



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 공개특허공보(A)**

(11) 공개번호 10-2012-0047226  
 (43) 공개일자 2012년05월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*A61K 38/28* (2006.01) *A61K 31/465* (2006.01)  
*A61K 47/18* (2006.01) *A61K 9/10* (2006.01)  
 (21) 출원번호 10-2012-7000115  
 (22) 출원일자(국제) 2010년06월25일  
 심사청구일자 없음  
 (85) 번역문제출일자 2012년01월03일  
 (86) 국제출원번호 PCT/EP2010/059069  
 (87) 국제공개번호 WO 2010/149772  
 국제공개일자 2010년12월29일  
 (30) 우선권주장  
 09163940.1 2009년06월26일  
 유럽특허청(EPO)(EP)  
 61/222,168 2009년07월01일 미국(US)

(71) 출원인  
**노보 노르디스크 에이/에스**  
 덴마크 디케이-2880 박스바에르트 노보 알레  
 (72) 발명자  
**올슨 헬레 비르크**  
 덴마크 디케이-2880 박스바에르트 노보 알레 노보  
 노르디스크 에이/에스  
**하베룬트 스펠트**  
 덴마크 디케이-2880 박스바에르트 노보 알레 노보  
 노르디스크 에이/에스  
 (뒷면에 계속)  
 (74) 대리인  
**송봉식, 정삼영**

전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **인슐린, 니코틴아미드 및 아미노산을 포함하는 제제**

**(57) 요약**

인슐린 화합물 또는 둘 이상의 인슐린 화합물, 니코틴 화합물 및 아미노산의 혼합물을 포함하는 인슐린 제제.

(72) 발명자

**리벨 올라**

덴마크 디케이-2880 박스바에르트 노보 알레 노보  
노르디스크 에이/에스

**스투리스 예페**

덴마크 디케이-2880 박스바에르트 노보 알레 노보  
노르디스크 에이/에스

**나베르 헬레**

덴마크 디케이-2880 박스바에르트 노보 알레 노보  
노르디스크 에이/에스

**솔레인 모르텐**

덴마크 디케이-2880 박스바에르트 노보 알레 노보  
노르디스크 에이/에스

**루드빅슨 스펀트**

덴마크 디케이-2880 박스바에르트 노보 알레 노보  
노르디스크 에이/에스

## 특허청구의 범위

### 청구항 1

- 인슐린 화합물,
- 니코틴 화합물, 및
- 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.

### 청구항 2

제 1 항에 있어서, 인슐린 화합물은 사람 인슐린 또는 인슐린 유사체인 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.

### 청구항 3

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서, 인슐린 화합물은 B28Asp 사람 인슐린인 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.

### 청구항 4

제 1 항 내지 제 3 항 중 한 항에 있어서, 인슐린 화합물은 B28LysB29Pro 사람 인슐린인 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.

### 청구항 5

제 1 항 내지 제 4 항 중 한 항에 있어서, 인슐린 화합물은 B3LysB29Glu 사람 인슐린인 것을 특징으로 하는 제제.

### 청구항 6

제 1 항 내지 제 5 항 중 한 항에 있어서, 인슐린 화합물은 약 0.2mM 내지 약 2.0mM의 양으로 존재하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.

### 청구항 7

제 1 항 내지 제 6 항 중 한 항에 있어서, 인슐린 화합물은 약 0.3mM 내지 약 1.2mM의 양으로 존재하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.

### 청구항 8

제 1 항 내지 제 7 항 중 한 항에 있어서, 니코틴 화합물은 니코틴아미드, 니코틴산, 니아신, 니아신 아미드 및 비타민 B3 및/또는 이들의 염 및/또는 이들의 어떤 조합으로 구성되는 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.

### 청구항 9

제 1 항 내지 제 8 항 중 한 항에 있어서, 약 1mM 내지 약 150mM의 니코틴 화합물을 포함하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.

### 청구항 10

제 1 항 내지 제 9 항 중 한 항에 있어서, 약 1mM 내지 약 85mM의 아르기닌을 포함하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.

### 청구항 11

제 1 항 내지 제 10 항 중 한 항에 있어서, 글루탐산을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.

### 청구항 12

제 1 항 내지 제 11 항 중 한 항에 있어서, 금속 이온, 보존제(들), 등장화제(들) 및 안정제(들), 세제(들) 및 버퍼(들)를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.

**청구항 13**

제 1 항 내지 제 12 항 중 한 항에 따른 인슐린 제제의 치료적 활성 용량을 치료가 필요한 환자에게 투여하는 것에 의해서 포유동물에서 혈중 글루코오스 수준을 감소시키는 방법.

**청구항 14**

제 1 항 내지 제 12 항 중 한 항에 따른 인슐린 제제를 피험자에게 투여하는 것을 포함하는 피험자에서 당뇨병을 치료하는 방법.

**청구항 15**

스트레스로 인한 고혈당증을 포함하는 고혈당증, 2형 당뇨병, 내당능손상, 1형 당뇨병, 및 화상, 수술 상처 및 치료시 동화작용 효과가 필요한 다른 질환이나 손상, 심근경색, 뇌졸중, 관상심장질환 및 다른 심혈관 질병들의 치료 또는 예방에서 그리고 임상적 질병인 당뇨 및 비당뇨 환자의 치료에서 사용하기 위한 제 1 항 내지 제 12 항 중 한 항에 따른 인슐린 제제.

**명세서**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 인슐린 화합물, 니코틴 화합물 및 아미노산을 포함하는 제약 제제에 관한 것이다.

**배경기술**

[0002] 당뇨병은 글루코오스를 이용하는 능력이 부분적으로 또는 완전히 상실된 대사 장애이다. 전체 인구의 약 5%의 사람이 당뇨병을 앓고 있으며, 이 질병은 유행병의 비율과 비슷해지고 있다.

[0003] 1920년대에 인슐린이 소개된 이후 당뇨병의 치료는 계속해서 개선이 이루어졌다. 혈당 수준이 높아지지 않도록 하기 위해 당뇨병 환자들에게는 주로 인슐린이 매 식사시 투여되는 다중 주사 요법이 시행된다. 당뇨병 환자들은 수십 년 동안 인슐린으로 치료되었기 때문에 안전하고 삶의 질을 개선하는 인슐린 제제가 무엇보다도 필요하다. 상업적으로 이용가능한 인슐린 제제 중에서도 속효성, 중간작용성 및 지효성 제제가 언급될 수 있다.

[0004] 당뇨병의 치료에는 인슐린의 많은 다양한 제약 제제들이 제안되어 사용되고 있는데, 표준형 인슐린(예를 들어, Actrapid®), 이소판 인슐린(NPH라고 함), 인슐린 아연 현탁제(예를 들어, Semilente®, Lente® 및 Ultralente®), 2상 이소판 인슐린(예를 들어, NovoMix®) 등이 있다. 사람 인슐린 유사체 및 유도체들도 또한 개발되었으며, 특히 작용 프로파일에 따라, 즉 속효성 또는 지연형으로 설계되었다. 속효성 인슐린 유사체를 포함하는 상업적으로 이용가능한 인슐린 제제의 일부는 NovoRapid®(B28Asp 사람 인슐린 제제), Humalog®(B28LysB29Pro 사람 인슐린 제제) 및 Apidra®(B3LysB29Glu 사람 인슐린 제제)을 포함한다.

[0005] 국제출원 WO 91/09617 및 WO/9610417(Novo Nordisk A/S)은 니코틴아미드 또는 니코틴산 또는 그것의 염을 함유하는 인슐린 제제를 개시한다.

[0006] 인슐린 제약 제제는 대부분 주로 피하 주사에 의해 투여된다. 인슐린의 작용 프로파일이 환자에게 중요한데, 이것은 주사 시점에서부터 시간의 함수에 따른 글루코오스 대사에 대한 인슐린의 작용을 의미한다. 이 프로파일에서는 특히 개시 시점에서의 최대값과 전체 작용 기간이 중요하다. 일시주사(bolus) 인슐린의 경우 상이한 작용 프로파일을 가진 다양한 인슐린 제제가 요망되며 환자에게 필요하다. 어떤 환자는 매우 상이한 작용 프로파일을 가진 인슐린 제제를 같은 날 사용할 수 있다. 바람직한 작용 프로파일은, 예를 들어 하루 중 시간대와 환자가 섭취한 음식의 양 및 조성에 좌우된다.

[0007] 인슐린 제제의 화학적 안정성도 환자에게 똑같이 중요한데, 이것은 예를 들어 Penfill® 카트리지를 함유하는 장치와 같은 펜 타입 주사 장치를 많이 사용하기 때문인데, 이러한 장치에서는 인슐린 제제가 카트리지가 완전히 빌 때까지 저장되고, 이 기간은 1.5-3.0mL 카트리지를 함유하는 장치의 경우 적어도 1-2주가 걸릴 수 있다. 저장 동안 인슐린의 공유 구조에 화학적 변화가 일어난다. 이것은 탈아미드화 산물 및 고 분자량 변환 산물(다

이며, 폴리머)과 같은 활성이 저하된 및/또는 잠재적으로 면역원성일 수 있는 분자의 형성을 초래할 수 있다. 또한, 장기간의 저장은 결과적으로 생물학적으로 비활성이고 잠재적으로 면역원성인 불용성 원섬유(fibril)의 형성을 초래할 수 있기 때문에 인슐린 제제의 물리적 안정성도 중요하다.

**발명의 내용**

- [0008] 본 발명은 유리한 흡수 속도와 유리한 화학적 및 물리적 안정성을 지닌 인슐린 제제에 관한 것이다. 본 발명은 사람 인슐린 및/또는 그것의 유사체, 니코틴아미드 또는 니코틴산 및/또는 그것의 염 및 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제에 관한 것이다.
- [0009] 한 구체예에서, 본 발명은
- [0010] - 인슐린 화합물,
- [0011] - 니코틴 화합물, 및
- [0012] - 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제에 관한 것이다.
- [0013] 다른 구체예에서, 인슐린 제제는 글루탐산을 더 포함할 수 있다. 다른 구체예에서, 본 발명은 또한 본 발명에 따른 인슐린 제제를 피험자 또는 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 피험자에서 당뇨병의 치료를 위한 또는 피험자에서 혈중 글루코오스 수준을 감소시키기 위한 방법에 관한 것이다.

