(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0135785
(43) 공개일자 2024년09월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/00 (2006.01) *A61K 38/26* (2006.01)
A61K 47/02 (2006.01) *A61K 47/10* (2017.01)
A61K 9/08 (2006.01) *A61P 3/04* (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01) *A61P 5/50* (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 9/0019 (2013.01)
A61K 38/26 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7026226
(22) 출원일자(국제) 2023년01월09일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년08월02일
(86) 국제출원번호 PCT/CN2023/071277
(87) 국제공개번호 WO 2023/131325
국제공개일자 2023년07월13일
(30) 우선권주장
202210021736.1 2022년01월10일 중국(CN)

(71) 출원인
장쑤 한서 파마슈티칼 그룹 컴파니 리미티드
중국 222047 장쑤 렌윈강 이코노믹 앤드 테크놀로지컬 디벨로프먼트 존
(72) 발명자
동, 리
중국, 222047 장쑤, 렌윈강, 이코노믹 앤드 테크놀로지컬 디벨로프먼트 존
한, 얀
중국, 222047 장쑤, 렌윈강, 이코노믹 앤드 테크놀로지컬 디벨로프먼트 존
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
안소영

전체 청구항 수 : 총 17 항

(54) 발명의 명칭 **안정적인 수용체 작용제의 약학적 조성물, 제조방법 및 그 응용**

(57) 요 약

본 발명은 안정적인 수용체 작용제의 약학적 조성물, 제조 방법 및 그 응용에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 이중수용체 작용제를 활성 성분으로 하는 약학적 조성물을 개시한다. 상기 약학적 조성물은 이중수용체 작용제 완충액, 삼투압 조절제 및 pH 조절제를 포함한다. 본 발명의 약학적 조성물은 약물 안정성과 안전성이 우수하고 제조 방법이 간단하여 산업 생산에 적합하다.

(52) CPC특허분류
A61K 47/02 (2013.01)
A61K 47/10 (2013.01)
A61K 9/08 (2013.01)
A61P 3/04 (2018.01)
A61P 3/10 (2018.01)
A61P 5/50 (2018.01)
(72) 발명자
하오, 하오후아
중국, 222047 장쑤, 렌윈강, 이코노믹 앤드 테크놀로지컬 디벨로프먼트 존
유, 준
중국, 222047 장쑤, 렌윈강, 이코노믹 앤드 테크놀로지컬 디벨로프먼트 존
송, 양
중국, 222047 장쑤, 렌윈강, 이코노믹 앤드 테크놀로지컬 디벨로프먼트 존

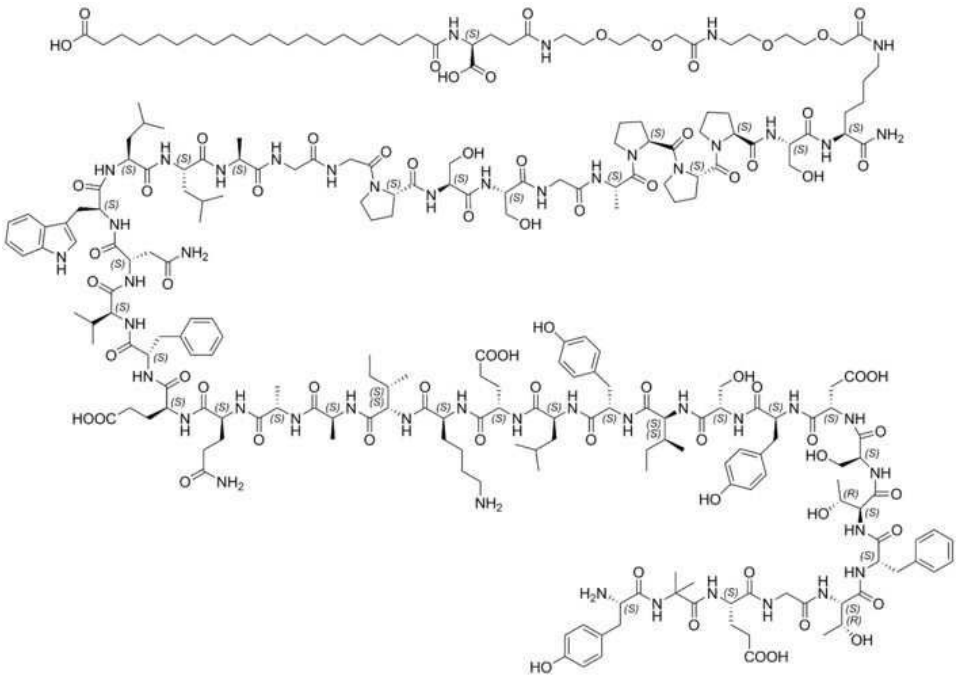
명 세 서

청구범위

청구항 1

안정적인 GIP/GLP-1 이중수용체 작용제의 약학적 조성물에 있어서,

활성 성분, 완충액, 삼투압 조절제 및 pH 조절제를 포함하고, 상기 활성 성분의 구조는 하기와 같은 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물:



청구항 2

제1항에 있어서,

상기 약학적 조성물은 주사액이고, 상기 활성 성분의 농도는 0.5mg/mL 내지 40mg/mL에서 선택되며, 바람직하게는 1mg/mL~30mg/mL에서 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

0.05%~4.0%(W/V)의 활성 성분을 포함하며, 바람직하게는 0.1%~3.0%(W/V)을 포함하는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 완충액은 인산염 완충액, 아세트산 완충액, 구연산염 완충액, 탄산염 완충액, 타르타르산염 완충액, Tris 완충액 및 히스티딘염으로부터 선택되며, 바람직하게는 구연산염 완충액 또는 인산염 완충액으로부터 선택되며, 보다 바람직하게는 인산수소이나트륨으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

0.05%~3.0%(W/V)의 완충액을 포함하고, 바람직하게는 0.05%~2.0%(W/V)을 포함하며, 보다 바람직하게는 0.05%~1.0%(W/V)을 포함하는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 삼투압 조절제는 만니톨, 유당, 자당, 프로필렌글리콜 및 글리세린 중 하나 이상으로부터 선택되며, 바람직하게는 프로필렌글리콜 또는 만니톨로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 주사액은 0.05%~5.0%(W/V)의 삼투압 조절제를 포함하고, 바람직하게는 1.0%~3.0%(W/V)을 포함하며, 보다 바람직하게는 1.0%~2.0%(W/V)을 포함하는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 pH 조절제는 염산 및 수산화나트륨 중 하나 이상으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서,

0.1%~3.0%(W/V)의 활성 성분, 0.05%~3.0%(W/V)의 완충액, 0.5%~5.0%(W/V)의 삼투압 조절제 및 적당량의 pH 조절제를 포함하고;

바람직하게는, 0.1%~3.0%(W/V)의 활성 성분, 0.05%~2.0%(W/V)의 완충액, 1.0%~3.0%(W/V)의 삼투압 조절제 및 적당량의 pH 조절제를 포함하며;

보다 바람직하게는, 0.1%~3.0%(W/V)의 활성 성분, 0.05%~1.0%(W/V)의 완충액, 1.0%~2.0%(W/V)의 삼투압 조절제 및 적당량의 pH 조절제를 포함하고;

