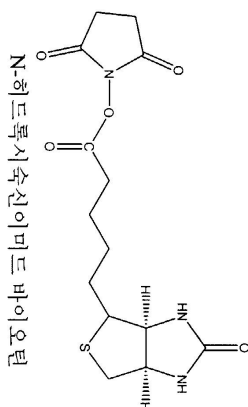
화합물 48 내지 50 의 명칭.

48. ((2R,5S)-3-아세트아미도-5-히드록시메틸)-6-(히드록시메틸)-2,3,4,6-테트라메틸-4((((2S,5R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)-2,3,4,5,6-펜타메틸테트라히드로-2H-피란-2-일)메톡시)메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)메틸 5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜타노에이트 ((2R,5S)-3-아세트아미도-5-히드록시메틸)-2,3,4,6-테트라메틸-4((((2S,5R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)-2,3,4,5,6-펜타메틸테트라히드로-2H-피란-2-일)메톡시)메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)메틸 5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜타노에이트

49. (2R,3R,5S)-5-((((((2S,3S,5S)-3-아세트아미도-4-히드록시-6-(히드록시메틸)-2,4,6-트리메틸-4-((2S,5R)-3,4,5-트리히드록시-6-(히드록시메틸)-2,3,4,5,6-펜타메틸테트라히드로-2H-피란-2-일)메톡시)메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)메톡시)-3,4-다히드록시-2,4,5,6-펜타메틸테트라히드로-2H-피란-2-일 5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜타노에이트

50. (2S,5S)-3-아세트아미도-4-((((((2R,5S)-5-((2R,5S)-4,5-다히드록시-6-(히드록시메틸)-2,3,4,5,6-펜타메틸-3-((2S,5S)-3,4,5-트리히드록시-2,3,4,5,6-헥사메틸테트라히드로-2H-피란-2-일)메톡시)메틸)테트라히드로-2H-피란-2-일)메톡시)-3,4-다히드록시-2,3,4,5,6-헥사메틸테트라히드로-2H-피란-2-일)메톡시)-6-(히드록시메틸)-2,3,4,5,6-펜타메틸테트라히드로-2H-피란-2-일 5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜타노에이트

이미노 바이오틴 화합물의 구조는 표 3에 나타나 있지 않다. 이미노 바이오틴 구조는 바이오틴이기가 이미노 바이오틴 기에 의해 대체된 바이오틴 구조 유사체이다. 예로는 이하에 나타난 유사체인 N-히드록시숙신아미드 바이오틴 및 N-히드록시숙신아미드 이미노바이오틴이 있다.



한 실시양태에서, 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트 중합체가 지질 구조물에 혼입되어, 인슐린 분자상의 친수성 관능기에 결합하여 인슐린이 가수분해되지 않도록 보호할 수 있다. 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트는 중합체 배열로 베타 (1→4) 연결된 2개의 글루코스 분자를 포함하며, 여기서 상기 중합체의 히드록실기에 존재하는 수소 원자 일부는 아세틸 관능기 (카르보닐 탄소에 결합된 메틸기) 또는 프탈레이트기 (벤젠 고리의 첫번째 및 두번째 위치에 2개의 카르복실기를 갖는 벤젠 고리로 대표됨)로 대체된다. 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트 중합체의 구조식은 도 9에 나타내었다. 프탈레이트 고리 구조에서 오직 1개의 카르복실기만이 셀룰로스 아세테이트 분자와의 공유결합 에스테르 연결에 관여한다. 다른 카르복실기는 카르보닐 탄소 및 히드록실 관능기를 함유하며, 이것들은 인슐린 및 각종 지질 분자에 존재하는 인접 음전하 및 양전하 쌍극자와의 수소 결합에 참여한다.

한 실시양태에서, 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트 중합체는 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린 포스페이트 및 디세틸 포스페이트 분자와의 이온-쌍극자 결합을 통해 지질과 상호작용한다. 이온-쌍극자 결합은 셀룰로스 히드록실기에 존재하는 δ^+ 수소와 인지질 분자의 포스페이트 부분에 존재하는 음으로 대전된 산소 원자 사이에 발생한다. 이온-쌍극자 상호작용에서 가장 큰 역할을 하는 관능기는 인지질 분자의 포스페이트기에 존재하는 음으로 대전된 산소 원자, 히드록실기에 존재하는 수소 원자, 및 인슐린 분자의 아미드 결합에 존재하는 수소 원자이다. 음으로 대전된 관능기는 이온-쌍극자 상호작용을 하고 개개의 히드록실기 및 셀룰로

스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트에 존재하는 카르복실 관능기의 히드록실기의 δ^+ 수소 원자와 반응하는 부위를 형성한다. 이온-쌍극자는 포스포콜린 관능기의 양으로 대전된 4차 아민과 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트 및 인슐린에 존재하는 δ^- 카르보닐 산소 사이에 형성될 수 있다. 인슐린 내 분지형 친수성 구조를 포함하는 당 분자는 수소 결합 및 이온-쌍극자 상호작용에 참여할 수 있다.

[0220] 중합체 (분자량이 약 15,000 이상임)의 분자 배치 및 크기는 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트가 친수성 헤드 기의 영역에서 지질 구조물의 개개의 인지질 분자를 코팅할 수 있도록 한다. 이러한 코팅은 지질 구조물 내의 인슐린을 위의 산 환경으로부터 보호한다. 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트를 지질 구조물 내의 분자의 표면에 부착시킬 수 있는 여러 방법이 있다. 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트를 지질 구조물의 표면에 연결하는 바람직한 수단은 지질 구조물의 표면으로부터 돌출되어 있는 당을 제공하는 인슐린 분자의 테일에 중합체성 셀룰로스 종을 부착하는 것이다. 이는 인슐린의 단백질성(proteinaceous) 테일을 효소적 가수분해로부터 보호한다.

[0221] 연장된 양친매성 지질은 수용체로의 부착을 위한 다양한 여러 자리 결합 부위를 포함한다. 본원에 정의된 바와 같은 여러 자리 결합은 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트 중합체 상의 카르보닐, 카르복실 및 히드록실 관능기와 연계(interface)될 수 있는 지질 구조물 상에서만뿐만 아니라 인슐린 및 그의 수반된 당 부분의 표면상에서 복수개의 잠재적인 결합 부위를 필요로 한다. 이는 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트 중합체가 지질 구조물뿐만 아니라 인슐린의 분자 상의 복수개의 친수성 영역과 결합함으로써 지질 구조물에 대해 가수분해 보호의 방어를 확립할 수 있도록 한다. 이러한 방식으로, 인슐린 및 지질 구조물은 둘 다 인슐린 투여 제형의 경구 투여 후 위의 산 환경으로부터 보호된다. 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트가 위를 통과하면서 지질 구조물 내부와 이 구조물의 표면 상에서 개개의 지질 분자를 덮거나 보호하더라도, 구조물이 소장의 알칼리 영역으로 이동하면, 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트는 가수분해에 의해 분해된다. 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트가 지질 구조물의 분자의 표면으로부터 제거된 다음, 지질 고정부-간세포 수용체 결합 분자, 예를 들면 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(Cap 바이오틴)이 노출되며, 이어서 수용체와 결합할 수 있게 된다. 인슐린 및 지질 구조물 상의 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트 코팅의 이용은 인슐린의 더 높은 생체이용률이 달성되도록 보장하는데 필요하다.

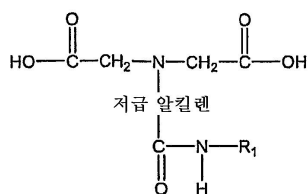
[0222] 표적 분자 착체

[0223] 한 실시양태에서, 지질 구조물은 가교 성분과 착화제의 착체를 형성함으로써 얻어진 다수개 연결된 개별 단위들을 포함하는 표적 분자 착체를 포함한다. 가교 성분은 착화제와의 수불용성 배위결합된 착체를 형성할 수 있는 금속의 수용성 염이다. 적합한 금속은 전이 및 내부 전이 금속, 또는 상기 전이 금속의 인접 금속으로부터 선택된다. 전이 및 내부 전이 금속으로서 금속은 Sc (스칸듐), Y (이트륨), La (란탄), Ac (악티늄), 악티니드 계열, Ti (티탄), Zr (지르코늄), Hf (하프늄), V (바나듐), Nb (니오븀), Ta (탄탈륨), Cr (크롬), Mo (몰리브덴), W (텅스텐), Mn (망간), Tc (테크네튬), Re (레늄), Fe (철), Co (코발트), Ni (니켈), Ru (루테튬), Rh (로듐), Pd (팔라듐), Os (오스뮴), Ir (이리듐) 및 Pt (백금)으로부터 선택된다. 전이 금속의 인접 금속으로서 금속은 Cu (구리), Ag (은), Au (금), Zn (아연), Cd (카드뮴), Hg (수은), Al (알루미늄), Ga (갈륨), In (인듐), Tl (탈륨), Ge (게르마늄), Sn (주석), Pb (납), Sb (안티몬) 및 Bi (비스무트), 및 Po (폴로늄)으로부터 선택될 수 있다. 가교제로서 유용한 금속 화합물의 예로는 염화크롬 (III) 옥수화물, 불화크롬 (III) 사수화물, 브롬화크롬 (III) 옥수화물, 시트르산지르코늄 (IV) 암모늄 착체, 염화지르코늄 (IV), 불화지르코늄 (IV) 수화물, 요오드화지르코늄 (IV), 브롬화몰리브데늄 (III), 염화몰리브데늄 (III), 몰리브데늄 (IV) 술피드, 철 (III) 수화물, 철 (III) 포스페이트 사수화물 및 철 (III) 술피드 오수화물 등을 들 수 있다.

[0224] 착화제는 가교 성분과의 수용성 배위결합된 착체를 형성할 수 있는 화합물이다. 적합한 착화제의 여러 패밀리가 존재한다.

[0225] 착화제는 R_1 이 저급알킬, 아릴, 아릴저급알킬, 및 헤테로시클릭 치환체인 하기 화학식 1의 이미노디아세트산 페릴리로부터 선택될 수 있다.

화학식 1



[0226]

[0227] 화학식 1의 적합한 화합물로는 이하의 것들이 포함된다:

[0228] N-(2,6-디이소프로필페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산,

[0229] N-(2,6-디메틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산,

[0230] N-(2,6-디메틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산,

[0231] N-(4-이소프로필페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산,

[0232] N-(4-부틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산,

[0233] N-(2,3-디메틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산,

[0234] N-(2,4-디메틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산,

[0235] N-(2,5-디메틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산,

[0236] N-(3,4-디메틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산,

[0237] N-(3,5-디메틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산,

[0238] N-(3-부틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산,

[0239] N-(2-부틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산,

[0240] N-(4-tert. 부틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산,

[0241] N-(3-부톡시페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산,

[0242] N-(2-헥실옥시페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산,

[0243] N-(4-헥실옥시페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산,

[0244] 아미노피롤 이미노디아세트산,

[0245] N-(3-브로모-2,4,6-트리메틸페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산,

[0246] 벤즈이미다졸 메틸 이미노디아세트산,

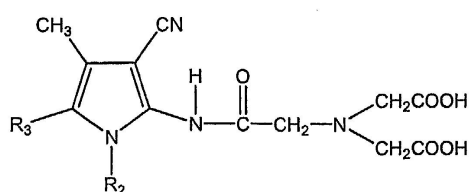
[0247] N-(3-시아노-4,5-디메틸-2-피릴카르바모일메틸)이미노디아세트산,

[0248] N-(3-시아노-4-메틸-5-벤질-2-피릴카르바모일메틸)이미노디아세트산, 및

[0249] N-(3-시아노-4-메틸-2-피릴카르바모일메틸)이미노디아세트산 및

[0250] 하기 화학식 2의 N-(3-시아노-4-메틸-2-피릴카르바모일메틸)이미노디아세트산의 다른 유도체.

화학식 2



[0251]

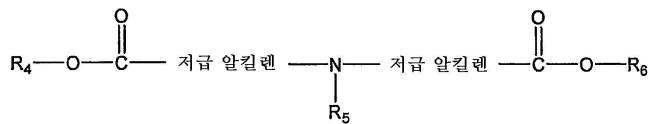
[0252] 상기 식에서, R_2 및 R_3 은 다음과 같다:

R_2	R_3
H	이소-C ₄ H ₉
H	CH ₂ CH ₂ SCH ₃
H	CH ₂ C ₆ H ₄ -p-OH
CH ₃	CH ₃
CH ₃	이소-C ₄ H ₉
CH ₃	CH ₂ CH ₂ SCH ₃
CH ₃	C ₆ H ₅
CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅
CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₄ -p-OCH ₃

[0253]

[0254] 착화제는 R_4 , R_5 및 R_6 이 서로 독립적이며 수소, 저급알킬, 아릴, 아릴저급알킬, 알콕시저급알킬 및 헤테로시클릭일 수 있는 하기 화학식 3의 이미노 이산(diacid) 유도체의 패밀리로부터 선택된다.

화학식 3



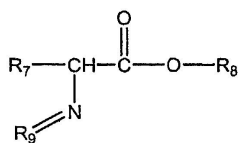
[0255]

[0256] 화학식 3의 적합한 화합물로는 N'-(2-아세틸나프틸) 이미노디아세트산 (NAIDA), N'-(2-나프틸메틸)이미노디아세트산 (NMIDA), 이미노디카르복시메틸-2-나프틸케톤 프탈레인 착체, 3 (3: 7a: 12a: 트리히드록시-24-노르콜 아닐-23-이미노디아세트산, 벤즈이미다졸 메틸 이미노디아세트산, 및 N-(5,프레그넨-3-p-올-2-오일 카르바모일메틸)이미노디아세트산이 포함된다.

[0257]

착화제는 하기 화학식 4의 아미노산의 패밀리로부터 선택된다.

화학식 4



[0258]

[0259] 상기 식에서, R_7 은 아미노산 측쇄이고, R_8 은 저급알킬, 아릴, 아릴저급알킬이며, R_9 는 피리독실리텐이다.

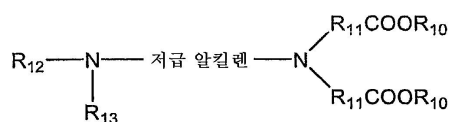
[0260]

화학식 4의 적합한 아미노산으로는 글리신, 알라닌, 발린, 루이신, 이소루이신을 비롯한 지방족 아미노산, 세린 및 트레오닌을 비롯한 히드록시아미노산, 아스파르트산, 아스파라진, 글루탐산, 글루타민을 비롯한 디카르복실산 아미노산 및 그의 아마이드, 리신, 히드록시리신, 히스티딘, 아르기닌을 비롯한 염기성 관능기를 갖는 아미노산, 페닐알라닌, 티로신, 트립토판, 티록신을 비롯한 방향족 아미노산, 및 시스틴, 메티오닌을 비롯한 황-함유 아미노산이 있으나 이에 한정되지 않는다.

[0261]

착화제는 (3-알라닌-γ-아미노) 부티르산, 0-디아조아세틸세린 (아자세린), 호모세린, 오르니틴, 시트룰린, 페닐라민을 포함하지만 반드시 이들로 제한되지는 않는 아미노산 유도체, 및 피리독실리텐 글루타메이트, 피리독실리텐 이소루이신, 피리독실리텐 페닐알라닌, 피리독실리텐 트립토판, 피리독실리텐-5-메틸 트립토판, 피리독실리텐-5-히드록시트립타민, 및 피리독실리텐-5-부틸트립타민을 포함하지만 이에 한정되지 않는 피리독실리텐 화합물 군의 구성원으로부터 선택된다. 착화제는 하기 화학식 6의 디아민의 패밀리로부터 선택된다.

화학식 6



[0262]

[0263] 상기 식에서, R_{10} 은 수소, 저급알킬, 또는 아릴이고, R_{11} 은 저급알킬렌 또는 아릴저급알킬이고, R_{12} 및 R_{13} 은 독립

적으로 수소, 저급알킬, 알킬, 아릴, 아릴저급알킬, 아실헤테로시클릭, 톨루엔, 술폰일 또는 토실레이트이다.

[0264] 화학식 6의 몇몇 적합한 디아민으로는 에틸렌디아민-N,N 디아세트산, 에틸렌디아민-N,N-비스(-2-히드록시-5-브로모페닐) 아세테이트, N'-아세틸에틸렌디아민-N,N 디아세트산, N'-벤조일 에틸렌디아민-N,N 디아세트산, N'-(p-톨루엔술폰일) 에틸렌디아민-N,N 디아세트산, N'-(p-t-부틸벤조일) 에틸렌디아민-N,N 디아세트산, N'-(벤젠술폰일) 에틸렌디아민-N,N 디아세트산, N'-(p-클로로벤젠술폰일) 에틸렌디아민-N,N 디아세트산, N'-(p-에틸벤젠술폰일) 에틸렌디아민-N,N 디아세트산, N'-아실 및 N'-술폰일 에틸렌디아민-N,N 디아세트산, N'-(p-n-프로필벤젠술폰일) 에틸렌디아민-N,N 디아세트산, N'-(나프탈렌-2-술폰일) 에틸렌디아민-N,N 디아세트산, 및 N'-(2,5-디메틸벤젠술폰일) 에틸렌디아민-N,N 디아세트산 등이 있으나 이에 제한되지 않는다.

[0265] 다른 적합한 착화 화합물 또는 착화제로는 페니실라민, p-메르캅토이소부티르산, 디히드로티옥트산, 6-메르캅토피리딘, 케톡살-비스(티오세미카르바존), 간담즙(Hepatobiliary) 아민 착체, 1-히드라지노프탈라진 (히드랄라진), 술폰일 우레아, 간담즙 아미노산 슈프(Schiff) 염기 착체, 피리독실리덴 글루타메이트, 피리독실리덴 이소루이신, 피리독실리덴 페닐알라닌, 피리독실리덴 트립토판, 피리독실리덴 5-메틸 트립토판, 피리독실리덴-5-히드록시트립타민, 피리독실리덴-5-부틸트립타민, 테트라사이클린, 7-카복시-p-히드록시퀴놀린, 페놀프탈레인, 에오신 I 청색(bluish), 에오신 I 황색(yellowish), 베로그라핀, 3-히드록실-4-포르밀-피리덴 글루탐산, 아조 치환된 이미노디아세트산, 간담즙 염료 착체, 예를 들면 로즈 벵갈(rose bengal), 콩고 레드(congo red), 브로모술포프탈레인, 브로모페놀 블루, 톨루이딘 블루, 및 인도시아닌 그린, 간담즙 조영제, 예를 들면 요오디파미드, 및 요오글리칸산, 블루 염, 예를 들면 빌리루빈, 콜기실요오도히스타민, 및 티록신, 간담즙 티오 착체, 예를 들면 페니실라민, p-메르캅토이소부티르산, 디히드로티옥시트산, 6-메르캅토피리딘, 및 케톡살-비스(티오세미카르바존), 간담즙 아민 착체, 예를 들면 1-히드라지노프탈라진 (히드랄라진), 및 술폰일 우레아, 피리독실리덴-5-히드록시트립타민 및 피리독실리덴-5-부틸트립타민을 비롯한 간담즙 아미노산 슈프 염기 착체, 간담즙 단백질 착체, 예를 들면 프로타민, 페리틴, 및 아시알로-오로소뮤코이드, 및 아시알로 착체, 예를 들면 락토스아민화 알부민, 이뮤노글로불린 G, IgG, 및 헤모글로빈 등이 있으나 이에 제한되지 않는다.

[0266] 가교제와 착화제를 배합하여 제조된 3차원 표적 분자 착체는 본원에 참고로 포함되는 WO 99/59545에 기재되어 있다. 한 실시양태에서, 가교제는 금속 염, 예를 들면 착화제, 예를 들면 N-(2,6-디이소프로필페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산과 배위결합된 착체를 형성할 수 있는 염착크롬 육수화물과 같은 금속 염이다. 가교제와 착화제를 착체화하여 3 차원 배열에서 다중 연결된 단위로 이루어진 착체를 형성한다. 바람직한 실시양태에서, 착체는 함께 연결된 크롬 (비스) [N-(2,6-(디이소프로필페닐)카르바모일메틸)이미노 디아세트산]의 다중 단위로 이루어진다. 한 실시양태에서, 크롬 표적 분자 착체 물질은 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 디세틸 포스페이트 및 콜레스테롤을 함유하는 지질의 혼합물 중에서 가용성이다. 착체는 상기 기재된 지질의 군으로부터 형성된 지질 구조물 내에 혼입된다.

[0267] 인슐린의 등전점의 개질

[0268] 단백질의 등전점은 단백질로 처리된 환자의 신체에서 단백질의 방출 및 분포에 영향을 미칠 수 있다. 단백질의 등전점을 변화시킴으로써, 투여 부위로부터 단백질의 방출 속도가 변경될 수 있고, 단백질의 약물동력학이 변화될 수 있다.

[0269] 인슐린의 등전점을 변경시키는 한 방법은 다양한 아미노산을 치환 또는 첨가함으로써 그의 분자 구조를 변경시키는 것이다. 인슐린의 구조를 변경시켜 상이한 특성을 수득하는 두 가지 예는 글라르긴 인슐린 및 인슐린 아스파르트이다. 이들 인슐린은 둘 다 아미노산 조성에 있어서 재조합 인간 속효성 인슐린과는 상이하다. 재조합 인간 속효성 인슐린은 등전점이 5.30 내지 5.35이다. 글라르긴 인슐린은 위치 A21에서 아스파라긴이 글리신으로 치환되고, 2개의 아르기닌이 B 쇠의 C-말단에 첨가되어 있다. 글리신 및 아스파라긴의 등전점은 각각 5.97 및 5.41이다. 아스파라긴을 글리신으로 치환한 것은 글라르긴 인슐린의 등전점에 거의 또는 전혀 영향을 미치지 않는다. 그러나, 등전점이 10.76인 2개의 고염기성 아르기닌 아미노산 잔기는 글라르긴 인슐린의 등전점을 pH 5.8 내지 6.2로 상당히 증가시킨다.

[0270] 인슐린 아스파르트는 위치 B-28에서 프랄린이 아스파르트산으로 교체되었다. 아스파르트산 및 프랄린의 등전점은 각각 2.97 및 6.10이다. 이 단일 산성 아미노산 치환에 의해 인슐린 아스파르트의 등전점이 더 낮은 더욱 산성의 pH를 향해 상당히 이동한다.

[0271] 시판되는 인슐린의 이들 두 가지 예는 비교적 적은 개수의 아미노산 치환이 재조합 인간 속효성 인슐린에 비해 인슐린 글라르긴 또는 인슐린 아스파르트의 등전점을 상당히 상승 또는 저하시킬 수 있음을 예시한다. 인슐린

의 화학적 특성이 변경됨으로써, 생체이용률 및 약물동력학적 프로파일 또한 변화된다. 생체이용률을 증가시키기 위해 개질된 구조를 갖는 인슐린을 당뇨병 환자에게 투여할 경우, 새로운 약리학적 반응은 새로운 치료적 이점을 제공한다.

[0272] 인슐린의 등전점은 인슐린의 1급 아미노산 서열의 내부 분자 재구조화뿐 아니라, 하전된 유기 분자와 인슐린의 결합에 의해 개질될 수 있다. 하전된 유기 분자는 인슐린 구조체의 표면 또는 내에 결합될 수 있다. 100 단위 또는 3.65 mg의 인슐린/ml를 함유하는 인슐린 용액 1.0 ml에 고염기성 단백질의 혼합물 1.0 내지 1.5 mg을 첨가함으로써, 천연 인슐린의 등전점이 pH 5.3에서 pH 7.2로 변화될 수 있다. 프로타민은 인슐린의 등전점을 변경시키는데 사용될 수 있는 간단한 고염기성 단백질군의 한 예이다. 프로타민은 가수분해시 수많은 염기성 아미노산을 생성하고, 질소 함량이 높으며, 어류의 정액 중에서 핵산과 조합되어 천연적으로 발생한다. 예를 들어, 프로타민 살민, 클루페인, 이리딘, 스투린 및 스콤브린은 각각 연어, 청어, 송어, 칠갑상어 및 고등어 정액으로부터 단리된다. 이들 염기성 단백질은 개별적으로 또는 혼합물로서 인슐린과 회합되어 인슐린의 등전점을 증가시킨다.

