



등록특허 10-2205512



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년01월20일  
(11) 등록번호 10-2205512  
(24) 등록일자 2021년01월14일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*A61K 38/28* (2006.01) *A61K 47/02* (2006.01)  
*A61K 47/12* (2006.01) *A61K 47/26* (2017.01)  
*A61K 47/36* (2017.01) *A61K 9/00* (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
*A61K 38/28* (2013.01)  
*A61K 47/02* (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7019459(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2013년11월13일  
심사청구일자 2020년08월05일
- (85) 번역문제출일자 2020년07월06일
- (65) 공개번호 10-2020-0084927
- (43) 공개일자 2020년07월13일
- (62) 원출원 특허 10-2015-7015793  
원출원일자(국제) 2013년11월13일  
심사청구일자 2018년11월13일
- (86) 국제출원번호 PCT/FR2013/052736
- (87) 국제공개번호 WO 2014/076423  
국제공개일자 2014년05월22일
- (30) 우선권주장  
12/60808 2012년11월13일 프랑스(FR)  
(뒷면에 계속)
- (56) 선행기술조사문헌  
US20120094902 A1\*

\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

전체 청구항 수 : 총 15 항

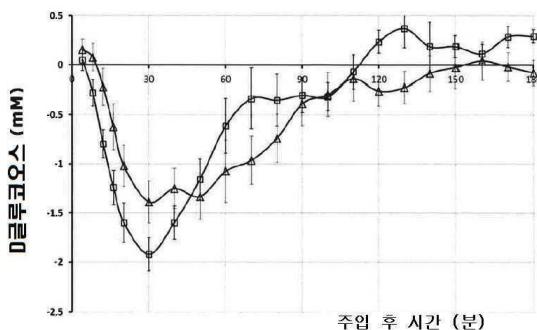
심사관 : 이예리

(54) 발명의 명칭 치환된 음이온성 화합물을 포함하는 속효성 인슐린 제형

**(57) 요약**

본 발명은 인슐린 및, 동일 또는 상이한 글리코시드 결합을 통해 연결된, 1 내지 8의 개별 갯수  $u$  ( $1 \leq u \leq 8$ )의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로 형성된 백분으로 이루어지는, 치환된 음이온성 화합물로부터 선택되는 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물을 포함하는 수용액 중의 조성물로서, 상기 사카라이드 단위는 고리형 형태

(뒷면에 계속)

**대 표 도 - 도1**

또는 개방 환원된 형태로의 핵소스로 이루어진 군으로부터 선택되고, 상기 화합물이 부분적으로 치환된 카복실 관능기를 포함하고, 미치환된 카복실 관능기는 염형성가능한 조성물에 관한 것이다.

본 발명은 또한 제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 따른 조성물을 포함하는 약학 제형에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

*A61K 47/12* (2013.01)

*A61K 47/26* (2013.01)

*A61K 47/36* (2013.01)

*A61K 9/0019* (2013.01)

(72) 발명자

도띠, 엠마뉴엘

프랑스공화국, 에프-69004 리옹, 뿔라스 드 라 크  
로와 투쓰 6

샤르베, 리샤르

프랑스공화국, 에프-69140 힐리으-라-빠쁘, 뤄 드  
라 비에브르 19

(30) 우선권주장

61/725,775 2012년11월13일 미국(US)

12/60855 2012년11월14일 프랑스(FR)

61/726,349 2012년11월14일 미국(US)

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

6량체 형태의 인슐린, 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물 및 다가음이온성 화합물을 포함하는, 수용액 중의 조성물로서,

- 상기 치환된 음이온성 화합물은 동일 또는 상이한 글리코시드 결합을 통해 연결된, 1 내지 8의 개별 갯수(discrete number)  $u$  ( $1 \leq u \leq 8$ )의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로부터 형성된 백분으로 이루어지는, 단리된 형태 또는 혼합물로서의, 치환된 음이온성 화합물로부터 선택되고, 상기 사카라이드 단위는 고리형 형태 또는 개방 환원된 형태의 핵소스로 이루어진 군으로부터 선택되고, 상기 화합물은 하기로 치환되고:

a) 하기 일반 식 I의 하나 이상의 치환기:

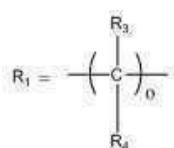
$$-[R_1]_a-[AA]_m \quad \text{식 I}$$

- 2개 이상의 치환기가 있는 경우, 치환기는 동일 또는 상이함, 상기 식에서:

- 라디칼  $-[AA]-$ 는 아미노산 잔기를 나타내고, 상기 아미노산은 페닐알라닌, 알파-메틸페닐알라닌, 3,4-디히드록시페닐알라닌, 티로신, 알파-메틸티로신, 0-메틸티로신, 알파-페닐글리신, 4-히드록시페닐글리신 및 3,5-디히드록시페닐글리신, 및 이의 알칼리 금속 양이온 염으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 상기 아미노산은 L 또는 D 절대 배열이고,

- 라디칼  $-R_1-$ 은 결합이거나 탄소계 사슬이고:

- 결합일 때,  $a = 0$ 이고, 아미노산 잔기  $-[AA]-$ 는 관능기 G를 통해 백분에 직접 결합됨,
- 탄소계 사슬일 때,  $a=1$ 이고, 하기 식 II의 라디칼로부터 선택됨:



식 II ,

상기 식 II에서:

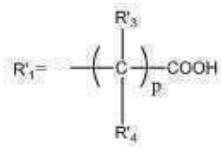
- o 는 1 이상 12 이하이고,

- 동일 또는 상이할 수 있는  $-R_3$  및  $-R_4$ 는, 수소 원자, 포화 또는 불포화된, 선형, 분지형 또는 고리형  $C_1$  내지  $C_6$  알킬, 벤질, 및  $C_7$  내지  $C_{10}$  알킬아릴로 이루어지는 군으로부터 선택되고, 임의로 O, N 또는 S로 이루어진 군으로부터 선택되는 헤테로원자, 또는 카복실산, 아민, 알코올 또는 티올 관능기로 이루어진 군으로부터 선택되는 관능기를 아미노산과의 반응 전에 포함할 수 있으며, 상기 사슬은 아미노산 잔기  $-[AA]-$ 와 함께 아미드 관능기를 형성하고, 그리고 상기 사슬은 백분에 의해 발생되는 히드록실 관능기와 라디칼  $-R_1-$ 의 전구체에 의해 발생되는 관능기 또는 치환기 사이의 반응으로부터 생성되는 관능기 F에 의해 백분에 부착됨,

- F는 에테르, 에스테르 및 카바메이트 관능기로부터 선택되는 관능기이고,
- G는 카바메이트 관능기이고,
- m은 1 또는 2이고,
- $-[R_1]_a-[AA]_m$ 에서 사카라이드 단위의 치환도 j는 0 초과 6 이하, 즉  $0 < j \leq 6$ 임; 및

b) 임의로, 하나 이상의 치환기  $-R'_1$ ,

- 상기 치환기  $-R'_1$ 은 하기 식 III의 라디칼로부터 선택되는 탄소계 사슬임:



식 III,

상기 식III에서:

- p는 1 이상 12 이하이고,

- 동일 또는 상이할 수 있는  $-R'_3$  및  $-R'_4$ 는, 수소 원자, 포화 또는 불포화된, 선형, 분지형 또는 고리형  $C_1$  내지  $C_6$  알킬, 벤질, 및  $C_7$  내지  $C_{10}$  알킬아릴로 이루어지는 군으로부터 선택되고, 임의로 O, N 또는 S로 이루어진 군으로부터 선택되는 헤테로원자, 또는 카복실산, 아민, 알코올 또는 티올 관능기로 이루어진 군으로부터 선택되는 관능기를 포함하며, 이때 상기 사슬은 백본에 의해 발생되는 히드록실 관능기 또는 카복실산 관능기와 치환기  $-R'_1$ 의 전구체에 의해 발생되는 관능기 또는 치환기 사이의 반응으로부터 생성되는 관능기 F'를 통해 백본에 결합됨,

- F'는 에테르, 에스테르 또는 카바메이트 관능기이고,
  - $-R'_1$ 에서 사카라이드 단위의 치환도 i는 0 내지  $6-j$ , 즉  $0 \leq i \leq 6-j$ 이고,
  - F 및 F'는 동일 또는 상이하고,
  - F 및 G는 동일 또는 상이하고,
  - $i+j \leq 6$ 이고,
  - $-R'_1$ 은  $-R_1-$ 과 동일 또는 상이하고,
  - 치환기  $-R'_1$ 에 의해 발생되는 유리 염형성가능(salifiable) 산 관능기는 알칼리 금속 양이온 염의 형태이고,
  - 상기 글리코시드 결합은 동일 또는 상이할 수 있고, 알파 또는 베타 기하학의, (1,1), (1,2), (1,3), (1,4) 또는 (1,6) 유형의 글리코시드 결합으로 이루어진 군으로부터 선택됨,
- 및
- 상기 다가음이온성 화합물은 폴리카복실산 및 이의  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  또는  $\text{Mg}^{2+}$  염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 조성물.

## 청구항 2

제1항에 있어서,

폴리카복실산이 시트르산 및 타르타르산, 및 시트르산 및 타르타르산의  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  또는  $\text{Mg}^{2+}$  염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 조성물.

## 청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

인슐린이 인간 인슐린인 조성물.

## 청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서,

인슐린이 인슐린 유사체인 조성물.

#### 청구항 5

제4항에 있어서,

인슐린 유사체가 인슐린 리스프로(Humalog<sup>®</sup>), 인슐린 아스파르트(Novolog<sup>®</sup>, Novorapid<sup>®</sup>) 및 인슐린 글루리신(Apidra<sup>®</sup>)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 조성물.

#### 청구항 6

제4항에 있어서,

인슐린 유사체가 인슐린 리스프로(Humalog<sup>®</sup>)인 조성물.

#### 청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서,

치환된 음이온성 화합물/인슐린 질량비가 0.5 내지 10인 조성물.

#### 청구항 8

제1항 또는 제2항에 있어서,

치환된 음이온성 화합물의 농도가 1.8 내지 36 mg/mL인 조성물.

#### 청구항 9

동일 또는 상이한 글리코시드 결합을 통해 연결된, 1 내지 3의 개별 갯수(discrete number)  $u$  ( $1 \leq u \leq 3$ )의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로 형성된 백본으로 이루어지는 하나 이상의 관능화된 음이온성 화합물을 포함하는 인슐린 약학 제형을 제조하는 방법으로,

상기 사카라이드 단위는 고리형 형태 또는 개방 환원된 형태의 헥소스로 이루어진 군으로부터 선택되고, 적어도 폴리카복실산 및 이의  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  또는  $\text{Mg}^{2+}$  염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 다가음이온성 화합물과 조합하여, 치환된 음이온성 화합물이 없는 제형과 비교할 때, 투여 후 인슐린의 혈액 내 통과를 가속화할 수 있고 혈당을 더 신속하게 감소시키는 것을 가능하게 하는 인슐린 약학 제형을 제조하는 방법.

#### 청구항 10

제9항에 있어서,

치환된 음이온성 화합물이 동일 또는 상이한 글리코시드 결합을 통해 연결된, 1 내지 8의 개별 갯수  $u$  ( $1 \leq u \leq 8$ )의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로부터 형성된 사카라이드 백본으로 이루어지는 치환된 음이온성 화합물로부터 선택되고, 상기 사카라이드 단위는 고리형 형태 또는 개방 환원된 형태의 헥소스로부터 선택되며, 하기를 특징으로 하는 방법:

a) 상기 화합물이 하기에 의해 랜덤으로 치환됨:

▷ 하기 일반 식 I의 하나 이상의 치환기:

$-[\text{R}_1]_a - [\text{AA}]_m$       식 I

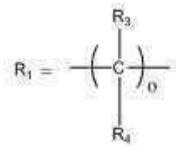
● 2개 이상의 치환기가 있는 경우, 치환기는 동일 또는 상이함, 상기 식에서:

● 라디칼  $-[\text{AA}]-$ 는 아미노산 잔기를 나타내고, 상기 아미노산은 페닐알라닌, 알파-메틸페닐알라닌, 3,4-디히드록시페닐알라닌, 티로신, 알파-메틸티로신, 0-메틸티로신, 알파-페닐글리신, 4-히드록시페닐글리신 및 3,5-디히드록시페닐글리신, 및 이의 알칼리 금속 양이온 염으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 상기 아미노산은 L 또는 D 절대 배열이고,  $-[\text{AA}]$ 는 링커 암  $-\text{R}_1-$ 을 통해 분자의 백본에 부착되거나 또는 관능기 G를 통

해 백본에 직접 부착됨,

- $-R_1-$ 은 결합 G이거나 또는 탄소계 사슬이고:

- 결합 G일 때,  $a = 0$ 이고,
- 탄소계 사슬일 때,  $a=1$ 이고, 하기 식 II의 라디칼로부터 선택됨:



식 II ,

상기 식 II에서:

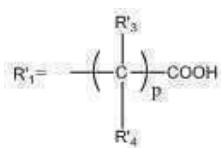
- $o$ 는 1 이상 12 이하이고,
- 동일 또는 상이할 수 있는  $-R_3$  및  $-R_4$ 는, 수소 원자, 포화 또는 불포화된, 선형, 분지형 또는 고리형  $C_1$  내지  $C_6$  알킬, 벤질, 및  $C_7$  내지  $C_{10}$  알킬아릴로 이루어지는 군으로부터 선택되고, 임의로 O, N 또는 S로 이루어진 군으로부터 선택되는 헤테로원자, 또는 카복실산, 아민, 알코올 또는 티올 관능기로 이루어진 군으로부터 선택되는 관능기를 아미노산과의 반응 전에 포함하며, 이때 상기 사슬은 아미노산 잔기  $-[AA]$ 와 함께 아미드 결합을 형성함, 그리고 상기 사슬은 백본에 의해 발생되는 히드록실 관능기와  $R_1$ 의 전구체에 의해 발생되는 관능기 사이의 반응으로부터 생성되는 관능기 F를 통해 사카라이드 백본에 부착됨,

- F는 에테르, 에스테르 또는 카바메이트 관능기이고,
- G는 에스테르 또는 카바메이트 관능기이고,
- $m$ 은 1 또는 2이고,
- $-[R_1]_a-[AA]_m$ 에서 치환도  $j$ 는 0 초과 6 이하, 즉  $0 < j \leq 6$ 임;

및, 임의로,

▷ 하나 이상의 치환기  $-R'_1$ ,

- 상기  $-R'_1$ 은 하기 식 III의 라디칼로부터 선택되는 탄소계 사슬임:



식 III,

상기 식 III에서:

- $p$ 는 1 이상 12 이하이고,
- 동일 또는 상이할 수 있는  $-R'_3$ , 및  $-R'_4$ 는, 수소 원자, 포화 또는 불포화된, 선형, 분지형 또는 고리형  $C_1$  내지  $C_6$  알킬, 벤질, 및  $C_7$  내지  $C_{10}$  알킬아릴로 이루어지는 군으로부터 선택되고, 임의로 O, N 또는 S로 이루어진 군으로부터 선택되는 헤�테로원자, 또는 카복실산, 아민, 알코올 및 티올 관능기로 이루어진 군으로부터 선택되는 관능기를 포함하며, 상기 사슬은 백본에 의해 발생되는 히드록실 관능기와  $-R'_1$ 의 전구체에 의해 발생되는 관능기 사이의 반응으로부터 생성되는 관능기 F'를 통해 사카라이드 백본에 부착됨,

- F'는 에테르, 에스테르 또는 카바메이트 관능기이고,

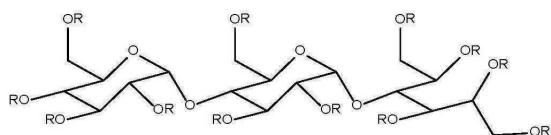
- $-R'_1$ 에서 치환도  $i$ 는 0 내지  $6-j$ , 즉  $0 \leq i \leq 6-j$ 이고,
- $-R'_1$ 은  $-R_1$ 과 동일 또는 상이하고,
- F 및 F'는 동일 또는 상이하고,
- F' 및 G는 동일 또는 상이하고,
- 유리 염형성가능 산 관능기는 알칼리 금속 양이온 염의 형태이고,

b) 상기 글리코시드 결합은 동일 또는 상이할 수 있고, 알파 또는 베타 기하학의, (1,1), (1,2), (1,3), (1,4) 또는 (1,6) 유형의 글리코시드 결합으로 이루어진 군으로부터 선택됨,

c)  $i + j \leq 6$ 임.

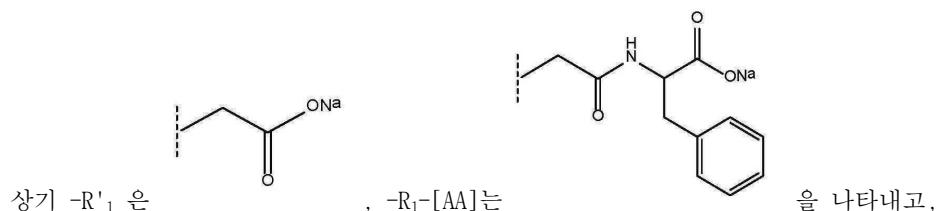
### 청구항 11

하기로 표시되는 치환된 음이온성 화합물:



상기 식에서,

$R$ 은  $H$ ,  $-R'_1$  또는  $-R_1-[AA]$ 이고,



$-R_1-[AA]$ 와의 사카라이드 단위의 치환도  $j$ 는 0.3 내지 1.8이고,

$-R'_1$ 와의 사카라이드 단위의 치환도,  $i$ 는 0.3 내지 3임.

### 청구항 12

제11항에서 청구된 바와 같은 치환된 음이온성 화합물을 포함하는 약학 제형.

### 청구항 13

제12항에 있어서,

인슐린 및 다가음이온성 화합물을 더 포함하는 약학 제형.

### 청구항 14

제12항에 있어서,

인슐린 농도가 240 내지 3000  $\mu M$  (40 내지 500 IU/mL)인 약학 제형.

### 청구항 15

제12항에 있어서

인슐린 농도가 600 내지 1200  $\mu M$  (100 내지 200 IU/mL)인 약학 제형.

### 청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001]

본 발명은 속효성(rapid-acting) 인슐린 제형에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0002]

1980년을 시작으로 유전 공학에 의한 인슐린의 제조가 이루어진 이후로, 당뇨 환자는 이들의 치료를 위해 인간 인슐린으로부터 혜택을 보고 있다. 상기 제품은, 비-인간 인슐린, 특히 돼지 인슐린의 사용과 연관되는 면역학적 위험을 제거하므로 상기 요법을 크게 향상시켰다. 그러나, 피하-주입되는 인간 인슐린은 단지 60분 후에 저혈당 효과를 갖는데, 이것은 인간 인슐린으로 치료받는 당뇨 환자는 식사 30분 전에 주입을 받아야만 한다는 것을 의미한다.

[0003]

당뇨 환자의 건강 및 안위를 개선하기 위해 해결해야 하는 문제 중 하나는 인간 인슐린보다 빠른 저혈당 반응을 제공하는 인슐린 제형을 제공하는 것이고, 가능하다면 반응이 건강한 사람의 생리학적 반응에 접근해야 한다. 건강한 개체에서의 내생 인슐린의 분비는 혈당의 증가에 의해 즉시 촉발된다. 목적은 인슐린의 주입과 식사 시작 사이의 딜레이를 최소화하기 위한 것이다.

[0004]

현재, 환자가 가장 가능한 건강 관리를 받도록 하기 위해 이러한 제형의 제공은 유용한 것으로 허용된다.

[0005]

유전 공학은 신속 인슐린 유사체의 개발에 반응할 수 있다. 상기 인슐린은 1 또는 2개의 아미노산을 변형하여, 피하 주입 후 혈액 구획 내로 더욱 빠르게 흡수되도록 한다. 상기 인슐린 리스프로(insulins lispro) (Humalog<sup>®</sup>, Lilly), 아스파르트(aspart)(Novolog<sup>®</sup>, Novo) 및 글루리신(glulisine)(Apidra<sup>®</sup>, Sanofi Aventis)은 인간 인슐린보다 빠른 저혈당 반응을 가진 안정한 인슐린 용액이다. 그 결과, 상기 신속 인슐린 유사체로 처리된 환자는 단지 식사 15분 전에만 인슐린 주입을 받을 수 있다.

[0006]

신속 인슐린 유사체의 원리는 시판 제품 중의 인슐린의 안정성을 확보하기 위해 100 IU/mL의 농도에서 6량체를 형성하는 동시에, 피하 주입 후 상기 6량체의 단량체로의 급속한 해리를 촉진하여 급속한 작용을 수득하도록 하는 것이다.

- [0007] 시판 형태로 제형화된 것과 같은 인간 인슐린은 식사 시작에 의해 생성되는 생리학적 반응(혈당 증가)과 동적인 관점에서 가까운 저혈당 반응을 수득하는 것이 가능하지 않은데, 아연 및 페놀 또는 m-크레솔과 같은 기타 부형제의 존재 하에, 작동 농도(100 IU/mL)에서, 이것이 6량체를 형성하기 위해 모여드는 반면에, 이것은 단량체 및 2량체 형태에서 활성이기 때문이다. 인간 인슐린은 2년까지 4°C에서 안정하도록 6량체의 형태로 제조되는데, 단량체의 형태로는, 이것이 응집한 다음 섬유화(fibrillate)하는 경향이 매우 높은데, 이것이 이의 활성을 상실하게 만들기 때문이다. 게다가, 상기 응집된 형태에서, 이것은 환자에 대해 면역학적 위험을 나타낸다.
- [0008] 6량체의 2량체로의 그리고 2량체의 단량체로의 해리는 신속 인슐린 유사체와 비교하였을 때, 20분과 가깝게 이의 작용을 딜레이시킨다(Brange J., et al., Advanced Drug Delivery Review, 35, 1999, 307-335).
- [0009] 또한, 인슐린 유사체의 혈액 내로의 통과 동역학 및 이들의 혈당 감소 동역학은 최적이 아니며, 건강한 개체에서 내생 인슐린 분비의 동역학과 가깝게 하도록 심지어 더 짧은 작용 시간을 갖는 제형에 대한 실제의 필요가 있다.
- [0010] Biodel 사는 특히 출원 US 200839365에 기재된 바와 같이 EDTA 및 시트르산을 포함하는 인간 인슐린 제형을 사용하여 상기 과제에 대한 해결책을 제안하였다. 아연 원자와 착물을 형성하는 EDTA의 능력 및 인슐린의 표면에 존재하는 양이온성 영역과의 시트르산의 상호작용이 인슐린의 6량체성 형태를 불안정화시키고 따라서 이의 작용 시간을 감소시키는 것으로서 설명된다.
- [0011] 그러나, 이러한 제형은 특히, 약학적 규제의 안정성 필요사항을 충족시킬 수 있는 유일한 안정한 형태인, 인슐린의 6량체성 형태를 해리시키는 단점을 갖는다.
- [0012] 본 출원인의 PCT 특허 출원 WO 2010/122385는 또한 카복실기를 포함하는 치환된 폴리사카라이드의 첨가를 통해 상기 언급된 다양한 과제를 해결할 수 있는 인간 인슐린 또는 인슐린 유사체 제형을 기재하는 것으로 공지된다.
- [0013] 그러나, 이러한 제형의 만성적이고 집중적인 사용 또는 심지어 소아과적 사용에 의해 수반되는 요구사항은 당업자들로 하여금 이들의 제거를 용이하게 하기 위해 가능한 한 작은 몰 질량 및 크기의 부형제의 사용을 추구하도록 야기한다.
- [0014] 부형제로서 특히 출원 WO 2010/122385A1 및 US 2012/094902A1에 기재된 폴리사카라이드는 그 길이가 통계적으로 가변적이고 단백질 활성 성분과의 상호작용의 가능한 부위가 매우 풍부한 사슬로 이루어지는 화합물이다. 상기 풍부함은 상호관점의 관점에서 특이성의 결핍을 유도할 수도 있고, 더 작고 더욱 잘 정의된 분자는 이와 관련하여 더욱 특이적인 것을 가능하도록 할 수 있다.
- [0015] 또한, 잘 정의된 백본을 가진 분자는, 일반적으로 질량 분석에서 매우 확산되고 배경 잡음이 있는 신호를 제공하는 중합체와 비교하여 약동학 또는 ADME (투여, 분포, 대사, 제거) 실험 동안 생물학적 매질에서 일반적으로 더욱 용이하게 추적가능(예를 들어, MS/MS)하다.
- [0016] 반대로, 잘 정의되고 더 짧은 분자가 아마도 단백질 활성 성분과의 상호작용의 가능한 부위의 부족을 나타낸다는 것을 제외하는 것은 아니다. 구체적으로 이들의 감소된 크기를 고려하면, 이들은 폴리사카라이드 유형의 중합체와 동일한 특성을 갖지는 않는데, 이는 실험 색션의 비교예에서 입증된 바와 같이 중합체 효과의 상실이 있기 때문이고; 등전점에서의 인슐린 해체 시험 및 알부민과 같은 모델 단백질과의 상호작용 시험을 특히 참조한다.

## 선행기술문헌

### 특허문헌

- [0017] (특허문헌 0001) 국제공개공보 WO2010/122385(2010.10.28)

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

- [0018] 이러한 실망스러운 결과에도 불구하고, 본 출원인은 치환된 음이온성 화합물을 다가옴이온성 화합물과 조합으로 사용함으로써 인슐린을 가속화시킬 수 있는 제형의 개발을 지속해왔다.