더욱 바람직하게는, 0.1%~3.0%(W/V)의 활성 성분, 0.05%~1.0%(W/V)의 인산수소이나트륨 및/또는 수산화나트륨, 1.0%~2.0%(W/V)의 프로필렌글리콜 및 적당량의 pH 조절제를 포함하는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서,

활성 성분과 완충액의 중량비는 1:0.01~10이며, 바람직하게는 1:0.02~1, 보다 바람직하게는 1: 0.02~0.5인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 11

제1항에 있어서,

활성 성분과 삼투압 조절제의 중량비는 1:0.1~20이며, 바람직하게는 1:0.4~10인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 12

제9항에 있어서,

완충액은 인산수소이나트륨과 수산화나트륨을 포함하고, 인산수소이나트륨과 수산화나트륨의 중량비는 1:0~3.0이며, 바람직하게는 1:0.10~2.5이고, 보다 바람직하게는 1:0.13~1.5이며, 더욱 바람직하게는 1:0.13~1.2인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 13

제1항에 있어서,

완충액과 삼투압 조절제의 중량비는 1:5~80이고, 바람직하게는 1:5~60이며, 보다 바람직하게는 1:15~40이고, 더

욱 바람직하게는 1:15~25인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 14

제1항에 있어서,

약학적 조성물의 pH 범위는 6.5 내지 9.0이고, 바람직하게는 7.0 내지 8.5이며, 보다 바람직하게는 7.0~8.0인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 15

제1항 내지 제14항에 있어서,

m-크레졸, 페놀, 벤질알코올, 페네틸알코올, 파라벤, 히드록시벤조에이트, 벤질 알코올, 클로로부탄올, 페녹시에탄올 및 메틸파라벤 중 하나 이상으로부터 선택된 보존제를 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 16

제1항 내지 제15항의 약학적 조성물을 제조하는 방법에 있어서,

완충액과 삼투압 조절제를 주사용수에 용해시키고, 활성 성분을 상기 약액에 용해시키며, 교반하여 용해시킨 후 pH 조절제를 첨가하여 일정한 부피로 만들고 여과 및 분주하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물의 제조 방법.

청구항 17

인슐린 비의존성 당뇨병, 인슐린 의존성 당뇨병, 비만, 인슐린 저항성 또는 혈중 지질 대사 장애를 치료하기 위한 약물의 제조에서 제1항 내지 제15항의 약학적 조성물의 응용으로서,

바람직하게는, 상기 인슐린 비의존성 당뇨병은 제2형 당뇨병인, 약학적 조성물의 응용.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 약제학적 제제 분야에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 안정한 GLP-1/GIP 수용체 작용제의 약학적 조성물, 제조방법 및 그 응용에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 지난 50년 동안 전 세계적으로 당뇨병의 유병률은 계속 증가하여 2050년까지 환자 수가 7억 명에 이를 것으로 예상된다. 중국의 당뇨병 유병률은 11.2%, 환자 수는 약 1억3000만 명으로 현재 당뇨병 환자가 가장 많은 국가로 주요 공공 보건 문제 중 하나가 되어 환자, 가족 및 사회에 막대한 생리학적, 심리적, 경제적 부담을 안겨주고 있다. 제2형 당뇨병(Type 2 Diabetes Mellitus, T2DM)은 당뇨병 환자의 90% 이상을 차지하며 주요 병리생리학적 특징은 인슐린이 포도당 대사를 조절하는 능력(즉, 인슐린 저항성)을 감소시키고 췌도 β 세포의 기능 장애로 인한 인슐린 분비 감소가 동반하는 것이다.

[0003] T2DM 약물 치료는 크게 경구용 혈당강하제, GLP-1 수용체 작용제(GLP-1RAs) 및 인슐린/인슐린 유사체의 세 가지 범주로 나뉜다. 경구용 혈당강하제는 주로 인슐린 분비 촉진제(설포닐우레아계, 비설포닐우레아계), 인슐린 증감제(메트포르민, 티아졸리딘디온계) 등을 포함한다. 메트포르민은 강력한 혈당 강하 효과가 있고 저혈당 위험이 적으며 체중 감량의 장점이 있어 임상 치료를 위한 1순위이다. 혈당 조절이 잘 되지 않으면 인슐린 분비 촉진제, 디펩티딜 펩티다제-4(DPP-4) 억제제, GLP-1RAs 등과 함께 2제 또는 3제 병용 요법을 시행한다. 비만인 T2DM 환자의 경우 대사 수술을 통해 체중을 크게 줄이면서 당뇨병 상태를 완화하거나 역전시킬 수 있다. 대사 수술 후 장 호르몬이 크게 변하는데 인크레틴 분비가 향상되어 체중 감소 및 혈당 강하와 같은 대사 효과가 달성된다. 인크레틴 분비 효과는 건강한 사람의 식후 인슐린 분비가 증가하는 주요 원인 중 하나이며, 여기서 중요한 역할을 하는 두 가지 장 호르몬은 GLP-1과 GIP이다.

[0004] T2DM 환자는 식후 체내 GLP-1 분비가 감소하지만 수용체에 결합한 후 인슐린 분비 촉진 효과는 건강한 사람과 유사하다. 인체의 GLP-1은 DPP-4에 의해 빠르게 분해될 수 있기 때문에 반감기가 매우 짧다. 이 메커니즘의 약물 연구개발에 있어서, 인간 내인성 GLP-1에 대해 인체 내에서 더 긴 반감기를 가져 작용할 수 있도록 구조적

변형을 수행한다. 지난 10여년간 GLP-1RAs 약물의 연구 개발은 빠르게 진행되었는데, 현저한 혈당 강하 효과 외에 현저한 체중 감량 이점이 있으며, 플라세보군에 비해 주요 심혈관 사건의 위험과 모든 원인에 의한 사망률을 크게 줄일 수 있다. 당뇨병 치료 외에도 과체중 비만 비당뇨병 환자의 치료용으로 개발되었다. GLP1-RAs 중 둘라글루타이드 및 세마글루타이드가 현저한 효과가 있으며, 둘라글루타이드는 2019년에 중국에서 출시되었으며 혈당 강하 및 체중 감량 효과가 리라글루타이드보다 훨씬 우수하다. 세마글루타이드는 혈당 강하 및 체중 감량 효과가 모두 둘라글루타이드보다 우수하고, 안전성 측면에서는 둘라글루타이드와 유사하다.