[0273] 인슐린의 표면 전하를 변경시키는 화합물로는 폴리리신의 유도체 및 다른 고염기성 아미노산 중합체, 예컨대 폴리오르니틴, 폴리히드록시리신, 폴리아르기닌 및 폴리히스티딘 또는 이들의 조합물이 있다. 다른 중합체로는 분자량이 수백 내지 수천인 1:1:1 몰비의 폴리(arg-pro-thr)_n 또는 분자량이 수백 내지 수천인 6:1 몰비의 폴리(DL-Ala-폴리-L-lys)_n가 있다. 인슐린의 카르복실기에 이온 결합될 수 있는, 다양한 양의 여러 아르기닌, 리신 및 다른 염기성 아미노산을 함유하는 여러 아형에 존재하는 염기성 단백질인 히스톤, 및 히스톤의 단편 또한 양전하를 제공하기 위해 사용된다. 1급 아미노기에 의해 부여된 양전하를 함유하는 중합체, 예컨대 폴리글루코사민, 폴리갈락토사민 및 다양한 다른 당 중합체 또한 있다. 1급 아미노기의 이온화를 통해 양전하를 제공하는 폴리뉴클레오타이드, 예컨대 폴리아데닌, 폴리시토신 또는 폴리구아닌 또한 사용된다. 상기한 모든 중합체성 중은 인슐린에 결합하였을 때 인슐린의 등전점을 증가시키는 양전하를 증가시킨다. 소량의 이들 중합체성 화합물, 예컨대 수 μ g의 중합체/ml 인슐린을 첨가하여, 인슐린의 등전점을 최소량으로, 일반적으로 1 pH 단위 미만으로 변화시킨다. 다량의, 일반적으로 인슐린 1 ml 당 1 또는 2 mg 초과인 염기성 유기 화합물을 100 단위/ml로 첨가하여, 인슐린의 등전점을 그의 본래 등전점보다 2 pH 단위보다 더 넘게 급진적으로 증가시킬 수 있다.

[0274] 반대로, 카르복실화 중합체 및 중합체성 아미노산, 예컨대 폴리아스파르트산, 폴리글루탐산, 카르복실 (COO⁻) 또는 술폰히드랄 (S⁻) 관능기를 가진 다량의 아미노산 잔기를 함유하는 단백질 또는 단백질의 단편을 첨가함으로써 유사한 방식으로 인슐린의 등전점을 저하시킬 수 있다. 고염기성 단백질을 적절한 무수물, 예컨대 아세트산 무수물과 반응시켜, 양으로 하전된 염기성 1급 아미노기 대신에 음으로 하전된 말단 산성 카르복실기를 형성함으로써 고산성 단백질로 변화시킬 수 있다. 다른 산성 중합체, 예컨대 술페이트-라덴 중합체를 인슐린에 첨가하여 인슐린의 등전점을 저하시킬 수 있다. 음으로 하전된 카르복실기를 함유하는 당 중합체, 예컨대 폴리갈락투론산, 폴리글루콘산, 폴리글루쿠론산 또는 폴리글루카르산을 사용하여 단백질의 등전점을 저하시킬 수 있다.

[0275] 인슐린의 등전점의 변화는 천연 인슐린 분자의 이온 특성뿐 아니라, 인슐린을 둘러싸며 인슐린 주변의 벌크 상수성 매질로 연장되어 있는 헴홀츠(Hemholtz) 이중층으로도 공지된 이온 장막의 특성을 변경시킨다. 인슐린을 둘러싸는 이온 환경은 인슐린에 결합된 참여하는 하전된 유기 분자와 회합된 반대 이온의 층을 가진 층으로 존재하는 경향이 있다. 인슐린의 표면에 이온이 존재하기 때문에, 벌크 상 매질 중의 콜로이드성 현탁액으로 유지되는 개질된 인슐린 분자상에는 전기 전위가 존재한다. 결합된 유기 분자와 회합된 고정된 반대 이온의 층과 벌크 상 매질의 층 사이에 존재하는 전기 전위 부분은 계면 동전위 또는 제타 (ζ) 전위로 공지되어 있다. 제타 전위는 수성 매질 중 인슐린과 같은 콜로이드성 시스템의 전기적 특성 및 안정성에 상당히 기여한다.

[0276] 등전점을 변화시키는 물질의 첨가에 의해 상이한 화학 구조를 형성한 결과, 콜로이드성 현탁액 중 단백질 인슐린의 안정성이 본질적으로 변경된다. 보다 낮은 제타 전위로 인해 새로 개질된 등전점에서 인슐린의 안정성이 이동한다. 인슐린은 쪼비터 이온 또는 하이브리드 형태일 상태일 때 최소한 안정하며, 이 형태에서 음으로 하전된 관능기가 양으로 하전된 관능기와 정확히 균형을 이루고 단백질상에 전체적인 순 제로 전하를 생성한다. 전체적인 순 전하가 제로임에도, 단백질 구조체 전체에 음전하 포켓 및 양전하 포켓이 남아있다. 인슐린 용액의 pH가 그의 등전점에 도달함에 따라, 그의 가용성은 감소하고, 인슐린이 용액으로부터 침전할 수 있다. 인슐린의 등전점 침전 동안에, 벌크 상 수성 완충액 매질의 절연성 및 유전성이 극복되고, 헴홀츠 이중층의 이온 분위기가 파괴되어, 콜로이드성 입자들 사이에 다른 전하들이 회합되어 불안정성이 증가된 단백질 콜로이드성 현

탁액을 유도한다. 이러한 효과는 결국 등전점에서 단백질의 응집 및 후속적인 침전을 일으킨다. 등전점 침전을 위한 이상적인 범위는 pH 5.3의 인슐린 등전점보다 2 또는 3 pH 단위 더 높거나 낮은 것이다. 그러나, 당업자의 정보를 이용하여 상기 pH 범위를 벗어나는 등전점을 형성할 수 있다.

[0277] 등전점으로부터 pH가 변화함에 따라, 가용성이 증가되고, 등전점에서 침전된 인슐린이 재가용화될 수 있다. 이는 pH가 등전점으로부터 증가하거나 감소하기 때문에 일어나며, 대표적인 관능기의 pKa에 의해 제어되는 음전하의 축적 (등전점 초과에서) 또는 양전하의 축적 (등전점 미만에서)이 있다. 재가용화는 단백질이 더 큰 전하 차이를 나타내어 단백질의 제타 전위가 증가함으로써 단백질의 안정성이 개선됨에 따라 일어난다. 이러한 효과에 의해 단백질을 둘러싸는 이온 장막이 재형성되고, 이는 인슐린 분자의 콜로이드성 분산을 더욱 용이하게 만든다.

[0278] 천연 인슐린의 등전점은 pH 5.3이며, 인슐린에 결합하여 인슐린의 이온 특성을 변경시키는 단백질, 펩티드 단편, 중합체 또는 중합체 단편을 첨가함으로써 급진적으로 증가될 수 있다. 염기성 관능기의 첨가로 인한 전체적인 효과는 인슐린의 등전점을 증가시키고, 가용성 형태에서부터 불용성 형태로, 이어서 새로운 가용성 형태로 인슐린을 전이시킴으로써, 약리학적 작용이 느리게 개시되는 인슐린을 생성한다. 천연 인슐린의 등전점을 특히 HDV 인슐린의 존재하에 개질시킴으로써, 두 가지 인슐린 형태의 생체이용률을 제어할 수 있다.

[0279] 아미노산 서열의 변화에 의해 등전점이 변경된 인슐린을 지질 구조물에 혼입시킬 수 있다. 한 실시양태에서, 글라르긴 인슐린을 지질, 및 가교 성분과 착화제의 착화에 의해 형성된 다중 연결된 개별 단위를 포함하는 표적 분자 착체에 혼입시킨다. 표적 분자 착체 및 그의 성분들에 대해서는 본원에서 상기 기재되어 있다. 글라르긴 인슐린의 구조는 도 11에 제공되어 있다. 글라르긴 인슐린은 인간 인슐린의 A 쇠의 C-말단부에서 아스파라긴이 글리신으로 교체되고, 인간 인슐린의 B 쇠의 C-말단부에서 아르기닌의 디펩티드가 첨가된 점에서 인간 인슐린과는 상이하다. 화합물의 등전점은 화합물의 전체적인 전하가 중성을 나타내는 pH이다. 그러나, 음전하 및 양전하 영역은 화합물 내에 여전히 존재한다. 인간 인슐린의 등전점은 pH 5.3이다. 글라르긴 인슐린에서 아미노산 치환이 글라르긴 인슐린의 등전점을 pH 5.8 내지 6.2으로 증가시키기 때문에, 글라르긴 인슐린의 등전점은 인간 인슐린보다 높다. 화합물은 일반적으로 등전점 주변의 pH에서 수용액 중에 덜 가용성이다. 화합물은 일반적으로 용액의 pH가 등전점보다 대략 1-2 pH 단위 더 높거나 낮을 때 수성 시스템 중에 더욱 가용성이다. 등전점이 더 높을수록, 글라르긴 인슐린이 보다 광범위한 pH 범위에서 온화한 산성 환경에서 가용성으로 유지될 수 있다.

[0280] 글라르긴 인슐린의 시판되는 형태인 란투스(LANTUS[®], 인슐린 글라르긴 [rDNA 기원] 주사제)는 생체내 글루코스 수준의 후속적인 관리를 위해 당뇨병 환자를 위한 주사용 인슐린으로 사용되는 글라르긴 인슐린의 멸균 용액이다. 글라르긴 인슐린은 장기간 작용 (24 시간 이하의 작용 기간)의 비경구용 혈중 글루코스 강하제인 재조합 인간 인슐린 유사체이다. 란투스[®]는 생산 유기체로서 에스케리키아 콜리(*Escherichia coli*, K12)의 비-병원성 실험실용 균주를 이용하는 재조합 DNA 기술에 의해 제조된다. 란투스는 맑은 수성 유체 중에 용해된 글라르긴 인슐린으로 구성된다. 란투스 (인슐린 글라르긴 주사제)의 각 ml는 100 IU (3.6378 mg)의 글라르긴 인슐린, 30 mcg 아연, 2.7 mg m-크레졸, 20 mg 글리세롤 85%, 및 주사용수를 함유한다. 시판되는 란투스 인슐린의 pH는 생리학적으로 상용성인 산, 염기 또는 완충액의 수용액을 첨가함으로써 조정될 수 있다. 란투스의 pH는 대략 4이다.

[0281] 유리 인슐린, 및 표적 분자 착체와 회합된 인슐린을 조합한 제약 조성물은 도 13에 기재되어 있다. 한 실시양태에서, 제약 조성물은 2종 이상의 인슐린을 포함할 수 있다. 표적 분자 착체는 가교 성분과 착화제의 착화에 의해 형성된 다중 연결된 개별 단위를 포함한다. 가교 성분은 착화제와 함께 수불용성 배위결합 착체를 형성할 수 있는 금속의 수용성 염이다. 적합한 금속은 전이 금속 및 내부 전이 금속 또는 상기 전이 금속의 인접 금속으로부터 선택된다. 표적 분자 착체 및 그의 성분은 본원에서 상기에 기재되어 있다. 한 실시양태에서, 제약 조성물은 유리 인슐린, 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 인슐린의 혼합물을 포함한다. 유리 인슐린은 표적 분자 착체와 회합되지 않은 것이며 물에 가용성이다. 조성물 중 다른 형태의 인슐린은 수불용성 표적 분자 착체와 회합된다.

[0282] 산, 염기 또는 완충액의 첨가에 의해 표적 분자 착체를 함유하는 지질 구조물을 둘러싸는 수용액의 pH를 조정하여 지질 구조물 구조체에서 음전하가 발생된다. 이러한 변화가 일어나는 pH 범위는 지질의 조성에 따라 좌우된다. 바람직한 지질 시스템은 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤 및 디세틸포스페이트의 혼합물이다. 이 혼합물은 생리학적 조건하에 음으로 하전된 지질 구조물 구조체를 생성한다. 지질 구조물은 간세포 표적화 특이성을 나타내며, 즉 세포성 간세포에 대해 특이적이고, 따라서 상기 구조물이 간으로 표적화

된다.

[0283] 본 발명에서, 적절한 지질 성분을 최종적으로 pH가 $\text{pH } 3.95 \pm 0.2$ 로 조정된 주사용 멸균수, USP (SWI)를 이용하여 수불용성 표적 분자 착체로 제제화할 경우, 표적 분자 착체상의 전체적인 전자 전하가 음전하를 우세하게 나타낸다는 것을 발견하였다. 글라르긴 인슐린은 $\text{pH } 5.2 \pm 0.5$ 에서 순 양전하를 나타내며, 이는 상기 단백질의 등전점 아래이다. $\text{pH } 5.2 \pm 0.5$ 에서 글라르긴 인슐린상의 양전하는 글라르긴 인슐린의 양으로 하전된 부분이 표적 분자 착체의 음으로 하전된 부분과 상호작용하도록 한다. 그 결과, 양으로 하전된 글라르긴 인슐린이 음으로 하전된 표적 분자 착체를 끌어당긴다. 글라르긴 인슐린의 하전된 부분이 지질상의 전하와 회합하기 시작하고, 하전된 글라르긴 인슐린이 지질내로 이동하며, 다른 하전된 글라르긴 인슐린 분자는 지질 구조물의 다양한 지질 부분을 통해 구획화된 후 지질 구조물의 코어 부피 내에 고립된다.

[0284] 용액 중 유리 글라르긴 인슐린과 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 글라르긴 인슐린 사이에는 평형이 존재한다. 글라르긴 인슐린과 표적 분자 착체 사이의 상호작용에 의해 평형이 일어나기 때문에, 시간에 따라 유리 글라르긴 인슐린이 추가로 결합하여 지질 도메인 및/또는 수불용성 표적 분자 착체의 중심 코어 부피로 구획시킨다. 한 실시양태에서, 유리 글라르긴 인슐린은 수불용성 표적 분자 착체와 평형 상태에 있는 지질의 개별 분자로 흡수되거나 그와 반응함으로써 전이성 지질 유도체로 전환될 수 있다. 이들 유도체는 수불용성 표적 분자 착체의 지질과 회합하여 상기 착체의 코어 부피로 들어가며, 이로써 생성물의 약리학적 활성에 영향을 미친다.

[0285] 인슐린에 하전된 유기 분자를 결합시킴으로서 등전점이 변경된 인슐린을 지질 구조물에 혼입시킬 수 있다. 한 실시양태에서, 재조합 인간 인슐린 이소판을 지질, 및 가교 성분과 착화제의 착화에 의해 형성된 다중 연결된 개별 단위를 포함하는 표적 분자 착체에 혼입시킨다.

[0286] 재조합 인간 인슐린 이소판 및 프로타민의 구조는 도 12에 제공되어 있다. 재조합 인간 인슐린 이소판은 프로타민이 인슐린상에 코팅을 형성하도록 프로타민으로 처리된 점에서 인간 인슐린과는 상이하다. 재조합 인간 인슐린 이소판에 프로타민이 첨가되어 단백질의 등전점이 높아졌기 때문에 재조합 인간 인슐린 이소판의 등전점 ($\text{pH } 7.2$)은 인간 인슐린 ($\text{pH } 5.3$)보다 높다. 등전점이 높을수록, 재조합 인간 인슐린 이소판이 생리학적 pH에서 불용성으로 유지된다. 시판되는 휴물린 NPH 인슐린 제품은 재조합 인간 인슐린 이소판이 바이알의 바닥으로 정지될 때 우유와 같은 현탁액으로서 존재한다.

[0287] 한 실시양태에서, 제약 조성물은 유리 재조합 인간 인슐린 이소판 및 유리 재조합 인간 속효성 인슐린, 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 재조합 인간 인슐린 이소판 및 재조합 인간 속효성 인슐린의 혼합물을 포함한다. 유리 재조합 인간 인슐린 이소판은 도 12에 도시된 물질이다. 유리 재조합 인간 인슐린 이소판은 표적 분자 착체와 회합되지 않은 것이며 NPH 인슐린의 등전점인 대략 7.2의 생리학적 pH에서 불용성이다. 재조합 인간 속효성 인슐린은 $\text{pH } 7.2$ 에서 가용성이다.

[0288] 각각의 인슐린의 경우, 용액 또는 현탁액 중 유리 형태의 인슐린과 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 형태의 인슐린 사이에는 평형이 존재한다. 각 형태의 인슐린과 표적 분자 착체 사이의 상호작용에 의해 평형이 일어나기 때문에, 시간에 따라 유리 형태의 인슐린이 결합하여 지질 도메인 및/또는 수불용성 표적 분자 착체의 중심 코어 부피로 구획시킨다. 한 실시양태에서, 유리 재조합 인간 인슐린 이소판 및 재조합 인간 속효성 인슐린은 수불용성 표적 분자 착체와 평형 상태에 있는 지질의 개별 분자로 흡수되거나 그와 반응함으로써 전이성 지질 유도체로 전환될 수 있다. 이들 유도체는 수불용성 표적 분자 착체의 지질과 회합하여 상기 착체의 코어 부피로 들어가며, 이로써 생성물의 약리학적 활성에 영향을 미친다.

[0289] 지질 구조물을 제조하는 본 발명의 방법에 대한 설명

[0290] 도 14는 양친매성 지질, 연장된 양친매성 지질 및 인슐린을 포함하는 지질 구조물의 제조 방법의 개략도이다. 조성물의 제조는 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질의 혼합물을 제조하는 단계, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질의 혼합물로부터 지질 구조물을 제조하는 단계 및 인슐린을 지질 구조물로 배합하는 단계의 전체 세 단계를 포함한다.

[0291] 지질은 본원에 개시된 방법 및 미국 특허 제4,946,787호, 동 제4,603,044호, 및 동 제5,104,661호 및 그에 인용된 문헌에 기재된 방법에 의해 제조 및 담지된다. 전형적으로, 본 발명의 수성 지질 구조물 체제는 100 부피%를 제조하기 위한 양의 수용액 중에 지질 0.1 중량% 내지 4 중량% 및 활성제 0.1 중량% 내지 10 중량% (즉, ml 당 약물 1 내지 10 mg)를 포함하며, 임의로 염 및 완충제를 함유한다. 활성제 0.1 % 내지 5 %를 포함하는 제제가 바람직하다. 100 부피%를 제조하기에 충분한 양 (충분량)의 수용액 중에 활성제 0.01 중량% 내지 5

중량%, 및 지질 성분 2 중량% 이하를 포함하는 제제가 가장 바람직하다.

- [0292] 한 실시양태에서, 지질 구조물은 이하의 절차에 의해 제조된다. 용매에 수반될 수 있는 임의의 잔류 물을 제거하기 위해 대략 2 시간 동안 분자체 상에서 용매를 건조시킨 유기 용매 시스템 중에서 개개의 지질 구성성분들을 함께 혼합한다. 한 실시양태에서, 용매 시스템은 클로로포름 및 메탄올의 혼합물을 2:1의 부피비로 포함한다. 건조된 지질의 혼합물로부터 쉽게 제거될 수 있는 다른 유기 용매를 또한 사용할 수 있다. 초기 혼합 절차에서 지질 구성성분들을 1-단계 첨가로 사용함으로써, 지질 구조물의 구조를 불필요하게 복잡하게 하고 추가의 분리 절차를 필요로 하는 임의의 추가 커플링 반응의 혼입 필요성을 제거한다. 지질 성분 및 간세포 수용체 결합 분자를 용매에 용해시킨 다음, 지질의 건조된 혼합물이 형성될 때까지 용매를 고 진공하에 제거한다. 한 실시양태에서, 회전식 증발기 또는 당업계에 공지된 다른 방법을 이용해서 약 2 시간 동안 대략 60℃에서 천천히 회전시켜 용매를 제거한다. 이러한 지질 혼합물은 추가의 사용을 위해 저장하거나 또는 직접 사용할 수 있다.
- [0293] 지질 구조물은 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질의 건조된 혼합물로부터 제조된다. 지질의 건조된 혼합물을 적절한 양의 수성 완충된 매질에 첨가하고, 이어서 혼합물에 소용돌이를 일으켜 균질 현탁액을 형성한다. 이후, 지질 혼합물을 건조 질소 분위기하에 약 30 분 동안 대략 80℃에서 혼합하면서 가열한다. 가열된 균질 현탁액을 약 70℃로 예비가열된 미세유동화기(microfluidizer)로 즉시 전달한다. 현탁액을 미세유동화기에 통과시킨다. 균질 지질 미세현탁액을 얻기 위해서는 추가로 현탁액을 미세유동화기에 통과시키는 것이 필요할 수 있다. 한 실시양태에서, 제1 통과시의 압력이 대략 9,000 psig인 모델(Model) #M-110 EHI 미세유동화기를 사용하였다. 균질 지질 미세현탁액의 성질을 나타내는 생성물을 제조하기 위해서는 지질 현탁액을 미세유동화기에 두 번째로 통과시킬 필요가 있다. 이 생성물은 구조 및 형태학적으로는 간세포 수용체 결합 분자를 함유하는 3 차원 지질 구조물로서 정의된다.
- [0294] 평형 담지 및 비-평형 담지의 두 가지 방법 중 하나를 이용해서 인슐린을 지질 구조물에 담지한다. 인슐린의 평형 담지는 인슐린을 지질 구조물의 현탁액에 첨가할 때 시작된다. 일정 시간에 걸쳐, 인슐린 분자는 지질 구조물 내부 및 외부로 이동한다. 이동은 먼저 인슐린을 현탁액으로 혼입한 다음 인슐린을 지질 구조물로 이동시키는 것으로 평형을 분배함으로써 제어된다.
- [0295] 인슐린의 지질 구조물로의 비-평형 담지는 인슐린을 지질 구조물 내부로 국소화한다. 유리 인슐린의 지질 구조물로의 평형 담지를 수행하면, 유리 인슐린을 함유하는 벌크 상 매질이 제거된다. 비-평형 담지 절차는 외부 벌크 상 매질을 제거할 때 시작되는 벡터-유도된 공정이다. 인슐린을 함유하는 수성 상이 제거되었을 때, 인슐린이 지질 구조물 외부로 이동하는 농도구배 포텐셜이 제거된다. 구조물 내부로부터의 인슐린의 이동이 제거되기 때문에, 전체 공정에 의해 최종 지질 구조물 내부에 더 높은 농도의 인슐린이 존재한다. 인슐린의 평형 담지는 시간-의존적 현상이고, 반면 비-평형 담지 절차는 사실상 순간적이다. 비-평형 담지는 용액 중의 물질을 지질 구조물로부터 분리하는 다양한 공정에 의해 개시할 수 있다. 이러한 공정의 예로는 여과, 센트리콘(centricon) 여과, 원심분리, 배치형 친화도 크로마토그래피, 스트렙타비딘 아가로스 친화도 겔 크로마토그래피 또는 배치형 이온-교환 크로마토그래피 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 인슐린 확산 및 노출에 대한 농도구배 포텐셜을 제거하고 인슐린이 지질 구조물에 의해 보유되도록 하는 임의의 수단을 이용할 수 있다.
- [0296] 배치형 크로마토그래피를 사용하는 경우, 친화도 또는 이온-교환 겔을 인슐린 및 구조물의 혼합물과 신속하게 혼합한다. 크로마토그래피 매질로의 결합은 신속하게 일어나며, 크로마토그래피 매질은 수성 상을 따라내거나 또는 전형적인 여과 기술, 예를 들면 여과지 및 부흐너(Buchner) 깔때기를 사용함으로써 수성 매질로부터 제거한다.
- [0297] 지질 구조물은 지질 구조물의 안쪽뿐만 아니라 지질 구조물의 내부 및 표면 상에 위치하는 분리된 양의 담지된 인슐린을 함유한다. 생성된 지질 구조물은 물질의 새롭고 신규한 조성물이며 비-평형 담지의 결과로서 유효량의 인슐린을 전달하기 위한 조성물이 된다. 인슐린의 지질 구조물로의 담지에 이어서 벌크 상 인슐린의 제거는 외부 상 매질의 제거에 필요한 시간의 길이를 단축함으로써 지질 구조물 중 고농도의 인슐린을 나타낸다. 이온-교환 또는 겔-여과 크로마토그래피와 같은 시간-의존적 절차를 이용해서 이러한 수준으로 인슐린을 구조물로 담지하는 것은 어려운데, 그 이유는 상기 절차가 고농도의 인슐린을 포함하는 완충제의 일정한 주입을 필요로 하기 때문이다. 예를 들어, 소규모 컬럼 크로마토그래피를 사용해서 인슐린을 구조물로 담지하는 데는 인슐린을 함유하는 구조물로부터 인슐린을 함유하는 외부 벌크 상 매질을 제거하기 위해 대략 20 분이 필요하다. 이 기간 동안 구조물로부터 인슐린의 이동에 의해 평형 상태가 재확립된다. 지질 구조물 내부 및 이 구조물 상에 인슐린을 고농도로 유지하는 것은 비-평형 담지의 긍정적인 이점들 중 하나이다.