[0019] 게다가, 폴리사카라이드를 사용하는 경우에서와 같이, 인슐린의 6량체 특성이 영향을 받지 않으며, 따라서 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물의 존재 하에 원편광 이색성을 통한 인간 인슐린 및 인슐린 유사체의 연합 상태의 예에서 확인되는 바와 같이 제형의 안정성에 영향을 받지 않는다.

### 과제의 해결 수단

[0020] 본 발명은 투여 후, 상응하는 시판 인슐린 제품과 비교하여 인간 인슐린 또는 이의 유사체의 혈액 내로의 통과를 가속화할 수 있고 혈당을 더욱 빠르게 감소시킬 수 있는 인간 인슐린 또는 인슐린 유사체 제형을 제조하는 것을 특히 가능하게 하므로 상기 개요된 다양한 과제를 해결하는 것을 가능하게 만든다.

[0021] 본 발명은 수용액 내에, 6량체 형태로의 인슐린, 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물 및 비-중합체성 다가음이온성 화합물을 포함하는 조성물로 이루어진다.

[0022] 용어 "치환된 음이온성 화합물"은 동일 또는 상이한 글리코시드 결합을 통해 연결된, 1 내지 8의 개별 갯수  $u$  ( $1 \leq u \leq 8$ )의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로부터 형성된 사카라이드 백본으로 이루어지는 화합물로서, 상기 사카라이드 단위는 고리형 형태 또는 개방 환원된 형태로의 헥소스로 이루어진 군으로부터 선택되고, 상기 화합물은 부분적으로 치환된 카복실 관능기를 포함하고, 미치환된 카복실 관능기는 염형성가능한(salifiable) 화합물을 의미한다.

[0023] 일구현예에서, 인슐린은 6량체(hexameric) 형태이다.

[0024] 일구현예에서, 인슐린은 인간 인슐린이다.

[0025] 용어 "인간 인슐린"은 그 패티드 서열이 대립유전자 변이 및 상동을 포함하는 인간 인슐린의 서열인, 합성 또는 재조합에 의해 수득된 인슐린을 의미한다.

[0026] 일구현예에서, 인슐린은 유럽 약전 및 미국 약전에 기재된 바와 같은 재조합 인간 인슐린이다.

[0027] 일구현예에서, 인슐린은 인슐린 유사체이다.

[0028] 용어 "인슐린 유사체"는 그 일차 서열이 인간 인슐린의 일차 서열에 대해 하나 이상의 변형을 함유하는 재조합 인슐린을 의미한다.

[0029] 일구현예에서, 인슐린 유사체는 인슐린 리스프로(Humalog<sup>®</sup>), 인슐린 아스파르트(Novolog<sup>®</sup>, Novorapid<sup>®</sup>) 및 인슐린 글루리신(Apidra<sup>®</sup>)으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0030] 일구현예에서, 인슐린 유사체는 인슐린 리스프로(Humalog<sup>®</sup>)이다.

[0031] 일구현예에서, 인슐린 유사체는 인슐린 아스파르트(Novolog<sup>®</sup>, Novorapid<sup>®</sup>)이다.

[0032] 일구현예에서, 인슐린 유사체는 인슐린 글루리신(Apidra<sup>®</sup>)이다.

[0033] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물은 동일 또는 상이한 글리코시드 결합을 통해 연결된, 1 내지 8의 개별 갯수  $u$  ( $1 \leq u \leq 8$ )의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로부터 형성된 백본으로 이루어지는, 단리된 형태 또는 혼합물로서의 치환된 음이온성 화합물로부터 선택되고, 상기 사카라이드 단위는 고리형 형태 또는 개방 환원된 형태로의 헥소스로 이루어진 군으로부터 선택되고, 상기 화합물이 하기로 치환되는 것을 특징으로 한다:

[0034] a) 하기 일반 식 I의 하나 이상의 치환기:

[0035]  $-[R_1]_a-[AA]_m$  식 I

[0036] ● 2개 이상의 치환기가 있는 경우 치환기는 동일 또는 상이함, 상기 식에서:

[0037] ● 라디칼  $-[AA]-$ 는 아미노산 잔기를 나타내고,

[0038] ● 라디칼  $-R_1-$ 은:

[0039] - 결합: 그러면  $a = 0$ 이고, 아미노산 잔기  $-[AA]-$ 는 관능기 G를 통해 백본에 직접 결합됨,

[0040] - 또는  $C_2$  내지  $C_{15}$  탄소계 사슬이고, 그러면  $a = 1$ 이고, 이것은 임의로 치환되고/거나 O, N 및 S로부터

선택되는 하나 이상의 헤테로원자 및 아미노산과의 반응 전에 하나 이상의 산 관능기를 포함하고, 상기 사슬은 아미노산 잔기  $-[AA]$ -와 함께 아미드 관능기를 형성함, 상기 라디칼  $R_1$ 은 백분에 의해 발생되는 히드록실 관능기와 라디칼  $-R_1$ -의 전구체에 의해 발생되는 관능기 또는 치환기 사이의 반응으로부터 생성되는 관능기 F에 의해 백분에 부착됨,

- [0041] ● F는 에테르, 에스테르 및 카바메이트 관능기이고,
- [0042] ● G는 카바메이트 관능기이고,
- [0043] ● m은 1 또는 2이고,
- [0044] ● 사카라이드 단위의 치환도(degree of substitution), j는  $-[R_1]_a-[AA]_m$  염격하게 0 초과 6이하인 것과 함께,  $0 < j \leq 6$ 임;
- [0045] b) 및, 임의로, 하나 이상의 치환기  $-R'_1$ ,
- [0046] ● 상기 치환기  $-R'_1$ 은 임의로 치환된 및/또는 0, N 및 S로부터 선택되는 하나 이상의 헤�테로원자 및 알칼리 금속 양이온 염의 형태의 하나 이상의 산 관능기를 포함하는 C<sub>2</sub> 내지 C<sub>15</sub> 탄소계 사슬이고, 상기 사슬은 백분에 의해 발생되는 히드록실 관능기와 치환기  $-R'_1$ -의 전구체에 의해 발생되는 관능기 또는 치환기 사이의 반응으로부터 생성되는 관능기 F'를 통해 백분에 결합됨,
- [0047] ● F'는 에테르, 에스테르 또는 카바메이트 관능기이고,
- [0048] ● 사카라이드 단위의 치환도, i는,  $-R'_1$ 이 0 내지 6-j인 것과 함께,  $0 \leq i \leq 6-j$ 이고,
- [0049] ● F 및 F'는 동일 또는 상이하고,
- [0050] ● F 및 G는 동일 또는 상이하고,
- [0051] ●  $i+j \leq 6$ 이고,
- [0052] ●  $-R'_1$ 은  $-R_1$ -과 동일 또는 상이하고,
- [0053] ● 치환기  $-R'_1$ -에 의해 발생되는 유리 염형성가능 (salifiable) 산 관능기는 알칼리 금속 양이온 염의 형태이고,
- [0054] ● 상기 동일 또는 상이할 수 있는 글리코시드 결합은 알파 또는 베타 기하학으로의, (1,1), (1,2), (1,3), (1,4) 또는 (1,6) 유형의 글리코시드 결합으로 이루어진 군으로부터 선택됨.
- [0055] 일구현예에서, 단리된 형태 또는 혼합물로서의 치환된 음이온성 화합물은 동일 또는 상이한 글리코시드 결합을 통해 연결된, 1 내지 8의 개별 갯수 u ( $1 \leq u \leq 8$ )의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로부터 형성된 사카라이드 백분으로 이루어지는 치환된 음이온성 화합물로부터 선택되고, 상기 사카라이드 단위는 고리형 형태 또는 개방 환원된 형태로의 핵소스로부터 선택되고,
- [0056] a) 상기 화합물이 하기로 랜덤으로 치환되는 것:
- [0057] ▷ 하기 일반 식 I의 하나 이상의 치환기:
- [0058]  $-[R_1]_a-[AA]_m$  식 I
- [0059] ● 2개 이상의 치환기가 있는 경우 치환기는 동일 또는 상이함, 상기 식에서:
- [0060] ● 라디칼  $-[AA]$ -는 아미노산 잔기를 나타내고, 상기 아미노산은 폐닐알라닌, 알파-메틸페닐알라닌, 3,4-디히드록시페닐알라닌, 티로신, 알파-메틸티로신, 0-메틸티로신, 알파-페닐글리신, 4-히드록시페닐글리신 및 3,5-디히드록시페닐글리신, 및 이의 알칼리 금속 양이온 염으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 상기 유도체는 L 또는 D 절대 배열의 것임,  $-[AA]$ 는 링커(linker) 암  $-R_1-$ 을 통해 분자의 백분에 부착되거나, 또는 관능기 G를 통해 백분에 직접 연결됨,
- [0061] ●  $-R_1-$ 은:

- [0062] - 결합 G: 그러면  $a = 0$ 이고,
- [0063] - 또는  $C_2$  내지  $C_{15}$  탄소계 사슬이고, 그러면  $a = 1$ 이고, 이것은 임의로 치환되고/거나 O, N 및 S로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 포함하고 아미노산과의 반응 전에 하나 이상의 산 관능기를 갖고, 상기 사슬은 아미노산 잔기  $-[AA]$ -와 함께 아미드 결합을 형성함, 상기 라디칼  $R_1$ 은 백본에 의해 발생되는 히드록실 관능기와  $R_1$ 의 전구체에 의해 발생되는 관능기 사이의 반응으로부터 생성되는 관능기 F를 통해 사카라이드 백본에 부착됨,
- [0064] ● F는 에테르, 에스테르 또는 카바메이트 관능기이고,
- [0065] ● G는 카바메이트 관능기이고,
- [0066] ● m은 1 또는 2이고,
- [0067] ● 사카라이드 단위의 치환도, j는  $-[R_1]_a-[AA]_m$  염격하게 0 초과 6이하인 것과 함께,  $0 < j \leq 6$ 임;
- [0068] 및, 임의로,
- [0069] ▷ 하나 이상의 치환기  $-R'_1$ ,
- [0070] ● 상기  $-R'_1$ 은 임의로 치환된 및/또는 하나 이상의 헤�테로원자(예컨대 O, N 및 S)를 포함하고 알칼리 금속 양이온 염의 형태의 하나 이상의 산 관능기를 갖는  $C_2$  내지  $C_{15}$  탄소계 사슬이고, 상기 사슬은 백본에 의해 발생되는 히드록실 관능기와  $-R'_1$ -의 전구체에 의해 발생되는 관능기 사이의 반응으로부터 생성되는 관능기 F'를 통해 사카라이드 백본에 부착됨,
- [0071] ● F'는 에테르, 에스테르 또는 카바메이트 관능기이고,
- [0072] ● 치환도, i는,  $-R'_1$ 이 0 내지  $6-j$ 인 것과 함께,  $0 \leq i \leq 6-j$ 이고,
- [0073] ●  $-R'_1$ 은  $-R_1$ 과 동일 또는 상이하고,
- [0074] ● F 및 F'는 동일 또는 상이하고,
- [0075] ● F' 및 G는 동일 또는 상이하고,
- [0076] ● 유리 염형성가능 산 관능기는 알칼리 금속 양이온 염의 형태이고,
- [0077] b) 상기 동일 또는 상이할 수 있는 글리코시드 결합은 알파 또는 베타 기하학으로의, (1,1), (1,2), (1,3), (1,4) 또는 (1,6) 유형의 글리코시드 결합으로 이루어진 군으로부터 선택됨,
- [0078] c)  $i + j \leq 6$ 임을 특징으로 한다.
- [0079] 일구현예에서, m은 1이다.
- [0080] 일구현예에서, 동일 또는 상이할 수 있는  $-R_1$  및  $-R'_1$ 은  $C_2$  내지  $C_8$  탄소계 사슬이다.
- [0081] 일구현예에서, 동일 또는 상이할 수 있는  $-R_1$  및  $-R'_1$ 은  $C_2$  내지  $C_4$  탄소계 사슬이다.
- [0082] i 및 j는 통계적 치환도로서, 사카라이드 단위 당 평균 치환기 수를 나타낸다. 각각의 사카라이드 단위는 상이한 반응성의 여러 개의 히드록실 관능기를 가지기 때문에, 치환된 음이온성 화합물 상의 치환기의 분포는 동일한 다가음이온성 화합물 내에서 사카라이드 단위마다 상이할 수 있다.
- [0083] 일구현예에서,  $0.3 \leq i$ 이다.
- [0084] 일구현예에서,  $0.4 \leq i$ 이다.
- [0085] 일구현예에서,  $i \leq 3$ 이다.
- [0086] 일구현예에서,  $i \leq 2.5$ 이다.
- [0087] 일구현예에서,  $0.3 \leq j$ 이다.

- [0088] 일구현예에서,  $0.4 \leq j$ 이다.

[0089] 일구현예에서,  $j \leq 2$ 이다.

[0090] 일구현예에서,  $j \leq 1.8$ 이다.

[0091] 일구현예에서,  $i$  및  $j$ 는  $0 < i + j \leq 6$ 인 식이다.

[0092] 일구현예에서,  $0 < i + j \leq 5$ 이다.

[0093] 일구현예에서,  $0 < i + j \leq 4$ 이다.

[0094] 일구현예에서,  $0 < i + j \leq 3$ 이다.

[0095] 일구현예에서,  $0 < i + j \leq 2.5$ 이다.

[0096] 일구현예에서,  $0 < i + j \leq 2$ 이다.

[0097] 일구현예에서,  $0.5 \leq i + j \leq 3$ 이다.

[0098] 일구현예에서,  $0.5 \leq i + j \leq 2.5$ 이다.

[0099] 일구현예에서,  $0.5 \leq i + j \leq 2$ 이다.

[0100] 일구현예에서,  $0.6 \leq i + j \leq 3.5$ 이다.

[0101] 일구현예에서,  $0.8 \leq i + j \leq 2.5$ 이다.

[0102] 일구현예에서,  $0.7 \leq i + j \leq 2.5$ 이다.

[0103] 일구현예에서,  $0.7 \leq i + j \leq 2$ 이다.

[0104] 일구현예에서,  $1 < i + j \leq 2.5$ 이다.

[0105] 일구현예에서,  $1 < i + j \leq 2$ 이다.

[0106] 일구현예에서,  $-R_1$  및  $-R'_1$ 은 에테르 결합을 통해 백본에 부착된다.

[0107] 일구현예에서,  $-R_1-$ 이 탄소계 사슬인 경우, 이것은 에테르 결합을 통해 백본에 직접 부착된다.

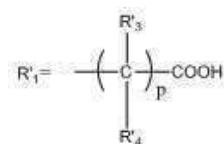
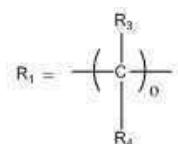
[0108] 일구현예에서,  $-R_1-$ 이 탄소계 사슬인 경우, 이것은 임의로 O, N 및 S로 이루어진 군으로부터 선택되는 해테로원자를 포함한다.

[0109] 일구현예에서,  $-R_1-$ 은 아미노산 잔기 AA와 아미드 결합을 형성하고, 에테르 관능기 F를 통해 백본에 직접 부착된다.

[0110] 일구현예에서,  $-R_1-$ 은 아미노산 잔기 AA와 아미드 결합을 형성하고, 카바메이트 관능기 F를 통해 백본에 직접 부착된다.

[0111] 일구현예에서,  $-R_1-$ 은 아미노산 잔기 AA와 아미드 결합을 형성하고, 에스테르 관능기 F를 통해 백본에 직접 부착된다.

[0112] 일구현예에서,  $-R_1-$  및  $-R'_1$ 은 하기 식 II 및 III의 라디칼로부터 선택된다:



[0113]

식 II

식 III.

[0115]

상기 식에서:

[0116] ● 동일 또는 상이할 수 있는 o 및 p는 1 이상 12 이하이고,

[0117] ● 동일 또는 상이할 수 있는  $-R_3$ ,  $-R'_3$ ,  $-R_4$  및  $-R'_4$ 는, 수소 원자, 포화 또는 불포화된, 선형, 분지형 또는 고리형 C<sub>1</sub> 내지 C<sub>6</sub> 알킬, 벤질, C<sub>7</sub> 내지 C<sub>10</sub> 알킬아릴로 이루어지고 O, N 및/또는 S로 이루어진 군으로부터 선택되는 헤테로원자, 또는 카복실산, 아민, 알코올 및 티올 관능기로 이루어진 군으로부터 선택되는 관능기를 임의로 포함하는 군으로부터 선택됨.

[0118] 일구현예에서,  $-R_1$ -은  $-AA$ -에 부착 전에  $-CH_2-COOH$ 이다.

[0119] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 식 중 라디칼  $-R'_1$ -이  $-CH_2-COOH$ 인 것을 특징으로 한다.

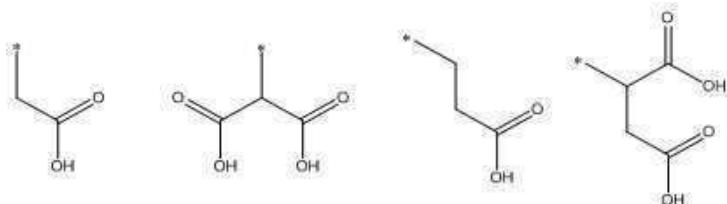
[0120] 일구현예에서,  $-R_1$ -은  $-AA$ -에 임의의 부착 전에 시트르산으로부터 유도된다.

[0121] 일구현예에서,  $-R_1$ -은  $-AA$ -에 임의의 부착 전에 말산으로부터 유도된다.

[0122] 일구현예에서,  $-R'_1$ -은 시트르산으로부터 유도된다.

[0123] 일구현예에서,  $-R'_1$ -은 말산으로부터 유도된다.

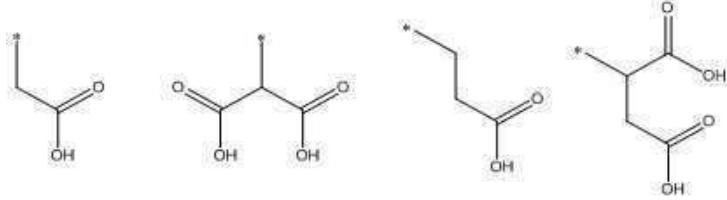
[0124] 일구현예에서,  $-R_1$ -은,  $-AA$ -에 부착 전에 하기 군(식 중 \*는 F에 대한 부착 부위를 나타냄):



[0125]

[0126] 또는 Na<sup>+</sup> 또는 K<sup>+</sup>로 이루어진 군으로부터 선택되는 알칼리 금속 양이온과의 이들의 염으로부터 선택된다.

[0127] 일구현예에서,  $-R'_1$ -은, 하기 군(식 중 \*는 F에 대한 부착 부위를 나타냄):



[0128]

[0129] 또는 Na<sup>+</sup> 또는 K<sup>+</sup>로 이루어진 군으로부터 선택되는 알칼리 금속 양이온과의 이들의 염으로부터 선택된다.

[0130] 일구현예에서, 라디칼  $-[AA]$ 는 L, D 또는 라세믹 절대 배열의 페닐알라닌 및 이의 알칼리 금속 양이온 염의 잔기이다.

[0131] 일구현예에서, 라디칼  $-[AA]$ 는 L, D 또는 라세믹 절대 배열의 알파-메틸페닐알라닌 및 이의 알칼리 금속 양이온 염의 잔기이다.

[0132] 일구현예에서, 라디칼  $-[AA]$ 는 L, D 또는 라세믹 절대 배열의 3,4-디히드록시페닐알라닌 및 이의 알칼리 금속 양이온 염의 잔기이다.

[0133] 일구현예에서, 라디칼  $-[AA]$ 는 L, D 또는 라세믹 절대 배열의 티로신 및 이의 알칼리 금속 양이온 염의 잔기이다.

[0134] 일구현예에서, 라디칼  $-[AA]$ 는 L, D 또는 라세믹 절대 배열의 알파-메틸티로신 및 이의 알칼리 금속 양이온 염의 잔기이다.

[0135] 일구현예에서, 라디칼  $-[AA]$ 는 L, D 또는 라세믹 절대 배열의 O-메틸티로신 및 이의 알칼리 금속 양이온 염의 잔기이다.

- [0136] 일구현예에서, 라디칼 -[AA]는 L, D 또는 라세믹 절대 배열의 알파-페닐글리신 및 이의 알칼리 금속 양이온 염의 잔기이다.
- [0137] 일구현예에서, 라디칼 -[AA]는 L, D 또는 라세믹 절대 배열의 4-히드록시페닐글리신 및 이의 알칼리 금속 양이온 염의 잔기이다.
- [0138] 일구현예에서, 라디칼 -[AA]는 L, D 또는 라세믹 절대 배열의 3,5-디히드록시페닐글리신 및 이의 알칼리 금속 양이온 염의 잔기이다.
- [0139] 일구현예에서, 라디칼 -[AA]는 라세믹 혼합물의 형태로의 아미노산 잔기이다.
- [0140] 일구현예에서, 라디칼 -[AA]는 D 절대 배열의 단리된 이성질체의 형태로의 아미노산 잔기이다.
- [0141] 일구현예에서, 라디칼 -[AA]는 L 절대 배열의 단리된 이성질체의 형태로의 아미노산 잔기이다.
- [0142] 일구현예에서, u는 1 내지 5이다.
- [0143] 일구현예에서, u는 3 내지 5이다.
- [0144] 일구현예에서, u = 8이다.
- [0145] 일구현예에서, u = 7이다.
- [0146] 일구현예에서, u = 6이다.
- [0147] 일구현예에서, u = 5이다.
- [0148] 일구현예에서, u = 4이다.
- [0149] 일구현예에서, u = 3이다.
- [0150] 일구현예에서, u = 2이다.
- [0151] 일구현예에서, u = 1이다.
- [0152] 일구현예에서, 헥소스는 만노오스, 글루코오스, 프룩토스, 소르보스, 타가토오스, 프시코오스, 갈락토오스, 알로오스, 알트로오스, 탈로스, 이도오스, 굴로오스, 푸코오스, 푸콜로오스, 람노오스, 만니톨, 소르비톨 및 갈락티톨(둘시톨)로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0153] 일구현예에서, 글리코시드 결합은 (1,4) 또는 (1,6) 유형의 것이다.
- [0154] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물은 (1,1) 유형의 글리코시드 결합을 통해 연결된 헥소스로부터 선택된 개별 갯수 u = 2의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로부터 형성된 사카라이드 백본으로 이루어지는 음이온성 화합물로부터 선택된다.
- [0155] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물은 (1,1) 유형의 글리코시드 결합을 통해 연결되고 헥소스로부터 선택된 개별 갯수 u = 2의 상이한 사카라이드 단위로 형성된 사카라이드 백본으로 이루어지는 음이온성 화합물로부터 선택되며, 상기 사카라이드 백본은 트레할로오스 및 수크로오스로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0156] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물은 (1,2) 유형의 글리코시드 결합을 통해 연결된 헥소스로부터 선택된 개별 갯수 u = 2의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로부터 형성된 사카라이드 백본으로 이루어지는 음이온성 화합물로부터 선택된다.
- [0157] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물은 (1,2) 유형의 글리코시드 결합을 통해 연결된 헥소스로부터 선택된 개별 갯수 u = 2의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로부터 형성된 사카라이드 백본으로 이루어지는 음이온성 화합물로부터 선택되며, 상기 사카라이드 백본은 코지비오스(kojibiose)이다.
- [0158] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물은 (1,3) 유형의 글리코시드 결합을 통해 연결된 헥소스로부터 선택된 개별 갯수 u = 2의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로부터 형성된 사카라이드 백본으로 이루어지는 음이온성 화합물로부터 선택된다.
- [0159] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물은 (1,3) 유형의 글리코시드 결합을 통해 연결된 헥소스로부터 선택된 개별 갯수 u = 2의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로부터 형성된 사카라이드 백본으로 이루어지는 음이온성 화합물로부터 선택되며, 상기 사카라이드 백본은 니제리오스(nigeriose) 및 라미나리비오스(laminaribiose)로 이

루어진 군으로부터 선택된다.