[0005] 장기간의 고농도 GLP-1RAs 치료는 혈당 강하 및 체중 감량에 좋은 효과를 유지할 수 있지만 메스꺼움 및 구토와 같은 심각한 위장 부작용은 GLP-1RAs의 최대 용량 사용을 제한하여 잠재적인 최대 효과를 얻지 못하므로 T2DM에 대한 GLP-1RAs의 효과는 여전히 위장 대사 수술과 크게 차이가 있다. 현재 GLP-1RAs의 작용 기전을 기반으로 하는 다중 표적 약물 개발 전략이 제안되었으며, 그 중 인크레틴 효과가 있는 또 다른 GIP가 중요한 연구 대상이다. GIP는 T2DM 환자의 체내 혈당 농도가 높은 경우 혈당 강하 효과가 심각하게 손상되지만 혈당 농도가 정상 수준으로 돌아오면 인슐린 분비 자극 효과가 빠르게 회복될 수 있다. 또한 GIP는 비정상적인 지방 대사를 조절하고 각 조직 간의 비정상적인 지방 축적을 줄이며 인슐린 감수성을 개선하는 동시에 GLP-1과 협력하여 중추 신경계에 작용하여 음식 섭취를 줄일 수 있다. GIP는 또한 항종양제 시스플라틴으로 인한 메스꺼움 및 구토와 같은 위장 반응을 크게 감소시킬 수 있으며 GLP-1RAs의 내성을 증가시켜 효능을 더욱 향상시킬 수 있다.

[0006] 본 발명의 활성 성분은 당사에서 개발한 차세대 GIP/GLP-1 이중수용체 작용제로 GIP 수용체에 대해 매우 강한 작용 활성을 가지고 GLP-1 수용체에 대해서도 강한 작용 활성을 가지며, 이중 수용체 작용 활성은 제2형 당뇨병(T2DM) 치료에 사용될 예정이다. 동물 약력학 실험 결과, 본 발명의 단회 투여는 db/db 당뇨병 마우스의 무작위 혈당을 현저히 감소시키고 인슐린 분비를 촉진하며 음식 섭취를 줄이고 일정한 체중 감량 효과가 있음을 보여주었으며, 동일한 용량에서 본 발명의 약학적 조성물의 효과는 세마글루타이드보다 우수하다. 3일마다 1회씩 장기간 연속 투여하면 용량 의존적으로 db/db 당뇨병 마우스의 혈당, 체중 및 간 무게를 감소시킬 수 있으며; 연속 투여 시험에서, DIO 마우스의 체중, 음식 섭취량 및 간 무게를 용량 의존적으로 감소시킬 수 있고, 또한 DIO(Diet-Induced Obesity, 식이 유도 비만) 마우스의 혈중 중성지방, 저밀도 지단백 콜레스테롤 및 총 콜레스테롤 수준을 현저히 감소시켜 DIO 마우스의 혈중 지질 대사 장애를 개선할 수 있으며; 동일한 용량에서 지방 감소 및 체중 감량 효과가 세마글루타이드보다 우수하다. 본 발명의 활성 성분은 혈당 강하 효과가 우수하고 지방 및 체중 감소 효과가 있으며 개발 전망이 밝다는 것을 알 수 있다.

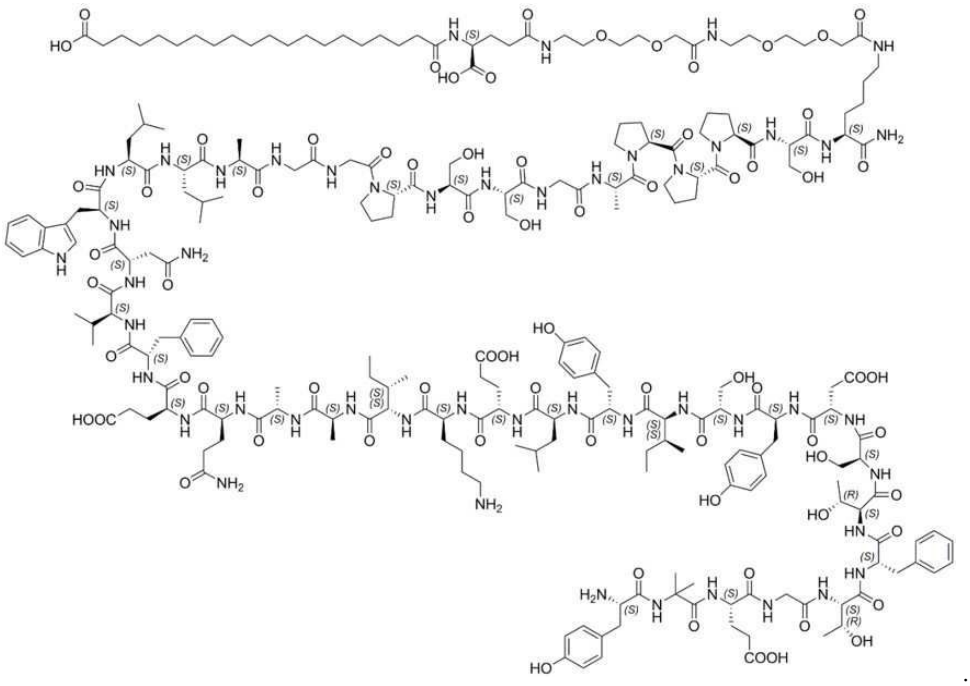
[0007] 본 발명의 활성 성분은 폴리펩타이드이며, 이는 복수의 아미노산이 펩티드 결합으로 연결되어 형성된 화합물이다. 원료 의약품 파괴 실험 결과에 따르면, 산, 알칼리, 산화 및 고온 조건에서 모두 현저한 분해가 발생하는 것으로 나타났으며; 원료 의약품 영향 요인에 대한 실험 결과에 따르면, 원료 의약품의 중합체가 고온 및 빛 조사 조건에서 모드 증가하는 것으로 나타났다. 상기 활성 성분의 특수성으로 인해 활성 성분의 안정성이 좋지 않으며, 이 경우 산업적으로 생산될 수 있는 안정적이고 고품질의 GLP-1/GIP 수용체 작용제의 약학적 조성물을 얻는 것은 연구자에게 여전히 큰 도전이다.

발명의 내용

[0008] 본 발명은 안정적인 GIP/GLP-1 이중수용체 작용제의 약학적 조성물을 제공하는 것을 그 목적으로 한다.

[0009] 본 발명의 목적은 다음의 기술적 해결수단을 통해 구현된다.

[0010] 본 발명의 약학적 조성물은 활성 성분, 완충액, 삼투압 조절제 및 pH 조절제를 포함하며, 본 발명의 활성 성분의 구조는 하기와 같다.

[0011] 
.

[0012] 이 구조의 아미노산 서열은 다음과 같다.

[0013] L-티로실-이소부티릴-L-글루타밀-글리실- L-트레오닐-L-페닐알라닐-L-트레오닐-L-세릴-L-아스파틸-L-티로실-L-세릴-L-이소류실-L-티로실-L-류실-L-글루타밀-L-리실-L-이소류실-L-알라닐-L-알라닐-L-글루타미닐-L-글루타밀-L-페닐알라닐-L-발릴-L-아스파라기닐-L-트립토파닐-L-류실-L-류실-L-알라닐-글리실-글리실-L-프롤릴-L-세린-L-세린-글리실-L-알라닐-L-프롤릴-L-프롤릴-L-프롤릴-L-세릴-{N6-[(22S)-10,19,24-트리옥소-3,6,12,15-테트라옥사-9,18,23-트리아자-22,42-디카르복시-리그노세로일]}-L-리신아미드.