- [0298] 비-평형 담지 공정의 연장으로, 인슐린이 평형 담지를 수행한 후이되 비-평형 담지 공정이 개시되기 전에 인슐린을 지질 구조물에 담지하는 단계 동안 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트를 지질 구조물에 첨가한다. 인슐린 분자의 특성 및 구조에 따라 인슐린 분자는 인슐린이 지질 구조물 전반에 분산될 때 지질 구조물에 삽입될 수 있다. 인슐린의 친수성 부위, 및 분지형 착체 당 및 추가의 관능기는 지질 구조물의 표면으로부터 벌크 상 매질로 연장된다. 인슐린의 상기 연장된 친수성 부위는 도 9에 예시된 바와 같이 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트의 히드록실기, 카르복실기 및 카르보닐 관능기를 갖는 지질 구조물의 표면에서 수소 결합, 쌍극자-쌍극자 및 이온-쌍극자 상호작용에 참여할 수 있다. 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트는 지질 구조물의 분자와 결합하는 독특한 수단을 부여함으로써 위의 소화 환경으로부터 지질 구조물의 함유물을 차폐하기 위한 우수한 보호를 제공한다. 위에서의 소화 과정은 효소 펩신에 의한 단백질성 기질의 가수분해 절단 및 산 가수분해에 의한 절단으로부터 일어난다. 위의 산 환경은 유리 인슐린을 분해하며 인지질 분자에서 아실 탄화수소 쇄를 글리세롤 주쇄로 보유시키는 에스테르 결합을 가수분해할 수 있다. 가수분해 절단은 또한 포스포콜린 기에서 포스페이트 관능기의 각 측면에서 일어날 수 있다. 위의 산 영역으로부터 소장의 알칼리 영역으로의 소화 시스템 변화는 트립신 및 키모트립신의 효소 작용이 일어나는 것이었다. 아미노산 용해 효소, 예를 들면 알파 아미노 펩티다제는 인슐린과 같은 단백질을 N-말단 단부로부터 분배할 수 있다. 지질 구조물 내의 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트의 존재는 인슐린을 가수분해로부터 보호한다. 소장의 알칼리 환경이 지질 구조물의 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트 보호를 가수분해에 의해 분해함에 따라, 간세포 수용체 결합 분자는 구조물을 간세포 결합 수용체에 직접 결합시키는 데 이용될 수 있다. 임의의 특정 이론에 얽매이지 않는 것은 아니지만, 비-평형 담지의 종말점에서 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트의 첨가시 가수분해 보호의 상승작용이 존재한다. 보호는 인슐린 및 개개의 지질 분자뿐만 아니라 전체 지질 구조물로 분포된다. 이러한 상승작용은 효소 및 산 가수분해로부터 개개의 분자뿐만 아니라 전체 분자를 보호한다.
- [0299] 한 실시양태에서, 다양한 방법을 이용해서 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트를 인슐린 또는 지질 구조물에 공유 결합시킨다. 예를 들어, 한가지 방법은 만니치(Mannich) 반응을 이용해서 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트 상의 히드록실기를 인슐린 분자 내의 10 개의 L-리신의 ϵ -아미노기 또는 1,2-디아실-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 상의 아민 관능기와 커플링시키는 것을 포함한다.
- [0300] 한 실시양태에서, 인슐린을 구조물로 평형 담지하는 동안 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트를 지질 구조물에 담지한다. 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트의 히드록실 및 카르보닐 관능기는 지질 구조물 내의 지질 분자와 수소 결합한다. 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트와 구조물 사이의 수소 결합은, 평형 상태하에서 인슐린이 지질 구조물로 담지되어 인슐린 및 구조물 주변에 방어막을 생성시키는 것과 동시에 형성된다.
- [0301] HDV 인슐린을 스트렙타비딘-아가로스 이미노바이오틴에 결합시킴으로써 HDV 인슐린을 수성 매질로부터 회수하여 재활용한다. 시아노겐 브로마이드 활성화된 아가르스에 공유 결합된 스트렙타비딘은 인슐린을 구조물로 비-평형 담지하는 것의 말기에 수성 매질 내의 인슐린으로부터 이미노바이오틴-기재 지질 구조물을 분리하는 수단을 제공한다. 한 실시양태에서, 이미노바이오틴 유도체는 지질 구조물 내에 인지질 부분의 간세포 수용체 결합 부위를 형성한다. 지질 고정 분자의 수용성 부위를 지질 표면으로부터 대략 30 Å를 연장함으로써 인지질 부분의 간세포 수용체 결합 부위와 간세포 수용체의 결합을 촉진시켜 지질 구조물을 스트렙타비딘에 부착시키는 것을 보조한다.
- [0302] 스트렙타비딘은 9.5 이상의 pH 값에서 이미노바이오틴에 가역적으로 결합하는데, 이미노바이오틴의 비대전된 구아니디노 관능기는 단백질의 표면 하의 대략 9 Å에 위치하는 스트렙타비딘 상의 4 개의 결합 부위들 중 하나에 강하게 결합한다. 20 mM 나트륨 탄산염-나트륨 중탄산염 완충제를 첨가해서 구조물의 수성 혼합물의 pH를 pH 9.5로 상승시킴으로써 이미노바이오틴을 함유하는 지질 구조물을 완충된 매질로부터 제거한다. 상기 pH에서, 벌크 상 매질은 여과, 원심분리 또는 크로마토그래피를 포함하지만 이에 한정되지 않는 다양한 절차를 이용해서 지질 구조물로부터 재생 및 분리된 유리 인슐린을 함유한다.
- [0303] 이어서, pH 9.5의 혼합물을 스트렙타비딘-아가로스 가교-결합된 비드와 혼합하며, 이때 구조물은 스트렙타비딘 상에 흡수된다. 직경이 대략 120 μ m인 비드를 여과에 의해 용액으로부터 분리한다. pH 4.5의 20 mM 나트륨 아세테이트-아세트산 완충제를 첨가해서 pH를 pH 9.5에서 pH 4.5로 감소시킴으로써 지질 구조물을 스트렙타비딘-아가로스 친화도 겔로부터 방출시킨다. pH 4.5에서, 이미노바이오틴의 구아니디노 기는 도 10에 나타난 바와 같이 양성자화되어 양으로 대전된다. 여과에 의해 스트렙타비딘-아가로스 비드로부터 지질 구조물을 방출시켜 분리한다. 스트렙타비딘-아가로스 비드는 추가의 사용을 위해 재생된다. 따라서, 유리 인슐린 및 스트렙타비

딘 아가로스는 둘 다 보존되며 재사용될 수 있다.

- [0304] 한 실시양태에서, 스트렙타비딘-아가로스 비드를 사용해서 이미노바이오틴 또는 이미노바이오틴 지질 구조물을 인슐린과 함께 담지시킬 때 인슐린의 연장된 방출을 제공하는 조성물을 제조한다. 상기 언급된 구조물의 pH가 pH 9.5에서 pH 4.5로 조정될 때, 인슐린은 대략 pH 5.9에서 지질 구조물 내에 침전될 것이다. 인슐린의 등전점은 pH 5.9이며, 이는 인슐린이 그의 최저 수용해도를 갖는 pH를 나타낸다. pH 5.9 내지 pH 6.7의 pH 범위에서 인슐린은 본질적으로 불용성으로 잔류하며, 통상적으로 미립자 물질에 기인하는 성질을 나타낸다. 지질 구조물 내의 불용화 인슐린은 피하 주사에 의해 또는 경구 투여를 통해 투여되는 경우 지속 방출형 인슐린 분자를 제공하는 신규 인슐린 제제를 생성시킨다. 지질 구조물의 pH가 pH 7.4에 접근함에 따라 인슐린의 가용화가 개시된다.
- [0305] 지질 구조물은 투여에 앞서 동결-건조되거나 또는 비-수성 환경에서 유지된다. 수성 투여 형태의 인슐린에서, 인슐린을 불용성 형태로 유지하기 위해 인슐린 용액의 pH를 대략 pH 6.5에서 유지한다. 인슐린이 외부 pH 농도 구배로 노출되는 경우, 생체내 인슐린은 용해되어 지질 구조물로부터 이동하며, 이에 따라 인슐린이 다른 바이러스-보유(harboring) 조직으로 공급된다. 지질 구조물과 함께 잔류하는 인슐린은 간 내의 간세포 상의 간세포 결합 수용체로 지정되는 능력을 유지한다. 따라서, 이러한 특정 지질 구조물로부터 두 가지 형태의 인슐린이 생성된다. 생체내 환경에서, 유리 및 지질 회합된 인슐린은 시간-의존적인 방식으로 생성된다. 앞서 기술된 바와 같이 지질 회합된 인슐린의 가용화는 지정된 지속 방출형 기간에 걸쳐 인슐린을 방출하도록 제조될 수 있을 것으로 예상된다. 이로써 바이러스에 감염된 환자에 대해 더 적은 빈도의 투여 스케줄이 얻어진다.
- [0306] 바람직한 실시양태에서, 인슐린 분자는 지질 구조물로 이동하며, 담지된 지질 구조물의 지질 도메인 내부에 격리된다. 화학적 평형이 파괴될 때 인슐린 담지 절차의 마지막 단계 동안 벡터-유래된 공정을 이용해서 인슐린 분자를 한 방향으로 이동시킨다. 인슐린 담지의 마지막 단계 동안, 완충제 또는 수성 매질을 신속하게 제거하여, 지질 구조물과 회합된 인슐린 분자가 이동하게 되는 외부 매질이 제거되도록 한다. 외부 매질의 제거는 지질 구조물과 회합된 인슐린과 외부 매질 중에 가용화된 인슐린 사이의 평형을 효과적으로 켈칭한다. 이 과정을 본원에 기재된 바와 같이 비-평형 담지라고 한다.
- [0307] 한 실시양태에서, 평형 방법을 이용해서 지질 구조물을 인슐린과 함께 담지한다. 단백질 μg 당 인슐린 273,000 유닛의 인슐린 농도를 선택해서 담지 절차를 개시한다. 지질 구조물이 인슐린으로 포화될 때까지 평형 담지가 계속된다.
- [0308] 인슐린을 지질 구조물로 비-평형 담지하는 것의 종결 공정에서는 유리 인슐린을 함유하는 완충된 매질로부터 고체 지질 구조물을 분리하는 절차를 이용하는 것이 필요하다. 한 실시양태에서, 매우 미세한 마이크로포어 합성막을 사용한 여과 절차를 이용해서 지질 구조물을 외부 매질로부터 분리한다. 또다른 실시양태에서, 나노세프(NanoSep) 여과기와 같이 100,000 분자량 컷오프 막을 갖는 적절한 여과기가 구비된 센트리콘 장치와 같은 여과원심분리 장치를 사용해서 유리 인슐린을 함유하는 완충된 매질로부터 지질 구조물을 제거한다. 지질 구조물 내의 인슐린의 농도는 유지되는데, 이는 회합된 인슐린이 구조물로부터 제거된 벌크 상 매질 중에 위치한 유리 인슐린 분자와 더 이상 평형으로 존재하지 않기 때문이다. 용액 중에 있었던 유리 인슐린은 다른 지질 구조물을 담지하는데 이용될 수 있다. 따라서, 인슐린을 지질 구조물 내에 농축시키는 벡터-유래의 공정은 본질적으로 시간-의존적인 절차로 1-단계로 달성된다.
- [0309] 지질 구조물이 벌크 상 매질로부터 분리된 다음, 상기 구조물은 직경이 대략 0.0200 μm 내지 0.4000 μm 의 크기 범위일 수 있다. 지질 구조물은 일반적으로 가우스 분포를 따르는 여러 입도를 포함한다. 의도된 약리 효능을 달성하는데 필요한 지질 구조물의 적절한 크기는 간세포 결합 수용체에 의해 가우스 분포의 입도를 포함하는 지질 구조물로부터 선택될 수 있다.
- [0310] 더 큰 지질 구조물을 더 작은 구조물로 분해하는 고 전단력을 제공하는 미세-유동화 공정을 이용해서 인슐린, 양친매성 지질 및 연장된 양친매성 지질을 포함하는 지질 구조물을 제조한다. 지질 구조물의 양친매성 지질 구성분은 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤, 디세틸 포스페이트, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(Cap 바이오티닐), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(숙시닐), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-[포스포-rac-(1-글리세롤)](나트륨 염), 트리에틸암모늄 2,3-디아세톡시프로필 2-(5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미도)에틸 포스페이트 및 적절한 이들의 유도체 (이의 대표적인 구조는 표 3에 나타나 있음)를 포함할 수 있다.

- [0311] 한 실시양태에서, 구조물은 가교 성분과 착화제를 착체화함으로써 형성된 다수개 연결된 개별 단위들을 포함하는 표적 분자 착체를 포함한다. 전형적으로, 표적 분자 착체는 선택된 금속 화합물, 예를 들어 염화크롬(III) 옥수화물과 착화제의 수성 완충된 용액을 착체화함으로써 형성된다. 한 실시양태에서, 착화제의 수성 완충된 용액은 착화제, 예를 들어 N-(2,6-디이소프로필페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산을 수성 완충된 용액, 예를 들어 10 mM 나트륨 아세테이트 완충제 중에 pH 3.2 내지 3.3의 최종 pH로 용해시킴으로써 제조된다. 금속 화합물은 착화제의 단리가능한 부위와 착체를 형성하기에 충분한 양의 과량으로 첨가되며, 반응은 20℃ 내지 33℃의 온도에서 24 내지 96 시간 동안 또는 생성된 착체가 수성 완충된 용액으로부터 침전될 때까지 수행한다. 이어서, 중합체성 성질을 입증하는 침전된 착화제를 후의 사용을 위해 분리한다. 이 착체는 지질 구조물을 제조하기에 앞서 양친매성 지질 분자 및 연장된 양친매성 지질의 혼합물에 첨가된다.
- [0312] 아미노산 서열의 변화에 의해 등전점이 변경되고 수불용성 표적 분자 착체로 혼입될 수 있는 인슐린 조성물의 제조 방법이 하기에 제시된다. 한 실시양태에서, 글라르긴 인슐린을 수불용성 표적 분자 착체에 혼입시킨다. 도 15는 유리 글라르긴 인슐린, 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 글라르긴 인슐린의 혼합물의 제조 방법의 개략도이다. 한 실시양태에서, 조성물의 제조는 표적 분자 착체를 제조하는 단계, 표적 분자 착체를 지질 구조물에 혼입시키는 단계, 및 표적 분자 착체와 글라르긴 인슐린을 배합하여 제약 조성물을 형성하는 단계의 전체 세 단계를 포함한다.
- [0313] 표적 분자 착체는 중합체성 배열과 함께 연결된 다중 개별 단위를 포함한다. 각각의 단위는 가교 성분 및 착화제를 포함한다. 한 실시양태에서, 표적 분자 착체는 선택된 금속 화합물, 예를 들어 염화크롬(III) 옥수화물과 착화제의 수성 완충액을 배합함으로써 형성된다. 한 실시양태에서, 착화제의 수성 완충액은 착화제, 예를 들어 N-(2,6-디이소프로필페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산을 수성 완충액, 예를 들어 최종 pH 3.2 내지 3.3의 10 mM 아세트산나트륨 완충액에 용해시킴으로써 제조된다. 금속 화합물은 착화제의 단리가능한 부분과 착화되기에 충분한 양으로 과량으로 첨가되며, 반응은 대략 20℃ 내지 33℃에서 대략 24 내지 96 시간 동안, 또는 생성된 착체가 수성 완충액으로부터 침전될 때까지 수행한다. 그 후, 침전된 착체를 이후의 사용을 위해 분리한다.
- [0314] 그 후, 침전된 착체를 선택된 지질 또는 지질 구조물의 지질과 혼합하고, 유기 용매에 용해한다. 한 실시양태에서, 유기 용매는 클로로포름:메탄올 (2:1 v/v)이다. 지질은 금속 착체의 전부 또는 일부를 용해하고 혼입하는데 충분한 농도를 갖는다. 높은 전이 온도의 지질, 예컨대 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린을 사용하는 경우에는, 착체, 및 지질 구조물을 형성하는 선택된 지질의 혼합물을 대략 60℃의 온도에서 유지시킨다. 지질 구조물에 혼입하기 위해 선택된 지질의 전이 온도에 따라 보다 낮은 온도를 이용할 수 있다. 일반적으로, 지질을 건조하고 지질 매트릭스로부터 임의의 잔류 유기 용매를 제거하여 표적 분자 착체 중간체를 형성하기 위해서는 진공하에 30분 내지 2시간의 시간이 필요하다.
- [0315] 지질을 본원에 개시된 방법 및 미국 특허 제4,946,787호, 제4,603,044호 및 제5,104,661호 및 그에 인용된 문헌에 기재된 방법에 따라 제조되고 담지된다. 전형적으로, 본 발명의 수성 지질 구조물 제제는 100 부피%를 제조하기 위한 양의 수용액 중에 0.1 중량% 내지 10 중량% 활성제 (즉, 1 내지 100 mg 약물/ml) 및 0.1 중량% 내지 4 중량% 지질을 포함할 것이고, 임의로 염 및 완충액을 함유한다. 0.01% 내지 5% 활성제를 포함하는 제제가 바람직하다. 100 부피%를 제조하기에 충분한 양 (충분량)의 수용액 중에 0.01 중량% 내지 5 중량% 활성제 및 2 중량% 이하의 지질 성분을 포함하는 제제가 가장 바람직하다.
- [0316] 한 실시양태에서, 표적 분자 착체 및 주사용수, USP의 현탁액의 pH를 대략 pH 4.89 ± 0.2 내지 5.27 ± 0.5로 변경시킨 후, 글라르긴 인슐린을 표적 분자 착체에 담지하였다. 글라르긴 인슐린 용액의 pH를 pH 3.88 ± 0.2에서 대략 pH 4.78 ± 0.5로 조정된 후, 수불용성 표적 분자 착체를 첨가하였다. 생성된 조성물은 유리 글라르긴 인슐린, 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 글라르긴 인슐린의 혼합물이었다. 글라르긴 인슐린의 일부가 지질 구조물 매트릭스와 회합되거나 지질 구조물의 코어 부피에 고립되기 시작하였다. 이 제약 조성물은 HDV-글라르긴으로도 지칭된다. 한 실시양태에서, 표적 분자 착체의 분취물을 100 국제 단위의 인슐린/ml을 함유하는 글라르긴 인슐린의 바이알에 혼입하여, 유리 글라르긴 인슐린, 및 표적 분자 착체와 회합된 글라르긴 인슐린 둘 다를 함유하는 간세포 특이적 전달 시스템을 제공한다.
- [0317] 유리 글라르긴 인슐린, 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 글라르긴 인슐린을 조합한 제약 조성물은 하기 절차에 의해 제조하였다. 멸균 주사용수, USP의 샘플의 pH를 pH 3.95 ± 0.2로 조정하였다. HDV 현탁액의 분취물을 취하여, 최종 pH가 5.2 ± 0.5가 될 때까지 일련의 단계를 거쳐 pH를 조정하였다. pH 3.95 ± 0.2의 멸균 주사용수, USP의 분취물을 표적 분자 착체의 현탁액과 혼합하였다. 생성된 현탁액의 pH는 4.89 ± 0.2이었다.

그 후, 이 현탁액의 pH를 pH 5.27 ± 0.5로 조정하였다. 글라르긴 인슐린의 분취물의 pH를 pH 3.88 ± 0.2에서 pH 4.78 ± 0.5로 조정하였다. 그 후, 이 용액을 pH 5.20 ± 0.5의 표적 분자 착체의 현탁액에 첨가하였다. 생성된 제약 조성물은 유리 글라르긴 인슐린, 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 글라르긴 인슐린의 혼합물이다. 이 제약 조성물은 HDV-글라르긴으로도 지칭된다.

[0318] 인슐린에 하전된 유기 분자를 결합시켜 등전점이 변경되고 수불용성 표적 분자 착체에 혼입될 수 있는 인슐린 조성물의 제조 방법이 하기에 제시된다. 한 실시양태에서, 재조합 인간 인슐린 이소판을 수불용성 표적 분자 착체에 혼입시킨다. 도 16은 유리 재조합 인간 인슐린 이소판, 유리 재조합 인간 속효성 인슐린, 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 재조합 인간 인슐린 이소판 및 재조합 인간 속효성 인슐린의 혼합물의 제조 방법의 개략도이다. 한 실시양태에서, 상기 조성물의 제조 방법은 표적 분자 착체를 제조하는 단계, 표적 분자 착체를 유리 및 회합된 재조합 인간 속효성 인슐린을 포함하는 지질 구조물에 혼입시키는 단계, 및 표적 분자 착체와 유리 및 회합된 재조합 인간 인슐린 이소판을 배합하여 제약 조성물을 형성하는 단계의 전체 세 단계를 포함한다.

[0319] 표적 분자 착체는 중합체성 배열과 함께 연결된 다중 개별 단위를 포함한다. 각각의 단위는 가교 성분 및 착화제를 포함한다. 한 실시양태에서, 표적 분자 착체는 선택된 금속 화합물, 예를 들어 염화크롬(III) 옥수화물과 착화제의 수성 완충액을 배합함으로써 형성된다. 한 실시양태에서, 착화제의 수성 완충액은 착화제, 예를 들어 N-(2,6-디이소프로필페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산을 수성 완충액, 예를 들어 최종 pH 3.2 내지 3.3의 10 mM 아세트산나트륨 완충액에 용해시킴으로써 제조된다. 금속 화합물은 착화제의 단리가능한 부분과 착화되기에 충분한 양으로 과량으로 첨가되며, 반응은 대략 20℃ 내지 33℃에서 대략 24 내지 96 시간 동안, 또는 생성된 착체가 수성 완충액으로부터 침전될 때까지 수행한다. 그 후, 침전된 착체를 이후의 사용을 위해 단리한다.