**도면의 간단한 설명**

- [0014] 도 1은 본 발명에 따른 제제를 37°C에서 2주 저장하는 동안 총 인슐린 함량 중 분해 산물 퍼센트의 전개를 나타낸다. 문자 A는 NovoRapid® 기준을 나타내고, 나머지 문자들은 실시예 1의 표 1에 설명된 인슐린 아스파르트 (insulin aspart) 제제들에 상응한다. NovoRapid® 제제(제제 A)와 비교하면, 니코틴아미드의 첨가(제제 B 및 D)는 분해 산물의 형성을 증가시켰지만, 니코틴아미드, 글루탐산 및 아르기닌의 조합 첨가(제제 C 및 E)는 대부분 유사한 분해 패턴을 나타냈으며, HMWP의 형성이 저하된다.
- 도 2는 본 발명에 따른 제제를 37°C에서 2주 저장하는 동안 총 인슐린 함량 중 분해 산물 퍼센트의 전개를 나타낸다. 문자 A는 NovoRapid® 기준을 나타내고, 나머지 문자들은 실시예 1의 표 1에 설명된 인슐린 아스파르트 제제들에 상응한다. 니코틴아미드, 글루탐산 및 아르기닌의 조합이 첨가되고, 버퍼 시스템을 포스페이트 또는 트리스 버퍼로서 다르게 하고, 인슐린과 Zn의 농도가 0.6mM 및 0.3mM 또는 1.2mM 및 0.6mM인 제제 F, G, H 및 I는 NovoRapid® 제제인 제제 A와 유사한 분해 패턴을 나타낸다.
- 도 3은 본 발명에 따른 제제를 제0분에서 1nmol/kg 용량으로 돼지에게 피하 주사한 후의 혈장 중 글루코오스 농도(평균 +/-SEM, N=8)를 나타낸다. 문자 A는 NovoRapid® 기준을 나타내고, 나머지 문자들은 실시예 1의 표 1에 설명된 인슐린 아스파르트 제제들에 상응한다. NovoRapid® 제제(제제 A)와 비교하면, 혈장 글루코오스의 초기 저하 속도는 니코틴아미드를 첨가한 제제(제제 N)에서 더 빨랐으며, 니코틴아미드와 아르기닌의 조합을 첨가한 제제(제제 M)에서는 더욱 빠르다.
- 도 4는 본 발명에 따른 제제를 제0분에서 1nmol/kg 용량으로 돼지에게 피하 주사한 후의 혈장 중 글루코오스 농도(평균 +/-SEM, N=7)를 나타낸다. 문자 A는 NovoRapid® 기준을 나타내고, 나머지 문자들은 실시예 1의 표 1에 설명된 인슐린 아스파르트 제제들에 상응한다. NovoRapid® 제제(제제 A)와 비교하면, 혈장 글루코오스의 초기 저하 속도는 니코틴아미드, 아르기닌 및 글루탐산의 조합을 첨가한 제제(제제 L)와 니코틴아미드와 아르기닌의 조합을 첨가한 제제(제제 K)에서 더 빠르다.
- 도 5는 본 발명에 따른 제제를 제0분에서 1nmol/kg 용량으로 돼지에게 피하 주사한 후의 혈장 중 인슐린 아스파르트 농도(평균 +/-SEM, N=7)를 나타낸다. 문자 A는 NovoRapid® 기준을 나타내고, 나머지 문자들은 실시예 1의 표 1에 설명된 인슐린 아스파르트 제제들에 상응한다. NovoRapid® 제제(제제 A)와 비교하면, 니코틴아미드를 첨가한 제제(제제 J), 니코틴아미드와 아르기닌의 조합을 첨가한 제제(제제 K) 및 니코틴아미드, 아르기닌 및 글루탐산의 조합을 첨가한 제제(제제 L)에서 인슐린 성분의 초기 흡수 속도가 현저히 더 빠르다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0015] 본 발명의 인슐린 제제 중의 인슐린 화합물의 피하 주사 후의 흡수는 예상외로 기준이 되는 인슐린 제제보다 더 빠른 것으로 판명되었다. 이런 특성은 속효성 인슐린에서 유용하며, 특히 매 식사 전에 인슐린이 제공되는 다중 주사 섭생과 관련하여 유용하다. 작용 개시가 더 빠르기 때문에, 인슐린은 종래의 속효성 인슐린 용액보다 식사 시간에 더 가깝게 편리하게 복용될 수 있다. 또한, 인슐린의 더 빠른 소실은 아마도 식사 후 저혈당증의 위험을 줄일 것이다.
- [0016] 본 발명의 인슐린 제제는 인슐린 아스파르트와 같은 인슐린 화합물, 니코틴아미드와 같은 니코틴 화합물 및 아미노산 아르기닌을 포함하는 속효성 인슐린 제제이다. 선택적으로, 본 발명의 인슐린 제제는 글루탐산과 같은 아미노산을 더 포함할 수 있다. 이들 인슐린 제제는 기존 치료제들보다 정상 생리현상을 더 비슷하게 의태하는 빠른 흡수 프로파일을 가진다. 또한, 본 발명의 인슐린 제제는 상업용 제약 제제에 적합한 화학적 및 물리적 안정성을 가진다.
- [0017] 본 발명의 인슐린 제제는 기존 인슐린 치료제들과 비교하여 훨씬 더 빠른 작용 개시를 제공한다. 이러한 과도하게 빠른 인슐린 제제는 제 1 단계 인슐린 방출의 회복, 주사 편의 및 간 글루코오스 생산의 차단이라는 장점을 가진다. 본 발명의 인슐린 제제는 피하세포층에서 혈장까지 유리한 흡수 속도를 가지며, 돼지에서의 몇 가지 PK/PD 실험에 의해 제시된 바에 의하면, NovoRapid®와 같은 종래의 제제와 비교했을 때 초기 흡수 속도가 1.5 내지 5배까지 증가한다. 이러한 빠른 흡수 속도는 혈장 제어 및 편의를 개선할 수 있고, 식사 전 투약에서 식사 후 투약으로의 전환을 가능하게 할 수 있다. 본 발명은 니코틴아미드의 첨가가 흡수 속도를 증가시킬 수 있지만, 또한 그것은 HMWP의 양을 유의하게 증가시킴으로써 화학적 안정성에 부정적인 영향을 미친다는 놀라운 발견에 일부 기초한다. 본 발명의 인슐린 제제는 아르기닌의 첨가에 의해서 화학적 안정성이 개선되며, 이것은 예를 들어 저장 후에 다이머와 폴리머와 des-아미도 인슐린의 형성이 감소되는 것으로서 반영된다. 또한, 본 발명의 인슐린 제제는 개선된 물리적 안정성을 나타내며, 이것은 펌프에서의 사용에 유용할 수 있다.
- [0018] 본 발명은 약 0.1mM 내지 약 10.0mM의 농도로 존재하는 본 발명에 따른 인슐린 화합물을 포함하는 인슐린 제제를 제공하며, 상기 제제는 3 내지 8.5의 pH를 가진다. 또한, 제제는 니코틴 화합물 및 아르기닌을 포함한다. 제제는 프로테아제 억제제(들), 금속 이온, 버퍼 시스템, 보존제(들), 장성제(들), 킬레이트화제(들), 안정제 및 계면활성제를 더 포함할 수 있다.
- [0019] 한 구체예에서, 인슐린 제제는 사람 인슐린, 그것의 유사체 또는 이들의 조합, 니코틴아미드 및/또는 니코틴산 및/또는 이들의 염 및 아르기닌 및/또는 그것의 염을 포함한다. 한 구체예에서, 본 발명에 따른 인슐린 제제는 B28Asp 사람 인슐린, 니코틴아미드 및 아르기닌의 수성 용액을 포함한다.
- [0020] 본 발명의 용액 중 B28Asp 사람 인슐린의 함량은 주사용 제제로서 15 내지 500 국제유닛(IU)/mL의 범위, 바람직하게는 50 내지 333 IU/mL의 범위일 수 있다. 그러나, 다른 비경구 투여를 위해서는 인슐린 화합물의 함량이 더 높을 수 있다.
- [0021] 또한, 인슐린 화합물, 니코틴 화합물 및 글루탐산을 포함하는 인슐린 제제가 본원에 설명된다.
- [0022] 본 문맥에서, 단위 "IU"는 6nmol에 상응한다.
- [0023] 용어 "인슐린 아스파르트"는 사람 인슐린 유사체 B28Asp 사람 인슐린을 말한다.
- [0024] 용어 "개시"는 주사 시점에서부터 PK 곡선이 증가로 전환될 때까지의 시간을 말한다.
- [0025] 용어 "흡수 속도"는 PK 곡선의 기울기를 말한다.
- [0026] 본원에서 본 발명에 따른 "인슐린 화합물"은 사람 인슐린, 인슐린 유사체 및/또는 이들의 어떤 조합으로서 이해되어야 한다.
- [0027] 본원에서 사용된 용어 "사람 인슐린"은 구조와 특성이 잘 알려져 있는 사람 호르몬을 의미한다. 사람 인슐린은 시스테인 잔기 사이의 이황화 다리에 의해 연결된 2개의 폴리펩티드 사슬, 즉 A 사슬과 B 사슬을 가진다. A 사슬은 21개 아미노산 펩티드이고, B 사슬은 30개 아미노산 펩티드이며, 2개의 사슬은 3개의 이황화 다리에 의해 연결되는데, 첫 번째는 A 사슬의 위치 6과 11에 있는 시스테인 사이에 있고, 두 번째는 A 사슬의 위치 7에 있는 시스테인과 B 사슬의 위치 7에 있는 시스테인 사이에 있고, 세 번째는 A 사슬의 위치 20에 있는 시스테인과 B 사슬의 위치 19에 있는 시스테인 사이에 있다.