[0014] 바람직하게는, GIP/GLP-1 이중수용체 작용제의 약학적 조성물은 주사액이고, 상기 활성 성분의 농도는 0.5mg/mL 내지 40mg/mL로부터 선택되고, 바람직하게는 1mg/mL~30mg/mL로부터 선택되며, 보다 바람직하게는 1mg/mL, 2 mg/mL, 5 mg/mL, 10mg/mL, 15mg/mL, 20mg/mL, 25 mg/mL 또는 30 mg/mL로부터 선택된다.

[0015] 바람직하게는, 상기 주사액은 0.05%~4.0%(W/V)의 활성 성분을 포함하고, 바람직하게는 0.1%~4.0%(W/V)을 포함하며, 보다 바람직하게는 0.1%~3.0%(W/V)을 포함한다.

[0016] 본 발명에서, W/V의 단위는 g/mL이다.

[0017] 바람직하게는, 상기 완충액은 인산염 완충액, 아세트산 완충액, 구연산염 완충액, 탄산염 완충액, 타르타르산염 완충액, Tris 완충액, 히스티딘염으로부터 선택되고, 바람직하게는 구연산염 완충액 또는 인산염 완충액으로부터 선택되며, 보다 바람직하게는 인산수소이나트륨으로부터 선택된다.

[0018] 바람직하게는, 상기 주사액은 0.05%~3.0%(W/V)의 완충액을 포함하고, 바람직하게는 0.05%~2.0%(W/V)을 포함하며, 보다 바람직하게는 0.05%~1.0%(W/V)을 포함한다.

[0019] 바람직하게는, 상기 삼투압 조절제는 만니톨, 유당, 자당, 프로필렌글리콜, 글리세린 중 하나 이상으로부터 선택되며, 바람직하게는 프로필렌글리콜 또는 만니톨로부터 선택된다.

[0020] 바람직하게는, 상기 주사액은 0.05%~5.0%(W/V)의 삼투압 조절제를 포함하고, 바람직하게는 1.0%~3.0%(W/V)를 포함하며, 보다 바람직하게는 1.0%~2.0%(W/V)을 포함한다.

[0021] 바람직하게는, 상기 pH 조절제는 염산, 수산화나트륨 중 하나 이상으로부터 선택된다.

[0022] 바람직하게는, 상기 주사액은 0.1%~3.0%(W/V)의 활성 성분, 0.05%~3.0%(W/V)의 완충액, 0.5%~5.0%(W/V)의 삼투압 조절제 및 적당량의 pH 조절제를 포함한다.

[0023] 바람직하게는, 상기 주사액은 0.1%~3.0%(W/V)의 활성 성분, 0.05%~2.0%(W/V)의 완충액, 1.0%~3.0%(W/V)의 삼투압 조절제 및 적당량의 pH 조절제를 포함한다.

[0024] 바람직하게는, 상기 주사액은 0.1%~3.0%(W/V)의 활성 성분, 0.05%~1.0%(W/V)의 완충액, 1.0%~2.0%(W/V)의 삼투

압 조절제 및 적당량의 pH 조절제를 포함한다.

[0025] 바람직하게는, 상기 주사액은 0.1%~3.0%(W/V)의 활성 성분, 0.05%~0.1%(W/V)의 완충액, 1.0%~2.0%(W/V)의 삼투압 조절제 및 적당량의 pH 조절제를 포함한다.

[0026] 바람직하게는, 상기 주사액은 0.1%~3.0%(W/V)의 활성 성분, 0.05%~1.0%(W/V)의 인산수소이나트륨 및/또는 수산화나트륨, 1.0%~2.0%(W/V)의 프로필렌글리콜 및 적당량의 pH 조절제를 포함한다.

[0027] 선택적으로, 상기 주사액은 m-크레졸, 페놀,벤질알코올, 페네틸알코올, 파라벤, 히드록시벤조에이트, 벤질 알코올, 클로로부탄올, 페녹시에탄올, 메틸파라벤 등으로부터 선택되는 보존제를 더 포함하며, 바람직하게는 m-크레졸, 페놀 또는 트리클로로부탄올로부터 선택되는 보존제를 포함한다.

[0028] 선택적으로, 상기 주사액은 0.01%~3%(W/V)의 보존제를 포함하고, 바람직하게는 0.05%~1.5%(W/V)의 보존제를 포함하며, 보다 바람직하게는 0.1%~1%(W/V)의 보존제를 포함하고, 더욱 바람직하게는 0. 1%~0.5%(W/V)의 보존제를 포함한다.

[0029] 바람직하게는, 상기 주사액은 0.1%~3.0%(W/V)의 활성 성분, 0.05%~1.0%(W/V)의 인산수소이나트륨 및/또는 수산화나트륨, 1.0%~2.0%(W/V)의 프로필렌글리콜, 0.05%~1.5%(W/V)의 보존제 및 적당량의 pH 조절제를 포함한다.

[0030] 바람직하게는, 상기 주사액은 0.1%~3.0%(W/V)의 활성 성분, 0.05%~1.0%(W/V)의 인산수소이나트륨 및/또는 수산화나트륨, 1.0%~2.0%(W/V)의 프로필렌글리콜, 0.1%~1%(W/V)의 보존제 및 적당량의 pH 조절제를 포함한다.

[0031] 바람직하게는, 상기 주사액은 0.1%~3.0%(W/V)의 활성 성분, 0.05%~1.0%(W/V)의 인산수소이나트륨 및/또는 수산화나트륨, 1.0%~2.0%(W/V)의 프로필렌글리콜, 0.1%~0.5%(W/V)의 보존제 및 적당량의 pH 조절제를 포함한다.

[0032] 바람직하게는, 상기 활성 성분과 완충액의 중량비는 1:0.01~10이고, 바람직하게는 1:0.02~1이며, 보다 바람직하게는 1: 0.02~0.5이다.

[0033] 바람직하게는, 상기 활성 성분과 삼투압 조절제의 중량비는 1:0.1~20이며, 바람직하게는 1:0.4~10이다.

[0034] 바람직하게는, 완충액 중 인산수소이나트륨과 수산화나트륨의 총 량비는 1:0~3.0이고, 바람직하게는 1:0.10~2.5이며, 보다 바람직하게는 1:0.13~1.5이고, 더욱 바람직하게는 1:0.13~1.2이다.

[0035] 바람직하게는, 완충액과 삼투압 조절제의 중량비는 1:5~80이고, 바람직하게는 1:5~60이며, 보다 바람직하게는 1:15~40이고, 더욱 바람직하게는 1:15~25이다.

[0036] 바람직하게는, 상기 약학적 조성물의 pH 범위는 6.5 내지 9.0이고, 바람직하게는 7.0 내지 8.5이며, 보다 바람직하게는 7.0~8.0이다.

[0037] 바람직하게는, 상기 약학적 조성물의 투여량은 0.5ml~1ml이다.

[0038] 본 발명의 다른 목적은 완충액과 삼투압 조절제를 주사용수에 용해시키고, 활성 성분을 상기 약액에 용해시키며, 교반하여 용해시킨 후 pH 조절제를 첨가하여 일정한 부피로 만들고 여과 및 분주하는 단계를 포함하는 상기 약학적 조성물을 제조하는 방법을 제공하는 것이다.