[0320] 그 후, 침전된 착체를 선택된 지질 또는 지질 구조물의 지질과 혼합하고, 유기 용매에 용해한다. 한 실시양태에서, 유기 용매는 클로로포름:메탄올 (2:1 v/v)이다. 지질은 금속 착체의 전부 또는 일부를 용해하고 혼입하는데 충분한 농도를 갖는다. 높은 전이 온도의 지질, 예컨대 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린을 사용하는 경우에는, 착체, 및 지질 구조물을 형성하는 선택된 지질의 혼합물을 대략 60℃의 온도에서 유지시킨다. 지질 구조물에 혼입하기 위해 선택된 지질의 전이 온도에 따라 보다 낮은 온도를 이용할 수 있다. 일반적으로, 지질을 건조하고 지질 매트릭스로부터 임의의 잔류 유기 용매를 제거하여 표적 분자 착체 중간체를 형성하기 위해서는 진공하에 30분 내지 2시간의 시간이 필요하다.

[0321] 지질을 본원에 개시된 방법 및 미국 특허 제4,946,787호, 제4,603,044호 및 제5,104,661호 및 그에 인용된 문헌에 기재된 방법에 따라 제조되고 담지된다. 전형적으로, 본 발명의 수성 지질 구조물 제제는 100 부피%를 제조하기 위한 양의 수용액 중에 0.1 중량% 내지 10 중량% 활성제 (즉, 1 내지 100 mg 약물/ml) 및 0.1 중량% 내지 4 중량% 지질을 포함할 것이고, 임의로 염 및 완충액을 함유한다. 0.01% 내지 5% 활성제를 포함하는 제제가 바람직하다. 100 부피%를 제조하기에 충분한 양 (충분량)의 수용액 중에 0.01 중량% 내지 5 중량% 활성제 및 2 중량% 이하의 지질 성분을 포함하는 제제가 가장 바람직하다.

[0322] 한 실시양태에서, 재조합 인간 속효성 인슐린 및 지질 구조물의 미리 형성된 혼합물에 휴물린 NPH 인슐린을 첨가하였다. 생성된 조성물은 유리 재조합 인간 속효성 인슐린 및 유리 재조합 인간 인슐린 이소판의 혼합물이었다. 마찬가지로, 재조합 인간 속효성 인슐린 및 재조합 인간 인슐린 이소판의 일부가 지질 구조물 매트릭스에 회합되거나 지질 구조물의 코어 부피에 고립된다. 이 제약 조성물은 HDV-NPH 인슐린으로도 지칭된다. 한 실시양태에서, 표적 분자 착체의 분취물을 재조합 인간 인슐린 이소판의 바이알에 혼입하여, 유리 재조합 인간 인슐린 이소판, 및 표적 분자 착체와 회합된 재조합 인간 인슐린 이소판 둘 다를 함유하는 간세포 특이적 전달 시스템을 제공한다. 한 실시양태에서, 재조합 인간 인슐린 이소판을 다른 형태의 인슐린, 예컨대 신속 작용 휴말로그(Humalog) 인슐린 및 노볼로그(Novolog) 인슐린, 단기간 작용 레귤러(Regular[®]) 인슐린, 중간 작용 렌트(Lente) 인슐린 및 장기간 작용 울트라렌트 인슐린 및 란투스 인슐린, 또는 인슐린의 예비 혼합된 조합물과 조합할 수 있다. 재조합 인간 인슐린 이소판의 분취물을 재조합 인간 인슐린 이소판이 아닌 인슐린과 조합된 표적 분자 착체의 혼합물에 첨가할 수 있다.

[0323] 본 발명의 기재 - 사용 방법

[0324] 제I형 또는 제II형 당뇨병을 가진 환자에게 양친매성 지질, 연장된 양친매성 지질 및 인슐린을 포함하는 유효량의 간세포 표적화된 지질 구조물을 투여한다. 이 조성물이 피하 투여되는 경우, 조성물의 일부는 조성물을 간으로 수송하는 순환계 및 연장된 양친매성 지질이 지질 구조물을 간세포의 수용체에 결합시키는 다른 영역으로

들어간다. 투여된 조성물의 일부는 인슐린이 가용화될 수 있는 생체내의 외부 구배에 노출된 다음, 지질 구조물로부터 이동하여, 인슐린을 근육 또는 지방 조직에 공급한다. 지질 구조물에 남아 있는 인슐린은 간에 있는 간세포 상의 간세포 결합 수용체로 향하는 능력을 유지한다. 따라서, 두 가지 형태의 인슐린이 상기 특정한 지질 구조물로부터 생성된다. 생체내 상태에서는 유리 및 지질 회합된 인슐린이 시간-의존적 방식으로 생성된다.

[0325] 본 발명의 지질 구조물 구조체는 인슐린을 숙주에게 투여하기 위해 제약학적 적용을 위한 유용한 제제를 제공한다. 따라서, 본 발명의 구조체는 제약상 허용되는 담체와 배합된 제약 조성물로서 유용하다. 본원에 기재된 구조체의 투여는 투여될 바람직한 인슐린에 대해 허용되는 임의의 투여 방식을 통해 이루어질 수 있다. 이러한 방법으로는 경구, 비경구, 비강 및 다른 전신 또는 에어로졸 형태가 있다.

[0326] 표적 분자 착체와 회합된 인슐린을 포함하는 제약 조성물은 경구 투여 후, 표적 분자 착체와 회합된 인슐린이 신체의 순환계로 장 흡수되고, 여기서 혈액의 생리학적 pH에 또한 노출된다. 지질 구조물은 간으로의 전달을 위해 표적화된다. 한 실시양태에서, 지질 구조물은 구조물 내 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트의 존재에 의해 보호된다. 경구 투여의 경우, 보호된 지질 구조물이 구강을 통과하고 위를 통해 이동하여 소장으로 이동하며, 소장의 알칼리성 pH는 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트의 보호를 분해한다. 탈보호된 지질 구조물은 순환계로 흡수된다. 이는 지질 구조물이 간의 동양 혈관으로 이동하게 한다. 수용체 결합 분자, 예컨대 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(Cap 바이오티닐) 또는 상기 언급한 다른 간세포 특이적 분자는 지질 구조물이 수용체에 결합한 다음 간세포에 의해 휩쓸려 막 함입된다. 그 후, 인슐린이 지질 구조물로부터 방출되고, 세포 환경에 접근하였을 때, 당뇨병을 조절하는 약제로서 그의 지정된 기능을 수행한다.

[0327] 인슐린의 투여량은 치료할 대상체, 병증의 유형 및 중증도, 투여 방식, 및 처방의의 판단에 따라 달라질 것이다. 해당하는 특이적 생물학적 활성 물질의 효과적인 투여량이 다양한 인자에 의해 좌우되며 일반적으로 당업자에게 공지되어 있지만, 어느 정도의 지침은 일반적으로 정의될 수 있다. 대부분의 투여 형태의 경우, 지질 성분이 수용액 중에 현탁되며, 일반적으로 전체 제제의 4.0% (w/v)를 넘지 않을 것이다. 제제의 약물 성분은 거의 대부분 제제의 20% (w/v) 미만이며 일반적으로 0.01% (w/v) 초과일 것이다.

[0328] 아미노산 서열의 변화에 의해 등전점이 변경되고 수불용성 표적 분자 착체에 혼입된 인슐린 조성물의 투여 방법이 하기에 제시된다. 한 실시양태에서, 제I형 또는 제II형 당뇨병을 가진 환자에게 유리 글라르긴 인슐린, 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 글라르긴 인슐린의 혼합물을 포함하는 유효량의 간세포 표적화된 조성물을 투여한다. 한 실시양태에서, 글라르긴 인슐린은 다른 형태의 인슐린, 예컨대 인슐린 리스프로, 인슐린 아스파르트, 속효성 인슐린, 인슐린 아연, 연장된 인간 인슐린 아연, 이소판 인슐린, 인간 완충된 속효성 인슐린, 인슐린 글룰리신, 재조합 인간 속효성 인슐린, 재조합 인간 인슐린 이소판 또는 상기 언급한 임의의 인슐린의 예비 혼합된 조합물, 이들의 유도체, 및 상기 언급한 임의의 인슐린의 조합물과 조합될 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 조성물은 피하 또는 경구 경로에 의해 투여될 수 있다.

[0329] 본 발명의 지질 구조물 구조체는 인슐린을 숙주에게 투여하기 위해 제약학적 적용을 위한 유용한 제제를 제공한다. 따라서, 본 발명의 구조체는 제약상 허용되는 담체와 배합된 제약 조성물로서 유용하다. 본원에 기재된 구조체의 투여는 투여될 바람직한 인슐린에 대해 허용되는 임의의 투여 방식을 통해 이루어질 수 있다. 이러한 방법으로는 경구, 비경구, 비강 및 다른 전신 또는 에어로졸 형태가 있다.

[0330] 조성물을 피하 주사를 통해 환자에게 투여한 후, 주사 영역 그 자리의 생리학적 환경에서 유리 글라르긴 인슐린, 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 글라르긴 인슐린의 형태 및 화학 구조가 변하기 시작한다. 생리학적 매질로 희석된 후 유리 글라르긴 인슐린, 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 글라르긴 인슐린을 둘러싸는 환경의 pH가 증가함에 따라, pH가 글라르긴 인슐린의 등전점에 도달하고, 여기서 유리 글라르긴 인슐린 및 표적 분자 착체와 회합된 글라르긴 인슐린 둘 다에 대해 영감, 집합 및 침전 반응이 일어난다. 유리 글라르긴 인슐린과 표적 분자 착체와 회합된 글라르긴 인슐린 사이에는 이러한 과정이 일어나는 속도의 차이가 있다. 유리 글라르긴 인슐린은 pH 변화 및 희석에 직접적으로 노출된다. 생리학적 pH에서 적은 pH 변화 및 희석에 노출되는 표적 분자 착체와 회합된 글라르긴 인슐린은 수불용성 표적 분자 착체에서 지질 이중층을 통한 생리학적 유체 또는 매질의 확산을 위해 필요한 시간 때문에 지연된다. 지질 구조물로부터 인슐린 방출의 지연뿐 아니라, 침전된 유리 글라르긴 매트릭스 내에서 인슐린과 회합된 지질 구조물 방출의 지연은 생체내에서 생물학적 및 약리학적 반응에 영향을 미치고 이를 증대시키기 때문에 본 발명의 필수적인 특징이다.

[0331] 유리 글라르긴 인슐린, 및 표적 분자 착체와 회합된 글라르긴 인슐린을 조합한 제약 조성물은 경구 투여 후, 표적 분자 착체와 회합된 글라르긴 인슐린이 신체의 순환계로 장 흡수되고, 여기서 혈액의 생리학적 pH에 또한 노출된다. 지질 구조물의 전부 또는 일부가 간으로 전달된다.

- [0332] 피하 공간 그 자리에서 또는 순환계로 들어갈 때 생리학적 희석이 증가되기 때문에, 유리 글라르긴 인슐린, 및 표적 분자 착체와 회합된 글라르긴 인슐린은 pH 7.4의 정상 생리학적 pH 환경에 직면하게 된다. 그 결과, 유리 글라르긴 인슐린은 주사시의 가용성 형태에서부터 pH 5.8 내지 6.2의 등전점 근처에서 불용성 형태로, 이어서 생리학적 pH에서 가용성 형태로 변화한다. 가용성 형태에서 글라르긴 인슐린은 신체를 통해 약리학적 반응이 유도될 수 있는 부위로 이동한다. 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 글라르긴 인슐린은 가용화되어 유리 글라르긴 인슐린과는 상이한 속도로 착체로부터 방출되기 시작한다. 이는 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 글라르긴 인슐린이 벌크 상 매질과 접촉하기 전에 수불용성 표적 분자 착체의 코어 부피 및 지질 도메인을 횡단하여야 하기 때문이다.
- [0333] 글라르긴 인슐린의 투여량은 치료할 대상체, 병증의 유형 및 중증도, 투여 방식, 및 처방의의 판단에 따라 달라질 것이다. 해당하는 특이적 생물학적 활성 물질의 효과적인 투여량이 다양한 인자에 의해 좌우되며 일반적으로 당업자에게 공지되어 있지만, 어느 정도의 지침은 일반적으로 정의될 수 있다. 대부분의 투여 형태의 경우, 지질 성분이 수용액 중에 현탁되며, 일반적으로 전체 제제의 4.0% (w/v)를 넘지 않을 것이다. 제제의 약물 성분은 거의 대부분 제제의 20% (w/v) 미만이며 일반적으로 0.01% (w/v) 초과일 것이다.
- [0334] 아미노산 서열의 변화에 의해 등전점이 변경되고 수불용성 표적 분자 착체에 혼입된 인슐린 조성물의 투여 방법이 하기에 제시된다. 한 실시양태에서, 제I형 또는 제II형 당뇨병을 가진 환자에게 유리 재조합 인간 인슐린 이소판 및 유리 재조합 인간 속효성 인슐린과 함께 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 재조합 인간 인슐린 이소판 및 재조합 인간 속효성 인슐린의 혼합물을 포함하는 유효량의 간세포 표적화된 조성물을 투여한다. 한 실시양태에서, 재조합 인간 인슐린 이소판은 다른 형태의 인슐린, 예컨대 인슐린 리스프로, 인슐린 아스파르트, 속효성 인슐린, 인슐린 글라르긴, 인슐린 아연, 연장된 인간 인슐린 아연, 이소판 인슐린, 인간 완충된 속효성 인슐린, 인슐린 글루리신, 재조합 인간 속효성 인슐린, 재조합 인간 인슐린 이소판 또는 상기 언급한 임의의 인슐린의 예비 혼합된 조합물, 이들의 유도체, 및 상기 언급한 임의의 인슐린의 조합물과 조합될 수 있다.
- [0335] 본 발명의 지질 구조물 구조체는 인슐린을 숙주에게 투여하기 위해 제약학적 적용을 위한 유용한 제제를 제공한다. 따라서, 본 발명의 구조체는 제약상 허용되는 담체와 배합된 제약 조성물로서 유용하다. 본원에 기재된 구조체의 투여는 투여될 바람직한 인슐린에 대해 허용되는 임의의 투여 방식을 통해 이루어질 수 있다. 이러한 방법으로는 경구, 비경구, 비강 및 다른 전신 또는 에어로졸 형태가 있다.
- [0336] 조성물을 피하 주사를 통해 환자에게 투여한 후, 주사 영역 그 자리의 생리학적 환경에서 유리 재조합 인간 인슐린 이소판, 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 재조합 인간 인슐린 이소판의 형태 및 화학 구조가 변하기 시작한다. 유리 재조합 인간 인슐린 이소판, 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 재조합 인간 인슐린 이소판을 둘러싸는 환경의 pH가 생리학적 매질로 희석됨에 따라, 상기 두 인슐린에 대해 일부 가용화가 일어난다. 유리 재조합 인간 인슐린 이소판과 표적 분자 착체와 회합된 재조합 인간 인슐린 이소판 사이에는 이러한 과정이 일어나는 속도의 차이가 있다. 유리 재조합 인간 인슐린 이소판은 적은 pH 변화 및 생리학적 희석에 직접적으로 노출된다. 생리학적 pH에서 적은 pH 변화 및 희석에 노출되는 표적 분자 착체와 회합된 재조합 인간 인슐린 이소판은 수불용성 표적 분자 착체에서 지질 이중층을 통한 생리학적 유체 또는 매질의 확산을 위해 필요한 시간 때문에 지연된다. 지질 구조물로부터 인슐린 방출의 지연뿐 아니라 침전된 유리 재조합 인간 인슐린 이소판 매트릭스 내에 존재하는 지질 구조물 방출의 지연은 생체내에서 생물학적 및 약리학적 반응에 영향을 미치고 이를 증대시키기 때문에 본 발명의 필수적인 특징이다.
- [0337] 유리 재조합 인간 인슐린 이소판, 및 표적 분자 착체와 회합된 재조합 인간 인슐린 이소판을 조합한 제약 조성물은 경구 투여 후, 표적 분자 착체와 회합된 재조합 인간 인슐린 이소판이 신체의 순환계로 장 흡수되고, 여기서 혈액의 생리학적 pH에 또한 노출된다. 지질 구조물의 전부 또는 일부가 간으로 전달된다.
- [0338] 피하 공간 그 자리에서 또는 순환계로 들어갈 때 생리학적 희석이 증가되기 때문에, 유리 재조합 인간 인슐린 이소판, 및 표적 분자 착체와 회합된 재조합 인간 인슐린 이소판은 pH 7.4의 정상 생리학적 pH 환경에 직면하게 된다. 희석 결과, 유리 재조합 인간 인슐린 이소판은 주사시의 불용성 형태에서부터 생리학적 pH에서의 가용성 형태로 변화한다. 가용성 형태에서 재조합 인간 인슐린 이소판은 신체를 통해 약리학적 반응이 유도될 수 있는 부위로 이동한다. 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 재조합 인간 인슐린 이소판은 가용화되어 유리 재조합 인간 인슐린 이소판과는 상이한 속도로 착체로부터 방출되기 시작한다. 이는 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 재조합 인간 인슐린 이소판이 벌크 상 매질과 접촉하기 전에 수불용성 표적 분자 착체의 코어 부피 및 지질 도메인을 횡단하여야 하기 때문이다.
- [0339] 본 발명의 지질 구조물 구조체는 재조합 인간 인슐린 이소판을 숙주에게 투여하기 위해 제약학적 적용을 위한

유용한 제제를 제공한다. 따라서, 본 발명의 구조체는 제약상 허용되는 담체와 배합된 제약 조성물로서 유용하다. 본원에 기재된 구조체의 투여는 투여될 바람직한 제조합 인간 인슐린 이소판에 대해 허용되는 임의의 투여 방식을 통해 이루어질 수 있다. 이러한 방법으로는 경구, 비경구, 비강 및 다른 전신 또는 에어로졸 형태가 있다.

[0340] 제조합 인간 인슐린 이소판 및 제조합 인간 속효성 인슐린의 투여량은 치료할 대상체, 병증의 유형 및 중증도, 투여 방식, 및 처방의의 판단에 따라 달라질 것이다. 해당하는 특이적 생물학적 활성 물질의 효과적인 투여량이 다양한 인자에 의해 좌우되며 일반적으로 당업자에게 공지되어 있지만, 어느 정도의 지침은 일반적으로 정의될 수 있다. 대부분의 투여 형태의 경우, 지질 성분이 수용액 중에 현탁되며, 일반적으로 전체 제제의 4.0% (w/v)를 넘지 않을 것이다. 제제의 약물 성분은 거의 대부분 제제의 20% (w/v) 미만이며 일반적으로 0.01% (w/v) 초과일 것이다.

[0341] 인슐린의 투여량은 치료할 대상체, 병증의 유형 및 중증도, 투여 방식, 및 처방의의 판단에 따라 달라질 것이다. 해당하는 특이적 생물학적 활성 물질의 효과적인 투여량이 다양한 인자에 의해 좌우되며 일반적으로 당업자에게 공지되어 있지만, 어느 정도의 지침은 일반적으로 정의될 수 있다. 대부분의 투여 형태의 경우, 지질 성분이 수용액 중에 현탁되며, 일반적으로 전체 제제의 4.0% (w/v)를 넘지 않을 것이다. 제제의 약물 성분은 거의 대부분 제제의 20% (w/v) 미만이며 일반적으로 0.01% (w/v) 초과일 것이다.

[0342] 무-독성 담체로부터 제조된 균형으로 0.005% 내지 5% 범위의 활성 성분을 함유하는 투여 제형 또는 조성물을 제조할 수 있다.

[0343] 이들 제제의 정확한 조성은 해당 약물의 특정 성질에 따라 폭넓게 달라질 수 있다. 그러나, 상기 제제는 고 효능 약물의 경우 일반적으로 0.01% 내지 5%, 바람직하게는 0.05% 내지 1%의 활성 성분을 포함하며, 중간 활성 약물의 경우 2% 내지 4%의 활성 성분을 포함한다.

[0344] 이러한 비경구 조성물에 함유된 활성 성분의 퍼센트는 활성 성분의 활성 및 대상체의 필요뿐만 아니라 화합물의 특이적 성질에 크게 의존한다. 그러나, 용액 중 0.01% 내지 5%의 활성 성분 퍼센트를 이용할 수 있으며, 조성물이 고체이고 이후에 상기 퍼센트로 희석되는 경우에는 활성 성분 퍼센트는 그보다 더 높을 것이다. 바람직하게는 조성물은 용액 중 0.2% 내지 2.0%의 활성제를 포함한다.

[0345] 본원에 기재한 제약 조성물 제제는 공지되어 있거나 또는 약리학 분야에서 차후 개발될 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 일반적으로, 이러한 제조 방법은 활성 성분을 담체 또는 하나 이상의 다른 성분과 혼합시키는 단계, 및 이어서 필요하거나 또는 원한다면, 생성물을 원하는 1회 또는 다수회 투여 단위로 성형 또는 패키징화하는 단계를 포함한다.

[0346] 본원에서 제공되는 제약 조성물의 기재가 주로 인간에게의 윤리적인 투여에 적합한 제약 조성물에 관한 것이지만, 당업자라면 이러한 조성물이 일반적으로 모든 종류의 동물에게 투여하기에 적합하다는 것을 이해할 것이다. 인간에게 투여하기에 적합한 제약 조성물을 개질해서 이 조성물이 각종 동물에게 투여하기에 적합하도록 만드는 것은 충분히 이해되며, 통상의 지식을 갖는 수의학 약리학자라면 있다 하더라도 통상의 실험만으로 그러한 개질을 설계 및 수행할 수 있다. 본 발명의 제약 조성물이 투여되는 대상으로는 인간 및 다른 영장류, 상업적으로 적절한 포유동물, 예를 들면 소, 돼지, 말, 양, 고양이 및 개를 비롯한 포유동물 등이 있으나 이에 제한되지 않는 것으로 고려된다.

[0347] 본 발명의 방법에 유용한 제약 조성물은 경구, 비경구, 폐, 비내, 협측(頰側), 또는 또다른 투여 경로에 적합한 제제로 제조되거나, 패키징화되거나 또는 판매될 수 있다.

[0348] 본 발명의 제약 조성물은 단일 단위 투여 또는 복수개의 단일 단위 투여량으로서 벌크로 제조되거나, 패키징화되거나 또는 판매될 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, "단위 투여량"은 소정량의 활성 성분을 포함하는 제약 조성물의 분리된 양이다. 활성 성분의 양은 일반적으로 대상체에게 투여되는 활성 성분의 투여량과 동등하거나 또는 이러한 투여량의 알맞은 비율, 예를 들어 상기 투여량의 1/2 또는 1/3이다. 그러나, 본 발명에 기재된 활성제의 전달은 인슐린 치료제의 표적화된 특성으로 인해 일반적으로 투여되는 투여량의 1/10, 1/100 또는 1/1,000 만큼 적거나 또는 이보다 더 적을 수 있다.

[0349] 본 발명의 제약 조성물 중 활성 성분, 제약상 허용가능한 담체, 및 임의의 추가 성분의 상대적 양은 치료받는 대상체의 고유성, 사이즈 및 상태 및 추가로 조성물이 투여되는 경로에 따라 달라질 것이다. 예를 들면, 조성물은 0.1% 내지 100% (w/w)의 활성 성분을 포함할 수 있다.