- [0160] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물은 (1,4) 유형의 글리코시드 결합을 통해 연결된 헥소스로부터 선택된 개별 갯수  $u = 2$ 의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로부터 형성된 사카라이드 백본으로 이루어지는 음이온성 화합물로부터 선택된다.
- [0161] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물은 (1,4) 유형의 글리코시드 결합을 통해 연결된 헥소스로부터 선택된 개별 갯수  $u = 2$ 의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로부터 형성된 사카라이드 백본으로 이루어지는 음이온성 화합물로부터 선택되며, 상기 사카라이드 백본은 말토오스, 락토오스 및 셀로비오스(cellobiose)로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0162] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물은 (1,6) 유형의 글리코시드 결합을 통해 연결된 헥소스로부터 선택된 개별 갯수  $u = 2$ 의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로부터 형성된 사카라이드 백본으로 이루어지는 음이온성 화합물로부터 선택된다.
- [0163] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물은 (1,6) 유형의 글리코시드 결합을 통해 연결된 헥소스로부터 선택된 개별 갯수  $u = 2$ 의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로부터 형성된 사카라이드 백본으로 이루어지는 음이온성 화합물로부터 선택되며, 상기 사카라이드 백본은 이소말토오스, 멜리비오스(melibiose) 및 젠티오비오스(gentibiose)로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0164] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물은 (1,6) 유형의 글리코시드 결합을 통해 연결된 헥소스로부터 선택된 개별 갯수  $u = 2$ 의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로부터 형성된 사카라이드 백본으로 이루어지는 음이온성 화합물로부터 선택되며, 상기 사카라이드 백본은 이소말토오스이다.
- [0165] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물은 하나는 고리형 형태이고 다른 것은 개방 환원된 형태인 개별 갯수  $u = 2$ 의 사카라이드 단위로 형성된 사카라이드 백본으로 이루어지는 음이온성 화합물로부터 선택된다.
- [0166] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물은 하나는 고리형 형태이고 다른 것은 개방 환원된 형태인 개별 갯수  $u = 2$ 의 사카라이드 단위로 형성된 사카라이드 백본으로 이루어지는 음이온성 화합물로부터 선택되며, 상기 사카라이드 백본은 말티톨 및 이소말티톨로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0167] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 개별 갯수  $3 \leq u \leq 8$ 의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로 형성되는 것을 특징으로 한다.
- [0168] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 개별 갯수  $3 \leq u \leq 8$ 의 사카라이드 단위로 형성된 사카라이드 백본을 구성하는 동일 또는 상이한 사카라이드 단위 중 하나 이상이 동일 또는 상이한 글리코시드 결합을 통해 연결된 헥소스 단위로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 한다.
- [0169] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 개별 갯수  $3 \leq u \leq 8$ 의 사카라이드 단위로 형성된 사카라이드 백본을 구성하는 동일 또는 상이한 사카라이드 단위가 헥소스로부터 선택되고, (1,2) 유형의 하나 이상의 글리코시드 결합을 통해 연결된 것을 특징으로 한다.
- [0170] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 개별 갯수  $3 \leq u \leq 8$ 의 사카라이드 단위로 형성된 사카라이드 백본을 구성하는 동일 또는 상이한 사카라이드 단위가 헥소스로부터 선택되고, (1,3) 유형의 하나 이상의 글리코시드 결합을 통해 연결된 것을 특징으로 한다.
- [0171] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 개별 갯수  $3 \leq u \leq 8$ 의 사카라이드 단위로 형성된 사카라이드 백본을 구성하는 동일 또는 상이한 사카라이드 단위가 헥소스로부터 선택되고, (1,4) 유형의 하나 이상의 글리코시드 결합을 통해 연결된 것을 특징으로 한다.
- [0172] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 개별 갯수  $3 \leq u \leq 8$ 의 사카라이드 단위로 형성된 사카라이드 백본을 구성하는 동일 또는 상이한 사카라이드 단위가 헥소스로부터 선택되고, (1,6) 유형의 하나 이상의 글리코시드 결합을 통해 연결된 것을 특징으로 한다.
- [0173] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 개별 갯수  $u = 3$ 의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로 형성되는 것을 특징으로 한다.
- [0174] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 이들이 고리형 형태로의 헥소스로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상의 사카라이드 단위 및 개방 형태로의 헥소스로 이루어진 군으로부터 선택되는 하나 이상

의 사카라이드 단위를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0175] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 3개의 사카라이드 단위가 동일한 것을 특징으로 한다.

[0176] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 3개의 사카라이드 단위 중 2개가 동일한 것을 특징으로 한다.

[0177] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 동일한 사카라이드 단위가 그 중 2개는 고리형 형태이고 그 중 1개는 개방 환원된 형태이며, 이들이 (1,4) 유형의 글리코시드 결합을 통해 연결되는 헥소스로부터 선택되는 것을 특징으로 한다.

[0178] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 동일한 사카라이드 단위가 그 중 2개는 고리형 형태이고 그 중 1개는 개방 환원된 형태이며, 이들이 (1,6) 유형의 글리코시드 결합을 통해 연결되는 헥소스로부터 선택되는 것을 특징으로 한다.

[0179] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 동일 또는 상이한 사카라이드 단위가 헥소스로부터 선택되고, 중심 헥소스가 (1,2) 유형의 글리코시드 결합을 통해 및 (1,4) 유형의 글리코시드 결합을 통해 연결되는 것을 특징으로 한다.

[0180] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 동일 또는 상이한 사카라이드 단위가 헥소스로부터 선택되고, 중심 헥소스가 (1,3) 유형의 글리코시드 결합을 통해 및 (1,4) 유형의 글리코시드 결합을 통해 연결되는 것을 특징으로 한다.

[0181] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 동일 또는 상이한 사카라이드 단위가 헥소스로부터 선택되고, 중심 헥소스가 (1,2) 유형의 글리코시드 결합을 통해 및 (1,6) 유형의 글리코시드 결합을 통해 연결되는 것을 특징으로 한다.

[0182] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 동일 또는 상이한 사카라이드 단위가 헥소스로부터 선택되고, 중심 헥소스가 (1,2) 유형의 글리코시드 결합을 통해 및 (1,3) 유형의 글리코시드 결합을 통해 연결되는 것을 특징으로 한다.

[0183] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 동일 또는 상이한 사카라이드 단위가 헥소스로부터 선택되고, 중심 헥소스가 (1,4) 유형의 글리코시드 결합을 통해 및 (1,6) 유형의 글리코시드 결합을 통해 연결되는 것을 특징으로 한다.

[0184] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 에를로오스(erlose)인 것을 특징으로 한다.

[0185] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 3개의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위가 만노오스 및 글루코오스로 이루어진 군으로부터 선택되는 헥소스 단위인 것을 특징으로 한다.

[0186] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 말토트리오스인 것을 특징으로 한다.

[0187] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 이소말토트리오스인 것을 특징으로 한다.

[0188] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 개별 갯수  $u = 4$ 의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로 형성되는 것을 특징으로 한다.

[0189] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 4개의 사카라이드 단위가 동일한 것을 특징으로 한다.

[0190] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 4개의 사카라이드 단위 중 3개가 동일한 것을 특징으로 한다.

[0191] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 4개의 사카라이드 단위가 만노오스 및 글루코오스로 이루어진 군으로부터 선택되는 헥소스 단위인 것을 특징으로 한다.

[0192] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 말토테트라오스인 것을 특징으로 한다.

[0193] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 동일 또는 상이한 사카라이드 단위가 헥소스로부터 선택되는 것을 특징으로 한다.

택되며, 말단 핵소스가 (1,2) 유형의 글리코시드 결합을 통해 연결되고 나머지는 (1,6) 유형의 글리코시드 결합을 통해 함께 연결되는 것을 특징으로 한다.

- [0194] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 동일 또는 상이한 사카라이드 단위가 핵소스로부터 선택되고, (1,6) 유형의 글리코시드 결합을 통해 연결되는 것을 특징으로 한다.
- [0195] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 개별 갯수  $u = 5$ 의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로 형성되는 것을 특징으로 한다.
- [0196] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 5개의 사카라이드 단위가 동일한 것을 특징으로 한다.
- [0197] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 5개의 사카라이드 단위가 만노오스 및 글루코오스로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵소스 단위인 것을 특징으로 한다.
- [0198] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 동일 또는 상이한 사카라이드 단위가 핵소스로부터 선택되고, (1,4) 유형의 글리코시드 결합을 통해 연결되는 것을 특징으로 한다.
- [0199] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 말토펜타오스인 것을 특징으로 한다.
- [0200] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 백본이 개별 갯수  $u = 6$ 의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로 형성되는 것을 특징으로 한다.
- [0201] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 6개의 사카라이드 단위가 동일한 것을 특징으로 한다.
- [0202] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 동일 또는 상이한 사카라이드 단위가 핵소스로부터 선택되고, (1,4) 유형의 글리코시드 결합을 통해 연결되는 것을 특징으로 한다.
- [0203] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 6개의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위가 만노오스 및 글루코오스로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵소스 단위인 것을 특징으로 한다.
- [0204] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 말토헥소오스인 것을 특징으로 한다.
- [0205] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 개별 갯수  $u = 7$ 의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로 형성되는 것을 특징으로 한다.
- [0206] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 7개의 사카라이드 단위가 동일한 것을 특징으로 한다.
- [0207] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 동일 또는 상이한 사카라이드 단위가 핵소스로부터 선택되고, (1,4) 유형의 글리코시드 결합을 통해 연결되는 것을 특징으로 한다.
- [0208] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 7개의 사카라이드 단위가 만노오스 및 글루코오스로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵소스 단위인 것을 특징으로 한다.
- [0209] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 말토헵타오스인 것을 특징으로 한다.
- [0210] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 개별 갯수  $u = 8$ 의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로 형성되는 것을 특징으로 한다.
- [0211] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 8개의 사카라이드 단위가 동일한 것을 특징으로 한다.
- [0212] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 동일 또는 상이한 사카라이드 단위가 핵소스로부터 선택되고, (1,4) 유형의 글리코시드 결합을 통해 연결되는 것을 특징으로 한다.
- [0213] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 8개의 사카라이드 단위가 만노오스 및 글루코오스로 이루어진 군으로부터 선택되는 핵소스 단위인 것을 특징으로 한다.
- [0214] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 말토옥타오스인 것을 특징으로 한다.
- [0215] 일구현예에서, 개별 갯수의 사카라이드 단위를 포함하는 치환된 음이온성 화합물은 천연 화합물이다.

- [0216] 일구현예에서, 개별 갯수의 사카라이드 단위를 포함하는 치환된 음이온성 화합물은 합성 화합물이다.
- [0217] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 이들이 폴리사카라이드의 효소적 분해 후 정제에 의해 수득되는 것을 특징으로 한다.
- [0218] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 이들이 폴리사카라이드의 화학적 분해 후 정제에 의해 수득되는 것을 특징으로 한다.
- [0219] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 이들이 저-분자량 전구체의 공유 커플링에 의해, 화학적으로 수득되는 것을 특징으로 한다.
- [0220] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 소포로오스(sophorose)인 것을 특징으로 한다.
- [0221] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 수크로오스인 것을 특징으로 한다.
- [0222] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 락툴로오스인 것을 특징으로 한다.
- [0223] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 말툴로오스인 것을 특징으로 한다.
- [0224] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 류크로오스인 것을 특징으로 한다.
- [0225] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 루티노오스인 것을 특징으로 한다.
- [0226] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 이소말툴로오스인 것을 특징으로 한다.
- [0227] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 푸코실락토오스인 것을 특징으로 한다.
- [0228] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 젠티아노스인 것을 특징으로 한다.
- [0229] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 라피노오스인 것을 특징으로 한다.
- [0230] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 멜레지토오스(melezitose)인 것을 특징으로 한다.
- [0231] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 판노오스인 것을 특징으로 한다.
- [0232] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 케스토오스(kestose)인 것을 특징으로 한다.
- [0233] 일구현예에서, 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본이 스타키요오스(stachyose)인 것을 특징으로 한다.
- [0234] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물은 아연에 대한 친화성이 아연에 대해 인슐린의 친화성보다 적고 그의 해리 상수  $K_{d_{Ca}} = [NPP \text{ 화합물}]^r [Ca^{2+}]^s / [(NPP \text{ 화합물})^r - (Ca^{2+})^s]$  가  $10^{-1.5}$  이하인 비-중합체성 다가음이온성(non-polymeric polyanionic: NPP) 화합물이다.
- [0235] 칼슘 이온과 관련해서 다양한 다가음이온성 화합물의 해리 상수( $K_d$ )는 칼슘 이온에 대해 특이적인 전극 (Mettler-Toledo) 및 참조 전극을 사용하는 외부 교정에 의해 측정된다. 모든 측정은 150 mM NaCl(pH 7)에서 수행된다. 유리 칼슘 이온의 농도만 측정되고; 다가음이온성 화합물에 결합된 칼슘 이온은 임의의 전극 전위를 유도하지 않는다.
- [0236] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물은 폴리카복실산 및 이의  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  또는  $Mg^{2+}$  염으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0237] 일구현예에서, 폴리카복실산은 시트르산 및 타르타르산, 및 이의  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  또는  $Mg^{2+}$  염으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0238] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물은 폴리인산 및 이의  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  또는  $Mg^{2+}$  염으로 이루어진 군으로부터 선

택된다.

[0239] 일구현예에서, 폴리인산은 트리포스페이트 및 이의  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  또는  $\text{Mg}^{2+}$  염이다.

[0240] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물은 시트르산 및 이의  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  또는  $\text{Mg}^{2+}$  염이다.

[0241] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물은 타르타르산 및 이의  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  또는  $\text{Mg}^{2+}$  염이다.

[0242] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물은 삼중인산 및 이의  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  또는  $\text{Mg}^{2+}$  염이다.

[0243] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물은 트레할로오스, 말토오스, 락토오스, 수크로오스, 셀로비오스, 이소말토오스, 말티톨 및 이소말티톨로 이루어진 군으로부터 선택되는 디사카라이드 화합물로부터 수득되는 개별 갯수의 사카라이드 단위로 형성되는 사카라이드 백본으로 이루어지는 화합물이다.

[0244] 일구현예에서, 개별 갯수의 사카라이드 단위로 형성되는 사카라이드 백본으로 이루어지는 다가음이온성 화합물은, 말토트리오스, 말토테트라오스, 말토펜타오스, 말토헥사오스, 말토헵타오스, 말토옥타오스 및 이소말토트리오스로 이루어진 군으로부터 선택되는 개별 갯수의 사카라이드 단위로 형성되는 백본으로 이루어지는 화합물로부터 수득된다.

[0245] 일구현예에서, 개별 갯수의 사카라이드 단위로 형성되는 사카라이드 백본으로 이루어지는 다가음이온성 화합물은, 카복시메틸말토트리오스, 카복시메틸말토테트라오스, 카복시메틸말토펜타오스, 카복시메틸말토헥사오스, 카복시메틸말토헵타오스, 카복시메틸말토옥타오스 및 카복시메틸이소말토트리오스로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0246] 일구현예에서, 비 (다가음이온성 화합물에 의해 발생되는 산 관능기의 몰 수/음이온성 화합물의 몰 수)는 3 이상이다.

[0247] 일구현예에서, 비 (다가음이온성 화합물에 의해 발생되는 산 관능기의 몰 수/음이온성 화합물의 몰 수)는 4 이상이다.

[0248] 일구현예에서, 비 (사카라이드 백본으로 이루어지는 다가음이온성 화합물에 의해 발생되는 산 관능기의 몰 수/음이온성 화합물의 몰 수)는 5 이상이다.

[0249] 일구현예에서, 비 (사카라이드 백본으로 이루어지는 다가음이온성 화합물에 의해 발생되는 산 관능기의 몰 수/음이온성 화합물의 몰 수)는 8 이상이다.

[0250] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물/인슐린 몰 비는 0.6 내지 75이다.

[0251] 일구현예에서, 몰 비는 0.7 내지 50이다.

[0252] 일구현예에서, 몰 비는 1.4 내지 35이다.

[0253] 일구현예에서, 몰 비는 1.9 내지 30이다.

[0254] 일구현예에서, 몰 비는 2.3 내지 30이다.

[0255] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물/인슐린 몰 비는 8이다.

[0256] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물/인슐린 몰 비는 12이다.

[0257] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물/인슐린 몰 비는 16이다.

[0258] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물/인슐린 질량 비는 0.5 내지 10이다.

[0259] 일구현예에서, 질량 비는 0.6 내지 7이다.

[0260] 일구현예에서, 질량 비는 1.2 내지 5이다.

[0261] 일구현예에서, 질량 비는 1.6 내지 4이다.

[0262] 일구현예에서, 질량 비는 2 내지 4이다.

[0263] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물/인슐린 질량 비는 2이다.

- [0264] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물/인슐린 질량 비는 3이다.
- [0265] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물/인슐린 질량 비는 4이다.
- [0266] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물/인슐린 질량 비는 6이다.
- [0267] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물의 농도는 1.8 내지 36 mg/mL이다.
- [0268] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물의 농도는 1.8 내지 36.5 mg/mL이다.
- [0269] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물의 농도는 2.1 내지 25 mg/mL이다.
- [0270] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물의 농도는 4.2 내지 18 mg/mL이다.
- [0271] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물의 농도는 5.6 내지 15 mg/mL이다.
- [0272] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물의 농도는 7 내지 15 mg/mL이다.
- [0273] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물의 농도는 7.3 mg/mL이다.
- [0274] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물의 농도는 10.5 mg/mL이다.
- [0275] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물의 농도는 14.6 mg/mL이다.
- [0276] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물의 농도는 21.9 mg/mL이다.
- [0277] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물의 농도는 2 내지 150 mM이다.
- [0278] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물의 농도는 2 내지 100 mM이다.
- [0279] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물의 농도는 2 내지 75 mM이다.
- [0280] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물의 농도는 2 내지 50 mM이다.
- [0281] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물의 농도는 2 내지 30 mM이다.
- [0282] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물의 농도는 2 내지 20 mM이다.
- [0283] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물의 농도는 2 내지 10 mM이다.
- [0284] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물의 농도는 5 내지 150 mM이다.
- [0285] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물의 농도는 5 내지 100 mM이다.
- [0286] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물의 농도는 5 내지 75 mM이다.
- [0287] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물의 농도는 5 내지 50 mM이다.
- [0288] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물의 농도는 5 내지 30 mM이다.
- [0289] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물의 농도는 5 내지 20 mM이다.
- [0290] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물의 농도는 5 내지 10 mM이다.
- [0291] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물의 농도는 0.5 내지 30 mg/mL이다.
- [0292] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물의 농도는 0.5 내지 25 mg/mL이다.
- [0293] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물의 농도는 0.5 내지 10 mg/mL이다.
- [0294] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물의 농도는 0.5 내지 8 mg/mL이다.
- [0295] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물의 농도는 1 내지 30 mg/mL이다.
- [0296] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물의 농도는 1.5 내지 25 mg/mL이다.
- [0297] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물의 농도는 2 내지 25 mg/mL이다.
- [0298] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물의 농도는 2 내지 10 mg/mL이다.
- [0299] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물의 농도는 2 내지 8 mg/mL이다.

- [0300] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물은,  $u = 3$ ,  $i = 0.65$ ,  $j = 1.0$ 인, 나트륨 폐닐알라니네이트로 개질된 나트륨 말토트리오스메틸카복실레이트이다.
- [0301] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물은,  $u = 3$ ,  $i = 1.0$ ,  $j = 0.65$ 인, 나트륨 폐닐알라니네이트로 개질된 나트륨 말토트리오스메틸카복실레이트이다.
- [0302] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물은,  $u = 3$ ,  $i = 0.46$ ,  $j = 1.2$ 인, 나트륨 폐닐알라니네이트로 개질된 나트륨 말토트리오스메틸카복실레이트이다.
- [0303] 일구현예에서, 치환된 음이온성 화합물은,  $u = 3$ ,  $i = 0.35$ ,  $j = 0.65$ 인, 나트륨 폐닐알라니네이트로 개질된 나트륨 말토트리오스메틸카복실레이트이다.
- [0304] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물은 나트륨 말토트리오스메틸카복실레이트이다.
- [0305] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물은 나트륨 시트레이트이다.
- [0306] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물은 나트륨 염 또는 칼륨 염의 형태로의 산성 형태 또는 염기성 형태로의 트리포스페이트이다.
- [0307] 일구현예에서, 다가음이온성 화합물은 나트륨 염 또는 칼륨 염의 형태로의 산성 형태 또는 염기성 형태로의 타르트레이트이다.
- [0308] 본 발명은 또한 인슐린이 6량체 형태인, 본 발명에 따른 조성물을 포함하는 인슐린 약학 제형에 관한 것이다.
- [0309] 일구현예에서, 이것은 인슐린 농도가 240 내지 3000  $\mu\text{M}$  (40 내지 500 IU/mL)인 것을 특징으로 하는 약학 제형에 관한 것이다.
- [0310] 일구현예에서, 이것은 인슐린 농도가 600 내지 3000  $\mu\text{M}$  (100 내지 500 IU/mL)인 것을 특징으로 하는 약학 제형에 관한 것이다.
- [0311] 일구현예에서, 이것은 인슐린 농도가 600 내지 2400  $\mu\text{M}$  (100 내지 400 IU/mL)인 것을 특징으로 하는 약학 제형에 관한 것이다.
- [0312] 일구현예에서, 이것은 인슐린 농도가 600 내지 1800  $\mu\text{M}$  (100 내지 300 IU/mL)인 것을 특징으로 하는 약학 제형에 관한 것이다.
- [0313] 일구현예에서, 이것은 인슐린 농도가 600 내지 1200  $\mu\text{M}$  (100 내지 200 IU/mL)인 것을 특징으로 하는 약학 제형에 관한 것이다.
- [0314] 일구현예에서, 이것은 인슐린 농도가 600  $\mu\text{M}$  (100 IU/mL)인 것을 특징으로 하는 약학 제형에 관한 것이다.
- [0315] 일구현예에서, 이것은 인슐린 농도가 1200  $\mu\text{M}$  (200 IU/mL)인 것을 특징으로 하는 약학 제형에 관한 것이다.
- [0316] 일구현예에서, 이것은 인슐린 농도가 1800  $\mu\text{M}$  (300 IU/mL)인 것을 특징으로 하는 약학 제형에 관한 것이다.
- [0317] 일구현예에서, 이것은 인슐린 농도가 2400  $\mu\text{M}$  (400 IU/mL)인 것을 특징으로 하는 약학 제형에 관한 것이다.
- [0318] 일구현예에서, 이것은 인슐린 농도가 3000  $\mu\text{M}$  (500 IU/mL)인 것을 특징으로 하는 약학 제형에 관한 것이다.
- [0319] 본 발명은, 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물이 동일 또는 상이한 글리코시드 결합을 통해 연결된, 1 내지 8의 개별 갯수  $u$  ( $1 \leq u \leq 8$ )의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로부터 형성된 사카라이드 백본으로 이루어고, 상기 사카라이드 단위는 고리형 형태 또는 개방 환원된 형태로의 헥소스로 이루어진 군으로부터 선택되고, 상기 화합물은 부분적으로 치환된 카복실 관능기를 포함하며, 미치환된 카복실 관능기는 염형성이 가능하고, 치환된 음이온성 화합물, 및 임의로 음이온성 화합물이 없는 제형과 비교하여, 다가음이온성 화합물과 조합으로, 투여 후, 인슐린의 혈액 내로의 통과를 가속화할 수 있고 혈당을 더욱 빠르게 감소시킬 수 있는 인간 인슐린의 약학 제형을 제조하기 위한, 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물의 용도에 관한 것이다.
- [0320] 일구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물이 부분적으로 치환된 카복실 관능기를 포함하며, 미치환된 카복실 관능기는 염형성이 가능하고, 치환된 음이온성 화합물, 및 임의로 음이온성 화합물이 없는 제형과 비교하여, 다가음이온성 화합물과 조합으로, 투여 후, 인간 인슐린의 혈액 내로의 통과를 가속화할 수 있고 혈당을 더욱 빠르게 감소시킬 수 있는 인간 인슐린의 약학 제형을 제조하기 위한, 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물의 용도에 관한 것이다.