[0039] 바람직하게는, 주사용수를 25℃ 이하로 냉각시킨다.

[0040] 바람직하게는, 약학적 조성물은 무균 여과, 분주 및 패키징을 통해 제조된다.

[0041] 바람직하게는, 충진 과정은 질소 보호 하에 완료된다.

[0042] 바람직하게는, 상기 약학적 조성물은 미리 포팅된 주사기로 분주된다.

[0043] 바람직하게는, 상기 약학적 조성물은 카트리지로 분주된다.

[0044] 바람직하게는, 상기 약학적 조성물은 바이알로 분주된다.

[0045] 본 발명의 또 다른 목적은 인슐린 비의존성 당뇨병, 인슐린 의존성 당뇨병, 비만, 인슐린 저항성 또는 혈중 지질 대사 장애를 치료하기 위한 약물의 제조에 있어서 약학적 조성물의 용도를 제공하며, 바람직하게는, 상기 인슐린 비의존성 당뇨병은 제2형 당뇨병이다.

[0046] 본 발명의 약학적 조성물은 메트포르민, 티아졸리딘디온, 설포닐 우레아계, 디펩티딜 펩티다제 억제제 및 나트륨 글루코스 수송체로부터 선택된 하나 이상의 시약과 동시에, 별도로 또는 순차적으로 조합하여 사용할 수 있

다.

[0047] 의약품은 다른 화학 제품과 달리 극소량의 불순물 성분이라도 임상용 의약품의 안전성, 유효성 및 품질 관리 가능성에 위험을 초래할 수 있다. 본 발명은 처방의 성분과 각 성분의 비율을 제어함으로써 다른 부형제를 첨가하지 않고도 안정성이 좋은 약학적 조성물을 얻을 수 있으며, 관련 물질의 함량을 효과적으로 제어하고, 특정 불순물의 함량을 현저히 감소시키며, 약물의 독성을 크게 감소시키고, 약물을 장기간 방치한 후 특정 불순물 함량이 천천히 증가하므로 약물의 안전성을 향상시킨다. 또한, 질소 보호 충진을 통해 제제의 안정성을 향상시킨다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0048] 당업자는 본 발명의 사상 및 범위를 벗어나지 않고 본 명세서에 개시된 내용을 기초로 본 발명에 대해 다양한 변형 및 개선을 수행할 수 있음을 이해해야 한다. 이들은 모두 본 출원의 청구범위에 정의된 특허 보호 범위에 속해야 한다. 또한, 본 명세서에 제공된 실시예는 단지 본 발명을 설명하기 위한 것이며 본 발명을 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다는 것을 이해해야 한다.

[0049] 실시예 1.

[0050]

성분	사용량
활성 성분	0.2g, 1.0g, 2.0g, 3.0g, 4.0g
인산수소이나트륨 [1]	0.071g
프로필렌글리콜	1.5g
수산화나트륨 [2]	0.01g
수산화나트륨	적당량
염산	적당량
주사용수	100ml 까지 추가

[0051] 비고 1: 5mM 인산수소이나트륨 용액을 사용.

[0052] 비고 2: 100g/L 수산화나트륨 용액을 사용.

[0053] 주사용수를 25℃ 이하로 냉각시켜 준비한다. 처방량 만큼 인산수소이나트륨 0.071g을 칭량하여 90ml 주사용수에 첨가하여 교반하여 용해시키며; 그 다음에 100g/L 수산화나트륨 용액 0.1ml을 첨가하여 균일하게 교반하며(활성 성분 0.2g은 첨가하지 않음); 처방량 만큼 프로필렌글리콜 1.5g을 칭량하여 교반하며; 처방량 만큼 본 발명의 활성 성분을 칭량하여 천천히 교반하여 용해시킨 후, 수산화나트륨 또는 염산 용액으로 약액을 pH 7.5~8.0로 조절하며; 주사용수로 상기 약액을 100ml로 만들고, 마지막으로 약액을 0.22μm의 미세다공성여과막으로 여과하고, 미리 포팅된 주사기병에 분주한 후 질소를 채우고 마개를 누른다. 시료를 각각 25℃±2℃/60%RH±5%RH 및 40℃의 조건에서 안정성을 조사하였으며, 조사지표는 외관 및 관련 물질이며, 그 결과는 아래 표와 같다.

활성 성분	조건	시간	외관	총 불순물(%)
0.2 g	25℃±2℃/ 60%RH ±5%RH	0d	무색 투명한 액체	2.5
		6M	무색 투명한 액체	7.0
1.0 g		0d	무색 투명한 액체	2.6
		6M	무색 투명한 액체	7.3
2.0g		0d	무색 투명한 액체	2.6
		6M	무색 투명한 액체	7.3
3.0g		0d	무색 투명한 액체	2.5
		6M	무색 투명한 액체	7.2
4.0g		0d	무색 투명한 액체	2.6
		6M	무색 투명한 액체	7.3
0.2 g	40℃	0d	무색 투명한 액체	2.5
		14d	무색 투명한 액체	4.6
1.0 g		0d	무색 투명한 액체	2.6
		14d	무색 투명한 액체	5.0
2.0 g		0d	무색 투명한 액체	2.6
		14d	무색 투명한 액체	5.0
3.0 g		0d	무색 투명한 액체	2.4
		14d	무색 투명한 액체	5.1
4.0 g		0d	무색 투명한 액체	2.5
		14d	무색 투명한 액체	5.3

[0054]

[0055] 실시예 2.

성분	사용량
활성 성분	2.0 g
인산수소이나트륨[1]	0.071 g
수산화나트륨[2]	0.01 g
프로필렌글리콜	1.5 g
수산화나트륨	적당량
염산	적당량
주사용수	100ml 까지 추가

[0056]

[0057] 비고 1: 5mM 인산수소이나트륨 용액을 사용.

[0058] 비고 2: 100g/L 수산화나트륨 용액을 사용.

[0059] 주사용수를 25℃ 이하로 냉각시켜 준비한다. 처방량 만큼 인산수소이나트륨 0.071g을 칭량하여 90ml 주사용수에 첨가하여 교반하여 용해시키며; 그 다음에 100g/L 수산화나트륨 용액 0.1ml을 첨가하여 균일하게 교반하며; 처방량 만큼 프로필렌글리콜 1.5g을 칭량하여 교반하며; 처방량 만큼 본 발명의 활성 성분 2.0g을 칭량하여 천천히 교반하여 용해시킨 후, 수산화나트륨 또는 염산 용액으로 약액을 pH 6.5, 7.0, 7.5, 7.8, 8.0, 8.5로 각각 조절하며; 주사용수로 상기 약액을 각각 100ml로 만들고, 마지막으로 약액을 0.22μm의 미세다공성여과막으로 여과하고, 미리 포팅된 주사기병에 분주한 후 질소를 채우고 마개를 누른다. 시료를 25℃±2℃/60%RH±5%RH 조건에서 안정성을 조사하였으며, 조사지표는 외관 및 관련 물질이며, 그 결과는 아래 표와 같다.