- [0350] 경구 투여에 적합한 본 발명의 제약 조성물의 제제는 각각 소정량의 활성 성분을 포함하는 정제, 경질 또는 연질 캡슐제, 사세제, 트로키제 또는 로젠지제를 포함하지만 이에 한정되지 않는 분리된 고체 투여 단위 형태로 제조되거나, 패키지화되거나 또는 판매될 수 있다. 경구 투여에 적합한 다른 제제로는 분말 또는 과립상 제제, 수성 또는 유성 현탁액, 수성 또는 유성 용액, 또는 에멀전 등이 있으나 이에 제한되지 않는다.
- [0351] 본원에서 사용된 바와 같이, "유성" 액체는 탄소-함유 액체 분자를 포함하며 물보다 극성 특징을 적게 나타내는 액체이다.
- [0352] 활성 성분을 포함하는 정제는 예를 들어 활성 성분을 임의로 하나 이상의 추가의 성분과 함께 압착하거나 또는 성형함으로써 제조할 수 있다. 압착된 정제는 적합한 장치에서 유리 유동성 형태의 활성 성분, 예를 들면 임의로 결합제, 윤활제, 부형제, 표면 활성제 및 분산제 중 하나 이상과 혼합된 분말 또는 과립상 제제를 압착시킴으로써 제조할 수 있다. 성형된 정제는 적합한 장치에서 활성 성분, 제약상 허용가능한 담체, 및 적어도 혼합물을 습윤시키기에 충분한 액체의 혼합물을 성형함으로써 제조할 수 있다. 정제의 제조에 사용되는 제약상 허용가능한 부형제로는 불활성 희석제, 과립화제 및 봉해제, 결합제, 및 윤활제 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 공지된 분산제로는 감자 전분 및 나트륨 전분 글리콜레이트 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 공지된 표면 활성제로는 나트륨 라우릴 술페이트 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 공지된 희석제로는 탄산칼슘, 탄산나트륨, 락토스, 미세결정질 셀룰로스, 인산칼슘, 인산수소칼슘, 및 인산나트륨 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 공지된 과립화제 및 봉해제로는 옥수수 전분 및 알긴산 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 공지된 결합제로는 젤라틴, 아카시아, 예비젤라틴화 옥수수 전분, 폴리비닐피롤리돈, 및 히드록시프로필 메틸셀룰로스 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 공지된 윤활제로는 스테아르산마그네슘, 스테아르산, 실리카 및 탈크 등이 있으나 이에 제한되지 않는다.
- [0353] 정제는 코팅하지 않거나 또는 공지된 방법으로 코팅해서 대상체의 위장관에서의 지연된 봉해를 달성함으로써 활성 성분의 지속 방출 및 흡수를 제공할 수 있다. 예를 들어, 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 디스테아레이트와 같은 물질을 사용해서 정제를 코팅할 수 있다. 추가로 예를 들어, 미국 특허 제4,256,108호, 동 제4,160,452호 및 동 제4,265,874호에 기재된 방법을 이용해서 정제를 코팅함으로써 삼투적으로 조절된 방출 정제를 형성시킬 수 있다. 정제는 제약상 정밀하고 구미에 맞는 제제를 제공하기 위해 감미제, 향미제, 착색제, 보존제 또는 이들 몇몇의 조합물을 추가로 포함할 수 있다.
- [0354] 활성 성분을 포함하는 경질 캡슐은 생리적으로 분해가능한 조성물, 예를 들면 젤라틴을 사용해서 제조할 수 있다. 이러한 경질 캡슐은 활성 성분을 포함하며, 예를 들어 불활성 고체 희석제, 예를 들면 탄산칼슘, 인산칼슘, 카올린 또는 셀룰로스 아세테이트 히드로겐 프탈레이트를 비롯한 추가의 성분을 추가로 포함할 수 있다.
- [0355] 활성 성분을 포함하는 연질 젤라틴 캡슐은 생리적으로 분해가능한 조성물, 예를 들면 젤라틴을 사용해서 제조할 수 있다. 이러한 연질 캡슐은 물 또는 오일 매질, 예를 들면 땅콩 오일, 액체 파라핀 또는 올리브 오일과 혼합될 수 있는 활성 성분을 포함한다.
- [0356] 경구 투여에 적합한 본 발명의 제약 조성물의 액체 제제는 액체 형태 또는 사용에 앞서 물 또는 또다른 적합한 비히클과 재구성하기 위한 건조 생성물 형태로 제조, 패키지화 및 판매될 수 있다.
- [0357] 액체 현탁액은 수성 또는 유성 비히클 중 활성 성분의 현탁액을 얻기 위한 통상의 방법을 이용해서 제조할 수 있다. 수성 비히클로는 예를 들어 물 및 등장성 염수를 들 수 있다. 유성 비히클로는 예를 들어 아몬드 오일, 유성 에스테르, 에틸 알콜, 식물성 오일, 예를 들면 아라키스, 올리브, 참기름, 또는 코코넛 오일, 분별 식물성 오일, 및 미네랄 오일, 예를 들면 액체 파라핀을 들 수 있다. 액체 현탁액은 현탁제, 분산제 또는 습윤제, 유화제, 점화제, 보존제, 완충제, 염, 향미제, 착색제, 및 감미제를 포함하지만 이에 한정되지 않는 하나 이상의 추가의 성분을 추가로 포함할 수 있다. 유성 현탁액은 증점제를 추가로 포함할 수 있다. 공지된 현탁제로는 소르비톨 시럽, 수소화 식물성 지방, 알긴산나트륨, 폴리비닐피롤리돈, 트라가칸쓰 검, 아카시아 검, 및 셀룰로스 유도체, 예를 들면 나트륨 카르복시메틸셀룰로스, 메틸셀룰로스, 히드록시프로필메틸셀룰로스 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 공지된 분산제 또는 습윤제로는 천연 포스파티드, 예를 들면 레시틴, 알킬렌 옥시드와 지방산의 축합 생성물, 알킬렌 옥시드와 장쇄 지방 알콜의 축합 생성물, 알킬렌 옥시드와 지방산 및 헥시톨로부터 유도된 부분 에스테르의 축합 생성물, 또는 알킬렌 옥시드와 지방산 및 헥시톨 무수물로부터 유도된 부분 에스테르의 축합 생성물 (예를 들어, 각각 폴리옥시에틸렌 스테아레이트, 헵타데카에틸렌옥시세타놀, 폴리옥시에틸렌 소르비톨 모노올레에이트, 및 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레에이트) 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 공지된 유화제로는 레시틴 및 아카시아 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 공지된 보존제로는 메틸, 에틸, 또

는 n-프로필 파라 히드록시벤조에이트, 아스코르브산, 및 소르브산 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 공지된 감미제로는 예를 들어 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 소르비톨, 수크로스, 및 사카린을 들 수 있다. 유성 현탁액에 대한 공지된 증점제로는 예를 들어 밀랍, 경질 파라핀, 및 세틸 알콜을 들 수 있다.

[0358] 수성 또는 유성 용매 중 활성 성분의 액체 용액은 액체 현탁액과 실질적으로 동일한 방식으로 제조할 수 있으며, 주된 차이는 활성 성분이 용매 중에 현탁되기 보다는 용해된다는 것이다. 본 발명의 제약 조성물의 액체 용액은 액체 현탁액에 대해 기재된 각 성분을 포함할 수 있는데, 현탁제는 용매 중 활성 성분의 용해를 반드시 보조하는 것은 아니라고 이해된다. 수성 용매로는 예를 들어 물 및 등장성 염수를 들 수 있다. 유성 용매로는 예를 들어 아몬드 오일, 유성 에스테르, 에틸 알콜, 식물성 오일, 예를 들면 아라키스, 올리브, 참기름, 또는 코코넛 오일, 분별 식물성 오일, 및 미네랄 오일, 예를 들면 액체 파라핀을 들 수 있다.

[0359] 본 발명의 제약 제제의 분말 및 과립 제제는 공지된 방법을 이용해서 제조할 수 있다. 이러한 제제는 대상체에 직접 투여하거나, 상기 제제를 사용해서 예를 들어 정제를 형성하거나, 캡슐을 충전하거나, 또는 수성 또는 유성 비히클을 첨가해서 수성 또는 유성 현탁액 또는 용액을 제조할 수 있다. 이들 제제 각각은 분산제 또는 습윤제, 현탁제 및 보존제 중 하나 이상을 추가로 포함할 수 있다. 이들 제제에는 추가의 부형제, 예를 들면 충전제 및 감미제, 향미제 또는 착색제를 포함시킬 수도 있다.

[0360] 본 발명의 제약 조성물은 또한 수중유 에멀전 또는 유중수 에멀전 형태로 제조되거나, 패키징화되거나 또는 판매될 수 있다. 유성 상은 식물성 오일, 예를 들면 올리브 또는 아라키스 오일, 미네랄 오일, 예를 들면 액체 파라핀, 또는 이들의 조합물일 수 있다. 이러한 조성물은 하나 이상의 유화제, 예를 들면 천연 검, 예컨대 아카시아 검 또는 트라가칸스 검, 자연 발생적인 포스파티드, 예를 들면 대두 또는 레시틴 포스파티드, 지방산 및 헥시톨 무수물의 조합으로부터 유도된 에스테르 또는 부분 에스테르, 예를 들면 소르비탄 모노올레에이트, 및 이러한 부분 에스테르와 에틸렌 옥시드의 축합 생성물, 예를 들면 폴리옥시에틸렌 소르비탄 모노올레에이트를 추가로 포함할 수 있다. 이들 에멀전은 또한 예를 들어 감미제 또는 향미제를 비롯한 추가의 성분을 함유할 수 있다.

[0361] 본원에서 사용된 바와 같이, 제약 조성물의 "비경구 투여"는 대상체의 조직의 물리적 파괴를 특징으로 하는 투여 경로 및 조직에서의 파괴를 통한 제약 조성물의 투여의 임의의 경로를 포함한다. 따라서, 비경구 투여는 조성물의 주사, 수술적 절개를 통한 조성물의 적용, 및 조직-투과성 비-수술적 상처를 통한 조성물의 적용 등에 의한 제약 조성물의 투여를 포함하지만 이에 한정되지 않는다. 특히, 비경구 투여는 피하, 복강내, 근육내, 흉골내 주사, 및 신장 투석 주입 기술을 포함하지만 이에 한정되지 않는 것으로 생각된다.

[0362] 비경구 투여에 적합한 제약 조성물의 제제는 제약상 허용가능한 담체, 예를 들면 멸균 물 또는 멸균 등장성 염수와 조합된 활성 성분을 포함한다. 이러한 제제는 볼루스 투여 또는 연속 투여에 적합한 형태로 제조되거나, 패키징화되거나 또는 판매될 수 있다. 주사가능한 제제는 보존제를 함유하는 다중 투여 용기 또는 앰플과 같은 단위 투여 제형으로 제조되거나, 패키징화되거나 또는 판매될 수 있다. 비경구 투여용 제제로는 현탁액, 용액, 유성 또는 수성 비히클 중의 에멀전, 페이스트, 및 이식가능한 자연-방출 또는 생분해성 제제 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 이러한 제제는 현탁제, 안정화제 또는 분산제를 포함하지만 이에 한정되지 않는 하나 이상의 추가의 성분을 추가로 포함할 수 있다. 비경구 투여용 제제의 한 실시양태에서, 활성 성분은 재구성된 조성물의 비경구 투여에 앞서 적합한 비히클 (예를 들어, 멸균 발열물질(pyrogen)-무함유 물)을 사용한 재구성을 위한 건조 (즉, 분말 또는 과립) 형태로 제공된다.

[0363] 제약 조성물은 멸균 주사가능한 수성 또는 유성 현탁액 또는 용액의 형태로 제조되거나, 패키징화되거나 또는 판매될 수 있다. 이러한 현탁액 또는 용액은 공지된 기술에 따라 제제화될 수 있으며, 활성 성분에 더하여 추가의 성분, 예를 들면 본원에 기재된 분산제, 습윤제 또는 현탁제를 포함할 수 있다. 이러한 멸균 주사가능한 제제는 예를 들어 물 또는 1,3-부탄 디올과 같은 용매 또는 비독성의 비경구적으로 허용가능한 희석제를 사용해서 제조할 수 있다. 다른 허용가능한 희석제 및 용매로는 링거(Ringer) 용액, 등장성 염화나트륨 용액, 및 비휘발성유, 예를 들면 합성 모노- 또는 디-글리세라이드 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 유용한 다른 비경구 투여가능한 제제로는 미세결정질 형태의 활성 성분을 지질 구조물 제제 중에 또는 생분해성 중합체 시스템의 성분으로서 포함하는 것들을 들 수 있다. 지속 방출 또는 이식을 위한 조성물은 제약상 허용가능한 중합체성 또는 소수성 물질, 예를 들면 에멀전, 이온 교환 수지, 난용성 중합체, 또는 난용성 염을 포함할 수 있다.

[0364] 본 발명의 제약 조성물은 협착 강을 통한 폐 투여에 적합한 제제로 제조되거나, 패키징화되거나 또는 판매될 수 있다. 이러한 제제는 활성 성분을 포함하며 약 0.5 내지 약 7 μm 범위, 바람직하게는 약 1 내지 약 6 μm 범위의 직경을 갖는 건조 입자를 포함할 수 있다. 이러한 조성물은, 추진제의 스트림이 분말을 분산시키도록 지시

될 수 있는 건조 분말 저장기(reservoir)를 포함하는 장치를 사용하거나 또는 자가-추진 용매/분말-분배 용기, 예를 들면 밀봉된 용기에서 저비점 추진제 중에 용해되거나 또는 현탁된 활성 성분을 포함하는 장치를 사용하는 투여의 경우, 건조 분말 형태인 것이 편리하다. 바람직하게는, 이러한 분말은 입자의 98 중량% 이상이 0.5 μm 초과와 직경을 가지고 입자의 95 수(number)% 이상이 7 μm 미만의 직경을 갖는 입자를 포함한다. 더 바람직하게는, 입자의 95 중량% 이상은 1 나노미터 초과와 직경을 가지며 입자의 90 수% 이상은 6 μm 미만의 직경을 갖는다. 건조 분말 조성물은 바람직하게는 당과 같은 고체 미세 분말 희석제를 포함하며 편리하게는 단위 투여 형태로 제공된다.

[0365] 저 비점 추진제는 일반적으로 주변 압력에서 65 °F 미만의 비점을 갖는 액체 추진제를 포함한다. 일반적으로 추진제는 조성물의 50 내지 99.9% (w/w)를 구성할 수 있으며, 활성 성분은 조성물의 0.1 내지 20% (w/w)를 구성할 수 있다. 추진제는 액체 비이온성 또는 고체 음이온성 계면활성제 또는 고체 희석제와 같은 추가의 성분 (바람직하게는 활성 성분을 포함하는 입자와 동일한 순서의 입도를 가짐)을 추가로 포함할 수 있다.

[0366] 폐 전달용으로 제제화된 본 발명의 제약 조성물은 또한 용액 또는 현탁액의 소적(droplet) 형태의 활성 성분을 제공할 수 있다. 이러한 제제는 활성 성분을 포함하는 임의로 멸균된 수성 또는 희석 알콜 용액 또는 현탁액으로 제조되거나, 패키징화되거나 또는 판매될 수 있으며, 편리하게는 임의의 분무(nebulization) 또는 미립자화(atomization) 장치를 이용해서 투여할 수 있다. 이러한 제제는 향미제, 예를 들면 사카린 나트륨, 휘발성 오일, 완충제, 표면 활성제, 또는 보존제, 예를 들면 메틸히드록시벤조에이트를 포함하지만 이에 한정되지 않는 하나 이상의 추가의 성분을 추가로 포함할 수 있다. 이러한 투여 경로에 의해 제공된 소적은 바람직하게는 약 0.1 내지 약 200 μm 범위의 평균 직경을 갖는다.

[0367] 폐 전달용으로 유용한 본원에 기재된 제제는 또한 본 발명의 제약 조성물을 비내 전달하는 데 유용하다.

[0368] 비내 투여용으로 적합한 또다른 제제는 활성 성분을 포함하며 약 0.2 내지 500 μm 의 평균 입자를 갖는 조(coarse) 분말이다. 이러한 제제는 호흡을 수행하는 방식, 즉 비공(nare) 가까이에 유지된 분말의 용기로부터 코를 통해 빠르게 흡입함으로써 투여된다.

[0369] 비강 투여에 적합한 제제는 예를 들어 대략 0.1% (w/w) 만큼 적고 75% (w/w) 만큼 많은 활성 성분을 포함할 수 있으며, 본원에 기재된 하나 이상의 추가의 성분을 추가로 포함할 수 있다.

[0370] 본 발명의 제약 조성물은 협착 투여에 적합한 제제로 제조되거나, 패키징화되거나 또는 판매될 수 있다. 이러한 제제는 예를 들어 통상의 방법을 이용해서 제조된 정제 또는 로젠지제 형태일 수 있으며, 예를 들어 활성 성분이 0.1 내지 20% (w/w)일 수 있고, 경구적으로 용해가능하거나 또는 분해가능한 조성물 및 임의로 본원에 기재된 하나 이상의 추가의 성분을 포함하여 균형을 이룬다. 또는, 협착 투여에 적합한 제제는 활성 성분을 포함하는 에어로졸화 또는 미립자화된 용액 또는 현탁액 또는 분말을 포함할 수 있다. 이러한 분말화, 에어로졸화 또는 미립자화된 제제는 분산되는 경우 바람직하게는 약 0.1 내지 약 200 μm 범위의 평균 입자 또는 소적 크기를 가지며, 본원에 기재된 하나 이상의 추가의 성분을 추가로 포함할 수 있다.

[0371] 본 발명의 제약 조성물은 안과적 투여에 적합한 제제로 제조되거나, 패키징화되거나 또는 판매될 수 있다. 이러한 제제는 예를 들어 수성 또는 유성 액체 담체 중 활성 성분의 0.1% 내지 1.0% (w/w) 용액 또는 현탁액을 포함하는 안과용 적제 형태일 수 있다. 이러한 적제는 완충제, 염, 또는 본원에 기재된 하나 이상의 다른 추가의 성분을 추가로 포함할 수 있다. 안과적으로 투여가능한 다른 유용한 제제로는 미세결정질 형태 또는 지질 구조물 제제 중 활성 성분을 포함하는 것들을 들 수 있다.

[0372] 본원에서 사용된 바와 같이, "추가의 성분"으로는 부형제, 표면 활성제, 분산제, 불활성 희석제, 과립화제 및 봉해제, 결합제, 윤활제, 감미제, 향미제, 착색제, 보존제, 생리적으로 분해가능한 조성물, 예를 들면 젤라틴, 수성 비히클 및 용매, 유성 비히클 및 용매, 현탁제, 분산제 또는 습윤제, 유화제, 점화제, 완충제, 염, 증점제, 충전제, 유화제, 항산화제, 항생제, 항진균제, 안정화제, 및 제약상 허용가능한 중합체성 또는 소수성 물질 중 하나 이상을 들 수 있으나 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 제약 조성물 중에 포함될 수 있는 다른 "추가의 성분"은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 본원에 참고로 포함되는 문헌 [Genaro, ed., 1985, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, PA]에 기재되어 있다.

[0373] 전형적으로 동물, 바람직하게는 인간에게 투여될 수 있는 본 발명의 조성물 중 활성 성분의 투여량은 동물의 체중 kg 당 1 μg 내지 약 100 g의 양의 범위이다. 투여되는 정확한 투여량은 치료될 질환 상태의 유형 및 동물의 유형, 동물의 연령 및 투여 경로를 포함하지만 이에 한정되지 않는 임의의 수의 인자들에 따라 달라질 것이다. 바람직하게는, 활성 성분의 투여량은 동물의 체중 kg 당 약 1 mg에서 약 10 g까지 달라질 것이다. 더 바람직하

게는, 투여량은 동물의 체중 kg 당 약 10 mg에서 약 1 g까지 달라질 것이다.

- [0374] 조성물은 동물에게 매일 수회 투여로서 자주 투여될 수 있거나 또는 조성물은 더 적은 빈도로, 예를 들면 1일 1회, 1주 1회, 2주마다 1회, 1달 1회, 또는 훨씬 더 적은 빈도로, 예를 들면 수개월마다 1회 또는 심지어는 1년 1회 이하로 투여될 수 있다. 투여 빈도는 숙련의에게는 매우 자명할 것이며, 예를 들면 치료될 질환의 유형 및 중증도, 동물의 유형 및 연령 등이 있지만 이에 한정되지 않는 임의의 수의 인자에 따라 달라질 것이다.
- [0375] 본 발명은 또한 본 발명의 조성물 및 이 조성물을 포유동물의 조직으로 투여하는 것을 기술하는 지침서를 포함하는 키트를 포함한다. 또다른 실시양태에서, 상기 키트는 조성물을 포유동물에게 투여하기에 앞서 본 발명의 조성물을 용해시키거나 또는 현탁시키기에 적합한 (바람직하게는 멸균) 용매를 포함한다.
- [0376] 본원에서 사용된 바와 같이, "지침서"는 본원에 인용된 각종 질환 또는 장애를 경감시키기 위한 키트에서 본 발명의 단백질의 유용성을 나타내는데 사용될 수 있는 간행물, 기록, 도식 또는 임의의 다른 표현 매체를 포함한다. 임의로 또는 별법으로, 지침서는 포유동물의 세포 또는 조직에서 질환 또는 장애를 경감시키는 한가지 이상의 방법을 기술할 수 있다. 본 발명의 키트의 지침서는 예를 들어 본 발명의 성분을 함유하는 용기에 첨부될 수 있거나 또는 본 발명의 성분을 함유하는 용기와 함께 보유될 수 있다. 별법으로, 지침서는 지침서와 조성물이 수령인에 의해 협동적으로 사용되도록 할 의향으로 용기와 별도로 보유될 수 있다.
- [0377] 본 발명을 실시하는 데 유용한 제약 조성물은 인슐린의 표준 투여량과 등가의 투여량을 전달하도록 투여될 수 있다.
- [0378] 본원에 제공된 제약 조성물에 대한 설명이 주로 인간으로의 윤리적인 투여에 적합한 제약 조성물에 관한 것이지만, 당업자라면 이러한 조성물이 일반적으로 모든 종류의 동물에게 투여하기에 적합하다는 것을 이해할 것이다. 인간에게 투여하기에 적합한 제약 조성물을 개질시켜 조성물이 각종 동물에게 투여하기에 적합해지도록 만드는 것은 충분히 이해되며, 수의학에 대해 통상의 기술을 가진 약리학자라면 있다 하더라도 단지 통상의 실험만으로 그러한 개질을 설계 및 수행할 수 있다. 본 발명의 제약 조성물의 투여가 고려되는 대상체로는 인간 및 다른 영장류, 반려 동물 및 다른 포유동물 등이 있으나 이에 제한되지 않는다.
- [0379] 본 발명의 방법에 유용한 제약 조성물은 경구 또는 주사가 가능한 투여 경로에 적합한 제제로 제조되거나, 패키징화되거나 또는 판매될 수 있다.
- [0380] 본 발명의 제약 조성물 중 활성 성분, 제약상 허용가능한 담체, 및 임의의 추가의 성분의 상대적인 양은 치료받는 대상체의 고유성, 사이즈 및 상태 및 추가로 조성물이 투여되는 경로에 따라 달라질 것이다.

실시예

- [0381] 본 발명은 이제 하기 실시예를 참고하여 기재된다. 이들 실시예는 단지 예시의 목적으로만 제공되며, 어떠한 방식으로든 본 발명이 이들 실시예로 제한되는 것으로 해석되어서는 안 되고, 오히려 본원에 제공된 교시에 따라 명백해지는 임의의 모든 변형예를 포괄하는 것으로 해석되어야 한다.
- [0382] 이 실험예에 제시된 실험에 사용된 물질 및 방법이 하기 기재된다.
- [0383] **실험예 1. 제약 조성물 1**
- [0384] 지질 구조물은 지질로서 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤, 디세틸 포스페이트, 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(숙시닐), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-[포스포-rac-(1-글리세롤)] (나트륨염), 수용체 결합 분자로서 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(Cap 바이오티닐), 및 인슐린의 혼합물을 포함한다.
- [0385] **실험예 2. 제약 조성물 2**
- [0386] 지질 구조물은 지질로서 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤, 디세틸 포스페이트, 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민, 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(숙시닐), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-[포스포-rac-(1-글리세롤)] (나트륨염), 인슐린, 수용체 결합 분자로서 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(Cap 바이오티닐), 및/또는 폴리카복-폴리(비스)-[N-(2,6-(디이소프로필페닐)카르바모일메틸)이미노]디아세트산의 혼합물을 포함한다. 지질 고정-간세포 수용체 결합 분자로서 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(Cap 바이오티닐) 및 폴리카복-폴리(비스)-[N-(2,6-(디이소프로필페닐)카르바모일 메틸)이미노 디아세트산]을 각각 1.68 중량% ± 0.5 중량 및 1.2 중량% ± 0.5 중량%

의 수준으로 상기 지질 구조물에 첨가하였다.