- [0321] 일구현예에서, 본 발명은 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물이 부분적으로 치환된 카복실 관능기를 포함하며, 미치환된 카복실 관능기는 염형성이 가능하고, 치환된 음이온성 화합물, 및 임의로 음이온성 화합물이 없는 제형과 비교하여, 다가음이온성 화합물과 조합으로, 투여 후, 인슐린 유사체의 혈액 내로의 통과를 가속화할 수 있고 혈당을 더욱 빠르게 감소시킬 수 있는 인슐린 유사체 제형을 제조하기 위한, 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물의 용도에 관한 것이다.
- [0322] 일구현예에서, 인슐린은 인간 인슐린이다.
- [0323] 용어 "인간 인슐린"은 그 웨티드 서열이 대립유전자 변이 및 상동을 포함하는 인간 인슐린의 서열인, 합성 또는 재조합에 의해 수득된 인슐린을 의미한다.
- [0324] 일구현예에서, 인슐린은 유럽 약전 및 미국 약전에 기재된 바와 같은 재조합 인간 인슐린이다.
- [0325] 일구현예에서, 인슐린은 인슐린 유사체이다.
- [0326] 용어 "인슐린 유사체"는 그 일차 서열이 인간 인슐린의 일차 서열에 대해 하나 이상의 변형을 함유하는 재조합 인슐린을 의미한다.
- [0327] 일구현예에서, 인슐린 유사체는 인슐린 리스프로(Humalog<sup>®</sup>), 인슐린 아스파르트(Novolog<sup>®</sup>, Novorapid<sup>®</sup>) 및 인슐린 글루리신(Apidra<sup>®</sup>)으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0328] 일구현예에서, 인슐린 유사체는 인슐린 리스프로(Humalog<sup>®</sup>)이다.
- [0329] 일구현예에서, 인슐린 유사체는 인슐린 아스파르트(Novolog<sup>®</sup>, Novorapid<sup>®</sup>)이다.
- [0330] 일구현예에서, 인슐린 유사체는 인슐린 글루리신(Apidra<sup>®</sup>)이다.
- [0331] 일구현예에서, 용도는 치환된 음이온성 화합물이 동일 또는 상이한 글리코시드 결합을 통해 연결된, 1 내지 8의 개별 갯수  $u$  ( $1 \leq u \leq 8$ )의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로부터 형성된 사카라이드 백본으로 이루어지는, 단리된 형태 또는 혼합물로서의 치환된 음이온성 화합물로부터 선택되고, 상기 사카라이드 단위는 고리형 형태 또는 개방 환원된 형태로의 헥소스로부터 선택되고, 상기 화합물이 하기로 치환되는 것을 특징으로 한다:
- [0332] a) 하기 일반 식 I의 하나 이상의 치환기:
- [0333]  $-[R_1]_a-[AA]_m$  식 I
- [0334] ● 2개 이상의 치환기가 있는 경우 치환기는 동일 또는 상이함, 상기 식에서:
- [0335] ● 라디칼  $-[AA]-$ 는 아미노산 잔기를 나타내고,
- [0336] ● 라디칼  $-R_1-$ 은:
- [0337] - 결합: 그러면  $a = 0$ 이고, 아미노산 잔기  $-[AA]-$ 는 관능기 G를 통해 백본에 직접 결합됨,
- [0338] - 또는  $C_2$  내지  $C_{15}$  탄소계 사슬이고, 그러면  $a = 1$ 이고, 이것은 임의로 치환되고/거나 O, N 및 S로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자 및 아미노산과의 반응 전에 하나 이상의 산 관능기를 포함하고, 상기 사슬은 아미노산 잔기  $-[AA]-$ 와 함께 아미드 관능기를 형성함, 상기 라디칼  $R_1$ 은 백본에 의해 발생되는 히드록실 관능기와 라디칼  $-R_1-$ 의 전구체에 의해 발생되는 관능기 또는 치환기 사이의 반응으로부터 생성되는 관능기 F에 의해 백본에 부착됨,
- [0339] ● F는 에테르, 에스테르 및 카바메이트 관능기이고,
- [0340] ● G는 카바메이트 관능기이고,
- [0341] ●  $m$ 은 1 또는 2이고,
- [0342] ● 사카라이드 단위의 치환도,  $j$ 는  $-[R_1]_a-[AA]_m$ 의 염격하게 0 초과 6이하인 것과 함께,  $0 < j \leq 6$ 임;

- [0343] b) 및, 임의로, 하나 이상의 치환기  $-R'_1$ ,
- [0344] ● 상기 치환기  $-R'_1$ 은 임의로 치환된 및/또는 O, N 및 S로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자 및 알칼리 금속 양이온 염의 형태의 하나 이상의 산 관능기를 포함하는 C<sub>2</sub> 내지 C<sub>15</sub> 탄소계 사슬이고, 상기 사슬은 백본에 의해 발생되는 히드록실 관능기와 치환기  $-R'_1$ -의 전구체에 의해 발생되는 관능기 또는 치환기 사이의 반응으로부터 생성되는 관능기 F'를 통해 백본에 결합됨,
- [0345] ● F'는 에테르, 에스테르 또는 카바메이트 관능기이고,
- [0346] ● 사카라이드 단위의 치환도, i는,  $-R'_1$ 이 0 내지 6-j인 것과 함께,  $0 \leq i \leq 6-j$ 이고,
- [0347] ● F 및 F'는 동일 또는 상이하고,
- [0348] ● F 및 G는 동일 또는 상이하고,
- [0349] ●  $i+j \leq 6$ 이고,
- [0350] ●  $-R'_1$ 은  $-R_1$ -과 동일 또는 상이하고,
- [0351] ● 치환기  $-R'_1$ -에 의해 발생되는 유리 염형성가능 (salifiable) 산 관능기는 알칼리 금속 양이온 염의 형태이고,
- [0352] ● 상기 동일 또는 상이할 수 있는 글리코시드 결합은 알파 또는 베타 기하학으로의, (1,1), (1,2), (1,3), (1,4) 또는 (1,6) 유형의 글리코시드 결합으로 이루어진 군으로부터 선택됨.
- [0353] 일구현예에서, 용도는 단리된 형태 또는 혼합물로서의 치환된 음이온성 화합물이 동일 또는 상이한 글리코시드 결합을 통해 연결된, 1 내지 8의 개별 갯수 u ( $1 \leq u \leq 8$ )의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로부터 형성된 사카라이드 백본으로 이루어지는 치환된 음이온성 화합물로부터 선택되고, 상기 사카라이드 단위는 고리형 형태 또는 개방 환원된 형태로의 핵소스로부터 선택되고,
- [0354] a) 상기 화합물이 하기로 랜덤으로 치환되는 것:
- [0355] ▷ 하기 일반 식 I의 하나 이상의 치환기:
- [0356]  $-[R_1]_a-[AA]_m$  식 I
- [0357] ● 2개 이상의 치환기가 있는 경우 치환기는 동일 또는 상이함, 상기 식에서:
- [0358] ● 라디칼  $-[AA]$ -는 아미노산 잔기를 나타내고, 상기 아미노산은 폐닐알라닌, 알파-메틸페닐알라닌, 3,4-디히드록시페닐알라닌, 티로신, 알파-메틸티로신, 0-메틸티로신, 알파-페닐글리신, 4-히드록시페닐글리신 및 3,5-디히드록시페닐글리신, 및 이의 알칼리 금속 양이온 염으로 이루어진 군으로부터 선택되고, 상기 유도체는 L 또는 D 절대 배열의 것임,  $-[AA]$ 는 링커(linker) 암(arm)  $-R_1$ -을 통해 문자의 백본에 부착되거나, 또는 관능기 G를 통해 백본에 직접 연결됨,
- [0359] ●  $-R_1$ -은:
- [0360] - 결합 G: 그러면  $a = 0$ 이고,
- [0361] - 또는 C<sub>2</sub> 내지 C<sub>15</sub> 탄소계 사슬이고, 그러면  $a = 1$ 이고, 이것은 임의로 치환되고/거나 O, N 및 S로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자를 포함하고 아미노산과의 반응 전에 하나 이상의 산 관능기를 갖고, 상기 사슬은 아미노산 잔기  $-[AA]$ -와 함께 아미드 결합을 형성함, 상기 라디칼 R<sub>1</sub>은 백본에 의해 발생되는 히드록실 관능기와 R<sub>1</sub>의 전구체에 의해 발생되는 관능기 사이의 반응으로부터 생성되는 관능기 F를 통해 사카라이드 백본에 부착됨,
- [0362] ● F는 에테르, 에스테르 또는 카바메이트 관능기이고,
- [0363] ● G는 카바메이트 관능기이고,
- [0364] ● m은 1 또는 2이고,

- [0365] ● 치환도,  $j$ 는  $-[R_1]_a - [AA]_m$ 이 업격하게 0 초과 6이하인 것과 함께,  $0 < j \leq 6$ 임;
- [0366] 및, 임의로,
- [0367] ▷ 하나 이상의 치환기  $-R'_1$ ,
- [0368] ● 상기  $-R'_1$ 은 임의로 치환된 및/또는 하나 이상의 헤테로원자(예컨대 O, N 및 S)를 포함하고 알칼리 금속 양이온 염의 형태의 하나 이상의 산 관능기를 갖는  $C_2$  내지  $C_{15}$  탄소계 사슬이고, 상기 사슬은 백본에 의해 발생되는 히드록실 관능기와  $-R'_1$ 의 전구체에 의해 발생되는 관능기 사이의 반응으로부터 생성되는 관능기  $F'$ 를 통해 사카라이드 백본에 부착됨,
- [0369] ●  $F'$ 는 에테르, 에스테르 또는 카바메이트 관능기이고,
- [0370] ● 치환도,  $i$ 는,  $-R'_1$ 이 0 내지  $6-j$ 인 것과 함께,  $0 \leq i \leq 6-j$ 이고,
- [0371] ●  $-R'_1$ 은  $-R_1$ 과 동일 또는 상이하고,
- [0372] ●  $F$  및  $F'$ 는 동일 또는 상이하고,
- [0373] ●  $F'$  및  $G$ 는 동일 또는 상이하고,
- [0374] ● 유리 염형성가능 산 관능기는 알칼리 금속 양이온 염의 형태이고,
- [0375] b) 상기 동일 또는 상이할 수 있는 글리코시드 결합은 알파 또는 베타 기하학으로의, (1,1), (1,2), (1,3), (1,4) 또는 (1,6) 유형의 글리코시드 결합으로 이루어진 군으로부터 선택됨,
- [0376] c)  $i + j \leq 6$ 임을 특징으로 한다.
- [0377] 일구현예에서,  $m$ 은 1이다.
- [0378] 일구현예에서, 동일 또는 상이할 수 있는  $-R_1$  및  $-R'_1$ 은  $C_1$  내지  $C_8$  탄소계 사슬이다.
- [0379] 일구현예에서, 동일 또는 상이할 수 있는  $-R_1$  및  $-R'_1$ 은  $C_1$  내지  $C_4$  탄소계 사슬이다.
- [0380] 일구현예에서, 동일 또는 상이할 수 있는  $-R_1$  및  $-R'_1$ 은  $C_1$  내지  $C_2$  탄소계 사슬이다.
- [0381] 인슐린의 작용 딜레이는 인슐린 농도에 따라 달라진다는 것이 당업자에게 공지되어 있다. 오직 100 IU/mL의 제형에 대해서만 작용 값의 딜레이가 기록된다.
- [0382] 600  $\mu M$  (100 IU/mL)이 농도로 시판중인 "레귤러(Regular)" 인간 인슐린 제형은 남성에서 50 내지 90분의 작용 딜레이 및 약 360 내지 420분의 작용 종결을 갖는다. 혈액에서 최대 인슐린 농도를 달성하는 시간은 남성에서 90 내지 180분이다.
- [0383] 600  $\mu M$  (100 IU/mL)이 농도로 시판중인 신속(Rapid) 인슐린 유사체 제형은 남성에서 30 내지 60분의 작용 딜레이 및 약 240 내지 300분의 작용 종결을 갖는다. 혈액에서 최대 인슐린 농도를 달성하는 시간은 남성에서 50 내지 90분이다.
- [0384] 본 발명은 또한, 남성에서의 이의 작용 딜레이가 치환된 음이온성 화합물 및 다가음이온성 화합물의 부재 하에 동일한 인슐린 농도의 참조 제형의 것보다 적은, 240 내지 3000  $\mu M$  (40 내지 500 IU/mL)의 인슐린 농도를 갖는 인간 인슐린 제형의 제조 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 (1) 상기 제형에 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물을 첨가하는 단계 (상기 화합물은 부분적으로 치환된 카복실 관능기를 포함하고, 미치환된 카복실 관능기는 염형성가능함), 및 (2) 상기 제형에 하나 이상의 다가음이온성 화합물을 첨가하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0385] 일구현예에서, 인슐린은 6량체 형태이다.
- [0386] 본 발명은 또한, 남성에서의 이의 작용 딜레이가 치환된 음이온성 화합물 및 다가음이온성 화합물의 부재 하에 동일한 인슐린 농도의 참조 제형의 것보다 적은, 600 내지 1200  $\mu M$  (100 내지 200 IU/mL)의 인슐린 농도를 갖는 인간 인슐린 제형의 제조 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 (1) 상기 제형에 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물을 첨가하는 단계 (상기 화합물은 부분적으로 치환된 카복실 관능기를 포함하고, 미치환된 카복실 관능기

는 염형성가능함), 및 (2) 상기 제형에 하나 이상의 다가음이온성 화합물을 첨가하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0387] 일구현예에서, 인슐린은 6량체 형태이다.

본 발명은 또한, 남성에서의 이의 작용 딜레이가 60분 미만인,  $600 \mu\text{M}$  ( $100 \text{ IU/mL}$ )의 인슐린 농도를 갖는 인간 인슐린 제형의 제조 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 (1) 상기 제형에 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물을 첨가하는 단계 (상기 화합물은 부분적으로 치환된 카복실 관능기를 포함하고, 미치환된 카복실 관능기는 염형성 가능함), 및 (2) 상기 제형에 하나 이상의 다가음이온성 화합물을 첨가하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0389] 일구현예에서, 인슐린은 6량체 형태이다.

[0390] 본 발명은 또한, 남성에서의 이의 작용 딜레이가 치환된 음이온성 화합물 및 다가음이온성 화합물의 부재 하에 동일한 농도( $200 \text{ IU/mL}$ )의 인간 인슐린 제형의 것보다 적어도 10% 미만인,  $1200 \mu\text{M}$  ( $200 \text{ IU/mL}$ )의 인슐린 농도를 갖는 인간 인슐린 제형의 제조 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 (1) 상기 제형에 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물을 첨가하는 단계 (상기 화합물은 부분적으로 치환된 카복실 관능기를 포함하고, 미치환된 카복실 관능기는 염형성 가능함), 및 (2) 상기 제형에 하나 이상의 다가음이온성 화합물을 첨가하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0391] 일구현예에서, 인슐린은 6량체 형태이다.

[0392] 본 발명은 또한, 남성에서의 이의 작용 딜레이가 치환된 음이온성 화합물 및 다가음이온성 화합물의 부재 하에 동일한 농도( $300 \text{ IU/mL}$ )의 인간 인슐린 제형의 것보다 적어도 10% 미만인,  $1800 \mu\text{M}$  ( $300 \text{ IU/mL}$ )의 인슐린 농도를 갖는 인간 인슐린 제형의 제조 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 (1) 상기 제형에 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물을 첨가하는 단계 (상기 화합물은 부분적으로 치환된 카복실 관능기를 포함하고, 미치환된 카복실 관능기는 염형성 가능함), 및 (2) 상기 제형에 하나 이상의 다가음이온성 화합물을 첨가하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0393] 일구현예에서, 인슐린은 6량체 형태이다.

[0394] 본 발명은 또한, 남성에서의 이의 작용 딜레이가 치환된 음이온성 화합물 및 다가음이온성 화합물의 부재 하에 동일한 농도( $400 \text{ IU/mL}$ )의 인간 인슐린 제형의 것보다 적어도 10% 미만인,  $2400 \mu\text{M}$  ( $400 \text{ IU/mL}$ )의 인슐린 농도를 갖는 인간 인슐린 제형의 제조 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 (1) 상기 제형에 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물을 첨가하는 단계 (상기 화합물은 부분적으로 치환된 카복실 관능기를 포함하고, 미치환된 카복실 관능기는 염형성 가능함), 및 (2) 상기 제형에 하나 이상의 다가음이온성 화합물을 첨가하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0395] 일구현예에서, 인슐린은 6량체 형태이다.

[0396] 본 발명은 또한, 남성에서의 이의 작용 딜레이가 치환된 음이온성 화합물 및 다가음이온성 화합물의 부재 하에 동일한 농도( $500 \text{ IU/mL}$ )의 인간 인슐린 제형의 것보다 적어도 10% 미만인,  $3000 \mu\text{M}$  ( $500 \text{ IU/mL}$ )의 인슐린 농도를 갖는 인간 인슐린 제형의 제조 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 (1) 상기 제형에 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물을 첨가하는 단계 (상기 화합물은 부분적으로 치환된 카복실 관능기를 포함하고, 미치환된 카복실 관능기는 염형성 가능함), 및 (2) 상기 제형에 하나 이상의 다가음이온성 화합물을 첨가하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0397] 일구현예에서, 인슐린은 6량체 형태이다.

[0398] 본 발명은 급속 인간 인슐린 제형의 제조로 이루어지며, 이것이 (1) 상기 제형에 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물을 첨가하는 단계 (상기 화합물은 부분적으로 치환된 카복실 관능기를 포함하고, 미치환된 카복실 관능기는 염형성 가능함), 및 (2) 상기 제형에 하나 이상의 다가음이온성 화합물을 첨가하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0399] 일구현예에서, 인슐린은 6량체 형태이다.

[0400] 본 발명은 또한, 남성에서의 이의 작용 딜레이가 60분 미만, 바람직하게는 45분 미만, 더욱 바람직하게는 30분 미만인,  $600 \mu\text{M}$  ( $100 \text{ IU/mL}$ )의 농도를 갖는 인간 인슐린 제형의 제조 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 (1) 상기 제형에 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물을 첨가하는 단계 (상기 화합물은 부분적으로 치환된 카복실 관

능기를 포함하고, 미치환된 카복실 관능기는 염형성가능함), 및 (2) 상기 제형에 하나 이상의 다가음이온성 화합물을 첨가하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0401] 일구현예에서, 인슐린은 6량체 형태이다.

본 발명은 또한, 남성에서의 이의 작용 딜레이가 치환된 음이온성 화합물 및 다가음이온성 화합물의 부재 하에 동일한 인슐린 농도의 참조 제형의 것보다 적은, 240 내지 3000  $\mu\text{M}$  (40 내지 500 IU/mL)의 인슐린 농도를 갖는 인슐린 유사체 제형의 제조 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 (1) 상기 제형에 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물을 첨가하는 단계 (상기 화합물은 부분적으로 치환된 카복실 관능기를 포함하고, 미치환된 카복실 관능기는 염형성가능함), 및 (2) 상기 제형에 하나 이상의 다가음이온성 화합물을 첨가하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0403] 일구현예에서, 인슐린은 6량체 형태이다.

본 발명은 또한, 남성에서의 이의 작용 딜레이가 치환된 음이온성 화합물 및 다가음이온성 화합물의 부재 하에 동일한 인슐린 유사체 농도의 참조 제형의 것보다 적은, 600 내지 1200  $\mu\text{M}$  (100 내지 200 IU/mL)의 인슐린 농도를 갖는 인슐린 유사체 제형의 제조 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 (1) 상기 제형에 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물을 첨가하는 단계 (상기 화합물은 부분적으로 치환된 카복실 관능기를 포함하고, 미치환된 카복실 관능기는 염형성가능함), 및 (2) 상기 제형에 하나 이상의 다가음이온성 화합물을 첨가하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0405] 일구현예에서, 인슐린은 6량체 형태이다.

본 발명은 또한, 남성에서의 이의 작용 딜레이가 30분 미만인, 600  $\mu\text{M}$  (100 IU/mL)의 인슐린 농도를 갖는 인슐린 유사체 제형의 제조 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 (1) 상기 제형에 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물을 첨가하는 단계 (상기 화합물은 부분적으로 치환된 카복실 관능기를 포함하고, 미치환된 카복실 관능기는 염형성가능함), 및 (2) 상기 제형에 하나 이상의 다가음이온성 화합물을 첨가하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0407] 일구현예에서, 인슐린은 6량체 형태이다.

본 발명은 또한, 남성에서의 이의 작용 딜레이가 치환된 음이온성 화합물 및 다가음이온성 화합물의 부재 하에 인슐린 유사체 제형의 것보다 적어도 10% 미만인, 1200  $\mu\text{M}$  (200 IU/mL)의 인슐린 농도를 갖는 인슐린 유사체 제형의 제조 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 (1) 상기 제형에 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물을 첨가하는 단계 (상기 화합물은 부분적으로 치환된 카복실 관능기를 포함하고, 미치환된 카복실 관능기는 염형성가능함), 및 (2) 상기 제형에 하나 이상의 다가음이온성 화합물을 첨가하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0409] 일구현예에서, 인슐린은 6량체 형태이다.

본 발명은 또한, 남성에서의 이의 작용 딜레이가 치환된 음이온성 화합물 및 다가음이온성 화합물의 부재 하에 인슐린 유사체 제형의 것보다 적어도 10% 미만인, 1800  $\mu\text{M}$  (300 IU/mL)의 인슐린 농도를 갖는 인슐린 유사체 제형의 제조 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 (1) 상기 제형에 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물을 첨가하는 단계 (상기 화합물은 부분적으로 치환된 카복실 관능기를 포함하고, 미치환된 카복실 관능기는 염형성가능함), 및 (2) 상기 제형에 하나 이상의 다가음이온성 화합물을 첨가하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0411] 일구현예에서, 인슐린은 6량체 형태이다.

본 발명은 또한, 남성에서의 이의 작용 딜레이가 치환된 음이온성 화합물 및 다가음이온성 화합물의 부재 하에 인슐린 유사체 제형의 것보다 적어도 10% 미만인, 2400  $\mu\text{M}$  (400 IU/mL)의 인슐린 농도를 갖는 인슐린 유사체 제형의 제조 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 (1) 상기 제형에 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물을 첨가하는 단계 (상기 화합물은 부분적으로 치환된 카복실 관능기를 포함하고, 미치환된 카복실 관능기는 염형성가능함), 및 (2) 상기 제형에 하나 이상의 다가음이온성 화합물을 첨가하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0413] 일구현예에서, 인슐린은 6량체 형태이다.

본 발명은 또한, 남성에서의 이의 작용 딜레이가 치환된 음이온성 화합물 및 다가음이온성 화합물의 부재 하에

인슐린 유사체 제형의 것보다 적어도 10% 미만인, 3000  $\mu\text{M}$  (500 IU/mL)의 인슐린 농도를 갖는 인슐린 유사체 제형의 제조 방법에 관한 것으로, 상기 방법은 (1) 상기 제형에 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물을 첨가하는 단계 (상기 화합물은 부분적으로 치환된 카복실 관능기를 포함하고, 미치환된 카복실 관능기는 염형성가능함), 및 (2) 상기 제형에 하나 이상의 다가음이온성 화합물을 첨가하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0415] 일구현예에서, 인슐린은 6량체 형태이다.

[0416] 본 발명은 상기 제형에 하나 이상의 치환된 음이온성 화합물을 첨가하는 단계 (상기 화합물은 부분적으로 치환된 카복실 관능기를 포함하고, 미치환된 카복실 관능기는 염형성가능함)를 포함하는 것을 특징으로 하는, 매우 신속 인슐린 유사체 제형의 제조로 이루어진다.

[0417] 일구현예에서, 제조는 또한 상기 제형에 하나 이상의 다가음이온성 화합물을 첨가하는 단계를 포함한다.

[0418] 일구현예에서, 인슐린은 6량체 형태이다.

[0419] 일구현예에서, 인슐린 유사체는 인슐린 리스프로(Humalog<sup>®</sup>), 인슐린 아스파르트(Novolog<sup>®</sup>, Novorapid<sup>®</sup>) 및 인슐린 글루리신(Apidra<sup>®</sup>)으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0420] 일구현예에서, 인슐린 유사체는 인슐린 리스프로(Humalog<sup>®</sup>)이다.

[0421] 일구현예에서, 인슐린 유사체는 인슐린 아스파르트(Novolog<sup>®</sup>, Novorapid<sup>®</sup>)이다.

[0422] 일구현예에서, 인슐린 유사체는 인슐린 글루리신(Apidra<sup>®</sup>)이다.

[0423] 일구현예에서, 인슐린은 유럽 약전 및 미국 약전에 기재된 바와 같은 재조합 인간 인슐린이다.

[0424] 일구현예에서, 인슐린은 인슐린 리스프로(Humalog<sup>®</sup>), 인슐린 아스파르트(Novolog<sup>®</sup>, Novorapid<sup>®</sup>) 및 인슐린 글루리신(Apidra<sup>®</sup>)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 인슐린 유사체이다.

[0425] 조성물은 추가로 인간 인슐린 또는 인슐린 유사체의 수용액 및 다가음이온성 화합물과의 혼합물로서의 치환된 음이온성 화합물의 수용액의 간단한 혼합에 의해 제조될 수 있다.

[0426] 일구현예에서, 조성물은 인간 인슐린 또는 인슐린 유사체의 수용액, 치환된 음이온성 화합물의 수용액 및 용액 또는 동결건조물 형태로의 다가음이온성 화합물의 간단한 혼합에 의해 제조될 수 있다.

[0427] 일구현예에서, 조성물은 인간 인슐린 또는 인슐린 유사체의 수용액, 동결건조물 형태로의 치환된 음이온성 화합물 및 용액 또는 동결건조물 형태로의 다가음이온성 화합물의 간단한 혼합에 의해 제조될 수 있다.

[0428] 바람직하게는, 상기 조성물은 주사가능 용액의 형태이다.

[0429] 일구현예에서, 인간 인슐린 또는 인슐린 유사체의 농도는 240 내지 3000  $\mu\text{M}$  (40 내지 500 IU/mL)이다.

[0430] 일구현예에서, 인간 인슐린 또는 인슐린 유사체의 농도는 600 내지 3000  $\mu\text{M}$  (100 내지 500 IU/mL)이다.

[0431] 일구현예에서, 인간 인슐린 또는 인슐린 유사체의 농도는 600 내지 2400  $\mu\text{M}$  (100 내지 400 IU/mL)이다.

[0432] 일구현예에서, 인간 인슐린 또는 인슐린 유사체의 농도는 600 내지 1800  $\mu\text{M}$  (100 내지 300 IU/mL)이다.

[0433] 일구현예에서, 인간 인슐린 또는 인슐린 유사체의 농도는 600 내지 1200  $\mu\text{M}$  (100 내지 200 IU/mL)이다.

[0434] 일구현예에서, 인간 인슐린 또는 인슐린 유사체의 농도는 600  $\mu\text{M}$  (100 IU/mL)이다.

[0435] 일구현예에서, 인간 인슐린 또는 인슐린 유사체의 농도는 1200  $\mu\text{M}$  (200 IU/mL)이다.

[0436] 일구현예에서, 600  $\mu\text{M}$  (100 IU/mL)의 인간 인슐린 또는 인슐린 유사체의 농도는, 특히 소아과 적용을 위해, 간단한 희석에 의해 감소될 수 있다.

[0437] 일구현예에서, 인간 인슐린 또는 인슐린 유사체의 농도는 1800  $\mu\text{M}$  (300 IU/mL)이다.

[0438] 일구현예에서, 인간 인슐린 또는 인슐린 유사체의 농도는 2400  $\mu\text{M}$  (400 IU/mL)이다.