[0060]

pH	조건	시간	외관	총 불순물(%)
6.5	25℃±2℃/ 60%RH ±5%RH	0d	무색 투명한 액체	2.2
		1M	투명한 젤라틴 형태가 석출	/
7.0		0d	무색 투명한 액체	2.2
		1M	무색 투명한 액체	2.5
7.5		0d	무색 투명한 액체	2.2
		1M	무색 투명한 액체	2.9
7.8		0d	무색 투명한 액체	2.2
		1M	무색 투명한 액체	3.0
8.0		0d	무색 투명한 액체	2.1
		1M	무색 투명한 액체	3.1
8.5		0d	무색 투명한 액체	2.1
		1M	무색 투명한 액체	3.6

[0061] 실시예 3.

[0062]

성분	사용량
활성 성분	2.0 g
인산수소이나트륨[1]	0.071 g
수산화나트륨[2]	처방량
프로필렌글리콜	1.5 g
주사용수	90ml 까지 추가

[0063] 비고 1: 5mM 인산수소이나트륨 용액을 사용.

[0064] 비고 2: 100g/L 수산화나트륨 용액을 사용.

[0065] 주사용수를 25℃ 이하로 냉각시켜 준비한다. 처방량 만큼 인산수소이나트륨 0.071g을 칭량하여 90ml 주사용수에 첨가하여 교반하여 용해시키며; 그 다음에 처방량 만큼 100g/L 수산화나트륨 용액을 첨가하여 균일하게 교반하며; 처방량 만큼 프로필렌글리콜 1.5g을 칭량하여 교반하며; 용액의 pH값을 측정하고, 처방량 만큼 본 발명의 활성 성분 2.0g을 칭량하여 천천히 첨가하여 45분간 교반한 후, 활성 성분의 용해 현상을 관찰하고 용액의 pH값을 측정하며, 시료를 25℃±2℃/60%RH±5%RH, 5℃±3℃, 40℃, 빛 조사 조건에서 안정성을 조사하고 불순물 성분을 분석 및 연구하며, 다양한 완충액 농도가 불순물 성분에 미치는 영향을 조사하여 약학적 조성물의 스크리닝을 위한 연구 아이디어를 제공하며, 연구 결과는 다음 표와 같다.

100g/L 수산화나트륨 첨가량	활성 성분 첨가 전 pH	활성 성분 첨가 후 pH	용해 현상	조사 조건	시간	관련 물질(%)		
						RRT1.06	RRT1.14	총 불순물
0.8ml	12.0	6.8	무색 투명한 액체, 완전히 용해됨	0d		0.20	0.02	2.1
				25℃±2℃/ 60%RH ±5%RH	1M	0.24	0.28	4.4
				5±3℃	1M	0.25	0.30	4.5
				40℃	1M	0.31	0.58	6.7
				빛 조사	15d	0.30	0.70	7.5
0.3ml	11.7	6.6	무색 투명한 액체, 완전히 용해됨	0d		0.18	0.02	2.0
				25℃±2℃/ 60%RH ±5%RH	1M	0.23	0.25	4.3
				5±3℃	1M	0.22	0.35	4.3
				40℃	1M	0.29	0.59	6.6
				빛 조사	15d	0.33	0.65	7.3
0.1ml	10.8	5.7	무색 투명한 액체, 완전히 용해됨	0d		0.20	검출되지 않음	2.0
				25℃±2℃/ 60%RH ±5%RH	1M	0.22	0.25	4.3
				5±3℃	1M	0.22	0.35	4.2
				40℃	1M	0.28	0.55	6.5
				빛 조사	15d	0.38	0.65	7.2
0.08ml	10.3	/	회백색 용액, 완전히 용해되지 않음	0d		0.23	0.45	9.0

[0066]

[0067] 실시예 4.

성분	사용량
활성 성분	2.0 g
인산수소이나트륨	처방량
수산화나트륨[1]	0.01 g
프로필렌글리콜	1.5 g
수산화나트륨	적당량
염산	적당량
주사용수	100ml 까지 추가

[0068]

[0069] 비고 1: 100g/L 수산화나트륨 용액을 사용.

[0070] 주사용수를 25℃ 이하로 냉각시켜 준비한다. 처방량 만큼 인산수소이나트륨을 칭량하여 90ml 주사용수에 첨가하여 잘 교반하여 용해시키며; 그 다음에 100g/L 수산화나트륨 용액 0.1ml을 첨가하여 균일하게 교반하며; 처방량 만큼 프로필렌글리콜 1.5g을 칭량하여 교반하며; 처방량 만큼 본 발명의 활성 성분 2.0g을 칭량하여 천천히 교반하여 용해시킨 후, 수산화나트륨 또는 염산 용액으로 약액을 pH 7.5~8.0로 각각 조절하며; 주사용수로 상기 약액을 100ml로 만들고, 마지막으로 약액을 0.22μm의 미세다공성여과막으로 여과하고, 미리 포팅된 주사제병에 분주한 후 질소를 채우고 마개를 누른다. 시료를 25℃±2℃/60%RH±5%RH 또는 40℃의 조건에서 안정성을 조사하였으며, 조사지표는 외관 및 관련 물질이며 결과는 아래 표와 같다.

인산수소이나트륨 농도	조건	시간	외관	총 불순물(%)
4mM	25℃±2℃/ 60%RH ±5%RH	0d	무색 투명한 액체	2.7
		1M	무색 투명한 액체	3.8
5mM		0d	무색 투명한 액체	2.7
		1M	무색 투명한 액체	3.5
6mM		0d	무색 투명한 액체	2.7
		1M	무색 투명한 액체	3.6
7mM		0d	무색 투명한 액체	2.0
		1M	무색 투명한 액체	3.6
8mM		0d	무색 투명한 액체	2.1
		1M	무색 투명한 액체	3.6
11mM		0d	무색 투명한 액체	2.1
		1M	무색 투명한 액체	3.7
4mM	40℃	0d	무색 투명한 액체	2.7
		14d	무색 투명한 액체	4.1
5mM		0d	무색 투명한 액체	2.7
		14d	무색 투명한 액체	3.8
6mM		0d	무색 투명한 액체	2.7
		14d	무색 투명한 액체	4.1
7mM		0d	무색 투명한 액체	2.0
		1M	무색 투명한 액체	4.4
8mM		0d	무색 투명한 액체	2.1
		1M	무색 투명한 액체	4.3
11mM		0d	무색 투명한 액체	2.1
		14d	무색 투명한 액체	4.5

[0071]

[0072] 실시예 5.

성분	사용량
활성 성분	2.0 g
인산수소이나트륨[1]	0.071 g
수산화나트륨[2]	0.01 g
삼투압 조절제	처방량
수산화나트륨	적당량
염산	적당량
주사용수	100ml 까지 추가

[0073]

[0074] 비고 1: 5mM 인산수소이나트륨 용액을 사용.

[0075] 비고 2: 100g/L 수산화나트륨 용액을 사용.