- [0028] 이 호르몬은 24개 아미노산의 프레펩티드와 그에 이어진 86개 아미노산을 함유하는 프로인슐린으로 구성되는 단쇄 전구체 프로인슐린(프레프로인슐린)으로 합성되며, 형태는 프레펩티드-B-ArgArg-C-LysArg-A이고, 여기서 C는 31개 아미노산의 연결 펩티드이다. Arg-Arg와 Lys-Arg는 A 및 B 사슬로부터 연결 펩티드의 절단을 위한 절단 부위이다.
- [0029] 본원에서 사용된 "인슐린 유사체"는 돌연변이에 의해서 자연발생 인슐린의 1차 구조, 예를 들어 사람 인슐린의 1차 구조로부터 유래된 폴리펩티드를 의미한다. 자연발생 인슐린에서 발생한 적어도 하나의 아미노산 잔기를 결실 및/또는 치환함으로써 및/또는 적어도 하나의 아미노산 잔기를 부가함으로써 하나 이상의 돌연변이가 만들어진다. 부가된 및/또는 치환된 아미노산 잔기는 암호화 가능한 아미노산 잔기 또는 다른 자연발생 아미노산 잔기일 수 있다. 한 구체예에서, 인슐린 유사체는 모 인슐린에 비해 8개 미만의 변형(치환, 결실, 부가 및 이들의 어떤 조합), 또는 달리 모 인슐린에 비해 7개 미만의 변형, 또는 달리 모 인슐린에 비해 6개 미만의 변형, 또는 달리 모 인슐린에 비해 5개 미만의 변형, 또는 달리 모 인슐린에 비해 4개 미만의 변형, 또는 달리 모 인슐린에 비해 3개 미만의 변형, 또는 달리 모 인슐린에 비해 2개 미만의 변형을 포함한다.
- [0030] 인슐린 분자의 돌연변이는 사슬(A 또는 B), 위치, 및 천연 아미노산을 치환한 아미노산의 3문자 코드를 적어서 표시된다. "desB30" 또는 "B(1-29)"는 B30 아미노산 잔기가 결여된 자연인슐린 B 사슬 또는 그것의 유사체를 의미하고, B28Asp 사람 인슐린은 B 사슬의 위치 28의 아미노산 잔기가 Asp로 치환된 사람 인슐린을 의미한다.
- [0031] 인슐린 유사체의 예들은 B 사슬의 위치 28의 Pro가 Asp, Lys, Leu, Val 또는 Ala로 돌연변이된 것들 및/또는 위치 B29의 Lys가 Pro, Glu 또는 Asp로 돌연변이된 것들이다. 또한, 위치 B3의 Asn이 Thr, Lys, Gln, Glu 또는 Asp로 돌연변이될 수 있다. 위치 B1의 아미노산은 Glu로 돌연변이될 수 있다. 위치 B16의 아미노산은 Glu 또는 His로 돌연변이될 수 있다. 인슐린 유사체의 또 다른 예들은 결실 유사체들, 예를 들어 사람 인슐린의 B30 아미노산이 결실된 유사체(des(B30) 사람 인슐린), 사람 인슐린의 B1 아미노산이 결실된 유사체(des(B1) 사람 유사체), des(B28-B30) 사람 인슐린 및 des(B27) 사람 인슐린이다. A 사슬 및/또는 B 사슬이 N-말단 확장을 갖는 인슐린 유사체와 A 사슬 및/또는 B 사슬이 C-말단 확장을 갖는 인슐린 유사체, 예를 들어 B 사슬의 C-말단에 2개의 아르기닌 잔기가 부가된 것들도 인슐린 유사체의 예이다. 또 다른 예들은 언급된 돌연변이들의 조합을 포함하는 인슐린 유사체이다. 위치 A14의 아미노산이 Asn, Gln, Glu, Arg, Asp, Gly 또는 His이고, 위치 B25의 아미노산이 His이고, 하나 이상의 추가 돌연변이를 선택적으로 더 포함하는 인슐린 유사체가 인슐린 유사체의 또 다른 예이다. 또한, 위치 A21의 아미노산 잔기가 Gly이고, 인슐린 유사체의 C-말단이 2개의 아르기닌 잔기에 의해 더 확장된 사람 인슐린의 인슐린 유사체도 인슐린 유사체의 예이다.
- [0032] 인슐린 유사체의 다른 예들은, 제한은 아니지만 DesB30 사람 인슐린; AspB28 사람 인슐린; AspB28,desB30 사람 인슐린; LysB3,GluB29 사람 인슐린; LysB28,ProB29 사람 인슐린; GlyA21,ArgB31,ArgB32 사람 인슐린; GluA14,HisB25 사람 인슐린; HisA14,HisB25 사람 인슐린; GluA14,HisB25,desB30 사람 인슐린; HisA14,HisB25,desB30 사람 인슐린; GluA14,HisB25,desB27,desB28,desB29,desB30 사람 인슐린; GluA14,HisB25,GluB27,desB30 사람 인슐린; GluA14,HisB16,HisB25,desB30 사람 인슐린; HisA14,HisB16,HisB25,desB30 사람 인슐린; HisA8,GluA14,HisB25,GluB27,desB30 사람 인슐린; HisA8,GluA14,GluB1,GluB16,HisB25,GluB27,desB30 사람 인슐린; 및 HisA8,GluA14,GluB16,HisB25,desB30 사람 인슐린을 포함한다.
- [0033] 용어 "니코틴 화합물"은 니코틴아미드, 니코틴산, 니아신, 니아신 아미드 및 비타민 B3 및/또는 이들의 염 및/또는 이들의 어떤 조합을 포함한다.
- [0034] 본 발명에 따라서, 니코틴 화합물 및/또는 그것의 염의 농도는 약 1mM 내지 약 300mM 또는 약 5mM 내지 약 200mM의 범위이다.
- [0035] 용어 "아르기닌" 또는 "Arg"는 아미노산 아르기닌 및/또는 그것의 염을 포함한다.
- [0036] 한 구체예에서, 인슐린 제제는 1 내지 100mM의 아르기닌을 포함한다.
- [0037] 한 구체예에서, 인슐린 제제는 1 내지 20mM의 아르기닌을 포함한다.
- [0038] 한 구체예에서, 인슐린 제제는 20 내지 90mM의 아르기닌을 포함한다.
- [0039] 한 구체예에서, 인슐린 제제는 30 내지 85mM의 아르기닌을 포함한다.
- [0040] 용어 "글루탐산" 또는 "Glu"는 아미노산 글루탐산 및/또는 그것의 염을 포함한다.

- [0041] 한 구체예에서, 인슐린 제제는 1 내지 100mM의 글루탐산을 포함한다.
- [0042] 한 구체예에서, 인슐린 제제는 20 내지 90mM의 글루탐산을 포함한다.
- [0043] 한 구체예에서, 인슐린 제제는 30 내지 85mM의 글루탐산을 포함한다.
- [0044] 본원에서 사용된 용어 "제약 제제" 또는 인슐린 제제"는 인슐린 화합물, 즉 사람 인슐린, 그것의 유사체 및/또는 그것의 조합 및 니코틴 화합물 및 아미노산을 선택적으로 보존제, 킬레이트화제, 장성변형제, 벌크화제, 안정제, 항산화제, 폴리머 및 계면활성제, 금속 이온, 유성 비히클 및 단백질(예를 들어, 사람 혈청 알부민, 젤라틴 또는 단백질)과 같은 다른 부형제들과 함께 포함하는 제품을 의미하며, 상기 인슐린 제제는 사람에게 상기 인슐린 제제를 투여하는 것에 의해서 질환 또는 질병의 증중도를 치료, 예방 또는 감소시키는데 유용하다. 따라서, 인슐린 제제는 또한 본 분야에서 제약 제제 또는 제약 조성물이라고도 알려져 있다.
- [0045] 버퍼는, 제한은 아니지만 아세트산나트륨, 탄산나트륨, 시트레이트, 인산이수소나트륨, 인산수소이온나트륨, 인산나트륨 및 트리스(히드록시메틸)아미노메탄, 바이신, 트리신, 말산, 숙시네이트, 말레산, 푸마르산, 타르타르산, 아스파르트산 또는 이들의 혼합물로 구성되는 군으로부터 선택될 수 있다. 이들 특정 버퍼의 각 하나하나가 본 발명의 대안적 구체예를 구성한다.
- [0046] 본 발명의 인슐린 제제는 인슐린 제제에 공통된 다른 성분들, 예를 들어 시트레이트와 같은 아연 착화제, 및 포스페이트 버퍼를 더 포함할 수 있다.
- [0047] 글리세롤 및/또는 만니톨 및/또는 염화나트륨이 0 내지 250mM, 0 내지 200mM 또는 0 내지 100mM의 농도에 상응하는 양으로 존재할 수 있다.
- [0048] 또한, 안정제, 계면활성제 및 보존제가 본 발명의 인슐린 제제에 존재할 수 있다.
- [0049] 본 발명의 인슐린 제제는 제약학적으로 허용되는 보존제를 더 포함할 수 있다. 보존제는 보존 효과를 획득하기에 충분한 양으로 존재할 수 있다. 인슐린 제제 중의 보존제의 양은, 예를 들어 본 분야의 문헌 및/또는 예를 들어 상업용 제품 중의 보존제의 공지된 양(들)로부터 결정될 수 있다. 이러한 특정 보존제의 각 하나하나가 본 발명의 대안적 구체예를 구성한다. 제약 제제에서 보존제의 사용은, 예를 들어 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th edition, 1995에 설명된다.
- [0050] 본 발명의 인슐린 제제에 존재하는 보존제는 지금까지의 종래의 인슐린 제제에 사용된 것과 마찬가지로, 예를 들어 페놀, m-크레졸 및 메틸파라벤일 수 있다.
- [0051] 본 발명의 인슐린 제제는 킬레이트화제를 더 포함할 수 있다. 제약 제제에서 킬레이트화제의 사용은 당업자에게 잘 알려져 있다. 편의를 위해서 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th edition, 1995를 참조한다.
- [0052] 본 발명의 인슐린 제제는 안정제를 더 포함할 수 있다. 본원에서 사용된 용어 "안정제"는 폴리펩티드 함유 제약 제제에 펩티드를 안정화하기 위해서, 즉 이러한 제제의 저장 수명 및/또는 사용 기간을 증가시키기 위해서 첨가되는 화학물질을 말한다. 편의를 위해서 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th edition, 1995를 참조한다.
- [0053] 본 발명의 인슐린 제제는 계면활성제를 더 포함할 수 있다. 본원에서 사용된 용어 "계면활성제"는 수용성(친수성) 부분인 머리와 지용성(친유성) 부분으로 이루어진 어떤 분자 또는 이온을 말한다. 계면활성제는 바람직하게 계면에 축적되며, 친수성 부분이 물(친수성 상)을 향해서, 친유성 부분은 오일- 또는 소수성 상(즉, 유리, 공기, 오일 등)을 향해서 배향된다. 계면활성제가 미셀을 형성하기 시작하는 농도를 임계 미셀 농도 또는 CMC라고 한다. 또한, 계면활성제는 액체의 표면장력을 저하시킨다. 계면활성제는 또한 친양쪽성 화합물이라고도 한다. 용어 "세제"는 일반적으로 계면활성제의 동의어로서 사용된다. 제약 제제에서 계면활성제의 사용은 당업자에게 잘 알려져 있다. 편의를 위해서 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th edition, 1995를 참조한다.
- [0054] 다른 구체예에서, 본 발명은 본 발명의 인슐린 화합물의 수성 용액 및 버퍼를 포함하는 인슐린 제제에 관한 것이며, 상기 인슐린 화합물은 0.1mM 이상의 농도로 존재하고, 상기 제제는 실온(약 25°C)에서 약 3.0 내지 약 8.5의 pH를 가진다.
- [0055] 또한, 본 발명은 본 발명의 인슐린 제제의 제조 방법에 관한 것이다. 한 구체예에서, 본 발명의 인슐린 제제의