- [0439] 일구현예에서, 인간 인슐린 또는 인슐린 유사체의 농도는 3000  $\mu\text{M}$  (500 IU/mL)이다.
- [0440] 본 발명은 또한 건조 및/또는 동결건조에 의해 수득되는 것을 특징으로 하는 본 발명에 따른 약학 제형에 관한 것이다.
- [0441] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 또한 0 내지 500  $\mu\text{M}$ 의 농도로 아연 염의 첨가를 포함한다.
- [0442] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 또한 0 내지 300  $\mu\text{M}$ 의 농도로 아연 염의 첨가를 포함한다.
- [0443] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 또한 0 내지 200  $\mu\text{M}$ 의 농도로 아연 염의 첨가를 포함한다.
- [0444] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 0 내지 100 mM, 바람직하게는 0 내지 50 mM 또는 15 내지 50 mM의 농도로 완충제를 포함한다.
- [0445] 일구현예에서, 완충제는 Tris이다.
- [0446] 일구현예에서, 본 발명에 따른 조성물은 또한 보존제를 포함한다.
- [0447] 일구현예에서, 보존제는 단독 또는 혼합물로서, m-크레솔 및 페놀로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0448] 일구현예에서, 보존제의 농도는 10 내지 50 mM이다.
- [0449] 일구현예에서, 보존제의 농도는 10 내지 40 mM이다.
- [0450] 본 발명에 따른 조성물은 또한 첨가제, 예컨대 긴장제(tonicity agent), 예를 들어 글리세롤, 염화나트륨(NaCl), 만니톨 및 글리신을 포함할 수 있다.
- [0451] 본 발명에 따른 조성물은 또한 약전에 따른 첨가제, 예를 들어 계면활성제, 예를 들어 폴리소르베이트를 포함할 수 있다.
- [0452] 본 발명에 따른 조성물은 또한 작동 농도에서 사용되는 인슐린과 상용성인 약전에 따른 임의의 부형제를 포함할 수 있다.
- [0453] 국부적 및 전신적 방출의 경우, 구상되는 투여 방식은 정맥 내, 폐하, 피부 내 또는 근육 내이다.
- [0454] 경피, 경구, 비강, 질, 안구, 구강 및 폐 투여 경로로 또한 구상된다.
- [0455] 본 발명은 또한 이식가능 또는 이송가능 인슐린 펌프에 대해 의도되는 100 IU/mL의 농도의 인간 인슐린 또는 인슐린 유사체의 용액의 제형을 위한 본 발명에 따른 조성물의 용도에 관한 것이다.
- [0456] 본 발명은 또한 이식가능 또는 이송가능 인슐린 펌프에 대해 의도되는 200 IU/mL의 농도의 인간 인슐린 또는 인슐린 유사체의 용액의 제형을 위한 본 발명에 따른 조성물의 용도에 관한 것이다.
- [0457] 본 발명은 또한 동일 또는 상이한 글리코시드 결합을 통해 연결된, 1 내지 8의 개별 갯수  $u$  ( $1 \leq u \leq 8$ )의 동일 또는 상이한 사카라이드 단위로부터 형성된 사카라이드 백본으로 이루어지는 치환된 음이온성 화합물로부터 선택되는, 단리된 형태 또는 혼합물로서의 치환된 음이온성 화합물에 관한 것으로, 상기 사카라이드 단위는 고리형 형태 또는 개방 환원된 형태로의 헥소스로 이루어진 군으로부터 선택되고, 상기 화합물이 하기로 치환되는 것을 특징으로 한다:
- [0458] a) 하기 일반 식 I의 하나 이상의 치환기:
- [0459]  $-[R_1]_a-[AA]_m$  식 I
- [0460] ● 2개 이상의 치환기가 있는 경우 치환기는 동일 또는 상이함, 상기 식에서:
- [0461] ● 라디칼  $-[AA]-$ 는 아미노산 잔기를 나타내고,
- [0462] ● 라디칼  $-R_1-$ 은:
- [0463] - 결합: 그러면  $a = 0$ 이고, 아미노산 잔기  $-[AA]-$ 는 관능기 G를 통해 백본에 직접 결합됨,
- [0464] - 또는  $C_2$  내지  $C_{15}$  탄소계 사슬이고, 그러면  $a = 1$ 이고, 이것은 임의로 치환되고/거나 0, N 및 S로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자 및 아미노산과의 반응 전에 하나 이상의 산 관능기를 포함하고, 상기 사슬은 아미노산 잔기  $-[AA]-$ 와 함께 아미드 관능기를 형성함, 상기 라디칼  $R_1$ 은 백본에 의해 발생되는 히드록실 관능

기와 라디칼  $-R_1-$ 의 전구체에 의해 발생되는 관능기 또는 치환기 사이의 반응으로부터 생성되는 관능기 F에 의해 백본에 부착됨,

- [0465] ● F는 에테르, 에스테르 및 카바메이트 관능기이고,
- [0466] ● G는 카바메이트 관능기이고,
- [0467] ● m은 1 또는 2이고,
- [0468] ● 사카라이드 단위의 치환도, j는  $-[R_1]_a-[AA]_m^o$  염격하게 0 초과 6이하인 것과 함께,  $0 < j \leq 6$ 임;
- [0469] b) 및, 임의로, 하나 이상의 치환기  $-R'_1$ ,
- [0470] ● 상기 치환기  $-R'_1$ 은 임의로 치환된 및/또는 0, N 및 S로부터 선택되는 하나 이상의 헤테로원자 및 알칼리 금속 양이온 염의 형태의 하나 이상의 산 관능기를 포함하는 C<sub>2</sub> 내지 C<sub>15</sub> 탄소계 사슬이고, 상기 사슬은 백본에 의해 발생되는 히드록실 관능기와 치환기  $-R_1-$ 의 전구체에 의해 발생되는 관능기 또는 치환기 사이의 반응으로부터 생성되는 관능기 F'를 통해 백본에 결합됨,
- [0471] ● F'는 에테르, 에스테르 또는 카바메이트 관능기이고,
- [0472] ● 사카라이드 단위의 치환도, i는,  $-R'_1$ 이 0 내지 6-j인 것과 함께,  $0 \leq i \leq 6-j$ 이고,
- [0473] ● F 및 F'는 동일 또는 상이하고,
- [0474] ● F 및 G는 동일 또는 상이하고,
- [0475] ●  $i+j \leq 6$ 이고,
- [0476] ●  $-R'_1$ 은  $-R_1-$ 과 동일 또는 상이하고,
- [0477] ● 치환기  $-R'_1$ -에 의해 발생되는 유리 염형성가능 (salifiable) 산 관능기는 알칼리 금속 양이온 염의 형태이고,
- [0478] ● 상기 동일 또는 상이할 수 있는 글리코시드 결합은 알파 또는 베타 기하학으로의, (1,1), (1,2), (1,3), (1,4) 또는 (1,6) 유형의 글리코시드 결합으로 이루어진 군으로부터 선택됨.
- [0479] 상기 식에서, 상이한 변수는 상기 언급된 값을 갖는다.
- [0480] 본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물은 사카라이드 백본 상의 치환기의 랜덤 그래프팅에 의해 수득될 수 있다.
- [0481] 일구현예에서, 식 I 또는 II의 치환기로 치환된 음이온성 화합물로부터 선택된 치환된 음이온성 화합물은 이들이 백본에 의해 자연적으로 발생하는 알코올 또는 카복실산 기의 보호/탈보호 단계를 이행하는 방법에 의해 사카라이드 단위 상의 정확한 위치에 치환기를 그래프팅함으로써 수득될 수 있는 것을 특징으로 한다. 상기 전략은 백본 상의 치환기의 선택적인 그래프팅, 특히 위치선택적인 그래프팅을 야기한다. 보호기는 제한 없이 공개 문헌 (Wuts, P.G.M. et al., Greene's Protective Groups in Organic Synthesis 2007)에 기재된 보호기들을 포함한다.
- [0482] 사카라이드 백본은 고분자량 폴리사카라이드의 분해에 의해 수득될 수 있다. 분해 경로는 제한 없이, 화학적 분해 및/또는 효소적 분해를 포함한다.
- [0483] 사카라이드 백본은 또한 효소적 또는 화학적 커플링 전략을 사용하여 모노사카라이드 또는 올리고사카라이드 분자 사이에 글리코시드 결합의 형성에 의해 수득될 수 있다. 커플링 전략은 공개문헌 (Smooth, J.T. et al., Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry 2009, 62, 162-250) 및 공개문헌 (Lindhorst, T.K., Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry 2007, 157-208)에 기재된 것들을 포함한다. 커플링 반응은 용액에서 또는 고체 지지체 상에서 수행될 수 있다. 커플링 전의 사카라이드 분자는 관심의 치환기를 가질 수 있고/거나 일단 랜덤으로 또는 위치선택적으로, 함께 커플링되면 관능화될 수 있다.
- [0484] 따라서, 예를 들어, 본 발명에 따른 화합물은 하기 과정 중 하나에 따라 수득될 수 있다:

- [0485] ● 사카라이드 백분 상에 치환기의 랜덤 그래프팅;
- [0486] ● 치환기를 가지는 모노사카라이드 또는 올리고사카라이드 분자 사이의 하나 이상의 글리코실화 단계;
- [0487] ● 치환기를 가지는 하나 이상의 모노사카라이드 또는 올리고사카라이드 분자와 하나 이상의 모노사카라이드 또는 올리고사카라이드 분자 사이의 하나 이상의 글리코실화 단계;
- [0488] ● 사카라이드 백분에 의해 자연적으로 발생되는 알코올 또는 산 상에 보호기를 도입하는 하나 이상의 단계, 이후 하나 이상의 치환기 그래프팅 반응 및, 최종적으로 보호기의 제거 단계;
- [0489] ● 사카라이드 백분에 의해 자연적으로 발생되는 알코올 또는 산 상에 보호기를 가지고 있는 하나 이상의 모노사카라이드 또는 올리고사카라이드 분자 사이의 하나 이상의 글리코실화 단계, 수득된 백분 상의 치환기의 하나 이상의 그래프팅 단계, 이후 보호기의 제거 단계;
- [0490] ● 사카라이드 백분에 의해 자연적으로 발생되는 알코올 또는 산 상에 보호기를 가지고 있는 하나 이상의 모노사카라이드 또는 올리고사카라이드 분자, 및 하나 이상의 모노사카라이드 또는 올리고사카라이드 분자 사이의 하나 이상의 글리코실화 단계, 하나 이상의 치환기 그래프팅 단계, 및 이후 보호기의 제거 단계.
- [0491] 단리된 또는 혼합물로서의 본 발명에 따른 화합물은 이들이 특히 상기 기재된 방법에 의해 수득된 후 다양한 방식으로 분리 및/또는 정제될 수 있다.
- [0492] 특히 하기와 같은, 크로마토그래피 방법, 특히 "분취용" 방법이 언급될 수 있다:
- [0493] ● 속성 크로마토그래피, 특히 실리카 상의 속성 크로마토그래피, 및
- [0494] ● HPLC(고성능 액체 크로마토그래피), 특히 RP-HPLC(역상 HPLC)와 같은 크로마토그래피.
- [0495] 선택적인 침전 방법이 또한 사용될 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

- [0496] 본원 실시예 B2 및 B8에 기재된 제형을 이용해 수득된 약역학적 결과를 도 1에 제시한다.
- 본원 실시예 B2 및 B8에 기재된 제형을 이용해 수득된 약동학적 결과를 도 2에 제시한다.
- 본원 실시예 B2 및 B10에 기재된 제형을 이용해 수득된 약역학적 결과를 도 3에 제시한다.
- 본원 실시예 B2 및 B10에 기재된 제형을 이용해 수득된 약동학적 결과를 도 4에 제시한다.
- 본원 실시예 B2 및 B7에 기재된 제형을 이용해 수득된 약역학적 결과를 도 5에 제시한다.
- 본원 실시예 B2 및 B7에 기재된 제형을 이용해 수득된 약동학적 결과를 도 6에 제시한다.
- 본원 실시예 B1 및 B3에 기재된 제형을 이용해 수득된 약역학적 결과를 도 7에 제시한다.
- 본원 실시예 B1 및 B3에 기재된 제형을 이용해 수득된 약동학적 결과를 도 8에 제시한다.
- 본원 실시예 B1 및 B39에 기재된 제형을 이용해 수득된 약역학적 결과를 도 9에 제시한다.
- 본원 실시예 B1 및 B39에 기재된 제형을 이용해 수득된 약동학적 결과를 도 10에 제시한다.
- 도 11은 본원 실시예 D1(화합물 1의 존재 하에 원편광 이색성에 의해 평가된 리스프로 인슐린의 연합 상태)에 관한 결과를 나타낸다.
- 도 12는 본원 실시예 D2(화합물 1의 존재 하에 원편광 이색성에 의해 평가된 인간 인슐린의 연합 상태)에 관한 결과를 나타낸다.
- 본원 실시예 B2 및 B11에 기재된 제형을 이용해 수득된 약역학적 결과를 도 13에 제시한다.
- 본원 실시예 B2 및 B11에 기재된 제형을 이용해 수득된 약동학적 결과를 도 14에 제시한다.
- 본원 실시예 B1 및 B38에 기재된 제형을 이용해 수득된 약역학적 결과를 도 15에 제시한다.
- 본원 실시예 B1 및 B38에 기재된 제형을 이용해 수득된 약동학적 결과를 도 16에 제시한다.
- 본원 실시예 B1 및 B53에 기재된 제형을 이용해 수득된 약역학적 결과를 도 17에 제시한다.

본원 실시예 B1 및 B53에 기재된 제형을 이용해 수득된 약동학적 결과를 도 18에 제시한다.

도 19는 본원 실시예 D3의 수득된 결과를 제시한다. 상기 도에는 x-축에 :

- A: 리스프로 인슐린 (100 IU/mL)
- B: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 2
- C: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 2 + 시트레이트(9.3 mM)
- D: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 1
- E: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 1 + 시트레이트(9.3 mM)
- F: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 3
- G: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 3 + 시트레이트(9.3 mM)
- H: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 4
- I: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 4 + 시트레이트(9.3 mM)
- J: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 5
- K: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 5 + 시트레이트(9.3 mM)
- L: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 6
- M: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 6 + 시트레이트(9.3 mM)
- N: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 7
- O: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 7 + 시트레이트(9.3 mM)
- P: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 8
- Q: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 8 + 시트레이트(9.3 mM)
- R: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 9
- S: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 9 + 시트레이트(9.3 mM)
- T: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 10
- U: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 10 + 시트레이트(9.3 mM)
- V: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 11
- W: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 11 + 시트레이트(9.3 mM)

y-축에 251 nm에서의 원편광 이색성 신호( $\text{deg} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{dmol}^{-1}$ )를 제시한다.

도 20은 본원 실시예 D4에서 수득된 결과를 제시한다. 상기 도에는 x-축에 :

- A: 인간 인슐린 (100 IU/mL)
- B: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 2
- C: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 2 + 시트레이트(9.3 mM)
- D: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 1
- E: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 1 + 시트레이트(9.3 mM)
- F: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 3
- G: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 3 + 시트레이트(9.3 mM)
- H: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 4

- I: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 4 + 시트레이트(9.3 mM)
- J: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 5
- K: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 5 + 시트레이트(9.3 mM)
- L: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 6
- M: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 6 + 시트레이트(9.3 mM)
- N: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 7
- O: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 7 + 시트레이트(9.3 mM)
- P: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 8
- Q: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 8 + 시트레이트(9.3 mM)
- R: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 9
- S: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 9 + 시트레이트(9.3 mM)
- T: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 10
- U: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 10 + 시트레이트(9.3 mM)
- V: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 11
- W: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 11 + 시트레이트(9.3 mM)

y-축에 275 nm에서의 원편광 이색성 신호( $\text{deg} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{dmol}^{-1}$ )를 제시한다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0497]

본 발명은 하기 실시예에 의해 설명된다.

[0498]

실시예

[0499]

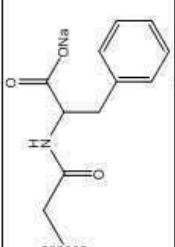
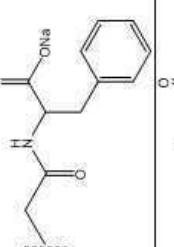
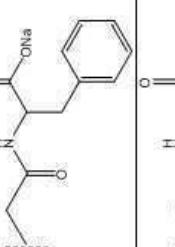
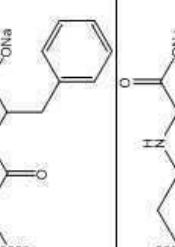
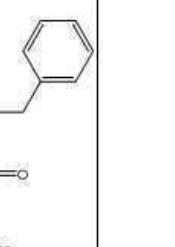
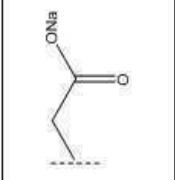
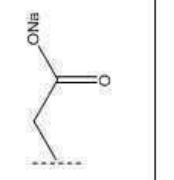
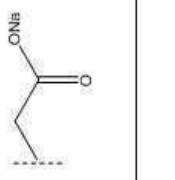
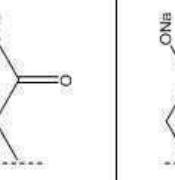
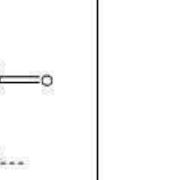
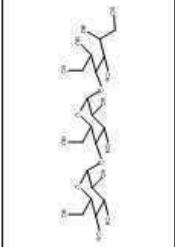
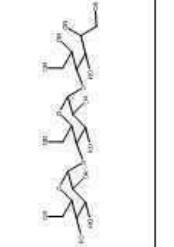
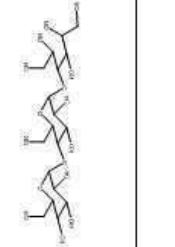
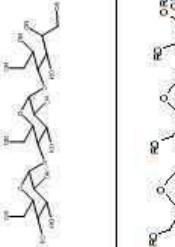
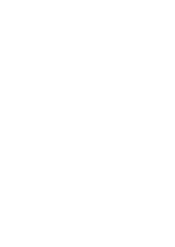
본 발명에 따른 치환된 음이온성 화합물의 구조는 하기 표 1에 제시된다. 폴리사카라이드 반대예의 구조는 하기 표 2에 제시된다.

표 1

화합물	i	j	사카라이드 사슬	산화기		$\frac{1}{\lambda} \text{ (단위)}$
				-R'₁	$-\text{[R}'₁]_a - [\text{AA}]_m$	
1	0.65	1.0				
2		1.0				
3	0.46	1.2				

$R = H, R'₁, -[R']_a - [AA]_m$

### AA 치환된 음이온성 화합물을

4	0.35 0.65	1.25 0.4	0.8 0.65	2.65 0.65	1.0 0.75
					
					
					

[0501]

9	1.0 0.65	1.0 0.83	1.1 1.12 0.52
10			
11			

[0502]

표 2

폴리사카라이드 반대예	i	j	사카라이드 사슬	증량-평균 몰 질량 (kg/mol)	치환기 - R'₁	치환기 - [R₁]ₘ - [AA]ₘ
폴리사카라이드 반대예 AB₁, AB₂, AB₃, AB₄ 및 AB₅; R = H, R'₁, -[R₁]ₘ - [AA]ₘ						
AB₁	0.6	0.46		10		
AB₂	1.01	0.64		5		
AB₃	0.65	0.45		5		

AB 폴리사카라이드 반대예

10	5
0.64 1.01	0.65 0.45
AB4	AB5

[0504]

**AA1. 화합물 1: 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 말토트리오스메틸카복실레이트**

물에 용해된 8 g(143 mmol)의 히드록실 관능기)의 말토트리오스(CarboSynth)에 65°C에서 0.6 g(16 mmol)의 나트륨 보로히드라이드를 첨가한다. 30분 동안 교반 후, 28 g(238 mmol)의 나트륨 클로로아세테이트를 첨가한다. 이후 상기 용액에 24 ml의 10N NaOH(24 mmol)를 적가한 다음, 혼합물을 65°C에서 90분 동안 가열한다. 16.6g(143 mmol)의 나트륨 클로로아세테이트를 이후 반응 매질에, 14 ml의 10N NaOH (14 mmol)의 적가와 함께, 첨가한다. 1시간 동안 가열 후, 혼합물을 물로 희석하고, 아세트산으로 중화한 다음, 물에 대향하여 1 kDa PES 맴브레인상에 초여과함으로써 정제한다. 최종 용액의 분자 농도를 건조 추출에 의해 측정한 다음, 50/50(V/V) 물/아세톤 혼합물 중의 산/염기 어세이를 실시하여 메틸카복실레이트로의 치환도를 측정한다.

[0507]

건조 추출에 따르면: [화합물] = 32.9 mg/g.

[0508]

산/염기 어세이에 따르면, 메틸카복실레이트로의 치환도는 사카라이드 단위 당 1.65이다.

[0509]

나트륨 말토트리오스메틸카복실레이트 용액을 Purolite 수지 (음이온성) 상에서 산성화시켜, 말토트리오스메틸

카복실산을 수득하고 이것을 이후 18시간 동안 동결건조한다.

[0510] 10 g의 말토트리오스메틸카복실산(63 mmol의 메틸카복실산 관능기)을 DMF에 용해시킨 다음, 0°C로 냉각시킨다. DMF 중의 에틸 폐닐알라니네이트, 히드로클로라이드 염(8.7 g, 38 mmol)의 혼합물을 제조한다. 3.8 g의 트리에틸아민(38 mmol)을 상기 혼합물에 첨가한다. NMM(6.3 g, 63 mmol) 및 EtOCOC(6.8 g, 63 mmol)의 용액을 이후 혼합물에 0°C에서 첨가한다. 에틸 폐닐알라니네이트 용액을 이후 첨가하고, 혼합물을 10°C에서 교반한다. 이미 다졸 수용액을 첨가한 다음, 혼합물을 30°C로 가열한다. 매질을 물로 회석한 다음, 수득된 용액을 0.1N NaOH, 0.9% NaCl 및 물에 대향하여 1 kDa PES 멤브레인 상에 초여과함으로써 정제한다. 최종 용액의 화합물 농도는 건조 추출에 의해 결정된다. 용액의 샘플을 동결건조하고, D<sub>2</sub>O 중의 <sup>1</sup>H NMR에 의해 분석하여, 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 메틸카복실레이트로의 치환도를 측정한다.

[0511] 건조 추출에 따르면: [화합물 1] = 29.4 mg/g

[0512] 산/염기 어세이에 따르면, 사카라이드 단위 당 나트륨 메틸카복실레이트로의 치환도는 0.65이다.

[0513] <sup>1</sup>H NMR에 따르면: 사카라이드 단위 당 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 메틸카복실레이트로의 치환도는 1.0이다.

#### AA2. 화합물 2: 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 말토트리오스메틸카복실레이트

[0515] 화합물 1의 제조에 사용된 것과 유사한 방법을 사용하여, 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 말토트리오스카복실레이트를 수득한다. 산/염기 어세이에 따르면, 사카라이드 단위 당 나트륨 메틸카복실레이트로의 치환도는 1.0이다.

[0516] 건조 추출에 따르면: [화합물 2] = 20.2 mg/g

[0517] <sup>1</sup>H NMR에 따르면: 사카라이드 단위 당 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 메틸카복실레이트로의 치환도는 0.65이다.

#### AA3. 화합물 3: 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 말토트리오스메틸카복실레이트

[0519] 화합물 1의 제조에 사용된 것과 유사한 방법을 통해, 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 말토트리오스카복실레이트를 수득한다. 산/염기 어세이에 따르면, 사카라이드 단위 당 나트륨 메틸카복실레이트로의 치환도는 0.46이다.

[0520] 건조 추출에 따르면: [화합물 3] = 7.2 mg/g

[0521] <sup>1</sup>H NMR에 따르면: 사카라이드 단위 당 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 메틸카복실레이트로의 치환도는 1.2이다.

#### AA4. 화합물 4: 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 말토트리오스메틸카복실레이트

[0523] 화합물 1의 제조에 사용된 것과 유사한 방법을 통해, 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 말토트리오스카복실레이트를 수득한다. 산/염기 어세이에 따르면, 사카라이드 단위 당 나트륨 메틸카복실레이트로의 치환도는 0.35이다.

[0524] 건조 추출에 따르면: [화합물 4] = 3.1 mg/g

[0525] <sup>1</sup>H NMR에 따르면: 사카라이드 단위 당 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 메틸카복실레이트로의 치환도는 0.65이다.

#### AA5. 화합물 5: 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 말토트리오스메틸카복실레이트

[0527] 화합물 1의 제조에 사용된 것과 유사한 방법을 통해, 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 말토트리오스메틸카복실레이트가 수득된다.

[0528] 건조 추출에 따르면: [화합물 5] = 10.9 mg/g

[0529] <sup>1</sup>H NMR에 따르면: 사카라이드 단위 당 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 메틸카복실레이트로의 치환도는 0.40이다.

[0530] 사카라이드 단위 당 나트륨 메틸카복실레이트로의 치환도는 1.25이다.

#### AA6. 화합물 6: 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 말토트리오스메틸카복실레이트

물에 용해된 8g(143 mmol)의 히드록실 관능기)의 말토트리오스(CarboSynth)에 65°C에서 0.6g(16 mmol)의 나트륨 보로히드라이드를 첨가한다. 30분 동안 교반 후, 28 g (237 mmol)의 나트륨 클로로아세테이트를 첨가한다. 상기 용액에 24 ml의 10N NaOH(240 mmol)를 이후 적가한다. 65°C에서 90분 동안 가열 후, 혼합물을 물로 희석하고, 아세트산을 첨가하여 중화한 다음, 물에 대향하여 1 kDa PES 멤브레인 상에 초여과함으로써 정제한다. 최종 용액의 화합물 농도를 건조 추출에 의해 측정한 다음, 50/50(V/V) 물/아세톤 혼합물 중의 산/염기 어세이를 실시하여 나트륨 메틸카복실레이트로의 치환도를 측정한다.

[0533] 건조 추출에 따르면: [화합물] = 14.5 mg/g

[0534] 산/염기 어세이에 따르면, 사카라이드 단위 당 나트륨 메틸카복실레이트로의 치환도는 1.45이다.

[0535] 나트륨 말토트리오스메틸카복실레이트 용액을 Purolite 수지 (음이온성) 상에서 산성화시켜, 말토트리오스메틸 카복실산을 수득하고 이것을 이후 18시간 동안 동결건조한다.

[0536] 화합물 1의 제조에 사용된 것과 유사한 방법을 통해, 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 말토트리오스메틸카복실레이트가 수득된다.

[0537] 건조 추출에 따르면: [화합물 6] = 10.8 mg/g

[0538]  $^1\text{H}$  NMR에 따르면: 사카라이드 단위 당 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 메틸카복실레이트로의 치환도는 0.65이다.

[0539] 사카라이드 단위 당 나트륨 메틸카복실레이트로의 치환도는 0.8이다.