[0387] 실험예 3. 제약 조성물 3

[0388] 지질 구조물은 양친매성 지질로서 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (12.09 g), 콜레스테롤 (1.60 g), 디세틸 포스페이트 (3.10 g), 폴리크롬-폴리(비스)-[N-(2,6-(디이소프로필페닐)카르바모일메틸)이미노]디아세트산] (0.20 g), 및 인슐린의 혼합물을 포함한다. 상기 혼합물을 수성 매질에 첨가하였고, 총량은 1200 g이었다.

[0389] 실험예 4. 인슐린을 함유하는 지질 구조물의 제조

[0390] 지질 구조물은 양친매성 지질 분자 및 연장된 양친매성 지질의 혼합물을 제조하고, 양친매성 지질 분자 및 연장된 양친매성 지질의 혼합물로부터 지질 구조물을 제조하고, 상기 지질 구조물에 인슐린을 배합함으로써 제조하였다.

[0391] 양친매성 지질 분자 및 연장된 양친매성 지질의 혼합물은 하기 절차를 이용하여 제조하였다. 지질 구조물의 지질 성분의 혼합물 [총량 8.5316 g]은 지질로서 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (5.6881 g), 결정질 콜레스테롤 (0.7980 g), 디세틸 포스페이트 (1.5444 g), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(Cap 바이오틸) (0.1436 g), 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민 (0.1144 g), 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-포스포에탄올아민-N-(숙시닐) (0.1245 g) 및 1,2-디팔미토일-sn-글리세로-3-[포스포-rac-(1-글리세롤)] (나트륨염) (0.1186 g)의 분취물을 배합함으로써 제조하였다.

[0392] 클로로포름:메탄올 (2:1 v:v) 용액 100 ml를 분자체 5.0 g 상에서 탈수시켰다. 지질 구조물의 지질 성분들의 혼합물을 3 l 플라스크에 넣고, 클로로포름/메탄올 용액 45 ml를 지질 혼합물에 첨가하였다. 상기 용액을 60 °C ± 2°C의 수조를 갖춘 회전식 증발기 상의 플라스크에 넣고, 천천히 돌렸다. 클로로포름/메탄올 용액을 진공하에 회전식 증발기 상에서 흡인기를 이용하여 대략 45분 동안 제거한 후, 진공 펌프를 통해 대략 2시간 동안 잔류 용매를 제거하여, 지질의 고체 혼합물이 형성되었다. 지질의 건조된 혼합물을 대략 -20°C 내지 0°C의 냉동기에 정해지지 않은 시간 동안 저장할 수 있다.

[0393] 하기 절차를 이용하여 양친매성 지질 분자 및 연장된 양친매성 지질의 혼합물로부터 지질 구조물을 제조하였다. 지질 혼합물을 pH 7.0의 28.4 mM 인산나트륨 (일염기성-이염기성) 완충액 대략 600 ml와 혼합하였다. 지질 혼합물을 회전시킨 다음, 80°C ± 4°C의 가열된 수조에 30분 동안 두었고, 이 동안에 지질이 천천히 수화되었다.

[0394] M-110 EHI 미세유동화기를 pH 6.5 내지 7.5의 SWI를 이용하여 70°C ± 10°C로 예열하였다. 수화된 표적 착체의 현탁액을 미세유동화기로 옮겨서, 수화된 표적 분자 착체의 현탁액을 유동화기에 1회 통과시켜 대략 9000 psig에서 미세유동화하였다. 미세유동화기를 통과한 후, 코울터(Coulter) N-4 플러스 입자 크기 분석기로부터의 단봉형 분포 데이터를 이용하는 입자 크기 분석을 위해 유동화된 현탁액의 여과되지 않은 샘플 (2.0 내지 5.0 ml)을 수집하였다. 모든 입자 크기를 결정하기 전에, 샘플을 pH가 6.5 내지 7.5로 조정된 0.2 µm 여과된 SWI를 이용하여 희석하였다. 0.020 내지 0.40 µm 범위의 입자 크기가 필요하였다. 입자 크기가 상기 범위내에 있지 않은 경우에는, 현탁액을 대략 9000 psig에서 미세유동화기에 다시 통과시키고, 입자 크기가 충족될 때까지 입자 크기를 다시 분석하였다. 미세유동화된 표적 분자 착체를 멸균 용기에 수집하였다.

[0395] 미세유동화된 표적 분자 착체를 60°C ± 2°C에서 유지시키고, 그 동안 5.0 ml 시린지에 부착된 멸균 0.8 µm + 0.2 µm 맥식(gang) 여과기로 2회 여과하였다. 여과된 현탁액의 분취물을 분석하여, 현탁액 중 입자의 입자 크기 분포를 결정하였다. 마지막 0.2 µm 여과된 샘플의 입자 크기 분포는 입자 크기 분석기로부터의 단봉형 분포 출력물로 측정하였을 때 0.0200 내지 0.2000 µm 범위이어야 한다.

[0396] 본원에 참고문헌으로 포함되는 미국 특허 제5,104,661호에 기재된 방법을 이용하여 구조물의 역 담지에 의해 인슐린을 구조물에 담지하였다.

[0397] 실험예 5. 사용 방법

[0398] 간 글리코겐에 대한 간세포 전달 비히클 (HDV) 인슐린의 효능을 래트 모델에서 평가하였다. 총 60 마리의 수컷 스프라우-둘리(Sprague-Dawley) 래트 (8주령; 250 g)를 하기 기재된 바와 같이 5개의 처리군으로 나누었다.

[0399] 연구 제1일에는, 모든 래트를 물에 자유 접근하게 하면서 24시간 동안 금식시켰다. 제2일에는, 알록산 및 스트렙토조토신 (AS)의 혼합물을 래트의 복강내로 주사하였다. 알록산 및 스트렙토조토신의 혼합물은 최종 농도가 5 mg 알록산/mL 및 5 mg 스트렙토조토신/mL가 되도록 각 물질을 5 mg/mL씩 계량 첨가하여 pH 7의 0.01 M 포스페

이트 완충액 중에서 제조하였다. 20 mg/kg 체중 (10 mg/kg 알록산 및 10 mg/kg 스트렙토조토신)에서 복강내 주사를 통해 알록산 및 스트렙토조토신의 혼합물 0.5 mL를 첨가하였다. AS는 인슐린을 많이 방출시켜 AS 주사 4시간 후에 일시적으로 완전한 저혈당증을 유발할 것이다. 수용액 중 10% 글루코스를 피하 주사하여, 저혈당증을 방지하고 제2일 동안 래트가 적절히 수화되게 한다. 정상 식사 및 물은 자유 접근하게 하였다.

- [0400] 제3일에는, 0.32 U 인슐린/래트로 하기 용액 중 하나를 피하 주사한 직후 제0분에 기준선 꼬리-정맥 혈중 글루코스 샘플을 취하였고, 각각은 래트의 처리군에 상응한다.
- [0401] (1) Cr-디소페닌 [폴리크롬-폴리(비스)-[N-(2,6-(다이소프로필페닐)카르바모일 메틸)이미노 디아세트산]] 간세포 표적 분자 (HTM)를 가진 HDV-인슐린 (양성) 대조군. 연장된 양친매성 지질은 존재하지 않았다. 존재하는 양친매성 지질의 양은 래트 1 kg 당 양친매성 지질 약 14.5 μ g의 투여량으로 제공되었다.
- [0402] (2) 속효성 인슐린 (음성) 대조군;
- [0403] (3) HDV-인슐린 시험 물질 1 (연장된 양친매성 지질이 바이오틴-X DHPE [트리에틸암모늄 2,3-디아세톡시프로필 2-(6-(5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미도)헥산아미도)에틸 포스페이트]임). 존재하는 양친매성 지질의 양은 래트 1 kg 당 양친매성 지질 약 14.5 μ g의 투여량으로 제공되었다. 존재하는 연장된 양친매성 지질의 양은 래트 1 kg 당 연장된 양친매성 지질 약 191 ng의 투여량으로 제공되었다.
- [0404] (4) HDV-인슐린 시험 물질 2 (연장된 양친매성 지질이 바이오틴 DHPE [트리에틸암모늄 2,3-디아세톡시프로필 2-(5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미도)에틸 포스페이트]임). 존재하는 양친매성 지질의 양은 래트 1 kg 당 양친매성 지질 약 7.25 μ g의 투여량으로 제공되었다. 존재하는 연장된 양친매성 지질의 양은 래트 1 kg 당 연장된 양친매성 지질 약 95.5 ng의 투여량으로 제공되었다.
- [0405] (5) HDV-인슐린 시험 물질 3 (연장된 양친매성 지질이 바이오틴 DHPE [트리에틸암모늄 2,3-디아세톡시프로필 2-(5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미도)에틸 포스페이트]임). 존재하는 양친매성 지질의 양은 래트 1 kg 당 양친매성 지질 약 14.5 μ g의 투여량으로 제공되었다. 존재하는 연장된 양친매성 지질의 양은 래트 1 kg 당 연장된 양친매성 지질 약 191 ng의 투여량으로 제공되었다.
- [0406] 처리군 1 및 3 내지 5의 경우, 양친매성 지질은 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤, 및 디세틸 포스페이트의 혼합물이었다.
- [0407] "제0분"에, 각각의 래트에게 물 (10% 글루코스) 3.75 ml 중 글루코스 375 mg 또한 위관 공급하였다.
- [0408] 각 군의 동물의 절반을 마취하고, 케타민 (150 mg/kg)/크실라진 (15mg/kg)을 복강내로 60분 동안 및 나머지 래트에는 2시간 동안 사용하여 안락사시켰다. Cr-디소페닌 HTM을 이용한 기존 연구에서는 2시간에 걸쳐 통계적으로 유의한 효과가 나타났다. 전체 간을 꺼내어, 간 글리코겐에 대해 분석할 때까지 -80°C의 액체 질소 중에 저장하였다.
- [0409] 간 글리코겐은 문헌 [Ong KC and Kho HE, Life Sciences 67 (2000) 1695-1705]에 기재된 하기 절차에 의해 측정되었다. 냉동 간 조직 0.3 내지 0.5 g을 빙온의 30% KOH의 10 부피 중에서 균질화시킨 다음, 100°C에서 30분 동안 비등시켰다. 글리코겐을 에탄올에 의해 침전시키고, 펠렛화하고 세척하고, 증류수에 재가용화시켰다. 수용액을 안토렌 시약 (진한 H₂SO₄ 500 ml 중에 용해된 안토렌 1 g)으로 처리하여, 글리코겐 함량을 측정하였다. 분광계에서 625 nm에서 용액의 흡광도를 측정하였고, 존재하는 글리코겐의 양을 계산하였다.
- [0410] 결과는 5개의 처리군의 간에 존재하는 글리코겐의 농도를 비교하여 도 17에 나타내었다. 수치들은 1시간 및 2시간 수치들 (이는 서로 유사하였음)의 평균값이다. 간 글루코스 및 글리코겐 저장을 위한 자극제로서 효과적이지 않은 것으로 알려진 속효성 인슐린은 음성 대조군으로 사용하였다. Cr-디소페닌 HTM을 가진 HDV-인슐린은 양성 대조군이며, 속효성 인슐린 음성 대조군보다 상당히 높은 글리코겐 함량 (p<0.05)을 가졌다. 따라서, 투여 후 음성 및 양성 대조군 사이에서 예상된 통계학적 및 생물학적 차이가 관찰되었다.
- [0411] 연장된 양친매성 지질로서 바이오틴 DHPE [트리에틸암모늄 2,3-디아세톡시프로필 2-(5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미도)에틸 포스페이트] 및 바이오틴-X DHPE [트리에틸암모늄 2,3-디아세톡시프로필 2-(6-(5-((3aS,6aR)-2-옥소헥사히드로-1H-티에노[3,4-d]이미다졸-4-일)펜탄아미도)헥산아미도)에틸 포스페이트]를 갖는 시험 물질 1 및 3은 속효성 인슐린보다 통계학적으로 높은 (p=0.05) 글리코겐 수준을 가졌다. 바이오틴-X DHPE를 갖지만 지질 함량이 시험 물질 3의 절반인 시험 물질 2는 높은 글리코겐 수준을 가

졌으며, 처리군 내 변동성이 $p=0.08$ 을 제공하기에 매우 충분하였다.

[0412] 실험예 6. HDV-글라르긴 인슐린의 제약 조성물

[0413] 간세포 표적화된 조성물은 유리 글라르긴 인슐린, 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 글라르긴 인슐린의 혼합물을 포함한다. 상기 착체는 다중 연결된 개별 단위, 및 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤, 디세틸 포스페이트의 혼합물을 포함하는 지질 구조물 매트릭스를 포함한다. 상기 착체 내에 가교제로서 폴리크롬 폴리(비스)[N-(2,6-디이소프로필페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산]이 존재한다.

[0414] 실험예 7. HDV-글라르긴 인슐린의 제조

[0415] 표적 분자 착체의 성분들의 중간체 혼합물을 하기 절차에 따라 제조하였다. 표적 분자 착체의 성분들의 혼합물 [총량 2.830 g]은 지질로서 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (2.015 g), 결정질 콜레스테롤 (0.266 g), 및 디세틸 포스페이트 (0.515 g)의 분취물을 가교제로서 폴리크롬 폴리(비스)[N-(2,6-디이소프로필페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산] (0.034 g)에 첨가함으로써 제조하였다. 클로로포름 (50 ml) 및 메탄올 (25 ml)의 용액을 분자체 상에서 탈수시켰다. 표적 분자 착체의 성분들의 혼합물을 클로로포름/메탄올 용액에 첨가한 다음, $60^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 의 수조에 넣어 용액을 형성하였다. 클로로포름/메탄올 용액을 진공하에 회전식 증발기 상에서 흡인기를 이용하여 제거한 후, 진공 펌프에 의해 제거하였고, 고체 중간체 혼합물이 형성되었다.

[0416] 표적 분자 착체를 하기 공정에 따라 제조하였다. 0.1 N NaOH 용액 105 μl 를 첨가하여 멸균 주사용수, USP (SWI) 530 ml를 pH 6.5 내지 7.5로 조정하였다. 충분한 물을 첨가하여 생성물 200 g을 수득하였다. pH 조정된 SWI를 상기 중간체 혼합물 (2.830 g)에 첨가하고, 중간체 혼합물을 $80^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 의 수조에 넣어 상기 혼합물을 수화시키면서, 대략 30 분 \pm 15 분 동안 또는 혼합물이 균일하게 보이는 현탁액이 될 때까지 회전시켰다. 상기 공정 동안, 현탁액의 pH가 감소하였다. 그 후, 0.1 N NaOH 대략 1.0 ml를 첨가하여 현탁액의 pH를 pH 5.44 \pm 0.5로 조정하였다.

[0417] 수화된 표적 착체의 현탁액을 pH 7.0의 28 mM 인산나트륨 완충액을 갖는 $70^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$ 로 예열된 모델 M-110 EHI 미세유동화기로 옮겼다. 유동화기에 수화된 표적 분자 착체의 현탁액을 1회 통과시켜 9,000 psig에서 현탁액을 미세유동화시켰다. 미세유동화기를 통과한 후, 코울터 N-4 플러스 입자 크기 분석기로부터의 단봉형 분포 데이터를 이용하는 입자 크기 분석을 위해 유동화된 현탁액의 여과되지 않은 샘플 (2.0 내지 5.0 ml)을 수집하였다. 모든 입자 크기를 결정하기 전에, 샘플을 pH가 6.5 내지 7.5로 조정된 0.2 μm 여과된 SWI를 이용하여 희석하였다. 0.020 내지 0.40 μm 범위의 입자 크기가 필요하였다. 입자 크기가 상기 범위내에 있지 않은 경우에는, 현탁액을 미세유동화기에 다시 통과시키고, 입자 크기가 충족될 때까지 입자 크기를 다시 분석하였다. 미세유동화된 표적 분자 착체를 멸균 용기에 수집하였다.

[0418] 미세유동화된 표적 분자 착체를 $60^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 에서 유지시키고, 그 동안 5.0 ml 시린지에 부착된 멸균 0.8 μm + 0.2 μm 맥식 여과기로 2회 여과하였다. 여과된 현탁액의 분취물을 분석하여, 현탁액 중 입자의 입자 크기 분포를 결정하였다. 마지막 0.2 μm 여과된 샘플의 입자 크기 분포는 입자 크기 분석기로부터의 단봉형 분포 출력물로 측정하였을 때 0.0200 내지 0.2000 μm 범위이어야 한다. 표적 분자 착체의 여과된 현탁액의 pH는 pH 조정 전에 3.74 ± 0.2 pH 단위이었다. 이후에 사용할 때까지 샘플을 2°C 내지 8°C 의 냉장기에 저장하였다.

[0419] HDV-글라르긴 인슐린으로도 지칭되는, 유리 글라르긴 인슐린, 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 글라르긴 인슐린의 혼합물을 포함하는 제약 조성물은 하기 공정에 따라 제조하였다. 하기 절차에 따라 멸균 0.1 NaOH를 순차적으로 첨가하여 표적 분자 착체의 2회 여과된 현탁액의 5.0 ml 분취물의 pH를 초기 pH 3.74 ± 0.2 에서 pH 5.2 ± 0.5 로 조정하였다:

[0420] pH $3.74 + 10 \mu\text{l}$ 0.1 N NaOH \rightarrow pH 3.96

[0421] pH $3.96 + 20 \mu\text{l}$ 0.1 N NaOH \rightarrow pH 4.52

[0422] pH $4.52 + 10 \mu\text{l}$ 0.1 N NaOH \rightarrow pH 4.69

[0423] pH $4.69 + 10 \mu\text{l}$ 0.1 N NaOH \rightarrow pH 5.01

[0424] pH $5.01 + 10 \mu\text{l}$ 0.1 N NaOH \rightarrow pH 5.20

[0425] pH 5.20 ± 0.5 의 표적 분자 착체 현탁액의 1.6 ml 분취물을 pH 3.95 ± 0.2 로 조정된 SWI 18.4 ml와 배합하였다. 0.1 N NaOH 10 $\mu\text{l} \pm 1.0 \mu\text{l}$ 를 첨가하여 생성된 현탁액의 pH를 pH 4.89에서 pH 5.27 ± 0.5 로 조정하였다.

[0426] 평균 0.1 N NaOH 60 μl \pm 2 μl 를 혼합하면서 첨가하여 란투스® 글라르긴 - U-100 인슐린의 5.0 ml 분취물의 pH를 pH 3.88 \pm 0.2에서 pH 4.78 \pm 0.5로 증가시켰다. pH 5.27 \pm 0.5의 표적 분자 착체 현탁액의 2.5 ml \pm 0.1 ml 분취물을 pH 4.78 \pm 0.5의 글라르긴 인슐린 용액 5.0 ml \pm 0.1 ml에 첨가하여, 유리 글라르긴 인슐린, 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 글라르긴 인슐린의 혼합물을 포함하는 제약 조성물을 제조하였다. 생성물은 66.1 IU의 글라르긴 인슐린/ml 현탁액을 함유하였다. 한 실시양태에서, 유리 글라르긴 인슐린, 및 착체와 회합된 글라르긴 인슐린의 혼합물은 개별 투여 형태로 제조하기 위해 글라르긴 인슐린의 바이알에서 동일 계내 제조될 수 있다.

[0427] **실험예 8. 제I형 진성 당뇨병 환자에서 혈중 글루코스 조절을 위한 HDV-글라르긴 인슐린의 사용 방법**

[0428] HDV-글라르긴 인슐린을 환자에게 투여하여, HDV-글라르긴 인슐린이 식후 혈중 글루코스 수준을 조절하는 능력을 결정하였다. 7명의 제I형 진성 당뇨병 환자를 선택하였다. 환자를 연구 프로토콜에 열거된 기준에 따라 주의 깊게 선별 및 선택하였다. HDV-글라르긴 인슐린 처리 기간에 들어가기 전에, 환자에게 식사시에 기저 글라르긴 인슐린 및 단기간 작용 인슐린을 처리하였다. HDV-글라르긴 인슐린을 투여하기 전 4일 동안 환자를 (다이어리 카드 및 사이트 접촉을 통해) 모니터링하여, 그들이 혈중 글루코스 수준의 허용가능한 조절하에 있음을 보장하였다. 아침 공복시 글루코스 수준은 100 내지 150 mg/dl로 수립되었다.

[0429] 연구하는 동안, 각 환자에 대한 HDV-글라르긴 인슐린의 투여량은, 시험하는 날에는 제공받지 않게 되는 단기간 작용 인슐린의 양을 보충하기 위해, 그들의 기저 글라르긴 인슐린의 일반적인 1일 투여량의 1.2배이었다. 13시간에 걸친 설정 스케줄에 따라 혈액 샘플들을 취하였다. 상기 기재된 방법을 이용하여 HDV를 글라르긴 인슐린에 첨가하여, 최종 농도의 66.1 IU 글라르긴/ml 및 0.37 mg HDV/ml의 현탁액을 제조하였다. 아침식사 1시간 전에 HDV-글라르긴 인슐린을 환자에게 주사하였다. 영양사는 아침, 점심 및 저녁의 매끼 식사시에 60 g 탄수화물 식이를 처방하였다.

[0430] 이제, 상기 실험예에 제시된 실험 결과를 기재한다. 환자는 HDV-글라르긴 인슐린에 대해 관용적이며, 주사 부위에서 부작용이 관찰되지 않았다. 치료를 받은 환자에서 저혈당증 반응이 관찰되지 않았다. HDV-글라르긴 인슐린으로 처리한 환자의 혈중 글루코스 수준은 도 18에 그래프로 나타내었다. 도 18은 예상된 바와 같이 식사 후 혈중 글루코스 농도가 증가되었고, 다음 식사를 할 때까지 시간에 따라 글루코스 농도가 감소되었음을 보여준다. 환자 4명 모두에서 이러한 패턴이 관찰되었다. 도 19는 하루 동안 세 끼 식사를 소비한 환자에서 평균 혈중 글루코스 농도에 대한 HDV-글라르긴 인슐린의 단일 투여의 효과를 보여준다. 개별 환자에서, 식사 후 혈중 글루코스 농도가 증가되었고, 다음 식사를 할 때까지 시간에 따라 글루코스 농도가 감소하였다. 평균 혈중 글루코스 농도는 모든 시점에서 기준치보다 높았다. 이 곡선은, 아침식사보다 점심 및 저녁식사 후에 고농도와 저농도 사이의 변화가 적기 때문에, HDV-글라르긴 인슐린의 효능이 하루 내내 개선되었음을 제시한다. 도 20은 공복시 혈중 글루코스 농도와 비교하여 혈중 글루코스 농도에 대한 HDV-글라르긴 인슐린의 효과를 도시한다. 혈중 글루코스 농도는 식사 후 증가되었고, 다음 식사를 할 때까지 시간에 따라 공복시 글루코스 농도 쪽으로 감소하였다. 연구하는 내내 혈중 글루코스 농도가 공복시 농도보다 높았다. HDV-글라르긴 인슐린으로 환자를 처리한 결과, 식후 혈중 글루코스 수준이 어느 정도 조절되었고, 이는 HDV가 식사시에 충분한 양의 글라르긴-인슐린을 간에 공급하여 이러한 조절을 제공할 수 있었음을 나타낸다. 혈중 글루코스 수준은 기저 인슐린 요법과 함께 식사시 단기간 작용 인슐린을 일반적으로 공급받는 제I형 환자의 전형이었다.