제조 방법은

- [0056] a) 인슐린 화합물 또는 인슐린 화합물들의 혼합물을 물 또는 버퍼에 용해시켜서 용액을 제조하는 단계;
- [0057] b) 2가 금속 이온을 물 또는 버퍼에 용해시켜서 용액을 제조하는 단계;
- [0058] c) 보존제를 물 또는 버퍼에 용해시켜서 용액을 제조하는 단계;
- [0059] d) 등장화제를 물 또는 버퍼에 용해시켜서 용액을 제조하는 단계;
- [0060] e) 계면활성제 및/또는 안정제를 물 또는 버퍼에 용해시켜서 용액을 제조하는 단계;
- [0061] f) 용액 a)와 용액 b), c), d) 및 e) 중 하나 이상을 혼합하는 단계를 포함한다.
- [0062] 마지막으로, f)에서 얻어진 혼합물의 pH를 원하는 pH를 조정한 후, 멸균 여과한다.
- [0063] 본 발명의 인슐린 제제는 비경구 투여에 의해서 당뇨병의 치료에 사용될 수 있다. 환자에게 투여될 수 있는 본 발명의 인슐린 제제의 용량은 의사에 의해 선택되는 것이 권장된다.
- [0064] 비경구 투여는 주사기, 선택적으로 펜 타입 주사기에 의해서 피하, 근육내, 복강내 또는 정맥내 주사에 의해 수행될 수 있다. 대안으로서, 비경구 투여는 주입 펌프에 의해서 수행될 수 있다. 추가 옵션으로서, 본 발명의 인슐린 화합물을 함유하는 인슐린 제제는 또한, 예를 들어 무바늘 주사에 의한, 또는 패치, 선택적으로 이온도입형 패치, 또는 경점막 투여, 예를 들어 협착 투여에 의한 경피 투여에 적합하도록 될 수 있다.
- [0065] 본 발명에 따른 인슐린 제제는 몇 곳의 부위에, 예를 들어 국소 부위에, 예를 들어 피부 및 점막 부위에, 흡수가 우회되는 부위에(예를 들어, 동맥, 정맥, 심장 투여) 및 흡수를 포함하는 부위에(예를 들어, 피부, 피부밑, 근육 또는 복부 투여) 투여함으로써 치료가 필요한 환자에게 투여될 수 있다.
- [0066] 본 발명의 한 구체예에서, 인슐린 제제는 수성 제제, 즉 물을 포함하는 제제이다. 이러한 제제는 전형적으로 용액 또는 현탁액이다. 본 발명의 추가의 구체예에서, 인슐린 제제는 수성 용액이다. 용어 "수성 제제"는 적어도 50%w/w의 물을 포함하는 제제로서 정의된다. 마찬가지로, 용어 "수성 용액"은 적어도 50%w/w의 물을 포함하는 용액으로서 정의되고, 용어 "수성 현탁액"은 적어도 50%w/w의 물을 포함하는 현탁액으로서 정의된다.
- [0067] 수성 현탁액은 수성 현탁액의 제조에 적합한 부형제들과의 혼합물로서 활성 화합물을 함유할 수 있다.
- [0068] 한 구체예에서, 본 발명의 인슐린 제제는 주사에 의한 인슐린 치료법에 사용되는 펜 타입 장치에 적용하기에 꽤 적합하다.
- [0069] 한 구체예에서, 본 발명의 인슐린 제제는 인슐린 투여를 위한 펌프에서 사용될 수 있다.
- [0070] 본원에서 사용된 용어 인슐린 제제의 "물리적 안정성"은 단백질이 열-기계적 스트레스에 노출된 결과로서 및/또는 소수성 표면 및 계면과 같은 탈안정화한 계면 및 표면과 상호작용한 결과로서 단백질의 생물학적으로 비활성인 및/또는 불용성인 응집체를 형성하는 단백질의 경향을 말한다. 수성 단백질 제제의 물리적 안정성은 다양한 시간 기간 동안 상이한 온도에서 적합한 용기(예를 들어, 카트리지 또는 바이알)에 채워진 제제를 기계적/물리적 스트레스(예를 들어, 교반)에 노출한 후, 육안 검사 및/또는 탁도 측정에 의해서 평가된다. 제제의 육안 검사는 어두운 바탕 하에 예리하게 집중된 빛에서 수행된다. 제제의 탁도는 시각적 점수에 의해서 특정되며, 예를 들어 0에서 3의 규모로 탁도에 순위를 매긴다(탁도를 나타내지 않는 제제는 시각적 점수 0에 해당하고, 일광 하에 시각적 탁도를 나타내는 제제는 시각적 점수 3에 해당한다). 제제는 그것이 일광 하에 시각적 탁도를 나타낸다면 단백질 응집과 관련해서 물리적으로 불안정한 상태로 분류된다. 대안으로서, 제제의 탁도는 당업자에게 잘 알려진 간단한 탁도 측정에 의해서 평가될 수 있다. 또한, 수성 단백질 제제의 물리적 안정성은 단백질의 입체구조 상태에 대한 분광학적 제제 또는 프로브를 사용하여 평가될 수 있다. 프로브는 바람직하게 단백질의 비-천연 컨포머(conformer)와 우선적으로 결합하는 작은 분자이다. 단백질 구조의 분광학적 프로브로서 작은 분자의 한 예는 티오플라빈 T이다. 티오플라빈 T는 아미로이드 원섬유의 검출에 널리 사용되는 형광 염료이다. 원섬유가 존재하고, 아마 다른 단백질 형태도 역시 존재한다면, 티오플라빈 T는 약 450nm에서 새로운 최대 여기를 나타내고, 원섬유 단백질 형태에 결합되었을 때는 약 482nm에서 증가된 방출을 나타낼 것이다. 결합되지 않은 티오플라빈 T는 상기 파장에서는 본질적으로 비-형광이다.
- [0071] 본원에서 사용된 용어 단백질 제제의 "화학적 안정성"은 천연 단백질 구조와 비교하여 잠재적으로 저하된 생물학적 효능 및/또는 잠재적으로 증가된 면역원성을 가진 화학적 변성 산물의 형성을 초래하는 공유 단백질 구조의 변화를 말한다. 천연 단백질의 타입 및 성질과 단백질이 노출되는 환경에 따라서 다양한 화학적 변성 산물

이 형성될 수 있다. 화학적 변성 산물의 양의 증가는 주로 단백질 제제의 저장 및 사용 도중에 보인다. 대부분의 단백질은 글루타미닐 또는 아스파라기닐 잔기에 있는 측쇄 아미드기가 가수분해되어 자유 카르복실산을 형성하거나, 또는 아스파라기닐 잔기가 가수분해되어 IsoAsp 유도체를 형성하는 과정인 탈아미드화 경향을 나타낸다. 다른 변성 경로는 둘 이상의 단백질 분자가 트랜스아미드화 또는 이황화 상호작용을 통해서 서로 결합된 고분자량 산물의 형성을 포함하며, 이것은 공유 결합된 다이머, 올리고머 및 폴리머 변성 산물의 형성을 초래한다(Stability of Protein Pharmaceuticals, Ahern, T.J. & Manning M. C, Plenum Press, New York 1992). 화학적 변성의 또 다른 변이형으로서 산화(예를 들어, 메티오닌 잔기의)가 언급될 수 있다. 단백질 제제의 화학적 안정성은 상이한 환경 조건에 노출한 후, 다양한 시점에서 화학적 변성 산물의 양을 측정함으로써 평가될 수 있다(변성 산물의 형성은 주로, 예를 들어 온도를 증가시킴으로써 가속화될 수 있다). 각 개별 변성 산물의 양은 주로 다양한 크로마토그래피 기술(예를 들어, SEC-HPLC 및/또는 RP-HPLC)을 사용하여 분자 크기 및/또는 전하에 따라서 변성 산물을 분리함으로써 결정된다. HMWP 산물은 잠재적으로 면역원성이고 생물학적으로 활성이 아니기 때문에 HMWP의 수준이 낮은 것이 유익하다.

- [0072] 용어 "안정화된 제제"는 물리적 안정성, 화학적 안정성 또는 물리화학적 안정성이 증가된 제제를 말한다. 일반적으로, 제제는 유효기간이 될 때까지는 사용 및 저장 과정에서 안정해야 한다(권장된 사용 및 저장 조건에 따른 경우).
- [0073] 용어 "당뇨병(diabetes)" 또는 "당뇨병(diabetes mellitus)"은 1형 당뇨병, 2형 당뇨병, 임신성 당뇨병(임신 동안의) 및 고혈당증을 유발하는 그외 다른 상태들을 포함한다. 이 용어는 체장이 불충분한 양의 인슐린을 생산하거나, 또는 신체의 세포들이 인슐린에 적절히 반응하지 못함으로써 세포들이 글루코오스를 흡수할 수 없게 되는 대사 장애에 사용된다. 결과적으로, 혈액에 글루코오스가 축적된다.
- [0074] 1형 당뇨병은 또한 인슐린-의존성 당뇨병(IDDM) 및 소아 당뇨병이라고도 하며, B 세포 파괴에 의해 유발되고, 일반적으로 절대적 인슐린 결핍을 초래한다.
- [0075] 2형 당뇨병은 또한 비-인슐린-의존성 당뇨병(NIDDM) 및 성인 당뇨병이라고도 하며, 현저한 인슐린 내성과 관련되고, 따라서 상대적 인슐린 결핍 및/또는 인슐린 내성을 동반하는 우세한 인슐린 분비 결함을 초래한다.
- [0076] 본원에서 사용된 용어 "제약학적으로 허용되는"은 정규 제약 용도에 적합하다는 의미로서, 환자에게 어떤 심각한 부작용을 일으키지 않는다는 것이다.
- [0077] 본원에서 사용된 용어 "질환의 치료"는 질환, 상태 또는 질병이 발생한 환자를 관리하고 돌보는 것을 의미하며, 질환의 치료, 예방 또는 완화를 포함한다. 치료의 목적은 질환, 상태 또는 질병과 싸우는 것이다. 치료는 질환, 상태 또는 질병을 없애거나 제어하기 위한 것뿐만 아니라, 질환, 상태 또는 질병과 관련된 증상이나 합병증을 완화하고, 질환, 상태 또는 질병을 예방하기 위한 활성 화합물의 투여를 포함한다.
- [0078] 다른 구체예에서, 본 발명에 따른 인슐린 유사체는 2형 당뇨병에서 질환 진행을 지연하거나 예방하기 위한 의약으로서 사용된다.
- [0079] 본 발명의 한 구체예에서, 본 발명에 따른 인슐린 제제는 스트레스로 인한 고혈당증을 포함하는 고혈당증, 2형 당뇨병, 내당능손상, 1형 당뇨병, 및 화상, 수술 상처 및 치료시 동화작용(anabolic) 효과가 필요한 다른 질환이나 손상, 심근경색, 뇌졸중, 관상심장질환 및 다른 심혈관 질병들의 치료 또는 예방을 위한 의약으로서 사용된다.
- [0080] 본 발명의 또 다른 구체예에서, 스트레스로 인한 고혈당증을 포함하는 고혈당증, 2형 당뇨병, 내당능손상, 1형 당뇨병, 및 화상, 수술 상처 및 치료시 동화작용 효과가 필요한 다른 질환이나 손상, 심근경색, 뇌졸중, 관상심장질환 및 다른 심혈관 질병, 뇌졸중의 치료 또는 예방을 위한 방법이 제공되며, 상기 방법은 본 발명에 따른 인슐린 제제를 이러한 치료를 위한 유효량으로 이러한 치료가 필요한 환자에게 투여하는 것을 포함한다.
- [0081] 본 발명에 따른 인슐린 제제를 사용한 치료는 또한, 예를 들어 항당뇨제, 항비만제, 식욕조절제, 항고혈압제, 당뇨병으로 인한 또는 당뇨병과 관련된 합병증의 치료 및/또는 예방을 위한 제제 및 비만으로 인한 또는 비만과 관련된 합병증 및 질병의 치료 및/또는 예방을 위한 제제로부터 선택된 제 2차 이상의 약물학적 활성 물질과 병용될 수 있다.
- [0082] 본 발명에 따른 인슐린 제제를 사용한 치료는 또한 위 밴딩 또는 위 바이패스와 같은 글루코오스 수준 및/또는 지질 항상성에 영향을 미치는 수술인 비만대사 수술과 병용될 수 있다.
- [0083] 폴리펩티드, 예를 들어 인슐린의 생산은 본 분야에 잘 알려져 있다. 본 발명에 따른 인슐린 유사체는, 예를 들