#### AA7. 화합물 7: 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 말토트리오스메틸카복실레이트

화합물 1의 제조에 기재된 것과 유사한 방법을 통해, 1.76의 나트륨 메틸카복실레이트로의 치환도를 특정으로 하는 8 g의 나트륨 말토트리오스메틸카복실레이트를 합성하고 동결건조한다.

[0542] 8 g (58 mmol)의 히드록실 관능기)의 동결건조물 및 15g(129 mmol)의 나트륨 클로로아세테이트를 물에 65°C에서 용해한다. 13 ml의 10N NaOH (130 mmol)를 상기 용액에 적가한 다음, 혼합물을 65°C에서 90분 동안 가열한다. 9g(78 mmol)의 나트륨 클로로아세테이트를 이후 반응 매질에, 8 ml의 10N NaOH (80 mmol)와 함께 적가하여 첨가한다. 1시간 동안 가열 후, 혼합물을 물로 희석하고, 아세트산으로 중화한 다음, 물에 대향하여 1 kDa PES 멤브레인 상에 초여과함으로써 정제한다. 최종 용액의 화합물 농도를 건조 추출에 의해 측정한 다음, 50/50(V/V) 물/아세톤 혼합물 중의 산/염기 어세이를 실시하여 나트륨 메틸카복실레이트로의 치환도를 측정한다.

[0543] 건조 추출에 따르면: [화합물] = 11.7 mg/g

[0544] 산/염기 어세이에 따르면, 사카라이드 단위 당 나트륨 메틸카복실레이트로의 치환도는 3.30이다.

[0545] 나트륨 말토트리오스메틸카복실레이트 용액을 Purolite 수지 (음이온성) 상에서 산성화시켜, 말토트리오스메틸 카복실산을 수득하고 이것을 이후 18시간 동안 동결건조한다.

[0546] 화합물 1의 제조에 사용된 것과 유사한 방법을 통해, 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 말토트리오스메틸카복실레이트가 수득된다.

[0547] 건조 추출에 따르면: [화합물 7] = 14.9 mg/g

[0548]  $^1\text{H}$  NMR에 따르면: 사카라이드 단위 당 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 메틸카복실레이트로의 치환도는 0.65이다.

[0549] 사카라이드 단위 당 나트륨 메틸카복실레이트로의 치환도는 2.65이다.

#### AA8. 화합물 8: 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 말토펜타오스메틸카복실레이트

화합물 1의 제조에 기재된 것과 유사한 방법을 통해, 그러나 말토펜타오스(CarboSynth)와 함께 실시하여, 사카라이드 단위 당 1.75의 메틸카복실산으로의 치환도를 가진 10 g의 말토펜타오스메틸카복실산을 수득한 다음 동결건조한다.

- [0552] 화합물 1의 제조에 사용된 것과 유사한 방법을 통해, 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 말토펜타오스메틸카복실레이트가 수득된다.
- [0553] 건조 추출에 따르면: [화합물 8] = 7.1 mg/g
- [0554]  $^1\text{H}$  NMR에 따르면: 사카라이드 단위 당 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 메틸카복실레이트로의 치환도는 0.75이다.
- [0555] 사카라이드 단위 당 나트륨 메틸카복실레이트로의 치환도는 1.0이다.
- [0556] AA9. 화합물 9: 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 말토옥타오스메틸카복실레이트
- [0557] 화합물 1의 제조에 기재된 것과 유사한 방법을 통해, 그러나 말토옥타오스(CarboSynth)와 함께 실시하여, 사카라이드 단위 당 1.65의 메틸카복실산으로의 치환도를 가진 10 g의 말토옥타오스메틸카복실산을 수득한 다음 동결건조한다.
- [0558] 화합물 1의 제조에 사용된 것과 유사한 방법을 통해, 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 말토옥타오스메틸카복실레이트가 수득된다.
- [0559] 건조 추출에 따르면: [화합물 9] = 26.3 mg/g
- [0560]  $^1\text{H}$  NMR에 따르면: 사카라이드 단위 당 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 메틸카복실레이트로의 치환도는 0.65이다.
- [0561] 사카라이드 단위 당 나트륨 메틸카복실레이트로의 치환도는 1.0이다.
- [0562] AA10. 화합물 10: 나트륨 L-티로시네이트로 관능화된 나트륨 말토트리오스메틸카복실레이트
- [0563] 화합물 1의 제조에 기재된 것과 유사한 방법을 통해, 그러나 메틸 L-티로시네이트, 염산 염(Bachem)을 이용하여 수행되는 방법을 통해, 1.64의 사카라이드 단위 당 나트륨 메틸카복실레이트로의 치환도를 특징으로 하는 나트륨 말토트리오스메틸카복실레이트가 나트륨 L-티로시네이트로 관능화된다.
- [0564] 건조 추출에 따르면: [화합물 10] = 9.1 mg/g
- [0565]  $^1\text{H}$  NMR에 따르면: 사카라이드 단위 당 나트륨 L-티로시네이트로 관능화된 메틸카복실레이트로의 치환도는 0.81이다.
- [0566] 사카라이드 단위 당 나트륨 메틸카복실레이트로의 치환도는 0.83이다.
- [0567] AA11. 화합물 11: 나트륨 알파-페닐글리시네이트로 관능화된 나트륨 말토트리오스메틸카복실레이트
- [0568] 화합물 1의 제조에 기재된 것과 유사한 방법을 통해, 사카라이드 단위 당 1.64의 메틸카복실산의 치환도를 특징으로 하는 10 g의 말토트리오스메틸카복실산을 수득한 다음 동결건조한다.
- [0569] 8 g의 말토트리오스메틸카복실산 (50 mmol의 메틸카복실산 관능기)을 DMF에 용해시킨 다음, 0°C로 냉각시킨다. 나트륨 알파-페닐글리시네이트(Bachem, 5 g; 33 mmol) 및 트리에틸아민(33 mmol)의 혼합물을 물 중에 제조한다. NMM(4.9 g; 49 mmol) 및 EtOCOCl(5.3 g, 49 mmol)의 용액을 이후 말토트리오스메틸카복실산의 용액에 0°C에서 첨가한다. 나트륨 알파-페닐글리시네이트 및 트리에틸아민의 용액을 이후 첨가하고, 혼합물을 30°C에서 교반한다. 90분 후 이미다졸 수용액(340 g/L)을 첨가한다. 매질을 물로 희석한 다음, 수득된 용액을 150 mM NaHCO<sub>3</sub>/Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> pH 10.4 완충액, 0.9% NaCl 및 물에 대향하여 1 kDa PES 멤브레인 상에 초여과함으로써 정제한다. 최종 용액의 화합물 농도는 건조 추출에 의해 결정된다. 용액의 샘플을 동결건조하고, D<sub>2</sub>O 중의  $^1\text{H}$  NMR에 의해 분석하여, 나트륨 알파-페닐글리시네이트로 관능화된 메틸카복실레이트로의 치환도를 측정한다.
- [0570] 건조 추출에 따르면: [화합물 11] = 9.1 mg/g
- [0571]  $^1\text{H}$  NMR에 따르면: 사카라이드 단위 당 나트륨 알파-페닐글리시네이트로 관능화된 메틸카복실레이트로의 치환도는 0.52이다.
- [0572] 사카라이드 단위 당 나트륨 메틸카복실레이트로의 치환도는 1.12이다.

[0573] AB 폴리사카라이드 반대예

[0574] AB1. 폴리사카라이드 1: 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 텍스트란메틸카복실레이트

[0575] 폴리사카라이드 1은 FR 2 914 305 번호로 공개된 특허 출원 FR 07/02316에 기재된 방법에 따라 10 kg/mol의 중량-평균 몰 질량(DP = 39, Pharmacosmos)을 갖는 텍스트란으로부터 수득된 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 텍스트란메틸카복실레이트이다. 산/염기 어세이에 따르면, 사카라이드 단위 당 나트륨 메틸카복실레이트로의 치환도는 0.6이다.

[0576]  $^1\text{H}$  NMR에 따르면: 사카라이드 단위 당 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 메틸카복실레이트로의 치환도는 0.46이다.

[0577] 상기 폴리사카라이드는 특허 출원 FR 09/01478의 폴리사카라이드 1에 상응한다.

[0578] AB2. 폴리사카라이드 2: 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 텍스트란메틸카복실레이트

[0579] 폴리사카라이드 2는 FR 2 914 305 번호로 공개된 특허 출원 FR 07/02316에 기재된 방법에 따라 5 kg/mol의 중량-평균 몰 질량(DP = 19, Pharmacosmos)을 갖는 텍스트란으로부터 수득된 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 텍스트란메틸카복실레이트이다. 산/염기 어세이에 따르면, 사카라이드 단위 당 나트륨 메틸카복실레이트로의 치환도는 1.01이다.

[0580]  $^1\text{H}$  NMR에 따르면: 사카라이드 단위 당 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 메틸카복실레이트로의 치환도는 0.64이다.

[0581] AB3. 폴리사카라이드 3: 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 텍스트란메틸카복실레이트

[0582] 폴리사카라이드 3은 FR 2 914 305 번호로 공개된 특허 출원 FR 07/02316에 기재된 방법에 따라 5 kg/mol의 중량-평균 몰 질량(DP = 19, Pharmacosmos)을 갖는 텍스트란으로부터 수득된 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 텍스트란메틸카복실레이트이다. 산/염기 어세이에 따르면, 사카라이드 단위 당 나트륨 메틸카복실레이트로의 치환도는 0.65이다.

[0583]  $^1\text{H}$  NMR에 따르면: 사카라이드 단위 당 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 메틸카복실레이트로의 치환도는 0.45다.

[0584] AB4. 폴리사카라이드 4: 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 텍스트란메틸카복실레이트

[0585] 폴리사카라이드 4는 FR 2 914 305 번호로 공개된 특허 출원 FR 07/02316에 기재된 방법에 따라 10 kg/mol의 중량-평균 몰 질량(DP = 39, Pharmacosmos)을 갖는 텍스트란으로부터 수득된 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 텍스트란메틸카복실레이트이다. 산/염기 어세이에 따르면, 사카라이드 단위 당 나트륨 메틸카복실레이트로의 치환도는 1.01이다.

[0586]  $^1\text{H}$  NMR에 따르면: 사카라이드 단위 당 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 메틸카복실레이트로의 치환도는 0.64이다.

[0587] AB5. 폴리사카라이드 5: 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 텍스트란메틸카복실레이트

[0588] 폴리사카라이드 5는 FR 2 914 305 번호로 공개된 특허 출원 FR 07/02316에 기재된 방법에 따라 5 kg/mol의 중량-평균 몰 질량(DP = 19, Pharmacosmos)을 갖는 텍스트란으로부터 수득된 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 나트륨 텍스트란메틸카복실레이트이다. 산/염기 어세이에 따르면, 사카라이드 단위 당 나트륨 메틸카복실레이트로의 치환도는 0.45이다.

[0589]  $^1\text{H}$  NMR에 따르면: 사카라이드 단위 당 나트륨 L-페닐알라니네이트로 관능화된 메틸카복실레이트로의 치환도는 0.65이다.

[0590] AC 다가음이온성 화합물

[0591] 다가음이온성 화합물 1: 나트륨 말토트리오스메틸카복실레이트

[0592] 물에 용해된 8 g(143 mmol)의 히드록실 관능기)의 말토트리오스(CarboSynth)에 65°C에서 0.6 g(16 mmol)의 나트륨 보로히드라이드를 첨가한다. 30분 동안 교반 후, 28 g(238 mmol)의 나트륨 클로로아세테이트를 첨가한다. 이

후 상기 용액에 24 mL의 10N NaOH(240 mmol)를 적가한 다음, 혼합물을 65°C에서 90분 동안 가열한다. 16.6g(143 mmol)의 나트륨 클로로아세테이트를 이후 반응 매질에, 14 mL의 10N NaOH (140 mmol)의 적가와 함께, 첨가한다. 1시간 동안 가열 후, 혼합물을 물로 희석하고, 아세트산으로 중화한 다음, 물에 대향하여 1 kDa PES 멤브레인 상에 초여과함으로써 정제한다. 최종 용액의 화합물 농도를 건조 추출에 의해 측정한 다음, 50/50(V/V) 물/아세톤 혼합물 중의 산/염기 어세이를 실시하여 나트륨 메틸카복실레이트로의 치환도를 측정한다.

[0593] 건조 추출에 따르면: [다가음이온성 화합물 1] = 32.9 mg/g

[0594] 산/염기 어세이에 따르면: 사카라이드 단위 당 나트륨 메틸카복실레이트로의 치환도는 1.65이다.

#### B 용액의 제조

##### B1. 신속 인슐린 유사체 Novolog®의 용액(100 IU/mL)

[0597] 상기 용액은 Novo Nordisk 사에서 상표명 Novolog®로 판매되는 아스파르트 인슐린의 시판 용액이다. 상기 제품은 아스파르트 신속 인슐린 유사체이다.

##### B2. 신속 인슐린 유사체 Humalog®의 용액(100 IU/mL)

[0599] 상기 용액은 Eli Lilly 사에서 상표명 Humalog®로 판매되는 리스프로 인슐린의 시판 용액이다. 상기 제품은 신속 인슐린 유사체이다.

##### B3. 레귤러 인간 인슐린 Actrapid®의 용액(100 IU/mL)

[0601] 상기 용액은 Novo Nordisk 사에서 상표명 Actrapid®로 판매되는 인간 인슐린의 시판 용액이다. 상기 제품은 레귤러 인간 인슐린이다.

##### B4. 레귤러 인간 인슐린 Humulin® R의 용액(100 IU/mL)

[0603] 상기 용액은 Eli Lilly 사에서 상표명 Humulin® R로 판매되는 인간 인슐린의 시판 용액이다. 상기 제품은 레귤러 인간 인슐린이다.

#### B5. 부형제 용액의 제조

[0605] 비-중합체성 다가음이온성 화합물은 칼슘 이온에 대해서는 이들의 해리 상수 및 인슐린의 6량체 형태를 불안정화시키지 않는 능력에 대해 측정함으로써 선택된다.

[0606] 칼슘 이온과 관련된 해리 상수에 관해서는, 하기와 같이 측정된다.

[0607] 2.5 mM의 CaCl<sub>2</sub>, 150 mM의 NaCl 및 증가하는 농도의 다가음이온성 화합물 (0 내지 20 mM)을 함유하는 용액을 제조한다. 모든 상기 제형의 전위를 측정하고 제형 내의 유리 칼슘 이온의 농도를 측정한다. 스카차드(Scatchard) 방법에 의한 선형화 후, 해리 상수가 성립된다. 이를 데이터는 Ca에 대한 다양한 다가음이온성 화합물의 카복실레이트 및 포스페이트의 친화성을 비교하는 것을 가능하게 한다.

[0608] 인슐린의 6량체 형태를 불안정화시키지 않는 이들의 능력과 관련해서는, 상기 특성은 인슐린 단독과 비교하여 (음이온성 화합물 또는 다가음이온성 화합물이 없는) 원편광 이색성에 의해 측정되며, 실험 섹션 D의 실험 프로토콜을 참조한다.

#### 나트륨 시트레이트 용액(1.188 M)의 제조

[0610] 나트륨 시트레이트 용액은 눈금이 있는 플라스크(graduated flask)에 9.0811 g의 나트륨 시트레이트 (30.9 mmol)를 25 mL의 물에 용해시킴으로써 수득된다. pH는 1 mL의 1 M HCl을 첨가함으로써 정확히 7.4로 조정한다. 용액을 0.22 μm 필터를 통해 여과시킨다.

#### 130 mM m-크레솔 용액의 제조

[0612] m-크레솔 용액은 1 L 눈금이 있는 플라스크에 14.114 g의 m-크레솔 (130 mmol)을 986.4 mL의 물에 용해시킴으로써 수득된다.

#### m-크레솔 및 글리세롤 (96.6 mM m-크레솔 및 566 mM 글리세롤)의 용액의 제조

[0614] 73.3 g의 130 mM m-크레솔 용액을 5.26 g의 글리세롤에 첨가한 다음, 22.25 g의 물을 첨가함으로써 희석한다.

수득된 m-크레솔 및 글리세롤 용액을 30분 동안 균질화시킨 다음, 0.22 μm 맴브레인을 통해 여과시킨다.

### [0615] 32.7 mM Tween 20 용액의 제조

Tween 20 용액은 눈금이 있는 플라스크에 2.0079 g의 Tween 20 (1.636 mmol)을 50 mL의 물에 용해시킴으로써 수득된다. 용액을 0.22 μm 맴브레인을 통해 여과시킨다.

### [0617] B6. 500 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조

15 g의 물을 563.6 mg의 인간 인슐린에 첨가하고, pH를 이후 5.98 g의 0.1 N HCl을 첨가함으로써 산성 pH로 하향시킨다. 산성 pH에서 인슐린의 총 해체 후, 8.3 mL의 0.1 N NaOH를 첨가함으로써 용액을 pH 7.2로 중화시킨다. 이후 농도를 0.76 g의 물을 첨가함으로써 500 IU/mL로 조정한다. 용액을 최종적으로 0.22 μm 맴브레인을 통해 여과시킨다.

### [0619] B7. 화합물 1의 존재 하에 100 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조

100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 1]/[리스프로 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:

[0621] 동결건조된 화합물 1 730 mg

[0622] 100 IU/mL Humalog<sup>®</sup> 시판 용액 100 mL

[0623] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.

[0624] 맑은 용액을 0.22 μm 맴브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

### [0625] B8. 화합물 1 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조

100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 1]/[리스프로 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트 농도로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:

[0627] 동결건조된 화합물 1 730 mg

[0628] 100 IU/mL Humalog<sup>®</sup> 시판 용액 100 mL

[0629] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 783 μL

[0630] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또 다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.

[0631] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.

[0632] 맑은 용액을 0.22 μm 맴브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

### [0634] B9. 화합물 1 및 다가음이온성 화합물 1의 존재 하에 100 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조

100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0/2.0/1의 [화합물 1]/[다가음이온성 화합물 1]/[리스프로 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:

[0636] 동결건조된 화합물 1 730 mg

[0637] 동결건조된 다가음이온성 화합물 1 730 mg

[0638] 100 IU/mL Humalog<sup>®</sup> 시판 용액 100 mL

[0639] 다가음이온성 화합물 1은 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또 다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태로 사용할 수 있다.

[0640] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.

[0641] 맑은 용액을 0.22 μm 맴브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

### [0643] B10. 화합물 1 및 다가음이온성 화합물 1의 존재 하에 100 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조

100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0/5.5/1의 [화합물 1]/[다가음이온성 화합물 1]/[리스프로 인슐린] 질량

비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:

[0645] 동결건조된 화합물 1 730 mg

[0646] 동결건조된 다가음이온성 화합물 1 2000 mg

[0647] 100 IU/mL Humalog<sup>®</sup> 시판 용액 100 mL

[0648] 다가음이온성 화합물 1은 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태로 사용할 수 있다.

[0649] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.

[0650] 맑은 용액을 0.22 μm 맴브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B11. 화합물 2 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조

[0653] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 2]/[리스프로 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트 농도, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:

[0654] 동결건조된 화합물 2 730 mg

[0655] 100 IU/mL Humalog<sup>®</sup> 시판 용액 100 mL

[0656] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 783 μL

[0657] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.

[0658] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.

[0659] 맑은 용액을 0.22 μm 맴브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B12. 화합물 2 및 다가음이온성 화합물 1의 존재 하에 100 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조

[0662] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0/2.0/1의 [화합물 2]/[다가음이온성 화합물 1]/[리스프로 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:

[0663] 동결건조된 화합물 2 730 mg

[0664] 동결건조된 다가음이온성 화합물 1 730 mg

[0665] 100 IU/mL Humalog<sup>®</sup> 시판 용액 100 mL

[0666] 다가음이온성 화합물 1은 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태로 사용할 수 있다.

[0667] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.

[0668] 맑은 용액을 0.22 μm 맴브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B13. 화합물 2 및 다가음이온성 화합물 1의 존재 하에 100 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조

[0671] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0/5.5/1의 [화합물 2]/[다가음이온성 화합물 1]/[리스프로 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:

[0672] 동결건조된 화합물 2 730 mg

[0673] 동결건조된 다가음이온성 화합물 1 2000 mg

[0674] 100 IU/mL Humalog<sup>®</sup> 시판 용액 100 mL

[0675] 다가음이온성 화합물 1은 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태로 사용할 수 있다.

[0676] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.

- [0677] 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [0679] **B14. 화합물 1의 존재 하에 100 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조**
- [0680] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 4의 [화합물 1]/[리스프로 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 첨가한다:
- |        |  |         |
|--------|--|---------|
| [0681] | 동결건조된 형태로의 화합물 1   | 1460 mg |
| [0682] | 100 IU/mL Humalog® 시판 용액   | 100 mL  |
| [0683] | 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다. |         |
- [0685] **B15. 화합물 2의 존재 하에 100 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조**
- [0686] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 4의 [화합물 2]/[리스프로 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 첨가한다:
- |        |  |         |
|--------|--|---------|
| [0687] | 동결건조된 형태로의 화합물 2   | 1460 mg |
| [0688] | 100 IU/mL Humalog® 시판 용액   | 100 mL  |
| [0689] | 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다. |         |
- [0691] **B16. 화합물 1 및 나트륨 타르트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 리스프로 인슐린 유사체 용액의 제조**
- [0692] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 1]/[리스프로 인슐린] 질량 비 및 80 mM의 나트륨 타르트레이트 농도로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 첨가한다:
- |        |  |         |
|--------|--|---------|
| [0693] | 동결건조된 형태로의 화합물 1   | 730 mg  |
| [0694] | 100 IU/mL Humalog® 시판 용액   | 100 mL  |
| [0695] | 나트륨 타르트레이트   | 1.552 g |
| [0696] | 타르트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다. |         |
| [0697] | 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.  |         |
| [0698] | 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.                                     |         |
- [0700] **B17. 화합물 1 및 다가음이온성 화합물 1의 존재 하에 100 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조**
- [0701] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2/4/1의 [화합물 1]/[다가음이온성 화합물 1]/[리스프로 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 첨가한다:
- |        |  |         |
|--------|--|---------|
| [0702] | 동결건조된 형태로의 화합물 1   | 730 mg  |
| [0703] | 다가음이온성 동결건조된 형태로의 화합물 1  | 1460 mg |
| [0704] | 100 IU/mL Humalog® 시판 용액   | 100 mL  |
| [0705] | 다가음이온성 화합물 1은 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다. |         |
| [0706] | 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.               |         |
- [0708] **B18. 화합물 1 및 나트륨 트리포스페이트의 존재 하에 100 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조**
- [0709] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 첨가한다:
- |        |                  |        |
|--------|------------------|--------|
| [0710] | 동결건조된 형태로의 화합물 1 | 730 mg |
| [0711] | 나트륨 트리포스페이트      | 184 mg |

- [0712] 100 IU/mL Humalog<sup>®</sup> 시판 용액 100 mL
- [0713] 트리포스페이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.
- [0714] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [0715] **B19. 화합물 2 및 나트륨 타르트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 리스프로 인슐린 유사체 용액의 제조**
- [0716] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 2]/[리스프로 인슐린] 질량 비 및 80 mM의 나트륨 타르트레이트 농도로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 첨가한다:
- |   |         |
|---|---------|
| [0717] 동결건조된 형태로의 화합물 2                     | 730 mg  |
| [0718] 100 IU/mL Humalog <sup>®</sup> 시판 용액 | 100 mL  |
| [0719] 나트륨 타르트레이트                           | 1.552 g |
- [0720] 타르트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.
- [0721] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [0722] **B20. 화합물 2 및 다가음이온성 화합물 1의 존재 하에 100 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조**
- [0723] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2/4/1의 [화합물 2]/[다가음이온성 화합물 1]/[리스프로 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 첨가한다:
- |   |         |
|---|---------|
| [0724] 동결건조된 형태로의 화합물 2                     | 730 mg  |
| [0725] 다가음이온성 동결건조된 형태로의 화합물 1              | 1460 mg |
| [0726] 100 IU/mL Humalog <sup>®</sup> 시판 용액 | 100 mL  |
- [0727] 다가음이온성 화합물 1은 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.
- [0728] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [0729] **B21. 화합물 2 및 나트륨 트리포스페이트의 존재 하에 100 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조**
- [0730] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 첨가한다:
- |   |        |
|---|--------|
| [0731] 동결건조된 형태로의 화합물 2                     | 730 mg |
| [0732] 나트륨 트리포스페이트                          | 184 mg |
| [0733] 100 IU/mL Humalog <sup>®</sup> 시판 용액 | 100 mL |
- [0734] 트리포스페이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.
- [0735] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [0736] **B22. 200 IU/mL 인슐린 유사체 (리스프로 인슐린) 용액의 제조**
- [0737] 리스프로 인슐린 (Humalog<sup>®</sup>)의 시판 제형을 3 kDa 컷-오프(cut-off) 역치를 이용하여 Amicon Ultra-15 원심분리 투브를 사용하여 농축하였다. Amicon 투브를 먼저 12 mL의 탈이온화수로 린스하였다. 12 mL의 시판 제형을 35분 동안 4000 g, 20°C에서 원심분리하였다. 농축물(retentate)의 부피를 측정하고, 따라서 농도를 추정하였다. 모든 농축물을 모으고, 전체적인 농도를 추정하였다(> 200 IU/mL).
- [0738] 상기 농축된 리스프로 인슐린 용액의 농도를 시판 리스프로 인슐린 제형 (Humalog<sup>®</sup>)을 첨가함으로써 200 IU/mL로 조정하였다. 농축된 리스프로 인슐린 제형은 시판 제형(100 IU/mL)과 동일한 농도의 부형제(m-크레슬, 글리

세롤, 포스페이트)를 갖는다.