[0076] 주사용수를 25℃ 이하로 냉각시켜 준비한다. 처방량 만큼 인산수소이나트륨 0.071g을 칭량하여 90ml 주사용수에 첨가하여 교반하여 용해시키며; 그 다음에 100g/L 수산화나트륨 용액 0.1ml을 첨가하여 균일하게 교반하며; 처방량 만큼 삼투압 조절제를 칭량하여 균일하게 교반하며; 처방량 만큼 본 발명의 활성 성분 2.0g을 칭량하여 천천히 교반하여 용해시킨 후, 수산화나트륨 또는 염산 용액으로 약액을 pH 7.5~8.0로 각각 조절하며; 주사용수로 상기 약액을 100ml로 만들고, 마지막으로 약액을 0.22μm의 미세다공성여과막으로 여과하고, 미리 포팅된 주사제병에 분주한 후 질소를 채우고 마개를 누른다. 시료를 25℃±2℃/60%RH±5%RH 조건에서 안정성을 조사하였으며, 조사지표는 외관 및 관련 물질이며, 그 결과는 아래 표와 같다.

삼투압 조절제	조건	시간	외관	총 불순물(%)
프로필렌글리콜 1.5g	25℃ ±2℃/ 60%RH ±5%RH	0d	무색 투명한 액체	2.6
		1M	무색 투명한 액체	3.4
만니톨 4.64g		0d	무색 투명한 액체	2.7
		1M	무색 투명한 액체	3.7
글리세린 3.6g		0d	무색 투명한 액체	4.2
		1M	무색 투명한 액체	5.8
유당 9.5g		0d	무색 투명한 액체	4.4
		1M	무색 투명한 액체	5.6
자당 9.0g		0d	무색 투명한 액체	4.2
		1M	무색 투명한 액체	5.8

[0077]

[0078] 실시예 6.

성분	사용량
활성 성분	2.0 g
인산수소이나트륨	처방량
수산화나트륨[1]	0.01 g
프로필렌글리콜	처방량
수산화나트륨	적당량
염산	적당량
주사용수	100ml 까지 추가

[0079]

[0080] 비고 1: 100g/L 수산화나트륨 용액을 사용.

[0081] 주사용수를 25℃ 이하로 냉각시켜 준비한다. 처방량 만큼 인산수소이나트륨을 칭량하여 90ml 주사용수에 첨가하여 잘 교반하여 용해시키며; 그 다음에 100g/L 수산화나트륨 용액 0.1ml을 첨가하여 균일하게 교반하며; 처방량 만큼 프로필렌글리콜을 칭량하여 균일하게 교반하며; 처방량 만큼 본 발명의 활성 성분 2.0g을 칭량하여 천천히 교반하여 용해시킨 후, 수산화나트륨 또는 염산 용액으로 약액을 pH 7.5~8.0로 각각 조절하며; 주사용수로 상기 약액을 100ml로 만들고, 마지막으로 약액을 0.22μm의 미세다공성여과막으로 여과하고 미리 포팅된 주사제에 분주하여 마개를 추가한다. 시료를 25° C±2° C/60%RH±5%RH, 5° C±3° C, 40° C, 빛 조사 및 저온 사이클 조건에서 안정성을 조사하였으며, 조사지표는 외관 및 관련 물질이며 결과는 아래 표와 같다.

인산수소이나트륨 : 프로필렌글리콜(W/V%)	조건		외관	총 불순물(%)
1:15	0d		무색 투명한 액체	2.1
	25℃±2℃/60%RH±5%RH	1M	무색 투명한 액체	4.4
	5℃±3℃	1M	무색 투명한 액체	4.2
	40℃	7d	무색 투명한 액체	4.5
	빛 조사	15d	무색 투명한 액체	5.4
	저온 사이클	2 회	무색 투명한 액체	4.3
1:20	0d		무색 투명한 액체	2.0
	25℃±2℃/60%RH±5%RH	1M	무색 투명한 액체	4.3
	5° C±3° C	1M	무색 투명한 액체	4.2
	40℃	7d	무색 투명한 액체	4.7
	빛 조사	15d	무색 투명한 액체	5.5
	저온 사이클	3 회	무색 투명한 액체	4.5
1:25	0d		무색 투명한 액체	2.0
	25℃±2℃/60%RH±5%RH	1M	무색 투명한 액체	4.0
	5° C±3° C	1M	무색 투명한 액체	4.2
	40℃	7d	무색 투명한 액체	4.8
	빛 조사	15d	무색 투명한 액체	5.6
	저온 사이클	3 회	무색 투명한 액체	4.6
1:40	0d		무색 투명한 액체	2.0
	25℃±2℃/60%RH±5%RH	1M	무색 투명한 액체	4.0
	5° C±3° C	1M	무색 투명한 액체	4.4
	40℃	7d	무색 투명한 액체	4.7
	빛 조사	15d	무색 투명한 액체	5.5

[0082]

인산수소이나트륨 : 프로필렌글리콜(W/V%)	조건		외관	총 불순물(%)
	저온 사이클	3 회	무색 투명한 액체	4.7
1:80	0d		무색 투명한 액체	
	25℃±2℃/60%RH±5%RH	1M	백색 젤라틴 형태가 석출	검출되지 않음
	5° C±3° C	1M	백색 젤라틴 형태가 석출	검출되지 않음
	40℃	7d	무색 투명한 액체	5.9
	빛 조사	15d	무색 투명한 액체	7.0
	저온 사이클	3 회	무색 투명한 액체	5.8

[0083]

[0084] 시험예 1 용혈 시험

[0085] 1. 피험물:

[0086] 시험품: 실시예 1에서 제조된 주사액(활성 성분 2.0g);

[0087] 1.2 비히클: 염화나트륨 주사액.

[0088] 2. 실험 방법:

[0089] 2% 토끼 적혈구 현탁액 2.5mL가 있는 유리 시험관에 서로 다른 용량(0.5~0.1mL)의 시험품과 서로 다른 용량(2.0~2.4mL)의 염화나트륨 주사액을 각각 첨가하고, 동시에 염화나트륨 주사액과 멸균 주사용수를 음성 대조품과 양성 대조품으로 사용하며, 각 시험관의 총 부피는 5.0mL이며, 전기 가열 인큐베이터(설정 온도는 37℃)에서 3시간 동안 배양하여 적혈구의 용해 및 응집을 관찰하였다.

[0090] 시험품과 음성대조품 0.5~0.1mL가 들어 있는 시험관에서 적혈구가 튜브 바닥에 가라앉고 상층액은 무색 투명하며 흔들어주면 튜브 바닥에 적혈구가 고르게 분산되고 용혈과 응집이 없으며; 멸균 주사용수의 양성대조관에는 적혈구의 일부가 튜브 바닥에 가라앉고 상층액은 밝은 붉은색을 띠며 흔들어주면 튜브 바닥에 있는 적혈구가 고르게 분산되고 일부는 용혈되어 응집이 없음을 알 수 있다.

[0091] 이 시험 조건에서 표시 농도가 20mg/mL인 본 발명의 약학적 조성물 주사액은 0.1~0.5mL의 시험 시스템에서 토끼 적혈구의 용혈이 나타내지 않았으며 적혈구 응집이 일어나지 않았다.