어 고전적인 펩티드 합성, 예를 들어 t-Boc 또는 Fmoc 화학 또는 다른 잘 확립된 기술에 의해서 생산될 수 있으며, 예를 들어 Greene and Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley & Sons, 1999를 참조한다. 또한, 인슐린 유사체는 인슐린 유사체의 발현을 허용하는 조건 하에 적합한 영양 배지 중에서 해당 유사체를 암호화하여 인슐린 유사체를 발현할 수 있는 DNA 서열을 함유하는 숙주 세포를 배양하는 것을 포함하는 방법에 의해서 생산될 수 있다. 비-천연 아미노산 잔기를 포함하는 인슐린 유사체의 경우, 비-천연 아미노산이 유사체에 통합될 수 있도록, 예를 들어 tRNA 돌연변이체를 사용하여 재조합 세포가 변형되어야 한다. 따라서, 간단히 말해서, 본 발명에 따른 인슐린 유사체는 공지된 인슐린 유사체의 제조와 유사하게 제조된다.

[0084] 사람 인슐린 및 사람 인슐린 유사체의 생산을 위해서 몇 가지 방법이 사용될 수 있다. 예를 들어, 미생물에서의 인슐린 생산에 사용되는 3가지 주요 방법이 WO 2008034881에 개시된다. 이들 중 2가지는 *Escherichia coli*를 이용하며, 세포질에서 대형 용합 단백질의 발현(Frank et al.(1981) in Peptides: Proceedings of the 7th American Peptide Chemistry Symposium(Rich & Gross, eds.), Pierce Chemical Co., Rockford, III. pp. 729-739), 또는 주변세포질 공간으로의 분비를 가능하게 하는 신호 펩티드의 사용(Chan et al.(1981) PNAS 78:5401-5404)이 수반된다. 세 번째 방법은 *Saccharomyces cerevisiae*를 이용하여 인슐린 전구체를 배지에 분비한다(Thim et al.(1986) PNAS 83:6766-6770). 선행기술은 *E. coli*나 *Saccharomyces cerevisiae*에서 발현되는 다수의 인슐린 전구체들을 개시하는데, US 5,962,267, WO 95/16708, EP 0055945, EP 0163529, EP 0347845 및 EP 0741188을 참조한다.

[0085] 인슐린 유사체는, 예를 들어 US 6,500,645에 개시된 것과 같은 잘 공지된 기술에 의해서 적합한 숙주 세포에서 해당 인슐린 유사체를 암호화하는 DNA 서열을 발현함으로써 생산된다. 인슐린 유사체는 직접 발현되거나, 또는 B 사슬의 N-말단 확장 또는 B 사슬의 C-말단 확장을 가진 전구체 분자로서 발현된다. N-말단 확장은 직접 발현되는 산물의 수율을 증가시키는 기능을 가질 수 있으며, 최대 15개 아미노산 잔기 길이로 이루어질 수 있다. N-말단 확장은 배양 욕조로부터 분리한 후에 시험관내 절단되어야 하며, 따라서 B1 다음에 절단 부위가 있을 것이다. 본 발명에 적합한 타입의 N-말단 확장은 US 5,395,922 및 EP 765,395에 개시된다. C-말단 확장은 성숙한 인슐린 또는 인슐린 유사체 분자를 숙주 세포 엑소프로테아제에 의한 세포내 단백질 분해 과정으로부터 보호하는 기능을 가질 수 있다. C-말단 확장은 분비된 활성 카르복시펩티다제에 의해서 배양 욕조에서 세포의 절단되거나, 또는 배양 욕조로부터 분리한 후 시험관내 절단되어야 한다. 카르복시펩티다제에 의해서 제거되는 B 사슬의 C-말단 확장을 이용하여 성숙한 인슐린 및 인슐린 유사체를 생산하는 방법은 WO 08037735에 개시된다. 이 과정의 표적 인슐린 산물은 2-사슬 사람 인슐린 또는 2-사슬 사람 인슐린 유사체일 수 있으며, 이들은 B 사슬의 짧은 C-말단 확장을 가질 수도 있고 갖지 않을 수도 있다. 표적 인슐린 산물이 B 사슬의 C-말단 확장을 갖지 않는다면, 상기 C-말단 확장은 추가의 정제 단계 전에 B 사슬로부터 연이어 제거될 수 있어야 한다.

[0086] 또한, 본 발명은 다음의 비제한적 구체예들을 고찰하며, 이들은 본원의 다른 곳에서 더 설명된다:

- [0087] 1. 인슐린 화합물, 니코틴 화합물 및 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0088] 2. 구체예 1에 있어서, 인슐린 화합물이 사람 인슐린 또는 인슐린 유사체인 인슐린 제제.
- [0089] 3. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 인슐린 화합물이 B28Asp 사람 인슐린인 인슐린 제제.
- [0090] 4. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 인슐린 화합물이 B28LysB29Pro 사람 인슐린인 인슐린 제제.
- [0091] 5. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 인슐린 화합물이 B3LysB29Glu 사람 인슐린인 인슐린 제제.
- [0092] 6. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 인슐린 화합물이 0.1-10.0mM; 0.1-3.0mM; 0.1-2.5mM; 0.1-2.0mM; 0.1-1.5mM; 0.2-2.5mM; 0.2-2.0mM; 0.2-1.5mM; 0.3-3.0mM; 0.3-2.5mM; 0.3-2.0mM; 0.3-1.5mM; 0.5-1.3mM 및 0.6-1.2mM로부터 선택된 범위로 존재하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.
- [0093] 7. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 인슐린 화합물이 약 0.1mM 내지 약 10.0mM의 양으로 존재하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.
- [0094] 8. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 인슐린 화합물이 약 0.1mM 내지 약 3.0mM의 양으로 존재하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.
- [0095] 9. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 인슐린 화합물이 약 0.1mM 내지 약 2.5mM의 양으로 존재하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.
- [0096] 10. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 인슐린 화합물이 약 0.1mM 내지 약 2.0mM의 양으로 존재하는 것을 특

징으로 하는 인슐린 제제.

- [0097] 11. 전술한 구체에 중 어느 것에 있어서, 인슐린 화합물이 약 0.1mM 내지 약 1.5mM의 양으로 존재하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.
- [0098] 12. 전술한 구체에 중 어느 것에 있어서, 인슐린 화합물이 약 0.2mM 내지 약 2.5mM의 양으로 존재하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.
- [0099] 13. 전술한 구체에 중 어느 것에 있어서, 인슐린 화합물이 약 0.2mM 내지 약 2.0mM의 양으로 존재하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.
- [0100] 14. 전술한 구체에 중 어느 것에 있어서, 인슐린 화합물이 약 0.2mM 내지 약 1.5mM의 양으로 존재하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.
- [0101] 15. 전술한 구체에 중 어느 것에 있어서, 인슐린 화합물이 약 0.3mM 내지 약 3.0mM의 양으로 존재하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.
- [0102] 16. 전술한 구체에 중 어느 것에 있어서, 인슐린 화합물이 약 0.3mM 내지 약 2.5mM의 양으로 존재하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.
- [0103] 17. 전술한 구체에 중 어느 것에 있어서, 인슐린 화합물이 약 0.3mM 내지 약 2.0mM의 양으로 존재하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.
- [0104] 18. 전술한 구체에 중 어느 것에 있어서, 인슐린 화합물이 약 0.3mM 내지 약 1.5mM의 양으로 존재하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.
- [0105] 19. 전술한 구체에 중 어느 것에 있어서, 인슐린 화합물이 약 0.5mM 내지 약 1.3mM의 양으로 존재하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.
- [0106] 20. 전술한 구체에 중 어느 것에 있어서, 인슐린 화합물이 약 0.3mM 내지 약 1.2mM의 양으로 존재하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.
- [0107] 21. 전술한 구체에 중 어느 것에 있어서, 인슐린 화합물이 약 0.6mM 내지 약 1.2mM의 양으로 존재하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.
- [0108] 22. 전술한 구체에 중 어느 것에 있어서, 인슐린 화합물이 약 0.6 또는 약 1.2mM의 양으로 존재하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.
- [0109] 23. 전술한 구체에 중 어느 것에 있어서, 인슐린 화합물이 약 0.3mM의 양으로 존재하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.
- [0110] 24. 전술한 구체에 중 어느 것에 있어서, 인슐린 화합물이 약 0.6mM의 양으로 존재하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.
- [0111] 25. 전술한 구체에 중 어느 것에 있어서, 인슐린 화합물이 약 1.2mM의 양으로 존재하는 것을 특징으로 하는 인슐린 제제.
- [0112] 26. 전술한 구체에 중 어느 것에 있어서, 니코틴 화합물이 니코틴아미드, 니코틴산, 니아신, 니아신 아미드 및 비타민 B3 및/또는 이들의 염 및/또는 이들의 어떤 조합으로 구성되는 군으로부터 선택되는 인슐린 제제.
- [0113] 27. 전술한 구체에 중 어느 것에 있어서, 니코틴 화합물이 니코틴아미드 및 니코틴산 및/또는 이들의 염 및/또는 이들의 어떤 조합으로부터 선택되는 인슐린 제제.
- [0114] 28. 전술한 구체에 중 어느 것에 있어서, 니코틴 화합물이 1-300mM; 5-200mM; 40-120mM, 70-140mM 또는 80-130mM로부터 선택된 범위로 존재하는 인슐린 제제.
- [0115] 29. 전술한 구체에 중 어느 것에 있어서, 약 1mM 내지 약 300mM의 니코틴 화합물을 포함하는 인슐린 제제.
- [0116] 30. 전술한 구체에 중 어느 것에 있어서, 약 8mM 내지 약 260mM의 니코틴 화합물을 포함하는 인슐린 제제.
- [0117] 31. 전술한 구체에 중 어느 것에 있어서, 약 5mM 내지 약 200mM의 니코틴 화합물을 포함하는 인슐린 제제.
- [0118] 32. 전술한 구체에 중 어느 것에 있어서, 약 1mM 내지 약 150mM의 니코틴 화합물을 포함하는 인슐린 제제.