[0431] **실험예 9. HDV-휴물린 NPH 인슐린의 제약 조성물 #1**

[0432] 간세포 표적화된 조성물은 유리 재조합 인간 인슐린 이소판, 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 재조합 인간 인슐린 이소판의 혼합물을 포함한다. 상기 착체는 다중 연결된 개별 단위, 및 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤, 디세틸 포스페이트의 혼합물을 포함하는 지질 구조물 매트릭스를 포함한다. 상기 착체에는 가교제로서 폴리크롬 폴리(비스)[N-(2,6-디이소프로필페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산]이 존재한다.

[0433] **실험예 10. HDV-휴물린 NPH 인슐린의 제약 조성물 #2**

[0434] 간세포 표적화된 조성물은 유리 재조합 인간 인슐린 이소판, 유리 재조합 인간 속효성 인슐린, 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 재조합 인간 인슐린 이소판 및 재조합 인간 속효성 인슐린의 혼합물을 포함한다. 상기 착체는 다중 연결된 개별 단위, 및 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린, 콜레스테롤, 디세틸 포스페이트의 혼합물을 포함하는 지질 구조물 매트릭스를 포함한다. 상기 착체에는 가교제로서 폴리크롬 폴리(비스)[N-(2,6-디이소프로필페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산]이 존재한다.

[0435] **실험예 11. HDV-휴물린 NPH 인슐린의 제조**

[0436] 표적 분자 착체의 성분들의 중간체 혼합물을 하기 절차에 따라 제조하였다. 표적 분자 착체의 성분들의 혼합물 [총량 2.830 g]은 지질로서 1,2-디스테아로일-sn-글리세로-3-포스포콜린 (2.015 g), 결정질 콜레스테롤 (0.266 g), 및 디세틸 포스페이트 (0.515 g)의 분취물을 가교제로서 폴리크롬 폴리(비스)[N-(2,6-디이소프로필페닐카르바모일메틸)이미노디아세트산] (0.034 g)에 첨가함으로써 제조하였다. 클로로포름 (50 ml) 및 메탄올 (25 ml)의 용액을 분자체 상에서 탈수시켰다. 표적 분자 착체의 성분들의 혼합물을 클로로포름/메탄올 용액에 첨가한 다음, 60℃ ± 2℃의 수조에 넣어 용액을 형성하였다. 클로로포름/메탄올 용액을 진공하에 회전식 증발기 상에서 흡인기를 이용하여 제거한 후, 진공 펌프에 의해 제거하였고, 고체 중간체 혼합물이 형성되었다.

[0437] 표적 분자 착체를 하기 공정에 따라 제조하였다. pH 7.0의 28 mM 인산나트륨 완충액 대략 200 ml를 상기 중간체 혼합물에 첨가하여 수성 현탁액을 형성하였다. 상기 수성 현탁액을 80℃ ± 2℃의 수조에 넣어 수화시키면서, 대략 30 분 ± 15 분 동안 또는 혼합물이 균일하게 보이는 현탁액이 될 때까지 회전시켰다.

[0438] 수화된 표적 착체의 현탁액을 pH 7.0의 28 mM 인산나트륨 완충액을 갖는 70℃ ± 10℃로 예열된 모델 M-110 EHI 미세유동화기로 옮겼다. 유동화기에 수화된 표적 분자 착체의 현탁액을 1회 통과시켜 9,000 psig에서 현탁액을 미세유동화시켰다. 미세유동화기를 통과한 후, 코울터 N-4 플러스 입자 크기 분석기로부터의 단봉형 분포 데이터를 이용하는 입자 크기 분석을 위해 유동화된 현탁액의 여과되지 않은 샘플 (2.0 내지 5.0 ml)을 수집하였다. 모든 입자 크기를 결정하기 전에, 샘플을 pH가 7.0의 28 mM 인산나트륨 완충액으로 희석하였다. 입자 크기가 0.020 내지 0.40 μm 범위내에 있지 않은 경우에는, 현탁액을 미세유동화기에 다시 통과시키고, 입자 크기를 다시 분석하였다. 입자 크기가 0.020 내지 0.40 μm 범위내에 있을 때까지 이를 반복하였다. 미세유동화된 표적 분자 착체의 현탁액을 멸균 용기에 수집하였다.

[0439] 미세유동화된 표적 분자 착체의 현탁액을 60℃ ± 2℃에서 유지시키고, 그 동안 5.0 ml 시린지에 부착된 멸균 0.8 μm + 0.2 μm 맥식 여과기로 2회 여과하였다. 여과된 현탁액의 분취물을 분석하여, 현탁액 중 입자의 입자 크기 분포를 결정하였다. 마지막 0.2 μm 여과된 샘플의 입자 크기 분포는 입자 크기 분석기로부터의 단봉형 분포 출력물로 측정하였을 때 0.0200 내지 0.2000 μm 범위이어야 한다. 표적 분자 착체의 여과된 현탁액의 pH는 7.0 ± 0.5 pH 단위이었다. 이후에 사용할 때까지 샘플을 2℃ 내지 8℃의 냉장기에 저장하였다.

[0440] 여과된 HDV-지질 현탁액은 14.15 mg의 HDV 지질/ml를 함유하였다. 상기 현탁액의 0.8 ml 분취물을 휴물린 R 인슐린의 10.0 ml 바이알에 첨가하고, 수일 동안 2℃ 내지 4℃에서 인큐베이션하였다. 그 후, 10.0 ml 휴물린 R 인슐린 HDV 현탁액 중 5.0 ml를 멸균 시린지로 제거하였다. 바이알 중 나머지 5.0 ml의 휴물린 R 인슐린에 휴물린 NPH 인슐린 5.0 ml를 첨가하여, 최종 HDV 생성물을 형성하였다. 최종 HDV 조성물은 93.6 단위의 조합된 HDV 휴물린 R 및 HDV 휴물린 NPH 인슐린/ml 현탁액 및 0.52 mg의 HDV 지질/ml를 함유하였다. 개별 투여 형태로 동일계내에서 제조될 수 있는 상기 조성물은 유리 휴물린 R 인슐린, 유리 휴물린 NPH 인슐린, 및 지질 구조물과 혼합된 휴물린 R 인슐린 및 휴물린 NPH 인슐린을 포함하였다.

[0441] **실험예 12. 제I형 진성 당뇨병 환자에서 혈중 글루코스의 조절을 위한 조합된 HDV 휴물린 R 인슐린 및 HDV-휴물린 NPH 인슐린의 사용 방법**

[0442] HDV-휴물린 NPH 인슐린을 환자에게 투여하여, HDV-휴물린 NPH 인슐린이 식후 혈중 글루코스 수준을 조절하는 능력을 결정하였다. 7명의 제I형 진성 당뇨병 환자를 선택하였다. 환자를 연구 프로토콜에 열거된 기준에 따라 주의 깊게 선별 및 선택하였다. HDV-휴물린 NPH 인슐린 처리 기간에 들어가기 전에, 환자에게 식사시에 기저 휴물린 NPH 인슐린 및 단기간 작용 인슐린을 처리하였다. HDV-휴물린 NPH 인슐린을 투여하기 전 4일 동안 환자를 (다이어리 카드 및 사이트 접촉을 통해) 모니터링하여, 그들이 혈중 글루코스 수준의 허용가능한 조절하에 있음을 보장하였다. 아침 공복시 글루코스 수준은 100 내지 150 mg/dl로 수립되었다.

[0443] 연구하는 동안, 각 환자에 대한 HDV-휴물린 NPH 인슐린의 투여량은, 시험하는 날에는 제공받지 않게 되는 단기간 작용 인슐린의 양을 보충하기 위해, 그들의 기저 휴물린 NPH 인슐린의 일반적인 1일 투여량의 1.2배이었다. 13시간에 걸친 설정 스케줄에 따라 혈액 샘플들을 취하였다. 상기 기재된 방법을 이용하여 HDV를 휴물린 NPH 인슐린에 첨가하여, 최종 농도의 93.6 단위의 조합된 HDV 휴물린 R 인슐린 및 HDV 휴물린 NPH 인슐린/ml의 현탁액을 제조하였다. 아침식사 1시간 전에 HDV-인슐린을 환자에게 주사하였다. 영양사는 아침, 점심 및 저녁의 매끼 식사시에 60 g 탄수화물 식이를 처방하였다.

[0444] 이제, 상기 실험예에 제시된 실험 결과를 기재한다. 환자는 HDV-휴물린 NPH 인슐린에 대해 관용적이며, 주사 부위에서 부작용이 관찰되지 않았다. 처리를 받은 환자에서 저혈당증 반응이 관찰되지 않았다. HDV-휴물린

NPH 인슐린으로 처리한 환자의 혈중 글루코스 수준은 도 21에 그래프로 나타내었다. 도 21은 예상된 바와 같이 식사 후 혈중 글루코스 농도가 증가되었고, 다음 식사를 할 때까지 시간에 따라 글루코스 농도가 감소되었음을 보여준다. 환자 4명 모두에서 이러한 패턴이 관찰되었다. 도 22는 하루 동안 세 끼 식사를 소비한 환자에서 평균 혈중 글루코스 농도에 대한 HDV-휴물린 NPH 인슐린의 단일 투여의 효과를 보여준다. 개별 환자에서, 식사 후 혈중 글루코스 농도가 증가되었고, 다음 식사를 할 때까지 시간에 따라 글루코스 농도가 감소하였다. 평균 혈중 글루코스 농도는 모든 시점에서 기준치보다 높았다. 이 곡선은, 아침식사보다 점심 및 저녁식사 후에 고 농도와 저농도 사이의 변화가 적기 때문에, HDV-휴물린 NPH 인슐린의 효능이 하루 내내 개선되었음을 제시한다. 도 23은 공복시 혈중 글루코스 농도와 비교하여 혈중 글루코스 농도에 대한 HDV-휴물린 NPH 인슐린의 효과를 도시한다. 혈중 글루코스 농도는 식사 후 증가되었고, 다음 식사를 할 때까지 시간에 따라 공복시 글루코스 농도 쪽으로 감소하였다. 연구하는 내내 혈중 글루코스 농도가 공복시 농도보다 높았다. HDV-휴물린 NPH 인슐린으로 환자를 처리한 결과, 식후 혈중 글루코스 수준이 어느 정도 조절되었고, 이는 HDV가 식사시에 충분한 양의 휴물린 NPH 인슐린을 간에 공급하여 이러한 조절을 제공할 수 있었음을 나타낸다. 혈중 글루코스 수준은 기저 인슐린 요법과 함께 식사시 단기간 작용 인슐린을 일반적으로 공급받는 제I형 환자의 전형이었다.

[0445] 본 발명은 특정한 실시양태를 개시하고 있지만, 본 발명의 진정한 개념 및 범위를 벗어나지 않고 본 발명의 다른 실시양태 및 변형예가 당업자에 의해 유추될 수 있음이 자명하다. 첨부된 청구항은 이러한 모든 실시양태 및 등가 변형예를 포함하는 것으로 해석되어야 한다.

도면의 간단한 설명

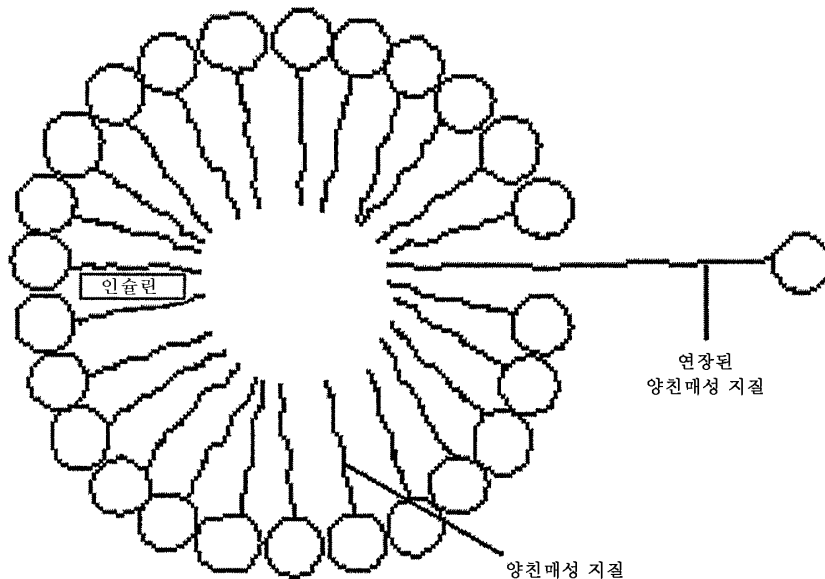
- [0103] 본 발명을 예시하기 위해서, 본 발명의 특정 실시양태에 관한 도면을 도시한다. 그러나, 본 발명은 도면에 도시된 실시양태의 정확한 배열 및 수단으로 제한되는 것이 아니다.
- [0104] 도 1은 인슐린, 양친매성 지질 분자 및 연장된 양친매성 지질을 포함하는 인슐린 결합 지질 구조물을 도시한다.
- [0105] 도 2는 바이오시틴을 제조하는 경로를 도시한다.
- [0106] 도 3은 이미노바이오시틴을 제조하는 경로를 도시한다.
- [0107] 도 4는 벤조일 티오아세틸 트리글리신 이미노바이오시틴 (BTA-3-gly-이미노바이오시틴)을 제조하는 경로를 도시한다.
- [0108] 도 5는 벤조일 티오아세틸 트리글리신을 제조하는 경로를 도시한다.
- [0109] 도 6은 벤조일 티오아세틸 트리글리신 술포-N-히드록시숙신이미드 (BTA-3-gly-술포-NHS)을 제조하는 경로를 도시한다.
- [0110] 도 7은 벤조일 티오아세틸 트리글리신 이미노바이오시틴 (BTA-3-gly-이미노바이오시틴)을 제조하는 경로를 도시한다.
- [0111] 도 8은 지질 고정부 및 간세포 수용체 결합 분자 (LA-HRBM)를 제조하는 경로를 도시한다.
- [0112] 도 9는 셀룰로스 아세테이트 히드로젠 프탈레이트와 인슐린 사이의 잠재적 결합 부위를 도시한다.
- [0113] 도 10은 산성 조건 vs. 염기성 조건하에서 이미노바이오시틴의 구조 변화를 도시한다.
- [0114] 도 11은 글라르긴 인슐린의 화학 구조를 도시한다.
- [0115] 도 12는 제조합 인간 인슐린 이소판 및 프로타민 단백질의 화학 구조를 도시한다.
- [0116] 도 13은 유리 인슐린, 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 인슐린을 조합한 제약 조성물을 도시한다.
- [0117] 도 14은 양친매성 지질 분자 및 연장된 양친매성 지질을 포함하는 인슐린 결합 지질 구조물의 제조 방법의 개략도이다.
- [0118] 도 15는 유리 글라르긴 인슐린, 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 글라르긴 인슐린을 조합한 간세포 표적화된 제약 조성물의 제조 방법의 개략도이다.
- [0119] 도 16은 유리 제조합 인간 인슐린 이소판, 및 수불용성 표적 분자 착체와 회합된 제조합 인간 인슐린 이소판을 조합하며, 유리 및 지질 구조물과 회합된 제조합 인간 속효성 인슐린을 둘 다 일부 함유하는 간세포 표적화된

제약 조성물의 제조 방법의 개략도이다.

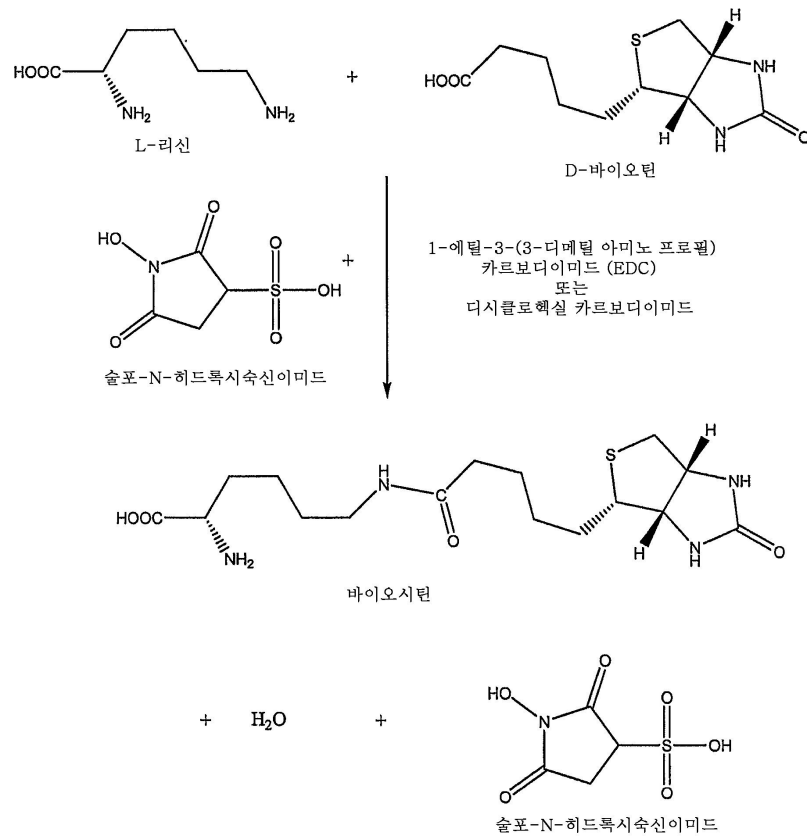
- [0120] 도 17은 다양한 간세포 표적화된 조성물로 처리된 래트의 간에 존재하는 글리코겐의 농도를 나타낸다.
- [0121] 도 18은 아침식사 전에 HDV-글라르긴 인슐린으로 1회 처리한 개별 환자의 혈중 글루코스 농도의 그래프이다.
- [0122] 도 19는 하루 동안에 세 끼 식사를 소비한 환자에서 평균 혈중 글루코스 농도에 대한 HDV-글라르긴 인슐린의 단일 투여 효과의 그래프이다.
- [0123] 도 20은 공복시 혈중 글루코스 농도와 비교한 시간에 따른 혈중 글루코스 농도에 대한 HDV-글라르긴 인슐린의 효과의 그래프이다.
- [0124] 도 21은 아침식사 전에 HDV-휴물린 NPH 인슐린으로 1회 처리한 개별 환자의 혈중 글루코스 농도의 그래프이다.
- [0125] 도 22는 하루 동안에 세 끼 식사를 소비한 환자에서 평균 혈중 글루코스 농도에 대한 HDV-휴물린 NPH 인슐린의 단일 투여 효과의 그래프이다.
- [0126] 도 23은 공복시 혈중 글루코스 농도와 비교한 시간에 따른 혈중 글루코스 농도에 대한 HDV-휴물린 NPH 인슐린의 효과의 그래프이다.