[0092] 시험예 2. 피하자극 시험

[0093] 1. 피험물:

[0094] 시험품: 실시예 1에서 제조된 주사액(활성 성분 2.0g);

[0095] 2. 실험 방법:

[0096] 실험에서는 뉴질랜드 토끼를 선택하였고, 동일체 좌우측 자체대조법을 사용하였으며, 뉴질랜드 토끼에게 총 4회 피하주사 투여 후 국소피하 투여로 인한 자극반응 시험 기간 동안 모든 동물에서 약물 투여의 국소 관찰에서 본 발명의 약학적 조성물 주사액 관련 이상이 관찰되지 않았다.

[0097] 시험예 3. 제2형 당뇨병 db/db 마우스에게 본 출원의 약학적 조성물을 단회 피하 주사 후 치료 작용에 대한 연구

[0098] 1. 피험물:

[0099] 시험품: 실시예 1에서 제조된 주사액(활성 성분 2.0g);

[0100] 2. 실험 방법

[0101] 단회 투여 후 제2형 당뇨병 db/db 마우스의 혈당, 혈청 인슐린 수준, 체중 및 음식 섭취에 미치는 영향을 관찰하면서 단회 투여 후 효능 유지 시간을 관찰하였다. 실험 결과, 본 약학적 조성물은 1, 3, 10nmol/kg의 용량에서 단회 피하 주사 후 db/db 마우스의 무작위 혈당을 유의하게 감소시키고 좋은 용량-효과 관계를 나타내며, 3nmol/kg의 용량에서 무작위 혈당을 유의하게 감소시키는 효과를 나타낼 수 있다. 본 약학적 조성물의 단회 피하 주사 후 혈당 강하 효과 유지시간은 용량과 관련이 있는데, 1nmol/kg의 무작위 혈당 강하 효과는 1일, 3nmol/kg 및 10nmol/kg은 2-3일 동안 유지될 수 있다.

본 발명의 약학적 조성물의 단회 투여 후 db/db 마우스 무작위 혈당 강하율에 대한 영향

그룹 별	비히클(Vehicle)	본 발명의 약학적 조성물		
용량(nmol/kg)	-	1	3	10
시간	혈당 강하율(Mean)			
투여 전	-	-	-	-
1 h	5.30	12.27	35.84***	38.65***
2 h	-12.99	6.57	27.78**	39.07***
4 h	5.53	10.00	27.24	43.05***
6 h	-12.54	23.30*	33.84**	43.32***
8 h	10.19	26.40	28.30	51.93***
24 h	-13.98	-2.62	19.21**	26.70***
32 h	-18.47	-8.84	21.55***	36.97***
48 h	4.73	1.89	12.84	23.67
72 h	10.57	-7.02	2.00	9.05
96 h	4.96	-14.42	4.92	-6.30
120 h	-0.19	-22.01	9.46	1.25
144 h	-18.18	-38.41	-3.38	2.58

[0102]

[0103] 그룹 간 혈당 강하율 차이는 Two-way ANOVA의 Dunnett's multiple comparisons test를 사용하여 분석하였다. 비히클군과 비교하면, *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 이다.

[0104] 또한, Mouse Insulin ELISA Kit를 사용하여 투여 2시간 후 각 그룹의 db/db 마우스의 혈청 인슐린 함량을 측정하였다. 그 결과, db/db 마우스는 1, 3, 10nmol/kg의 본 약학적 조성물을 단회 피하 주사한 후 비히클군에 비해 각 용량군 마우스의 혈청 인슐린 수준이 현저히 높아졌고 양호한 용량-효과 관계를 나타냈으며; 동시에, 혈청 인슐린의 증가는 혈당 감소와 양의 상관관계가 있는 것으로 나타났다.

본 발명의 약학적 조성물 4 의 단회 투여 2 시간 후 db/db 마우스 혈청 인슐린에 미치는 영향

그룹 별	동물 수	인슐린(μIU/mL)	증가율(%)
비히클군	16	1,838.86 ± 359.90	0.00
본 발명의 약학적 조성물, 1 nmol/kg	16	5,170.54 ± 1,103.22*	181.18
본 발명의 약학적 조성물, 3 nmol/kg	16	7,131.29 ± 1,178.14**	287.81
본 발명의 약학적 조성물, 10 nmol/kg	16	8,093.32 ± 1,490.42***	340.13

[0105]

[0106] 그룹 간 혈청 인슐린의 차이는 One-way ANOVA에서 Fisher’s LSD test를 사용하여 분석하였다. 비히클군과 비교하면, *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 이다.

[0107] 시험예 4. 제2형 당뇨병 db/db 마우스에게 본 출원의 약학적 조성물을 장기간 피하 주사한 후 치료 작용에 대한 연구

[0108] 1. 피험물:

[0109] 시험품: 실시예 1에서 제조된 주사액(활성 성분 2.0g);

[0110] 2. 실험 방법:

[0111] 제2형 당뇨병 db/db 생쥐는 3일마다 1회씩 9회 연속 투여하였으며, 시험 종료 후(d26), 1, 3, 10nmol/kg 군에서 db/db 마우스의 간 중량은 각각 2.313 ± 0.113 g, 2.267 ± 0.108 g 및 1.993 ± 0.104 g으로 비히클군에 비해 유의하게 감소(p <0.05, p <0.05, p <0.001)하였으며; Vehicle 군과 비교하여 췌장 중량은 통계적 차이

(p>0.05)가 없다.

[0112] 요약하면, 본 약학적 조성물을 3일마다 1회씩 장기간 연속 여러 번 투여하면 용량 의존적으로 제2형 당뇨병 db/db 마우스의 체중과 간 무게를 감소시킬 수 있으며; 용량이 3 및 10 nmol/kg일 때 무작위 혈당을 낮추는 효과가 더 현저하다.

[0113] 시험예 5. 게잡이원숭이에게 본 출원의 약학적 조성물을 단회 피하 또는 정맥 주사 후 약동학 연구

[0114] 1. 피험물:

[0115] 실시예 3에서 제조된 주사액;

[0116] 2. 실험 방법:

[0117] 정맥군, 저용량, 중용량 및 고용량 피하주사군 등 4개 군으로 나누고, 각 군의 투여량은 각각 0.1, 0.03, 0.1, 0.3 mg/kg이며, 모두 단회 투여한다.

[0118] 정맥주사 투여 후, 게잡이원숭이에서 본 발명의 약물의 제거 반감기 t1/2는 50.7 ~ 51.5 시간 사이로 제거가 느리며; 제거율(CL)은 0.89 ~ 0.93 mL/h/kg으로 낮은 제거율이며; 겉보기 분포용적(Vd)은 66.0 ~ 68.1 mL/kg 사이로 주로 혈장에 분포되며; 단회 피하 주사 투여 후, 게잡이원숭이에서 본 발명의 약물의 최고 혈장 농도 시간(Tmax)은 13.3-18.0h이며; 혈장 제거 반감기 T1/2는 48.9 ~ 65.4 시간 사이로 제거가 느리며; 성별이 다른 동물에서 본 발명의 약물의 노출(AUClast)에는 통계적 차이(P > 0.05)가 없다. 0.02~0.2 mg/kg의 용량 범위 내에서 동물 혈장에서 본 약학적 조성물의 노출(AUC_{last})은 용량 증가에 따라 증가하며 노출 증가 비율은 용량 증가 비율에 가깝다.