- [0119] 33. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 5mM 내지 약 20mM의 니코틴 화합물을 포함하는 인슐린 제제.
- [0120] 34. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 20mM 내지 약 120mM의 니코틴 화합물을 포함하는 인슐린 제제.
- [0121] 35. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 40mM 내지 약 120mM의 니코틴 화합물을 포함하는 인슐린 제제.
- [0122] 36. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 20mM 내지 약 40mM의 니코틴 화합물을 포함하는 인슐린 제제.
- [0123] 37. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 60mM 내지 약 80mM의 니코틴 화합물을 포함하는 인슐린 제제.
- [0124] 38. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 70mM 내지 약 140mM의 니코틴 화합물을 포함하는 인슐린 제제.
- [0125] 39. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 80mM 내지 약 130mM의 니코틴 화합물을 포함하는 인슐린 제제.
- [0126] 40. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 8mM, 30mM, 100mM 또는 130mM의 니코틴 화합물을 포함하는 인슐린 제제.
- [0127] 41. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 8mM의 니코틴 화합물을 포함하는 인슐린 제제.
- [0128] 42. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 30mM, 100mM 또는 130mM의 니코틴 화합물을 포함하는 인슐린 제제.
- [0129] 43. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 30mM의 니코틴 화합물을 포함하는 인슐린 제제.
- [0130] 44. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 100mM의 니코틴 화합물을 포함하는 인슐린 제제.
- [0131] 45. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 130mM의 니코틴 화합물을 포함하는 인슐린 제제.
- [0132] 46. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 150mM의 니코틴 화합물을 포함하는 인슐린 제제.
- [0133] 47. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 1-100mM, 5-120mM, 8-85mM, 20-90mM, 30-90mM, 30-85mM, 30-60mM 또는 10-40mM 범위의 아르기닌 화합물을 포함하는 인슐린 제제.
- [0134] 48. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 1-120mM, 8-85mM 또는 1-40mM 범위의 아르기닌 화합물을 포함하는 인슐린 제제.
- [0135] 49. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 1mM 내지 약 120mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0136] 50. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 1mM 내지 약 100mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0137] 51. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 5mM 내지 약 120mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0138] 52. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 20mM 내지 약 90mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0139] 53. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 30mM 내지 약 85mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0140] 54. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 8mM 내지 약 85mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0141] 55. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 30mM 내지 약 60mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0142] 56. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 10mM 내지 약 40mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0143] 57. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 1mM 내지 약 40mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0144] 58. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 아르기닌이 1mM, 2mM, 3mM, 4mM, 5mM, 6mM, 7mM, 8mM, 9mM, 10mM, 15mM, 20mM, 25mM, 30mM, 35mM 또는 40mM, 45mM, 50mM, 55mM 또는 60mM로부터 선택된 범위로 존재하는 인슐린 제제.
- [0145] 59. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 1mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0146] 60. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 2mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0147] 61. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 3mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0148] 62. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 4mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0149] 63. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 5mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0150] 64. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 6mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.

- [0151] 65. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 7mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0152] 66. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 8mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0153] 67. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 9mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0154] 68. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 10mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0155] 69. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 15mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0156] 70. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 20mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0157] 71. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 25mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0158] 72. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 30mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0159] 73. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 35mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0160] 74. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 40mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0161] 75. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 45mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0162] 76. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 50mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0163] 77. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 55mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0164] 78. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 약 60mM의 아르기닌을 포함하는 인슐린 제제.
- [0165] 79. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 글루탐산을 더 포함하는 인슐린 제제.
- [0166] 80. 구체예 79에 있어서, 글루탐산이 1-100mM, 20-90mM, 30-90mM, 30-85mM 또는 30-50mM로부터 선택된 범위로 존재하는 인슐린 제제.
- [0167] 81. 구체예 79에 있어서, 약 1mM 내지 약 100mM의 글루탐산을 포함하는 인슐린 제제.
- [0168] 82. 구체예 79에 있어서, 약 20mM 내지 약 90mM의 글루탐산을 포함하는 인슐린 제제.
- [0169] 83. 구체예 79에 있어서, 약 30mM 내지 약 85mM의 글루탐산을 포함하는 인슐린 제제.
- [0170] 84. 구체예 79에 있어서, 약 30mM 내지 약 50mM의 글루탐산을 포함하는 인슐린 제제.
- [0171] 85. 구체예 79에 있어서, 약 30mM 또는 약 50mM의 글루탐산을 포함하는 인슐린 제제.
- [0172] 86. 구체예 79에 있어서, 약 30mM의 글루탐산을 포함하는 인슐린 제제.
- [0173] 87. 구체예 79에 있어서, 약 50mM의 글루탐산을 포함하는 인슐린 제제.
- [0174] 88. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 금속 이온, 보존제(들), 등장화제(들) 및 안정제(들), 세제(들) 및 버퍼(들)를 더 포함하는 인슐린 제제.
- [0175] 89. 구체예 88에 있어서, 상기 버퍼가 트리스인 인슐린 제제.
- [0176] 90. 구체예 89에 있어서, 약 2mM 내지 약 50mM의 트리스를 포함하는 인슐린 제제.
- [0177] 91. 구체예 89에 있어서, 약 10mM 내지 약 40mM의 트리스를 포함하는 인슐린 제제.
- [0178] 92. 구체예 89에 있어서, 약 20mM 내지 약 30mM의 트리스를 포함하는 인슐린 제제.
- [0179] 93. 구체예 89에 있어서, 약 10mM, 20mM, 30mM 또는 40mM의 트리스를 포함하는 인슐린 제제.
- [0180] 94. 구체예 89에 있어서, 약 10mM의 트리스를 포함하는 인슐린 제제.
- [0181] 95. 구체예 89에 있어서, 약 20mM의 트리스를 포함하는 인슐린 제제.
- [0182] 96. 구체예 89에 있어서, 약 30mM의 트리스를 포함하는 인슐린 제제.
- [0183] 97. 구체예 89에 있어서, 약 40mM의 트리스를 포함하는 인슐린 제제.
- [0184] 98. 구체예 89에 있어서, 금속 이온이 아연인 인슐린 제제.

- [0185] 99. 구체예 98에 있어서, 인슐린 화합물의 헥사머 당 약 6개 미만의 아연 이온이 존재하는 인슐린 제제.
- [0186] 100. 구체예 98에 있어서, 인슐린 화합물의 헥사머 당 약 4개 미만의 아연 이온이 존재하는 인슐린 제제.
- [0187] 101. 구체예 98에 있어서, 인슐린 화합물의 헥사머 당 약 3개 미만의 아연 이온이 존재하는 인슐린 제제.
- [0188] 102. 구체예 98에 있어서, 아연:인슐린 몰 비가 약 2:6 내지 약 5:6인 인슐린 제제.
- [0189] 103. 구체예 98에 있어서, 아연:인슐린 몰 비가 약 2.5:6 내지 약 4.5:6인 인슐린 제제.
- [0190] 104. 구체예 98에 있어서, 아연:인슐린 몰 비가 약 3:6 내지 약 4:6인 인슐린 제제.
- [0191] 105. 구체예 98에 있어서, 아연:인슐린 몰 비가 약 2:6인 인슐린 제제.
- [0192] 106. 구체예 98에 있어서, 아연:인슐린 몰 비가 약 2.5:6인 인슐린 제제.
- [0193] 107. 구체예 98에 있어서, 아연:인슐린 몰 비가 약 3:6인 인슐린 제제.
- [0194] 108. 구체예 98에 있어서, 아연:인슐린 몰 비가 약 3.5:6인 인슐린 제제.
- [0195] 109. 구체예 98에 있어서, 아연:인슐린 몰 비가 약 4:6인 인슐린 제제.
- [0196] 110. 구체예 98에 있어서, 아연:인슐린 몰 비가 약 4.5:6인 인슐린 제제.
- [0197] 111. 구체예 98에 있어서, 아연:인슐린 몰 비가 약 5:6인 인슐린 제제.
- [0198] 112. 구체예 88에 있어서, 안정제가 비-이온성 세제인 인슐린 제제.
- [0199] 113. 구체예 112에 있어서, 세제가 폴리소르베이트 20(Tween 20) 또는 폴리소르베이트 80(Tween 80)인 인슐린 제제.
- [0200] 114. 구체예 112에 있어서, 세제가 폴리소르베이트 20(Tween 20)인 인슐린 제제.
- [0201] 115. 구체예 112에 있어서, 세제가 폴리소르베이트 80(Tween 80)인 인슐린 제제.
- [0202] 116. 구체예 112-115 중 어느 것에 있어서, 약 5 내지 100ppm, 약 10 내지 약 50ppm 또는 약 10 내지 약 20ppm의 폴리소르베이트를 포함하는 인슐린 제제.
- [0203] 117. 구체예 88에 있어서, 페놀 화합물을 더 포함하는 인슐린 제제.
- [0204] 118. 구체예 117에 있어서, 상기 페놀 화합물이 약 0 내지 약 6mg/mL 또는 약 0 내지 약 4mg/mL의 양으로 존재하는 인슐린 제제.
- [0205] 119. 구체예 88에 있어서, m-크레졸을 더 포함하는 인슐린 제제.
- [0206] 120. 구체예 119에 있어서, m-크레졸이 약 0.5 내지 약 4.0mg/mL 또는 약 0.6 내지 약 4.0mg/mL의 양으로 존재하는 인슐린 제제.
- [0207] 121. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, pH가 중성 내지는 약 염기성인 인슐린 제제.
- [0208] 122. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, pH가 약 7.0 내지 약 8.0인 인슐린 제제.
- [0209] 123. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, pH가 약 7.0인 인슐린 제제.
- [0210] 124. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, pH가 약 7.1인 인슐린 제제.
- [0211] 125. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, pH가 약 7.2인 인슐린 제제.
- [0212] 126. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, pH가 약 7.3인 인슐린 제제.
- [0213] 127. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, pH가 약 7.4인 인슐린 제제.
- [0214] 128. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, pH가 약 7.5인 인슐린 제제.
- [0215] 129. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, pH가 약 7.6인 인슐린 제제.
- [0216] 130. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, pH가 약 7.7인 인슐린 제제.
- [0217] 131. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, pH가 약 7.8인 인슐린 제제.