도면

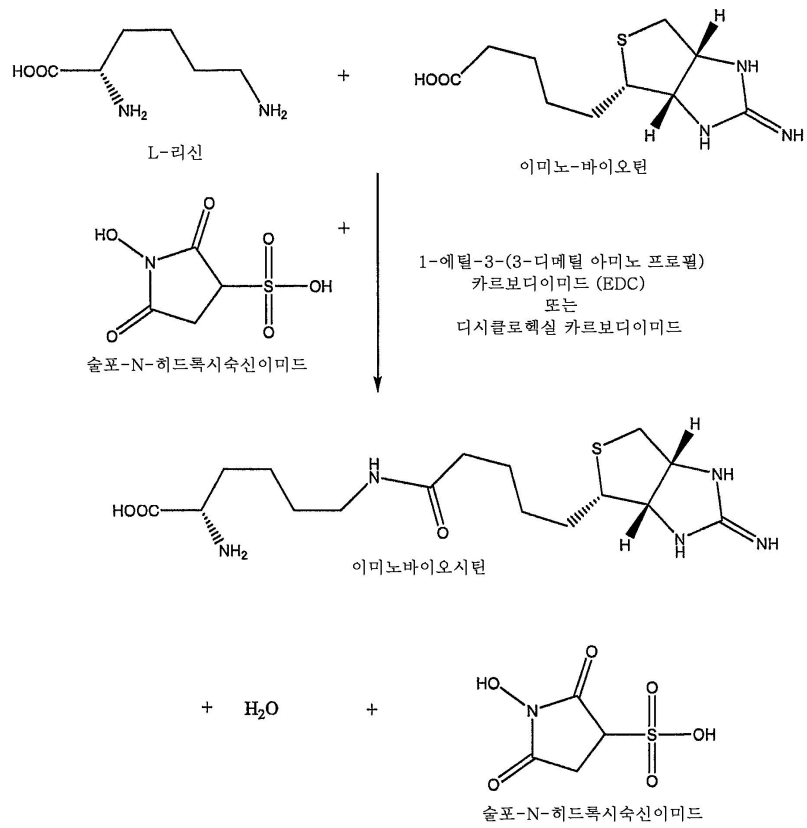
도면1



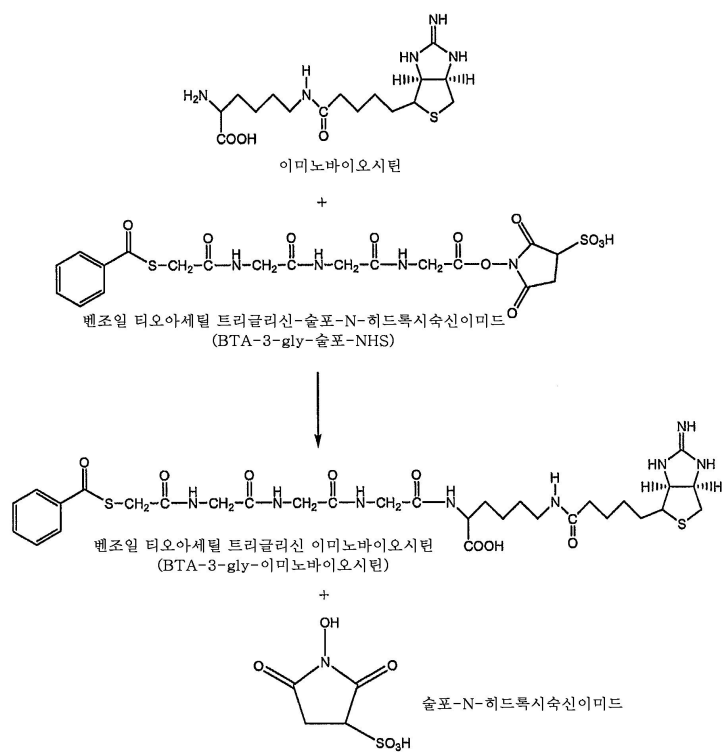
도면2



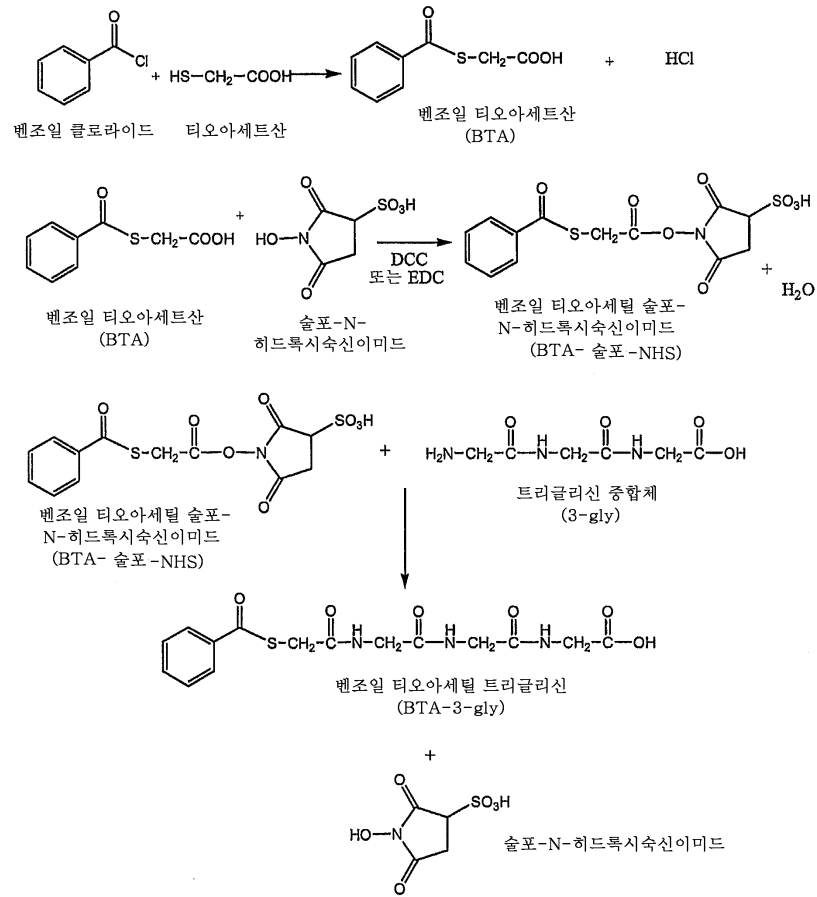
도면3



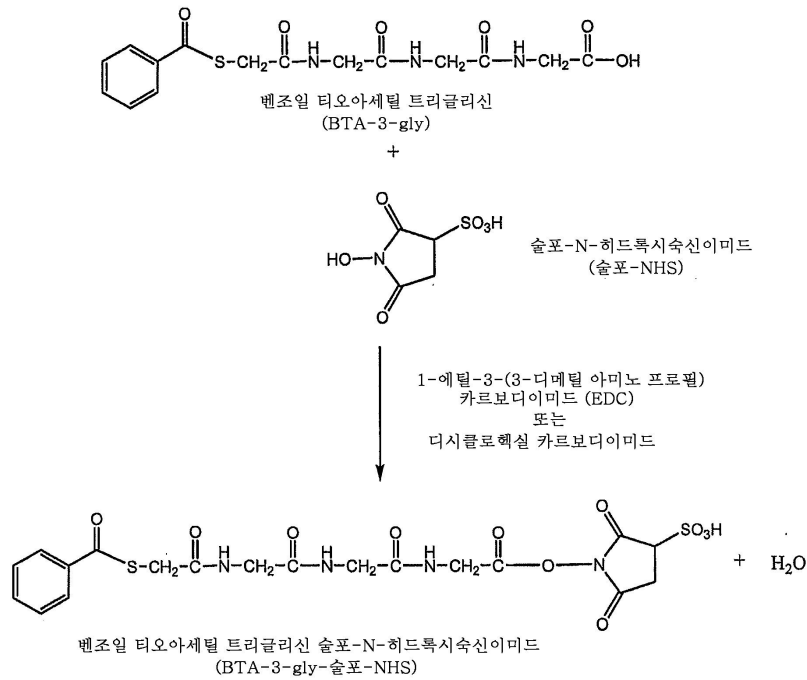
도면4



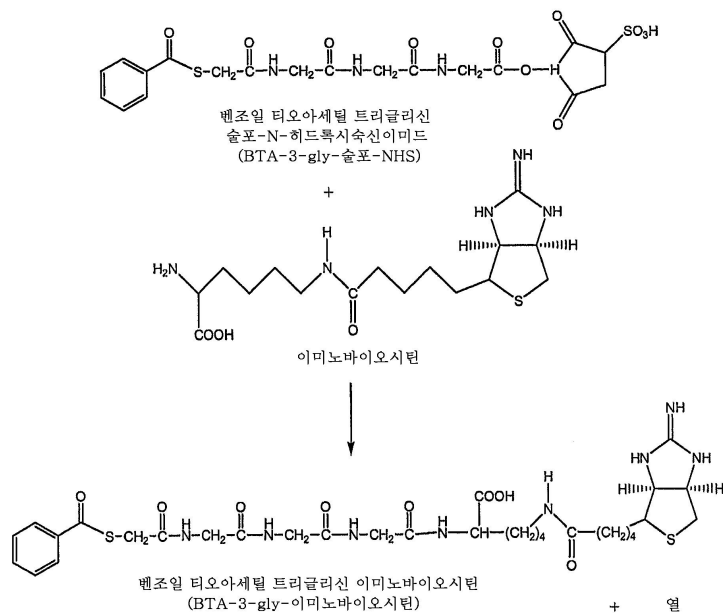
도면5



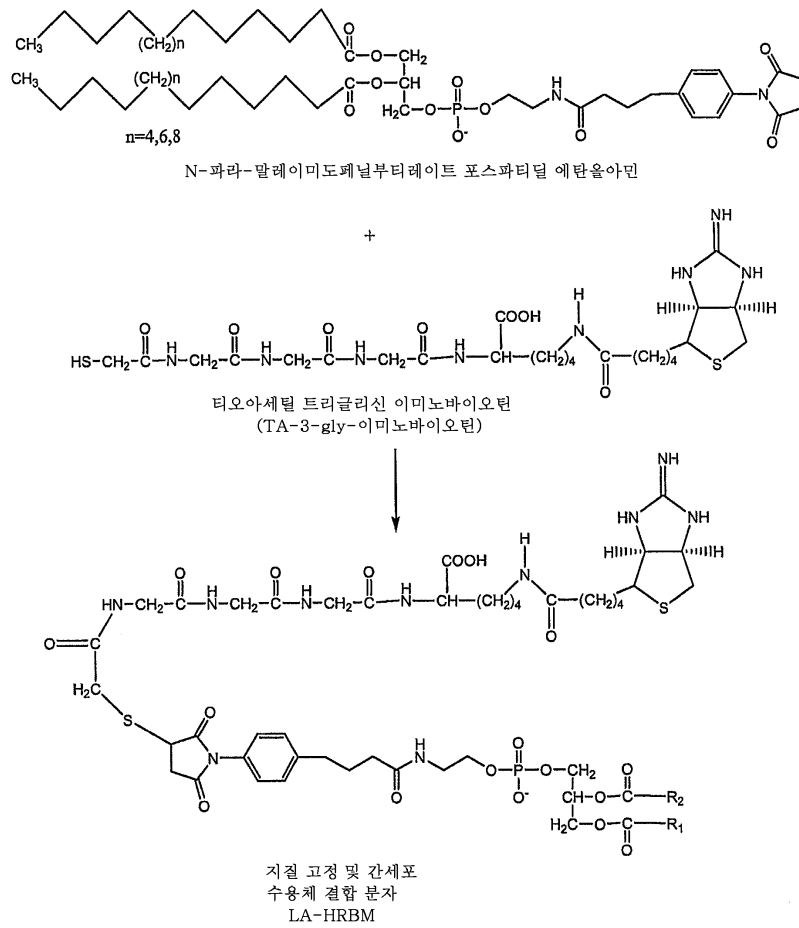
도면6



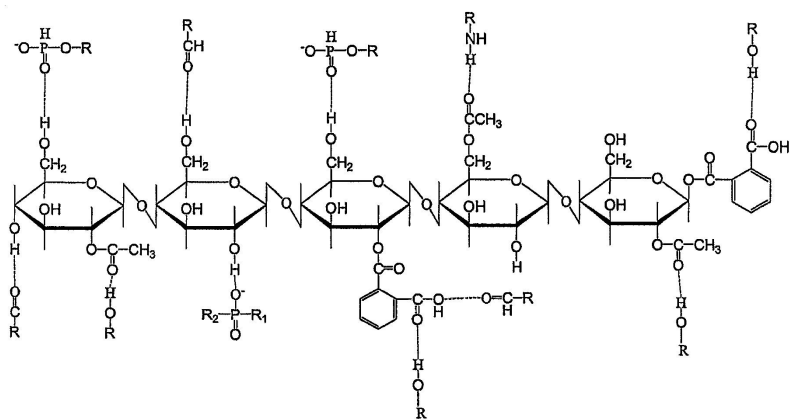
도면7



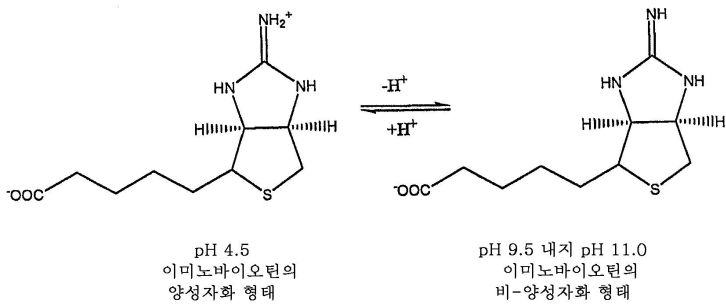
도면8



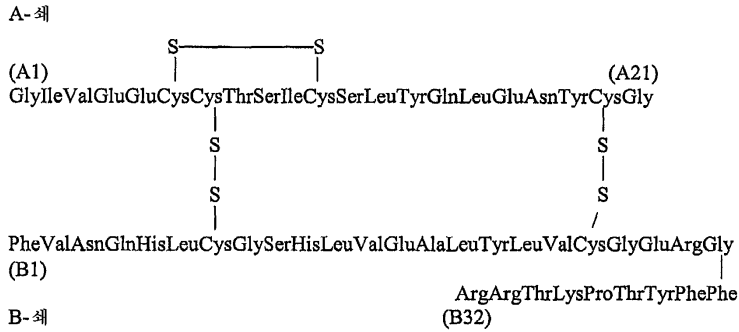
도면9



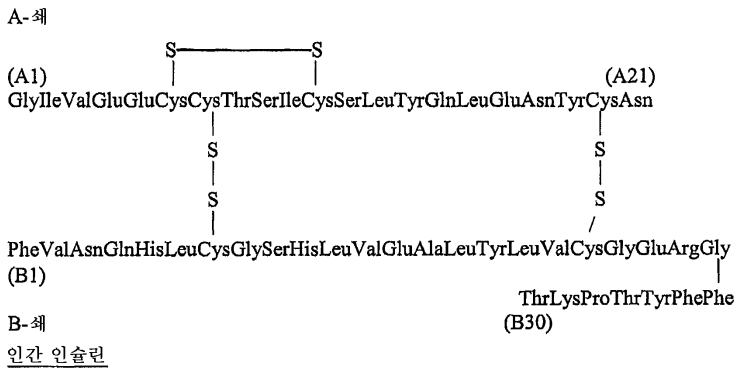
도면10



도면11

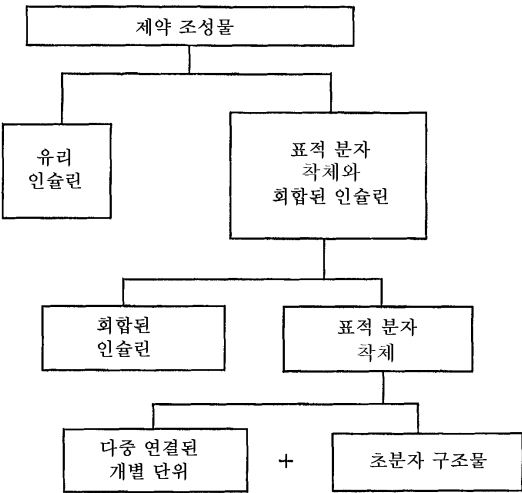


도면12



MetProArgArgArgArgSerSerSerArgProValArgArgArgArgArg
ArgArgArgArgGlyGlyArgArgArgArgArgArgSerValArgPro
프로타민

도면13



도면14

지질 성분들의 혼합물의 제조

성분들을 합한다
↓
성분들을 용해한다
↓
용액을 가열한다
↓
진공하에 혼합물을 건조한다
↓
지질 성분들의 혼합물을 저장한다

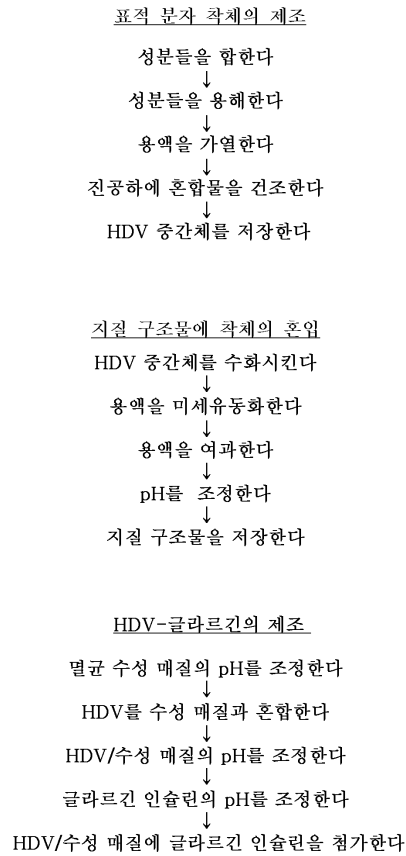
지질 성분들의 혼합물로부터 지질 구조물의 형성

지질 성분들의 혼합물을 수화시킨다
↓
용액을 미세유동화한다
↓
용액을 여과한다
↓
지질 구조물을 저장한다

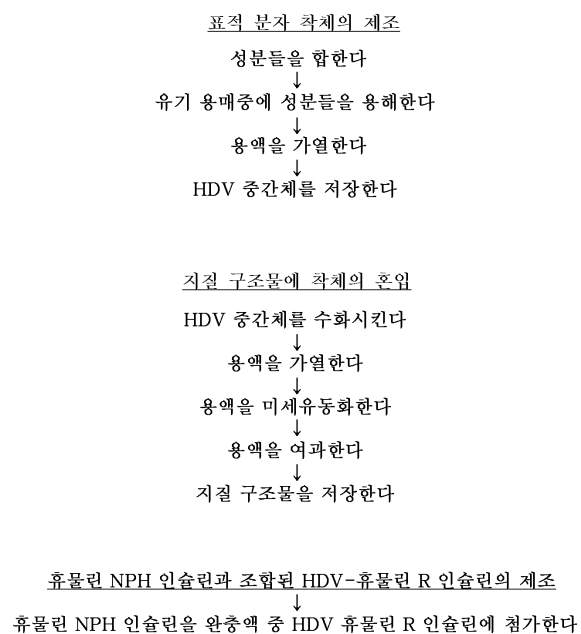
인슐린을 함유하는 지질 구조물의 제조

지질 구조물에 인슐린을 첨가한다

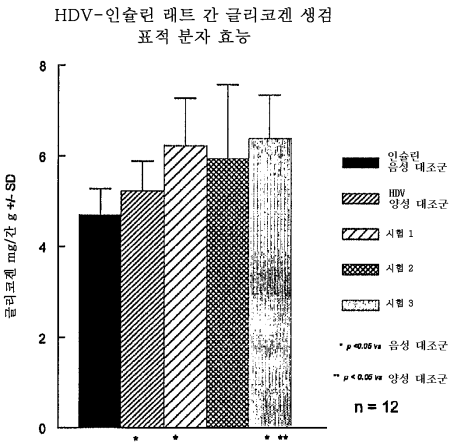
도면15



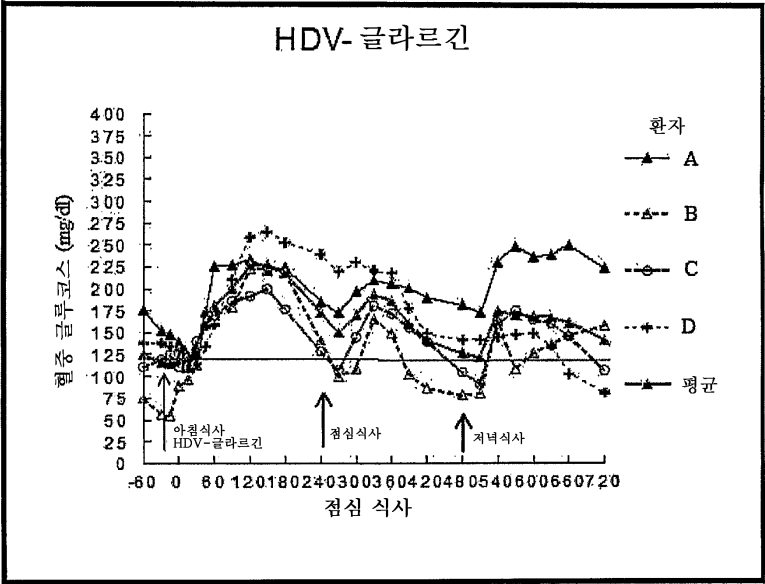
도면16



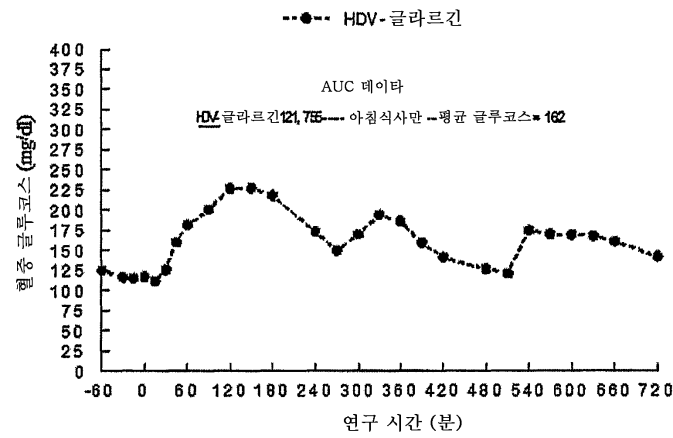
도면17



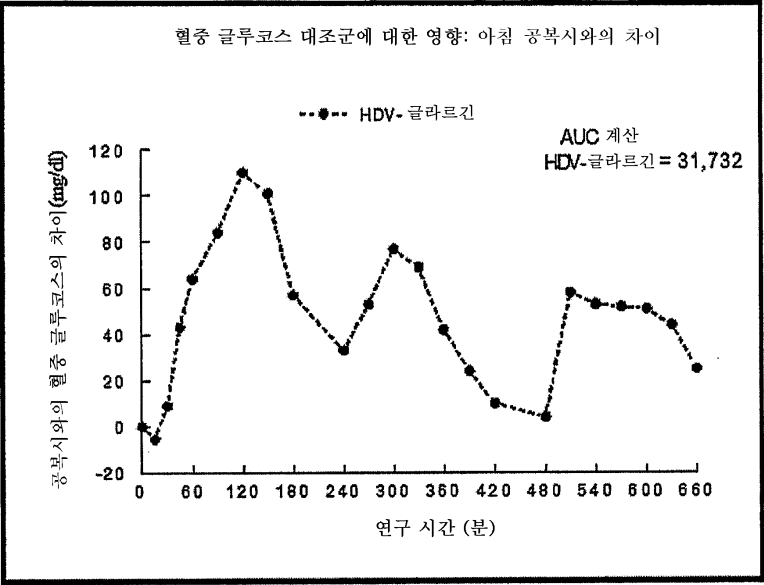
도면18



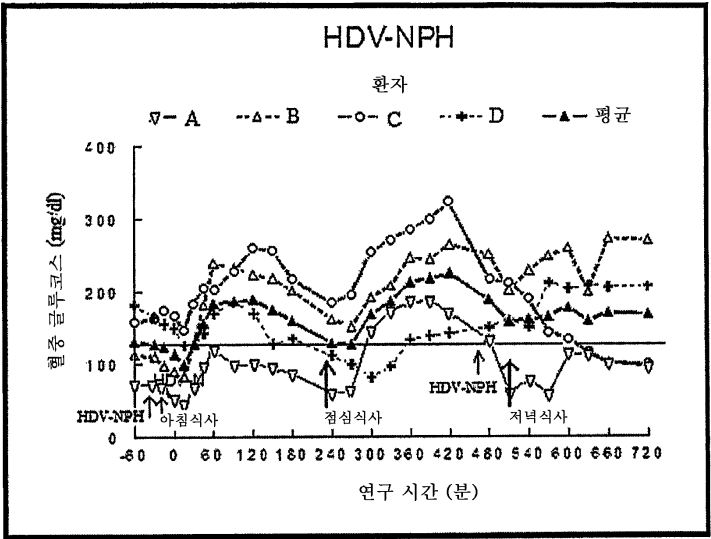
도면19



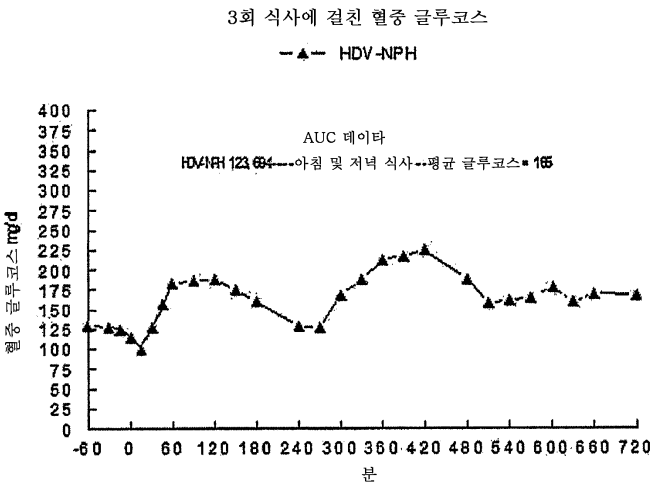
도면20



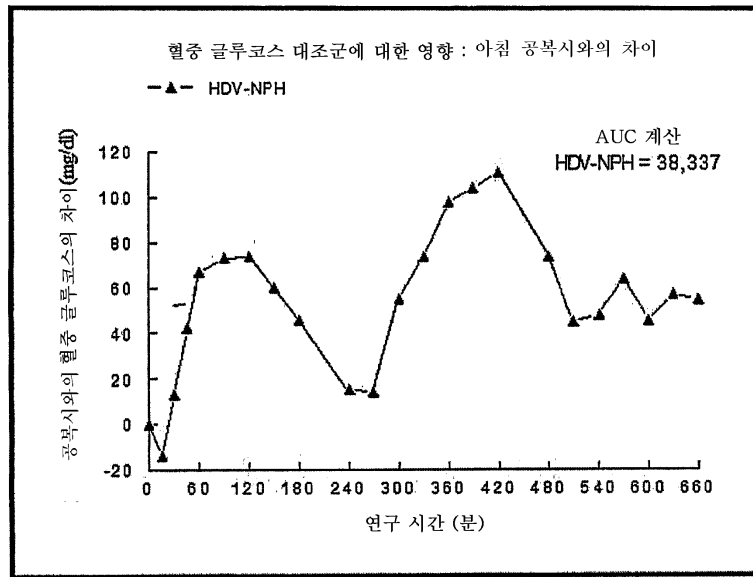
도면21



도면22



도면23



서열 목록

<110> Lau, John
Geho, W. Blair

<120> Lipid Construct for Delivery of Insulin to a Mammal

<130> 47589-5009-00-WO

<150> US 11/384,728

<151> 2006-03-20

<150> US 11/384,659

<151> 2006-03-20

<160> 2

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 53

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Recombinantly Synthesized Human Glargine Insulin Analog

<400> 1

Gly Ile Val Glu Glu Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln Leu
1 5 10 15

Glu Asn Tyr Cys Gly Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu
20 25 30

Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Arg Arg Thr Lys
35 40 45

Pro Thr Tyr Phe Phe
50

<210> 2

<211> 33

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Artificial Protamine Sequence

<400> 2

Met Pro Arg Arg Arg Arg Ser Ser Ser Arg Pro Val Arg Arg Arg Arg
1 5 10 15

Arg Pro Arg Val Ser Arg Arg Arg Arg Arg Arg Gly Gly Arg Arg Arg
20 25 30

Arg