- [0218] 132. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, pH가 약 7.9인 인슐린 제제.
- [0219] 133. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, pH가 약 8.0인 인슐린 제제.
- [0220] 134. 전술한 구체예 중 어느 것에 따른 인슐린 제제의 치료적 활성 용량을 이러한 치료가 필요한 환자에게 투여함으로써 포유동물에서 혈중 글루코오스 수준을 감소시키는 방법.
- [0221] 135. 전술한 구체예 중 어느 것에 따른 인슐린 제제를 피험자에게 투여하는 것을 포함하는 피험자에서 당뇨병을 치료하는 방법.
- [0222] 136. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 비경구 투여를 위한 것임을 특징으로 하는 방법.
- [0223] 137. 전술한 구체예 중 어느 것에 있어서, 스트레스로 인한 고혈당증을 포함하는 고혈당증, 2형 당뇨병, 내당능 손상, 1형 당뇨병, 및 화상, 수술 상처 및 치료시 동화작용 효과가 필요한 다른 질환이나 손상, 심근경색, 뇌졸중, 관상심장질환 및 다른 심혈관 질병들의 치료 또는 예방에서 그리고 임상적 질병인 당뇨 및 비-당뇨 환자의 치료에 사용하기 위한 인슐린 제제.
- [0224] 또한, 본 발명은 다음의 실시예에 의해서 더 예시되며, 이들은 제한을 구성하지 않는다.
- [0225] 본원에 인용된 간행물, 특허출원 및 특허를 포함하는 모든 참고문헌은 그 전문이, 각 참고문헌이 개별적으로 그리고 구체적으로 참고자료로서 포함된다고 표시되고 본원에 그 전문에서 제시되었던 정도까지 참고자료로서 본원에 포함된다(법에 의해 허용되는 최대 정도까지).
- [0226] 본원에서 사용된 모든 제목 및 부제는 단지 편의를 위한 것이며, 어떤 식으로도 본 발명을 제한하지 않는다. 모든 예 및 어떤 예의 사용, 또는 본원에서 제공된 전형적인 말(예를 들어, "와 같은")은 본 발명을 더 잘 예시하기 위한 의도일 뿐이며, 청구된 본 발명의 범위를 제한하지 않는다. 명세서의 어떤 말도 본 발명의 실시예 필수적인 어떤 청구되지 않은 요소들을 나타내는 것으로서 구성되지 않는다. 본원에서 특허서류의 인용 및 포함은 편의를 위한 것 일뿐이며, 이러한 특허 서류의 유효성, 특허성 및/또는 강제성의 어떤 측면을 반영하지 않는다.
- [0227] 본 발명은 적용가능한 법에 의해 허용되는 정도까지 본원에 첨부된 청구항들에 인용된 내용들의 모든 변형 및 동등물을 포함한다.
- [0228] 실시예
- [0229] 실시예 1
- [0230] 제약 제제의 제조
- [0231] 본 발명의 제약 제제는 수성 용액으로 조제될 수 있다. 수성 매체는, 예를 들어 염화나트륨이나 글리세롤을 사용하여 등장성으로 만들어진다. 또한, 수성 매체는, 예를 들어 아세트산 아연이나 염화아연으로서 첨가되는 아연 이온, 버퍼 및 보존제를 함유할 수 있다. 아르기닌은 Arg.HCl로서 첨가될 수 있다. 제제의 pH 값이 원하는 값으로 조정되며, 이것은 해당 인슐린의 등전점(pi)에 따라서 약 3 내지 약 8.5, 약 3 내지 약 5 또는 약 6.5 내지 약 7.5일 수 있다.

표 1

본 발명에 따른 인슐린 제제들의 조성

	인슐린 아스파르트 (mM)	Zn (mM)	페놀 (mM)	m-크레졸 (mM)	NaCl (mM)	포스페이트 (mM)	트리스 (mM)	글리세린 (%w/v)	아르기닌 HCl (mM)	니코틴아미드 (mM)	글루탐산 (mM)	pH
A*	0.6	0.3	16	16	10	7		1.6				7.4
B	0.6	0.3	16	16	2	7				130		7.4
C	0.6	0.3	16	16	2	7			50	80	50	7.4
D	0.6	0.3	16	16	2		7			130		7.4
E	0.6	0.3	16	16	2		7		50	80	50	7.4
F	0.6	0.3	16	16	20	7			30	80	30	7.4
G	0.6	0.3	16	16	20		7		30	80	30	7.4
H	1.2	0.6	16	16	20	7			30	80	30	7.4
I	1.2	0.6	16	16	20		7		30	80	30	7.4
J	0.6	0.3	16	16	10		7	1.3		80		7.4
K	0.6	0.3	16	16	10		7	0.77	30	80		7.4
L	0.6	0.3	16	16	10		7	0.24	30	80	30	7.4
M	0.6	0.3	16	16	10		7		60	100		7.4
N	0.6	0.3	16	16	10		7	1.13		100		7.4

\* 상업적으로 이용가능한 NovoRapid®

[0232]

표 2

본 발명에 따른 또 다른 인슐린 제제들의 조성

제제 nr.	[인슐린 아스파르트] mM	[Zn <sup>2+</sup> ] mM	[페놀] mM	[Arg] mM	[Gly] mM	[Glu] mM	[His] mM	[니코틴아미드] mM
1	0.6	0.3	32					260
2	0.6	0.3	32	10				260
3	0.6	0.3	32	20				260
4	0.6	0.3	32	30				260
5	0.6	0.3	32	40				260
6	0.6	0.3	32	50				260
7	0.6	0.3	32		50			260
8	0.6	0.3	32			50		260
9	0.6	0.3	32				50	260

[0233]

[0234] 실시예 2

[0235] 인슐린의 화학적 안정성의 분석

[0236] 크기 배제 크로마토그래피

[0237] 고 분자량 단백질(HMWP)과 모노머 인슐린 아스파르트의 정량 분석을 Waters 인슐린(300x7.8mm, part nr wat 201549)에서 수행했으며, 40°C에서 2.5M 아세트산, 4mM L-아르기닌 및 20%(V/V) 아세토니트릴을 함유하는 용출액을 1mL/분의 유속으로 사용했다. 검출은 276nm에서 조율형 흡광도 검출기(Waters 486)를 사용하여 수행했다. 주사 부피는 40 μL 및 600 μM 사람 인슐린 표준물질이었다. 각 샘플링 지점에서 제제의 HMWP 및 농도를 측정했다.

[0238] 역상 크로마토그래피(UPLC)

[0239] 인슐린 아스파르트와 관련된 불순물의 측정을 UPLC 시스템에서 수행했으며, 입경 1.7 μm의 BEH RP C8 2.1x100mm

칼럼을 사용했다. Waters part no 186002878을 40℃에서 0.5mL/분의 유속으로 사용했고, 220nm에서 검출했다. 용출은 다음과 같이 구성된 이동상을 사용하여 수행했다.

- [0240] A. 10%(w/V) 아세트니트릴, 2.8%(w/w) 황산나트륨, 0.3%(w/w) o-인산, pH3.5
- [0241] B. 70%(w/V) 아세트니트릴. 구배: 0-11분 A/B 73%/27% 등용매, 11-12분 A/B 52%/48%까지 선형 변화, 13-15분 A/B 73%/27%까지 선형 변화, 15-20분 A/B 73%/27% 등용매 구배.
- [0242] B2iso-아스파르테이트, des-아미도 및 다른 관련된 불순물들의 양을 보존제의 용출 후 측정된 전체 흡광도 면적의 퍼센트로서 측정된 흡광도 면적으로서 측정했다. RP-UPLC 방법은 Novo Nordisk가 판매중인 인슐린 아스파르트 제약의 품질관리에 사용되는 분석 방법과 동일하다.
- [0243] 아르기닌의 첨가는 형성된 변성 산물의 양을 감소시키며, 특히 HMWP와 des-아미도 형태를 감소시키고, 아르기닌의 농도가 10 내지 50mM 범위에서 증가할수록 변성은 더욱 감소한다. ThT 분석에서 지연시간(lag time)으로서 측정되는 물리적 안정성은 아르기닌의 첨가시 감소되며, 아르기닌 농도가 증가할수록 점진적으로 감소된다. 하기 표 3에 나타난 대로 50mM 아르기닌의 전반적 성능은 변성 산물 형성 감소와 관련해서는 50mM 글리신, 50mM 글루탐산 또는 50mM 히스티딘보다 우수하다.

**표 3**

표 2의 인슐린 제제 1-9(실시에 1)에 대한 물리화학적 안정성 데이터

제제 nr.	물리적 안정성 ThT 분석에서의 지연시간(분)	화학적 안정성 37℃ 및 4℃에서 2주간 인큐베이션 후 내용물의 차이로서 측정된 변성 산물 함량(%)			
		B28 IsoAsp	des- 아미도 형태	다른 관련된 불순물	HMWP
1	160	1.17	3.67	1.73	1.36
2	80	1.30	3.05	0.82	0.65
3	80	1.30	2.49	0.64	0.34
4	60	1.31	2.26	0.79	0.20
5	60	1.27	2.27	0.37	0.19
6	40	1.36	1.99	0.47	0.16
7	100	1.26	4.72	2.21	1.11
8	50	1.39	3.41	1.07	0.70
9	0	1.75	6.99	2.22	1.01

[0244]

[0245] 실시에 3

[0246] LYD 돼지 모델에서의 약동학(PK)/약역학(PD) 연구 및 혈장 분석 시험

[0247] LYD 돼지에서의 PK/PD 연구

[0248] LYD 교잡된 55 내지 110kg의 가축 암컷 돼지들을 대상으로 PK/PD 연구를 수행했다. 연구 시작 적어도 2일 전에 돼지들에게 귀 정맥을 통해 경정맥에 카테테르를 삽입했다. 시험 제제를 주사하기 약 18시간 전에 동물에게 연구 시작 전 마지막 식사를 제공했으며, 금식기간과 시험기간 동안 동물들은 언제든지 물에 자유롭게 접근했다.

[0249] 제0시간에 시험 제제를 목의 외측에서 피하 주사했다. 투약 전과 투약 후에 규칙적인 시간 간격으로 혈액 샘플을 채취했으며, 샘플은 카테테르를 통해 채혈하여, 헤파린으로 코팅해둔 1.5mL 유리관에서 표본을 만들었다. 혈액 샘플은 얼음물에 보관한 다음, 4℃에서 3000rpm에서 10분간 원심분리하여 혈장을 분리했는데, 처음 30분 이내에 수행했다. 혈장 샘플을 짧은 시간(2-3시간)이면 4℃에 보관했고, 또는 장기 보관이면 -18℃에서 보관했으며, 글루코오스는 YSI 또는 KoneLab 30i에서, 인슐린 아스파르트 농도는 LOCI에서 분석했다.

[0250] 인슐린 아스파르트 정량을 위한 발광 산소 채널링 면역분석(LOCI)

[0251] 인슐린 아스파르트 LOCI는 단클론성 항체-기반 샌드위치 면역분석으로서, 유로폼 코팅된 어셉터 비드와 스트렙토아비딘 코팅된 도너 비드의 2가지 비드를 근접 적용한다. 어셉터 비드는 사람 인슐린에 대한 특이적 항체로 코팅되었으므로, 혈장 샘플 중의 인슐린 아스파르트를 인식한다. 2차 바이오틴화 항체는 스트렙토아비딘 코팅된 비드와 함께 인슐린 아스파르트에 특이적으로 결합하며, 이로써 샌드위치가 형성된다. 비드-응집체-면역복합체에 조명하면 어셉터 비드와 채널링된 도너 비드로부터 싱글렛 산소가 방출되어 화학발광이 촉발된다. 화학발광을 측정했으며, 발생된 광량은 인슐린 아스파르트의 농도에 비례한다.

[0252] 시판중인 제품인 NovoRapid® 와 비교하여, 혈장 글루코오스의 초기 저하 속도는 본 발명의 제제에서 더 빠르다(도 3 및 4). 마찬가지로, NovoRapid® 와 비교했을 때, 본 발명의 제제에서 인슐린 성분의 초기 흡수 속도는 현저히 더 빠르다(도 5).

[0253] 실시예 4

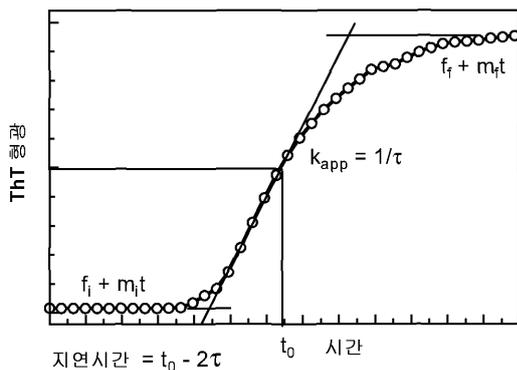
[0254] 단백질 형성의 물리적 안정성을 평가하기 위한 ThT 원섬유화 분석의 일반적인 소개

[0255] 펩티드의 낮은 물리적 안정성은 아밀로이드 원섬유의 형성을 초래할 수 있으며, 이것은 샘플에서 잘 정렬된 실모양의 거대분자 구조로서 관찰되고, 결과적으로 겔을 형성한다. 이것은 종래에는 샘플의 육안 검사에 의해서 측정되었다. 그러나, 이런 종류의 측정은 매우 주관적이며 관찰자에 좌우된다. 따라서, 작은 분자 지시자 프로브의 적용이 훨씬 더 유익하다. 티오플라빈 T(ThT)가 이러한 프로브인데, 이것은 원섬유와 결합되었을 때 뚜렷한 형광신호를 나타낸다[Naiki et al. (1989) Anal. Biochem. 177, 244-249; LeVine (1999) Methods. Enzymol. 309, 274-284]. 원섬유 형성에 있어서 시간 과정은 다음과 같이 표시되는 S자형 곡선에 의해서 설명될 수 있다[Nielsen et al. (2001) Biochemistry 40, 6036-6046]:

$$F = f_i + m_i t + \frac{f_f + m_f t}{1 + e^{-[(t-t_0)/\tau]}}$$

식 (1)

[0256] 여기서, F는 시간 t에서의 ThT 형광이다. 상수 t<sub>0</sub>은 최대 형광의 50%에 도달하는데 필요한 시간이다. 원섬유 형성을 설명하는 2가지 중요한 변수는 t<sub>0</sub>-2τ에 의해 계산되는 지연시간과 겔보기 속도 상수 K<sub>app</sub> = 1/τ이다.



[0258] 펩티드의 부분적으로 접힌 중간체의 형성이 원섬유화의 일반적인 개시 메커니즘으로서 제시된다. 이러한 중간체들 중 몇 개가 핵화되어 주형을 형성하고, 그 위에 다른 중간체들이 회합될 수 있으며, 원섬유화가 진행된다. 지연시간은 핵의 임계 질량이 구축되기까지의 간격에 해당하고, 겔보기 속도 상수는 원섬유 자체가 형성되는 속도이다.

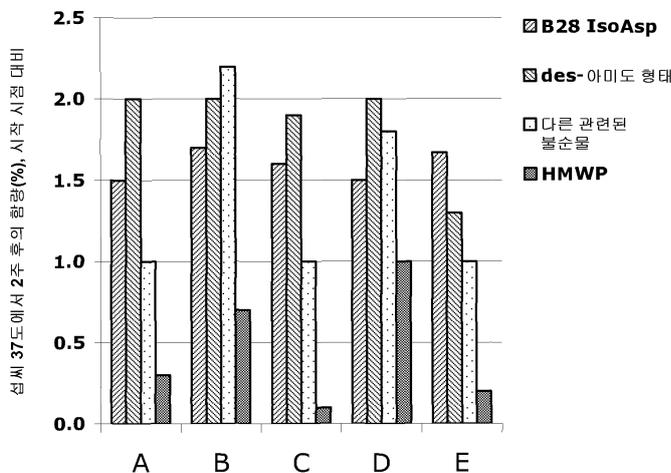
[0260] 샘플 제조

[0261] 각 분석 전에 신선하게 샘플을 제조했다. 각 샘플 조성은 각 실시예에 설명된다. 샘플의 pH를 농축 NaOH 및 HClO4 또는 HCl을 적절한 양으로 사용하여 원하는 값으로 조정했다. H2O 중의 스탁 용액으로부터 티오플라빈 T를 1 μM의 최종 농도로 샘플에 가했다.

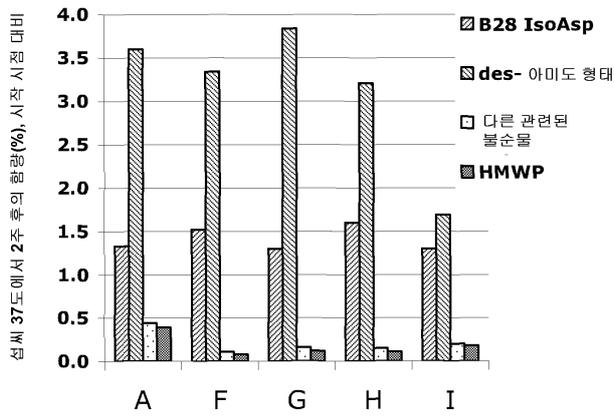
- [0262] 샘플의 알리퀴트를 200 μL씩 96-웰 마이크로타이터 플레이트(Packard Opti-Plate™-96, 흰색 폴리스티렌)에 배치했다. 일반적으로, 각 샘플(하나의 시험 조건에 해당하는)당 4개 또는 8개의 중복 샘플을 웰의 한 줄에 배치했다. 플레이트를 Scotch Pad(Qiagen)로 밀봉했다.
- [0263] 인큐베이션 및 형광 측정
- [0264] 진동시키면서 주어진 온도에서 인큐베이션한 후, Fluoroskan Ascent FL 형광 플레이트리더 또는 Varioskan 플레이트리더(Thermo LabSystems)에서 ThT 형광 방출을 측정했다. 온도는 37°C로 조정했다. 케도 진동은 모든 제시된 데이터에서 1mm 진폭으로 하여 960rpm으로 조정했다. 형광 측정은 444nm 필터를 통한 여기를 사용하여 행했고, 방출 측정은 485nm 필터를 통해 행했다.
- [0265] 분석 온도에서 10분간 플레이트를 인큐베이션하는 것으로서 각 작업을 개시했다. 원하는 시간 기간 동안 플레이트를 20분마다 측정했다. 각 측정 사이에 플레이트를 설명된 대로 진동시키고 가열했다.
- [0266] 데이터 취급
- [0267] 측정 지점을 Microsoft Excel 형식으로 저장하고, 더 가공하여 곡선을 그린 다음, GraphPad Prism을 사용하여 피팅했다. 원섬유가 없을 때의 ThT로부터의 바탕 방출은 무시할만했다. 데이터 지점은 전형적으로 4개 또는 8개 샘플의 평균이며, 표준편차 오차 막대와 함께 표시된다. 동일한 실험에서 얻어진 데이터(즉, 동일한 플레이트의 샘플)만 동일한 그래프에 표시되며, 이로써 실험별 원섬유화의 상대적 측정이 확보된다.
- [0268] 데이터 설정은 식 (1)에 맞춰 피팅될 수 있다. 그러나, 측정 시간 동안 완전한 S자형 곡선이 항상 얻어지는 것은 아니므로, 여기서는 지연시간이 ThT 형광이 바탕 수준과 상이한 시간 지점으로서 ThT 형광 곡선으로부터 시각적으로 결정되었다.
- [0269] 초기 및 최종 농도의 측정
- [0270] 시험된 각 제제에서 펩티드의 농도를 ThT 원섬유화 분석 적용 전("초기")과 ThT 원섬유화 분석 완료 후("ThT 분석 이후")에 모두 측정했다. 농도는 기준으로서 프람린타이드(pramlintide) 표준물질을 사용하는 역상 HPLC 방법에 의해 측정했다. 측정 전과 완료 후에 각 중복 샘플로부터 150 μL를 수거해서 에펜드로프 튜브로 옮겼다. 이들을 40분 동안 30000G에서 원심분리했다. 상청액을 0.22 μm 필터를 통해 여과한 다음, HPLC 시스템에 적용했다.

**도면**

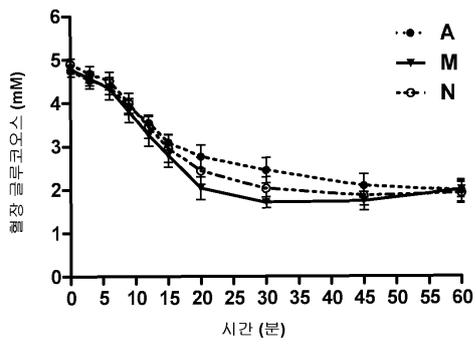
**도면1**



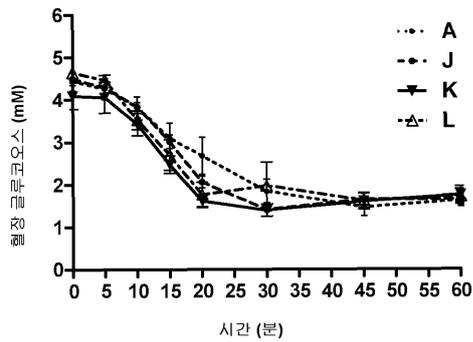
도면2



도면3



도면4



도면5