[0739] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B23. 화합물 1 및 시트레이트의 존재 하에 200 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조

[0741] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2의 [화합물 1]/[리스프로 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:

200 IU/mL 리스프로 인슐린	100 mL
--------------------	--------

화합물 1의 동결건조물	1460 mg
--------------	---------

1.188 M 나트륨 시트레이트 용액	1566 μL
----------------------	---------

[0745] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B24. 화합물 1 및 다가음이온성 화합물 1의 존재 하에 200 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조

[0747] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2/2/1의 [화합물 1]/[다가음이온성 화합물 1]/[리스프로 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:

200 IU/mL 리스프로 인슐린	100 mL
--------------------	--------

화합물 1의 동결건조물	1460 mg
--------------	---------

다가음이온성 화합물 1의 동결건조물	1460 mg
---------------------	---------

[0751] 다가음이온성 화합물 1은 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.

[0752] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B25. 화합물 1 및 다가음이온성 화합물 1의 존재 하에 200 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조

[0754] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2/4/1의 [화합물 1]/[다가음이온성 화합물 1]/[리스프로 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:

200 IU/mL 리스프로 인슐린	100 mL
--------------------	--------

화합물 1의 동결건조물	1460 mg
--------------	---------

다가음이온성 화합물 1의 동결건조물	2920 mg
---------------------	---------

[0758] 다가음이온성 화합물 1은 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.

[0759] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B26. 화합물 2 및 다가음이온성 화합물 1의 존재 하에 200 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조

[0761] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2/4/1의 [화합물 2]/[다가음이온성 화합물 1]/[리스프로 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:

200 IU/mL 리스프로 인슐린	100 mL
--------------------	--------

화합물 2의 동결건조물	1460 mg
--------------	---------

다가음이온성 화합물 1의 동결건조물	2920 mg
---------------------	---------

[0765] 다가음이온성 화합물 1은 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.

[0766] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B27. 화합물 1 및 타르트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조

[0768] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2의 [화합물 1]/[인간 인슐린] 질량 비 및 80 mM의 타르트레이트로, 다양한

시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:

[0769]	500 IU/mL 인간 인슐린	20 mL
[0770]	36.01 mg/mL 화합물 1의 용액	20.27 mL
[0771]	96.6 mM m-크레솔/566 mM 글리세롤 용액	30 mL
[0772]	물	28.95 mL
[0773]	나트륨 타르트레이트	1.552 g
[0774]	타르트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.	
[0775]	최종 pH는 7.4 ± 0.4이다. 상기 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, +4°C에 둔다.	
[0776]	<b>B28. 화합물 1 및 트리포스페이트의 존재 하에 100 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조</b>	
[0777]	100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:	
[0778]	500 IU/mL 인간 인슐린	20 mL
[0779]	36.01 mg/mL 화합물 1의 용액	20.27 mL
[0780]	96.6 mM m-크레솔/566 mM 글리세롤 용액	30 mL
[0781]	물	28.95 mL
[0782]	나트륨 트리포스페이트	184 mg
[0783]	트리포스페이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.	
[0784]	최종 pH는 7.4 ± 0.4이다. 상기 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, +4°C에 둔다.	
[0785]	<b>B29. 화합물 2 및 타르트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조</b>	
[0786]	100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2의 [화합물 2]/[인간 인슐린] 질량 비 및 80 mM의 타르트레이트로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:	
[0787]	500 IU/mL 인간 인슐린	20 mL
[0788]	36.01 mg/mL 화합물 2의 용액	20.27 mL
[0789]	96.6 mM m-크레솔/566 mM 글리세롤 용액	30 mL
[0790]	물	28.95 mL
[0791]	나트륨 타르트레이트	1.552 g
[0792]	타르트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.	
[0793]	최종 pH는 7.4 ± 0.4이다.	
[0794]	상기 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, +4°C에 둔다.	
[0795]	<b>B30. 화합물 2 및 트리포스페이트의 존재 하에 100 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조</b>	
[0796]	100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:	
[0797]	500 IU/mL 인간 인슐린	20 mL
[0798]	36.01 mg/mL 화합물 2의 용액	20.27 mL
[0799]	96.6 mM m-크레솔/566 mM 글리세롤 용액	30 mL
[0800]	물	28.95 mL

- [0801] 나트륨 트리포스페이트 184 mg
- [0802] 트리포스페이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.
- [0803] 최종 pH는 7.4 ± 0.4이다. 상기 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, +4°C에 둔다.
- [0804] **B31. 200 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조**
- [0805] 인간 인슐린 (Humulin® R)의 시판 제형을 3 kDa 컷-오프 역치를 이용하여 Amicon Ultra-15 원심분리 투브를 사용하여 농축하였다. Amicon 투브를 먼저 12 mL의 탈이온화수로 린스하였다. 12 mL의 시판 제형을 35분 동안 4000 g, 20°C에서 원심분리하였다. 농축물의 부피를 측정하고, 따라서 농도를 추정하였다. 모든 농축물을 모으고, 전체적인 농도를 추정하였다(> 200 IU/mL).
- [0806] 상기 농축된 인간 인슐린 용액의 농도를 시판 인간 인슐린 제형(Humulin® R)을 첨가함으로써 200 IU/mL로 조정하였다. 농축된 인간 인슐린 제형은 시판 제형(100 IU/mL)과 동일한 농도의 부형제(m-크레솔, 글리세롤)를 갖는다.
- [0807] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [0808] **B32. 화합물 1 및 시트레이트의 존재 하에 200 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조**
- [0809] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2의 [화합물 1]/[인간 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:
- |                             |         |
|-----------------------------|---------|
| [0810] 200 IU/mL 인간 인슐린     | 100 mL  |
| [0811] 화합물 1의 동결건조물         | 1460 mg |
| [0812] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 | 1566 μL |
- [0813] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [0814] **B33. 화합물 1 및 다가음이온성 화합물 1의 존재 하에 200 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조**
- [0815] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2/2/1의 [화합물 1]/[다가음이온성 화합물 1]/[인간 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:
- |                            |         |
|----------------------------|---------|
| [0816] 200 IU/mL 인간 인슐린    | 100 mL  |
| [0817] 화합물 1의 동결건조물        | 1460 mg |
| [0818] 다가음이온성 화합물 1의 동결건조물 | 1460 mg |
- [0819] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [0820] **B34. 화합물 1 및 다가음이온성 화합물 1의 존재 하에 200 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조**
- [0821] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2/4/1의 [화합물 1]/[다가음이온성 화합물 1]/[인간 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:
- |                            |         |
|----------------------------|---------|
| [0822] 200 IU/mL 인간 인슐린    | 100 mL  |
| [0823] 화합물 1의 동결건조물        | 1460 mg |
| [0824] 다가음이온성 화합물 1의 동결건조물 | 2920 mg |
- [0825] 다가음이온성 화합물 1은 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.
- [0826] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [0827] **B35. 화합물 2 및 시트레이트의 존재 하에 200 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조**
- [0828] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2의 [화합물 2]/[인간 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:

[0829]	200 IU/mL 인간 인슐린	100 mL
[0830]	화합물 2의 동결건조물	1460 mg
[0831]	1.188 M 나트륨 시트레이트 용액	1566 $\mu$ L
[0832]	최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 $\mu$ m 맴브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.	
[0833]	B36. 화합물 2 및 다가음이온성 화합물 1의 존재 하에 200 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조	
[0834]	100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2/2/1의 [화합물 2]/[다가음이온성 화합물 1]/[인간 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:	
[0835]	200 IU/mL 인간 인슐린	100 mL
[0836]	화합물 2의 동결건조물	1460 mg
[0837]	다가음이온성 화합물 1의 동결건조물	1460 mg
[0838]	다가음이온성 화합물 1은 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.	
[0839]	최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 $\mu$ m 맴브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.	
[0840]	B37. 화합물 2 및 다가음이온성 화합물 1의 존재 하에 200 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조	
[0841]	100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2/4/1의 [화합물 2]/[다가음이온성 화합물 1]/[인간 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:	
[0842]	200 IU/mL 인간 인슐린	100 mL
[0843]	화합물 2의 동결건조물	1460 mg
[0844]	다가음이온성 화합물 1의 동결건조물	2920 mg
[0845]	다가음이온성 화합물 1은 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.	
[0846]	최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 $\mu$ m 맴브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.	
[0847]	B38. 화합물 2 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조	
[0848]	100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2의 [화합물 2]/[인간 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:	
[0849]	500 IU/mL 인간 인슐린	20 mL
[0850]	36.01 mg/mL 화합물 2의 용액	20.27 mL
[0851]	96.6 mM m-크레솔/566 mM 글리세롤 용액	30 mL
[0852]	물	28.95 mL
[0853]	1.188 M 나트륨 시트레이트 용액	783 $\mu$ L
[0854]	시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.	
[0855]	최종 pH는 7.4 ± 0.4이다. 상기 맑은 용액을 0.22 $\mu$ m 맴브레인을 통해 여과하고, +4°C에 둔다.	
[0856]	B39. 화합물 1 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조	
[0857]	100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2의 [화합물 1]/[인간 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:	
[0858]	500 IU/mL 인간 인슐린	20 mL
[0859]	36.01 mg/mL 화합물 1의 용액	27 mL

[0860] 96.6 mM m-크레솔/566 mM 글리세롤 용액 30 mL

[0861] 물 28.95 mL

[0862] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 783 μL

[0863] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.

[0864] 최종 pH는 7.4 ± 0.4이다. 상기 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, +4°C에 둔다.

#### B40. 화합물 1 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 아스파르트 인슐린 용액의 제조

[0866] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 1]/[아스파르트 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트 농도로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:

[0867] 동결건조된 화합물 1 730 mg

[0868] 100 IU/mL Novolog® 시판 용액 100 mL

[0869] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 783 μL

[0870] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.

[0871] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.

[0872] 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B41. 100 IU/mL 신속 인슐린 유사체 Apidra®의 용액

[0874] 상기 용액은 상표명 Apidra®로 판매되는 Sanofi-Aventis사의 글루리신 인슐린의 시판 용액이다. 상기 제품은 신속 인슐린 유사체이다.

#### B42. 화합물 1 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 글루리신 인슐린 용액의 제조

[0876] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 1]/[글루리신 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트 농도로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:

[0877] 동결건조된 화합물 1 730 mg

[0878] 100 IU/mL Apidra® 시판 용액 100 mL

[0879] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 783 μL

[0880] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.

[0881] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.

[0882] 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B43. 화합물 2 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 아스파르트 인슐린 용액의 제조

[0884] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 2]/[아스파르트 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트 농도로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:

[0885] 동결건조된 화합물 2 730 mg

[0886] 100 IU/mL Novolog® 시판 용액 100 mL

[0887] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 783 μL

[0888] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.

[0889] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.

[0890] 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B44. 화합물 2 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 글루리신 인슐린 용액의 제조

[0892] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 2]/[글루리신 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트 농도로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:

[0893] 동결건조된 화합물 2 730 mg

[0894] 100 IU/mL Apidra® 시판 용액 100 mL

[0895] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 783 μL

[0896] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.

[0897] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.

[0898] 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B45. 화합물 5 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조

[0899] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 5]/[리스프로 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트 농도로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:

[0901] 동결건조된 화합물 5 730 mg

[0902] 100 IU/mL Humalog® 시판 용액 100 mL

[0903] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 783 μL

[0904] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.

[0905] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.

[0906] 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B46. 화합물 6 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조

[0907] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 6]/[리스프로 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트 농도, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:

[0909] 동결건조된 화합물 6 730 mg

[0910] 100 IU/mL Humalog® 시판 용액 100 mL

[0911] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 783 μL

[0912] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.

[0913] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.

[0914] 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B47. 화합물 7 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조

[0915] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 7]/[리스프로 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트 농도, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:

[0918] 동결건조된 화합물 7 730 mg

[0919] 100 IU/mL Humalog® 시판 용액 100 mL

- [0920] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 783  $\mu$ L
- [0921] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.
- [0922] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.
- [0923] 맑은 용액을 0.22  $\mu$ m 맴브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [0924] **B48. 화합물 8 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조**
- [0925] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 8]/[리스프로 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트 농도, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:
- [0926] 동결건조된 화합물 8 730 mg
- [0927] 100 IU/mL Humalog<sup>®</sup> 시판 용액 100 mL
- [0928] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 783  $\mu$ L
- [0929] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.
- [0930] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.
- [0931] 맑은 용액을 0.22  $\mu$ m 맴브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [0932] **B49. 화합물 9 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조**
- [0933] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 9]/[리스프로 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트 농도로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:
- [0934] 동결건조된 화합물 9 730 mg
- [0935] 100 IU/mL Humalog<sup>®</sup> 시판 용액 100 mL
- [0936] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 783  $\mu$ L
- [0937] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.
- [0938] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.
- [0939] **B50. 화합물 5 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조**
- [0940] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 5]/[인간 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트 농도로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:
- [0941] 동결건조된 화합물 5 730 mg
- [0942] 100 IU/mL Humulin<sup>®</sup> R 시판 용액 100 mL
- [0943] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 783  $\mu$ L
- [0944] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.
- [0945] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.
- [0946] 맑은 용액을 0.22  $\mu$ m 맴브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [0947] **B51. 화합물 6 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조**
- [0948] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 6]/[인간 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트 농도로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:

- [0949] 동결건조된 화합물 6 730 mg

[0950] 100 IU/mL Humulin® R 시판 용액 100 mL

[0951] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 783 μL

[0952] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.

[0953] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.

[0954] 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

[0955] B52. 화합물 7 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조

[0956] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 7]/[인간 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트 농도로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:

[0957] 동결건조된 화합물 7 730 mg

[0958] 100 IU/mL Humulin® R 시판 용액 100 mL

[0959] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 783 μL

[0960] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.

[0961] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.

[0962] 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

[0963] B53. 화합물 8 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조

[0964] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 8]/[인간 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트 농도로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:

[0965] 동결건조된 화합물 8 730 mg

[0966] 100 IU/mL Humulin® R 시판 용액 100 mL

[0967] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 783 μL

[0968] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.

[0969] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.

[0970] 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

[0971] B54. 화합물 9 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조

[0972] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 9]/[인간 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트 농도로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:

[0973] 동결건조된 화합물 9 730 mg

[0974] 100 IU/mL Humulin® R 시판 용액 100 mL

[0975] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 783 μL

[0976] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.

[0977] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.

[0978] 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

[0979] B55. 화합물 2의 존재 하에 100 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조

- [0980] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 2]/[인간 인슐린] 질량 비, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:
- [0981] 동결건조된 화합물 2 730 mg
- [0982] 100 IU/mL Humulin® R 시판 용액 100 mL
- [0983] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.
- [0984] 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [0985] B56. 화합물 7의 존재 하에 100 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조
- [0986] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 7]/[인간 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:
- [0987] 동결건조된 화합물 7 730 mg
- [0988] 100 IU/mL Humulin® R 시판 용액 100 mL
- [0989] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.
- [0990] 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [0991] B57. 화합물 10 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조
- [0992] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 10]/[리스프로 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트 농도로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:
- [0993] 동결건조된 화합물 10 730 mg
- [0994] 100 IU/mL Humalog® 시판 용액 100 mL
- [0995] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 783 μL
- [0996] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.
- [0997] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.
- [0998] 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [0999] B58. 화합물 11 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조
- [1000] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 11]/[리스프로 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트 농도로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:
- [1001] 동결건조된 화합물 11 730 mg
- [1002] 100 IU/mL Humalog® 시판 용액 100 mL
- [1003] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 783 μL
- [1004] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.
- [1005] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.
- [1006] B59. 화합물 10 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조
- [1007] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 10]/[인간 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트 농도로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:
- [1008] 동결건조된 화합물 10 730 mg
- [1009] 100 IU/mL Humulin® R 시판 용액 100 mL

[1010] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 783 μL

[1011] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.

[1012] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.

[1013] 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B60. 화합물 11 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조

[1015] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 11]/[인간 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트 농도로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:

[1016] 동결건조된 화합물 11 730 mg

[1017] 100 IU/mL Humulin® R 시판 용액 100 mL

[1018] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 783 μL

[1019] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.

[1020] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.

[1021] 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B61. 200 IU/mL 아스파르트 인슐린 용액의 제조

[1023] 아스파르트 인슐린 (Novolog®)의 시판 제형을 3 kDa 컷-오프(cut-off) 역치를 이용하여 Amicon Ultra-15 원심분리 투브를 사용하여 농축하였다. Amicon 투브를 먼저 12 mL의 탈이온화수로 린스하였다. 12 mL의 시판 제형을 35분 동안 4000 g, 20°C에서 원심분리하였다. 농축물의 부피를 측정하고, 따라서 농도를 추정하였다. 모든 농축물을 모으고, 전체적인 농도를 추정하였다(> 200 IU/mL).

[1024] 상기 농축된 아스파르트 인슐린 용액의 농도를 시판 아스파르트 인슐린 제형 (Novolog®)을 첨가함으로써 200 IU/mL로 조정하였다. 농축된 아스파르트 인슐린 제형은 시판 제형(100 IU/mL)과 동일한 농도의 부형제(m-크레솔, 글리세롤)를 갖는다.

[1025] 원심분리 시간 및 시판 제형을 이용한 최종 희석을 변형함으로써, 아스파르트 인슐린 제형(300, 400 또는 500 IU/mL)을 동일한 방식으로 제조하는 것이 가능하다.

[1026] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B62. 200 IU/mL 글루리신 인슐린 용액의 제조

[1028] 글루리신 인슐린 (Apidra®)의 시판 제형을 3 kDa 컷-오프(cut-off) 역치를 이용하여 Amicon Ultra-15 원심분리 투브를 사용하여 농축하였다. Amicon 투브를 먼저 12 mL의 탈이온화수로 린스하였다. 12 mL의 시판 제형을 35분 동안 4000 g, 20°C에서 원심분리하였다. 농축물의 부피를 측정하고, 따라서 농도를 추정하였다. 모든 농축물을 모으고, 전체적인 농도를 추정하였다(> 200 IU/mL).

[1029] 상기 농축된 글루리신 인슐린 용액의 농도를 시판 글루리신 인슐린 제형 (Apidra®)을 첨가함으로써 200 IU/mL로 조정하였다. 농축된 글루리신 인슐린 제형은 시판 제형(100 IU/mL)과 동일한 농도의 부형제(m-크레솔, NaCl, TRIS)를 갖는다.

[1030] 원심분리 시간 및 시판 제형을 이용한 최종 희석을 변형함으로써, 글루리신 인슐린 제형(300, 400 또는 500 IU/mL)을 동일한 방식으로 제조하는 것이 가능하다.

[1031] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B63. 화합물 1 (14.6 mg/mL) 및 18.6 mM 시트레이트의 존재 하에 200 IU/mL 아스파르트 인슐린 용액의 제조

[1033] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 1]/[아스파르트 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에

상세화된 양으로 다음 순서에 따라 혼합한다:

[1034] 화합물 1의 동결건조물 1460 mg

[1035] 200 IU/mL 아스파르트 인슐린 100 mL

[1036] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 1566 μL

[1037] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

**B64. 인간 인슐린, 리스프로 인슐린, 아스파르트 인슐린 또는 글루리신 인슐린 용액(300, 400 및 500 IU/mL)의 제조**

[1039] 인간 인슐린, 리스프로 인슐린, 아스파르트 인슐린 또는 글루리신 인슐린(300 IU/mL, 400 IU/mL 또는 500 IU/mL)의 농축된 제형(및 또한 모든 중간 농도)을 200 IU/mL 글루리신 인슐린 용액의 제조에 관한 것인 실시예 B62의 프로토콜에 근거하여 제조한다. 시판 인슐린 제형을 3 kDa 컷-오프 역치를 이용하여 Amicon Ultra-15 원심분리 투브를 사용하여 농축하였다. Amicon 투브를 먼저 12 mL의 탈이온화수로 린스하였다. 12 mL의 시판 제형을 4000 g, 20°C에서 원심분리하였다. 원심분리 시간을 변형함으로써, 제형 내 인슐린의 최종 농도를 조정하는 것이 가능하다. 농축물의 부피를 측정하고, 따라서 농도를 추정하였다. 모든 농축물을 모으고, 전체적인 농도를 추정하였다(> 300, 400 또는 500 IU/mL).

[1040] 상기 농축된 인슐린 용액의 농도를 인슐린 제형 (Humulin® R, Novolog®, Humalog® 또는 Apidra®)을 첨가함으로써 원하는 농도(예를 들어, 300 IU/mL, 400 IU/mL 또는 500 IU/mL)로 조정하였다. 농축된 인슐린 제형은 시판 제형(100 IU/mL)과 동일한 농도의 부형제를 갖는다.

[1041] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

**B65. 화합물 1 및 시트레이트의 존재 하에 200 IU/mL 글루리신 인슐린 용액의 제조**

[1043] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2의 [화합물 1]/[글루리신 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 혼합한다:

[1044] 화합물 1의 동결건조물 1460 mg

[1045] 200 IU/mL 글루리신 인슐린 100 mL

[1046] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 1566 μL

[1047] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

**B66. 화합물 1 및 시트레이트의 존재 하에 300 IU/mL 아스파르트 인슐린 용액의 제조**

[1049] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 1]/[아스파르트 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:

[1050] 300 IU/mL 아스파르트 인슐린 100 mL

[1051] 화합물 1의 동결건조물 2190 mg

[1052] 나트륨 시트레이트 720 mg

[1053] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

**B67. 화합물 1 및 시트레이트의 존재 하에 300 IU/mL 글루리신 인슐린 용액의 제조**

[1055] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 1]/[글루리신 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:

[1056] 300 IU/mL 글루리신 인슐린 100 mL

[1057] 화합물 1의 동결건조물 2190 mg

[1058] 나트륨 시트레이트 720 mg

[1059] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

- [1060] B68. 화합물 1 및 시트레이트의 존재 하에 400 IU/mL 아스파르트 인슐린 용액의 제조  
 [1061] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2의 [화합물 1]/[아스파르트 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:
- |                     |         |
|---------------------|---------|
| 400 IU/mL 아스파르트 인슐린 | 100 mL  |
| 화합물 1의 동결건조물        | 2920 mg |
| 나트륨 시트레이트           | 960 mg  |
- [1065] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [1066] B69. 화합물 1 및 시트레이트의 존재 하에 400 IU/mL 글루리신 인슐린 용액의 제조  
 [1067] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 1]/[글루리신 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:
- |                    |         |
|--------------------|---------|
| 400 IU/mL 글루리신 인슐린 | 100 mL  |
| 화합물 1의 동결건조물       | 2920 mg |
| 나트륨 시트레이트          | 960 mg  |
- [1071] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [1072] B70. 화합물 1 및 시트레이트의 존재 하에 500 IU/mL 아스파르트 인슐린 용액의 제조  
 [1073] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 1]/[아스파르트 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:
- |                     |         |
|---------------------|---------|
| 500 IU/mL 아스파르트 인슐린 | 100 mL  |
| 화합물 1의 동결건조물        | 3650 mg |
| 나트륨 시트레이트           | 1200 mg |
- [1077] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [1078] B71. 화합물 1 및 시트레이트의 존재 하에 500 IU/mL 글루리신 인슐린 용액의 제조  
 [1079] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 1]/[글루리신 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:
- |                    |         |
|--------------------|---------|
| 500 IU/mL 글루리신 인슐린 | 100 mL  |
| 화합물 1의 동결건조물       | 3650 mg |
| 나트륨 시트레이트          | 1200 mg |
- [1083] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [1084] B72. 화합물 1 및 시트레이트의 존재 하에 300 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조  
 [1085] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 1]/[인간 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:
- |                  |         |
|------------------|---------|
| 300 IU/mL 인간 인슐린 | 100 mL  |
| 화합물 1의 동결건조물     | 2190 mg |
| 나트륨 시트레이트        | 720 mg  |
- [1089] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [1090] B73. 화합물 1 및 시트레이트의 존재 하에 300 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조  
 [1091] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 1]/[리스프로 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상

세화된 양으로 혼합한다:

[1092]	300 IU/mL 리스프로 인슐린	100 mL
[1093]	화합물 1의 동결건조물	2190 mg
[1094]	나트륨 시트레이트	720 mg

최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B74. 화합물 1 및 시트레이트의 존재 하에 400 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조

100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 1]/[인간 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:

[1098]	400 IU/mL 인간 인슐린	100 mL
[1099]	화합물 1의 동결건조물	2920 mg
[1100]	나트륨 시트레이트	960 mg

최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B75. 화합물 1 및 시트레이트의 존재 하에 400 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조

100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 1]/[리스프로 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:

[1104]	400 IU/mL 리스프로 인슐린	100 mL
[1105]	화합물 1의 동결건조물	2920 mg
[1106]	나트륨 시트레이트	960 mg

최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B76. 화합물 1 및 시트레이트의 존재 하에 500 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조

100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 1]/[인간 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:

[1110]	500 IU/mL 인간 인슐린	100 mL
[1111]	화합물 1의 동결건조물	3650 mg
[1112]	나트륨 시트레이트	1200 mg

최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B77. 화합물 1 및 시트레이트의 존재 하에 500 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조

100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 1]/[리스프로 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:

[1116]	500 IU/mL 리스프로 인슐린	100 mL
[1117]	화합물 1의 동결건조물	3650 mg
[1118]	나트륨 시트레이트	1200 mg

최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B78. 화합물 2 및 시트레이트의 존재 하에 200 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조

100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 2]/[리스프로 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:

[1122]	200 IU/mL 리스프로 인슐린	100 mL
--------	--------------------	--------

- [1123] 화합물 2의 동결건조물 1460 mg
- [1124] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 1566 μL
- [1125] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [1126] **B79. 화합물 2 및 시트레이트의 존재 하에 200 IU/mL 아스파르트 인슐린 용액의 제조**
- [1127] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 2]/[아스파르트 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:
- |        |                      |         |
|--------|----------------------|---------|
| [1128] | 200 IU/mL 아스파르트 인슐린  | 100 mL  |
| [1129] | 화합물 2의 동결건조물         | 1460 mg |
| [1130] | 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 | 1566 μL |
- [1131] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [1132] **B80. 화합물 2 및 시트레이트의 존재 하에 200 IU/mL 글루리신 인슐린 용액의 제조**
- [1133] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 2]/[글루리신 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:
- |        |                      |         |
|--------|----------------------|---------|
| [1134] | 200 IU/mL 글루리신 인슐린   | 100 mL  |
| [1135] | 화합물 2의 동결건조물         | 1460 mg |
| [1136] | 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 | 1566 μL |
- [1137] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [1138] **B81. 화합물 2 및 시트레이트의 존재 하에 300 IU/mL 아스파르트 인슐린 용액의 제조**
- [1139] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 2]/[아스파르트 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:
- |        |                     |         |
|--------|---------------------|---------|
| [1140] | 300 IU/mL 아스파르트 인슐린 | 100 mL  |
| [1141] | 화합물 2의 동결건조물        | 2190 mg |
| [1142] | 나트륨 시트레이트           | 720 mg  |
- [1143] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [1144] **B82. 화합물 2 및 시트레이트의 존재 하에 300 IU/mL 글루리신 인슐린 용액의 제조**
- [1145] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 2]/[글루리신 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:
- |        |                    |         |
|--------|--------------------|---------|
| [1146] | 300 IU/mL 글루리신 인슐린 | 100 mL  |
| [1147] | 화합물 2의 동결건조물       | 2190 mg |
| [1148] | 나트륨 시트레이트          | 720 mg  |
- [1149] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- [1150] **B83. 화합물 2 및 시트레이트의 존재 하에 400 IU/mL 아스파르트 인슐린 용액의 제조**
- [1151] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 2]/[아스파르트 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:
- |        |                     |         |
|--------|---------------------|---------|
| [1152] | 400 IU/mL 아스파르트 인슐린 | 100 mL  |
| [1153] | 화합물 2의 동결건조물        | 2920 mg |
| [1154] | 나트륨 시트레이트           | 960 mg  |

[1155] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B84. 화합물 2 및 시트레이트의 존재 하에 400 IU/mL 글루리신 인슐린 용액의 제조

[1157] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 2]/[글루리신 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:

400 IU/mL 글루리신 인슐린	100 mL
--------------------	--------

화합물 2의 동결건조물	2920 mg
--------------	---------

나트륨 시트레이트	960 mg
-----------	--------

[1161] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B85. 화합물 2 및 시트레이트의 존재 하에 500 IU/mL 아스파르트 인슐린 용액의 제조

[1163] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 2]/[아스파르트 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:

500 IU/mL 아스파르트 인슐린	100 mL
---------------------	--------

화합물 2의 동결건조물	3650 mg
--------------	---------

나트륨 시트레이트	1200 mg
-----------	---------

[1167] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B86. 화합물 2 및 시트레이트의 존재 하에 500 IU/mL 글루리신 인슐린 용액의 제조

[1169] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 2]/[글루리신 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:

500 IU/mL 글루리신 인슐린	100 mL
--------------------	--------

화합물 2의 동결건조물	3650 mg
--------------	---------

나트륨 시트레이트	1200 mg
-----------	---------

[1173] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B87. 화합물 2 및 시트레이트의 존재 하에 300 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조

[1175] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2의 [화합물 2]/[인간 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:

300 IU/mL 인간 인슐린	100 mL
------------------	--------

화합물 2의 동결건조물	2190 mg
--------------	---------

나트륨 시트레이트	720 mg
-----------	--------

[1179] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B88. 화합물 2 및 시트레이트의 존재 하에 300 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조

[1181] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 2]/[리스프로 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:

300 IU/mL 리스프로 인슐린	100 mL
--------------------	--------

화합물 2의 동결건조물	2190 mg
--------------	---------

나트륨 시트레이트	720 mg
-----------	--------

[1185] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

#### B89. 화합물 2 및 시트레이트의 존재 하에 400 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조

- [1187] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 2]/[인간 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:
- |        |                  |         |
|--------|------------------|---------|
| [1188] | 400 IU/mL 인간 인슐린 | 100 mL  |
| [1189] | 화합물 2의 동결건조물     | 2920 mg |
| [1190] | 나트륨 시트레이트        | 960 mg  |
- [1191] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- B90. 화합물 2 및 시트레이트의 존재 하에 400 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조**
- [1193] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 2]/[리스프로 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:
- |        |                    |         |
|--------|--------------------|---------|
| [1194] | 400 IU/mL 리스프로 인슐린 | 100 mL  |
| [1195] | 화합물 2의 동결건조물       | 2920 mg |
| [1196] | 나트륨 시트레이트          | 960 mg  |
- [1197] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- B91. 화합물 2 및 시트레이트의 존재 하에 500 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조**
- [1199] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 2]/[인간 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 혼합한다:
- |        |                  |         |
|--------|------------------|---------|
| [1200] | 500 IU/mL 인간 인슐린 | 100 mL  |
| [1201] | 화합물 2의 동결건조물     | 3650 mg |
| [1202] | 나트륨 시트레이트        | 1200 mg |
- [1203] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- B92. 화합물 2 및 시트레이트의 존재 하에 500 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조**
- [1205] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 2]/[리스프로 인슐린] 질량 비로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 첨가한다:
- |        |                    |         |
|--------|--------------------|---------|
| [1206] | 500 IU/mL 리스프로 인슐린 | 100 mL  |
| [1207] | 화합물 2의 동결건조물       | 3650 mg |
| [1208] | 나트륨 시트레이트          | 1200 mg |
- [1209] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다. 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.
- B93. 화합물 3 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조**
- [1211] 100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 3]/[리스프로 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트 농도로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:
- |        |                          |        |
|--------|--------------------------|--------|
| [1212] | 동결건조된 화합물 3              | 730 mg |
| [1213] | 100 IU/mL Humalog® 시판 용액 | 100 mL |
| [1214] | 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액     | 783 μL |
- [1215] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.
- [1216] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.
- [1217] 맑은 용액을 0.22 μm 멤브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

## [1218] B94. 화합물 4 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 리스프로 인슐린 용액의 제조

100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 4]/[리스프로 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트 농도로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:

[1220] 동결건조된 화합물 4 730 mg

[1221] 100 IU/mL Humalog<sup>®</sup> 시판 용액 100 mL

[1222] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 783 μL

[1223] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.

[1224] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.

[1225] 맑은 용액을 0.22 μm 맴브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

## [1226] B95. 화합물 3 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조

100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 3]/[인간 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트 농도로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:

[1228] 동결건조된 화합물 3 730 mg

[1229] 100 IU/mL Humulin<sup>®</sup> R 시판 용액 100 mL

[1230] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 783 μL

[1231] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.

[1232] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.

[1233] 맑은 용액을 0.22 μm 맴브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

## [1234] B96. 화합물 4 및 시트레이트의 존재 하에 100 IU/mL 인간 인슐린 용액의 제조

100 mL의 제형의 최종 부피를 위해, 2.0의 [화합물 4]/[인간 인슐린] 질량 비 및 9.3 mM의 시트레이트 농도로, 다양한 시약을 하기에 상세화된 양으로 다음 순서에 따라 첨가한다:

[1236] 동결건조된 화합물 4 730 mg

[1237] 100 IU/mL Humulin<sup>®</sup> R 시판 용액 100 mL

[1238] 1.188 M 나트륨 시트레이트 용액 783 μL

[1239] 시트레이트의 경우, 주사가능 제형과 상용성인 나트륨 염, 칼륨 염 또는 또다른 염의 형태로의 산 형태 또는 염기 형태를 사용할 수 있다.

[1240] 최종 pH를 7.4 ± 0.4로 조정한다.

[1241] 맑은 용액을 0.22 μm 맴브레인을 통해 여과하고, 4°C에 저장한다.

## [1242] C 약역학 및 약동학

[1243] C1: 인슐린 용액의 약역학의 측정을 위한 프로토콜

[1244] 경정맥에 미리 카테터를 연결해 둔, 약 50 kg의 중량의 12마리의 국내산 돼지를, 실험 시작 전 2.5시간 동안 금식시킨다. 인슐린 주입을 진행하기 1시간 전에, 글루코오스 및 인슐린의 기저 수준을 측정하기 위해 3개의 혈액샘플을 채취한다.

[1245] 리스프로 인슐린의 경우 0.09 IU/kg의 투여량 및 인간 인슐린 및 아스파르트 인슐린의 경우 0.125 IU/kg의 투여량으로의 인슐린의 주입을 31 G 바늘이 장착된 Novopen 인슐린 바늘을 사용하여, 동물의 귀 아래에, 목 내로 피하로 수행한다.

[1246] 혈액 샘플을 20분 동안은 매 4분, 이후 3시간까지는 매 10분 채취한다. 각각의 샘플을 채취한 후, 카테터를 회석 헤파린 용액으로 런스한다.

[1247] 혈액 1방울로, 혈당측정기를 사용하여 혈당증을 측정한다.

[1248] 이후 글루코오스 약역학적 곡선을 작성하고, 각각의 돼지에 대해 혈액 내 최소 글루코오스 수준에 도달하는데 필요한 시간을 측정하고, 글루코오스  $T_{min}$ 으로서 보고한다. 이후 글루코오스  $T_{min}$  값의 평균을 계산한다.

[1249] 나머지 혈액을 건조 튜브에 수집하고 원심분리하여 혈청을 단리한다. 혈청 샘플 내 인슐린 수준을 각각의 돼지에 대해 샌드위치 ELISA 면역효소적 방법을 통해 측정한다.

[1250] 이후 약동학적 곡선을 작성한다. 각각의 돼지에 대해 혈청 내 최대 인슐린 농도에 도달하는데 필요한 시간을 측정하고, 인슐린  $T_{max}$ 으로서 보고한다. 이후 인슐린  $T_{max}$  값의 평균을 계산한다.

[1251] C2: 실시예 B2 및 B8의 인슐린 용액에 대한 약역학적 및 약동학적 결과

질지예	인슐린	화합물	다가음이온성 화합물	돼지의 수
B2	Lispro	-	-	11
B8	Lispro	1	시트레이트 9.3 mM	10

[1252]

[1253] 실시예 B2 및 B8에 기재된 제형을 이용해 수득된 약역학적 결과를 도 1에 제시한다. 본 발명에 따르면, 상기 곡선의 분석은 부형제로서 화합물 1 및 시트레이트(9.3 mM)를 포함하는 실시예 B8의 제형이(실시예 B8에 상응하는 사각형으로 작성된 곡선, 글루코오스  $T_{min} = 30 \pm 11$  분) 실시예 B2의 Humalog® 시판 제형으로 수득된 것보다(실시예 B2에 상응하는 삼각형으로 작성된 곡선, 글루코오스  $T_{min} = 44 \pm 14$  분) 더욱 신속한 작용을 수득하는 것을 가능하게 만든다는 것을 보여준다.

[1254] 실시예 B2 및 B8에 기재된 제형을 이용해 수득된 약동학적 결과를 도 2에 제시한다. 본 발명에 따르면, 상기 곡선의 분석은 부형제로서 화합물 1 및 시트레이트(9.3 mM)를 포함하는 실시예 B8의 제형이 (실시예 B8에 상응하는 사각형으로 작성된 곡선, 인슐린  $T_{max} = 11 \pm 6$  분) 실시예 B2의 Humalog® 시판 제형으로 수득된 것보다(실시예 B2에 상응하는 삼각형으로 작성된 곡선, 인슐린  $T_{max} = 18 \pm 8$  분) 리스프로 인슐린의 더욱 신속한 흡수를 유도한다는 것을 보여준다.

[1255]

C3: 실시예 B2 및 B10의 인슐린 용액에 대한 약역학적 및 약동학적 결과

질지예	인슐린	화합물	다가음이온성 화합물	돼지의 수
B2	Lispro	-	-	11
B10	Lispro	1	다가음이온성 화합물 I	11

[1256]

[1257] 실시예 B2 및 B10에 기재된 제형을 이용해 수득된 약역학적 결과를 도 3에 제시한다. 본 발명에 따르면, 상기 곡선의 분석은 부형제로서 화합물 1 및 다가음이온성 화합물 I(20 mg/mL)을 포함하는 실시예 B10의 제형이(실시예 B10에 상응하는 사각형으로 작성된 곡선, 글루코오스  $T_{min} = 33 \pm 13$  분) 실시예 B2의 Humalog® 시판 제형으로 수득된 것보다(실시예 B2에 상응하는 삼각형으로 작성된 곡선, 글루코오스  $T_{min} = 44 \pm 14$  분) 더욱 신속한 작용을 수득하는 것을 가능하게 만든다는 것을 보여준다.

[1258]

실시예 B2 및 B10에 기재된 제형을 이용해 수득된 약동학적 결과를 도 4에 제시한다. 본 발명에 따르면, 상기 곡선의 분석은 부형제로서 화합물 1 및 다가음이온성 화합물 I(20 mg/mL)을 포함하는 실시예 B10의 제형이 (실시예 B10에 상응하는 사각형으로 작성된 곡선, 인슐린  $T_{max} = 15 \pm 9$  분) 실시예 B2의 Humalog® 시판 제형으로 수득된 것보다(실시예 B2에 상응하는 삼각형으로 작성된 곡선, 인슐린  $T_{max} = 18 \pm 8$  분) 리스프로 인슐린의 더욱 신속한 흡수를 유도한다는 것을 보여준다.

[1259]

C4: 실시예 B2 및 B7의 인슐린 용액에 대한 약역학적 및 약동학적 결과

질지예	인슐린	화합물	다가음이온성 화합물	돼지의 수
B2	Lispro	-	-	12
B7	Lispro	1	-	12

[1260]

실시예 B2 및 B7에 기재된 제형을 이용해 수득된 약역학적 결과를 도 5에 제시한다. 본 발명에 따르면, 상기 곡

선의 분석은 부형제로서 화합물 1을 포함하는 실시예 B7의 제형이(실시예 B7에 상응하는 사각형으로 작성된 곡선, 글루코오스  $T_{min} = 41 \pm 16$  분) 실시예 B2의 Humalog<sup>®</sup> 시판 제형으로 수득된 것보다(실시예 B2에 상응하는 삼각형으로 작성된 곡선, 글루코오스  $T_{min} = 50 \pm 14$  분) 더욱 신속한 작용 개시를 포함한다는 것을 보여준다.

[1262] 실시예 B2 및 B7에 기재된 제형을 이용해 수득된 약동학적 결과를 도 6에 제시한다. 상기 곡선의 분석은 부형제로서 화합물 1을 포함하는 제형이 (실시예 B2에 상응하는 사각형으로 작성된 곡선, 인슐린  $T_{max} = 21 \pm 10$  분) 실시예 B2의 Humalog<sup>®</sup> 시판 제형으로 수득된 것보다(실시예 B2에 상응하는 삼각형으로 작성된 곡선, 인슐린  $T_{max} = 20 \pm 9$  분) 리스프로 인슐린의 더욱 신속한 흡수를 유도하지 않는다는 것을 보여준다. 따라서 화합물 1 단독은 리스프로 인슐린의 약동학의 유의한 가속화를 유도하기에는 불충분하다.

[1263] C5: 실시예 B1 및 B3의 인슐린 용액에 대한 약역학적 및 약동학적 결과

실시예	인슐린	화합물	다가음이온성 화합물	폐지의 수
B1	아스파르트	-	-	11
B3	인간	-	-	11

[1264]

실시예 B1 및 B3에 기재된 제형을 이용해 수득된 약역학적 결과를 도 7에 제시한다. 상기 곡선의 분석은 실시예 B3의 인간 인슐린 제형이(실시예 B3에 상응하는 사각형으로 작성된 곡선, 글루코오스  $T_{min} = 61 \pm 31$  분) 게다가 실시예 B1의 아스파르트 인슐린 시판 제형보다(실시예 B1에 상응하는 삼각형으로 작성된 곡선, 글루코오스  $T_{min} = 44 \pm 13$  분) 좀더 느린 작용을 갖는다는 것을 보여준다.

[1265] 실시예 B1 및 B3에 기재된 제형을 이용해 수득된 약동학적 결과를 도 8에 제시한다. 상기 곡선의 분석은 실시예 B3의 인간 인슐린 제형 단독이 (실시예 B3에 상응하는 사각형으로 작성된 곡선, 인슐린  $T_{max} = 36 \pm 33$  분) 게다가 실시예 B1의 아스파르트 인슐린 시판 제형 (Novolog<sup>®</sup>)으로 수득된 것보다(실시예 B1에 상응하는 삼각형으로 작성된 곡선, 인슐린  $T_{max} = 28 \pm 13$  분) 좀더 느린 흡수를 유도한다는 것을 보여준다.

[1266] 상기 결과는, 인간 인슐린에 관해 신속 인슐린 유사체의 경우 혈당증의 저하 및 인슐린의 흡수 가속화라는, 문현 결과에 따르는 것이다.

[1267] C6: 실시예 B1 및 B39의 인슐린 용액에 대한 약역학적 및 약동학적 결과

실시예	인슐린	화합물	다가음이온성 화합물	폐지의 수
B1	아스파르트	-	-	14
B39	인간	1	시트레이트 9.3 mM	5

[1268]

실시예 B1 및 B39에 기재된 제형을 이용해 수득된 약역학적 결과를 도 9에 제시한다. 상기 곡선의 분석은 부형제로서 화합물 1 및 시트레이트(9.3 mM)을 포함하는 실시예 B39의 인간 인슐린에 기초한 제형이(실시예 B39에 상응하는 사각형으로 작성된 곡선, 글루코오스  $T_{min} = 46 \pm 9$  분) 실시예 B1의 아스파르트 인슐린 시판 제형 (Novolog<sup>®</sup>)으로 수득된 것과(실시예 B1에 상응하는 삼각형으로 작성된 곡선, 글루코오스  $T_{min} = 53 \pm 24$  분) 유사한 작용을 수득하는 것을 가능하게 만든다는 것을 보여준다.

[1269] 실시예 B1 및 B39에 기재된 제형을 이용해 수득된 약동학적 결과를 도 10에 제시한다. 상기 곡선의 분석은 부형제로서 화합물 1 및 시트레이트(9.3 mM)을 포함하는 실시예 B39의 제형이 (실시예 B39에 상응하는 사각형으로 작성된 곡선, 인슐린  $T_{max} = 20 \pm 7$  분) 실시예 B1의 아스파르트 인슐린 시판 제형 (Novolog<sup>®</sup>)으로 수득된 것과(실시예 B1에 상응하는 삼각형으로 작성된 곡선, 인슐린  $T_{max} = 22 \pm 10$  분) 유사한 인슐린 흡수를 유도한다는 것을 보여준다.

[1270] 실시예 C5와 C6 사이의 아스파르트 인슐린 (Novolog<sup>®</sup>)에 대한 시간 파라미터가 유사하므로, 실시예 B39의 제형이 인간 인슐린의 시판 제형에 관해 (실시예 B3) 혈당의 저하 및 인간 인슐린의 흡수 가속화를 유도한다는 것을 외삽법으로 추정할 수 있다.

[1273] C7: 실시예 B2 및 B11의 인슐린 용액에 대한 약역학적 및 약동학적 결과

질지예	인슐린	화합물	다가룹이온성 화합물	폐지의 수
B2	Lispro	-	-	26
B11	Lispro	2	시트레이트 9.3 mM	23

[1274]

[1275] 실시예 B2 및 11에 기재된 제형을 이용해 수득된 약역학적 결과를 도 13에 제시한다. 본 발명에 따르면, 상기 곡선의 분석은 부형제로서 화합물 2 및 시트레이트(9.3 mM)를 포함하는 실시예 B11의 제형이(실시예 B11에 상응하는 사각형으로 작성된 곡선, 글루코오스  $T_{min} = 32 \pm 10$  분) 실시예 B2의 Humalog<sup>®</sup> 시판 제형으로 수득된 것보다(실시예 B2에 상응하는 삼각형으로 작성된 곡선, 글루코오스  $T_{min} = 41 \pm 21$  분) 더욱 신속한 작용을 수득하는 것을 가능하게 만든다는 것을 보여준다.

[1276]

실시예 B2 및 B11에 기재된 제형을 이용해 수득된 약동학적 결과를 도 14에 제시한다. 본 발명에 따르면, 상기 곡선의 분석은 부형제로서 화합물 2 및 시트레이트(9.3 mM)를 포함하는 실시예 B11의 제형이 (실시예 B11에 상응하는 사각형으로 작성된 곡선, 인슐린  $T_{max} = 13 \pm 5$  분) 실시예 B2의 Humalog<sup>®</sup> 시판 제형으로 수득된 것보다(실시예 B2에 상응하는 삼각형으로 작성된 곡선, 인슐린  $T_{max} = 22 \pm 13$  분) 리스프로 인슐린의 더욱 신속한 흡수를 유도한다는 것을 보여준다.

[1277] C8: 실시예 B1 및 B38의 인슐린 용액에 대한 약역학적 및 약동학적 결과

질지예	인슐린	화합물	다가룹이온성 화합물	폐지의 수
B1	아스파르트	-	-	37
B38	인간	2	시트레이트 9.3 mM	31

[1278]

[1279] 실시예 B1 및 B38에 기재된 제형을 이용해 수득된 약역학적 결과를 도 15에 제시한다. 상기 곡선의 분석은 부형제로서 화합물 2 및 시트레이트(9.3 mM)을 포함하는 실시예 B38의 인간 인슐린에 기초한 제형이(실시예 B102에 상응하는 사각형으로 작성된 곡선, 글루코오스  $T_{min} = 47 \pm 30$  분) 실시예 B1의 아스파르트 인슐린 시판 제형(Novolog<sup>®</sup>)으로 수득된 것과(실시예 B1에 상응하는 삼각형으로 작성된 곡선, 글루코오스  $T_{min} = 47 \pm 15$  분) 유사한 작용을 수득하는 것을 가능하게 만든다는 것을 보여준다.

[1280]

실시예 B1 및 B38에 기재된 제형을 이용해 수득된 약동학적 결과를 도 16에 제시한다. 상기 곡선의 분석은 부형제로서 화합물 2 및 시트레이트(9.3 mM)을 포함하는 실시예 B38의 제형이 (실시예 B38에 상응하는 사각형으로 작성된 곡선, 인슐린  $T_{max} = 22 \pm 21$  분) 실시예 B1의 아스파르트 인슐린 시판 제형(Novolog<sup>®</sup>)으로 수득된 것과(실시예 B1에 상응하는 삼각형으로 작성된 곡선, 인슐린  $T_{max} = 19 \pm 12$  분) 유사한 인간 인슐린 흡수를 유도한다는 것을 보여준다.

[1281]

실시예 C5와 C8 사이의 아스파르트 인슐린 (Novolog<sup>®</sup>)에 대한 시간 파라미터가 유사하므로, 실시예 B38의 제형이 인간 인슐린의 시판 제형에 관해 (실시예 B3) 혈당의 저하 및 인간 인슐린의 흡수 가속화를 유도한다는 것을 외삽법으로 추정할 수 있다.

[1282] C9: 실시예 B1 및 B53의 인슐린 용액에 대한 약역학적 및 약동학적 결과

질지예	인슐린	화합물	다가룹이온성 화합물	폐지의 수
B1	아스파르트	-	-	12
B53	인간	화합물 8	시트레이트 9.3 mM	8

[1283]

[1284] 실시예 B1 및 B53에 기재된 제형을 이용해 수득된 약역학적 결과를 도 17에 제시한다. 상기 곡선의 분석은 부형제로서 화합물 8 및 시트레이트(9.3 mM)을 포함하는 실시예 B53의 인간 인슐린에 기초한 제형이(실시예 B53에 상응하는 사각형으로 작성된 곡선, 글루코오스  $T_{min} = 63 \pm 36$  분) 실시예 B1의 아스파르트 인슐린 시판 제형(Novolog<sup>®</sup>)으로 수득된 것만큼(실시예 B1에 상응하는 삼각형으로 작성된 곡선, 글루코오스  $T_{min} = 53 \pm 19$  분) 실질적으로 신속한 작용을 수득하는 것을 가능하게 만든다는 것을 보여준다.

[1285]

실시예 B1 및 B53에 기재된 제형을 이용해 수득된 약동학적 결과를 도 18에 제시한다. 상기 곡선의 분석은 부형제로서 화합물 8 및 시트레이트(9.3 mM)을 포함하는 실시예 B53의 제형이 (실시예 B53에 상응하는 사각형으로

작성된 곡선, 인슐린  $T_{max} = 19 \pm 12$  분) 실시예 B1의 아스파르트 인슐린 시판 제형 (Novolog<sup>®</sup>)으로 수득된 것과(실시예 B1에 상응하는 삼각형으로 작성된 곡선, 인슐린  $T_{max} = 19 \pm 6$  분) 유사한 인간 인슐린 흡수를 유도한다는 것을 보여준다.

[1286] 실시예 C5와 C9 사이의 아스파르트 인슐린 (Novolog<sup>®</sup>)에 대한 시간 파라미터가 유사하므로, 실시예 B53의 제형이 인간 인슐린의 시판 제형에 관해 (실시예 B3) 혈당증의 저하 및 인간 인슐린의 흡수 가속화를 유도한다는 것을 외삽법으로 추정할 수 있다.

#### D 원편광 이색성

D1: 화합물 1의 존재 하에 원편광 이색성에 의해 평가된 리스프로 인슐린의 연합 상태

[1289] 원편광 이색성은 인슐린의 2차 및 4차 구조를 연구하는 것을 가능하게 한다. 인슐린 단량체는 2량체로서 및 6량체로서 조직화된다. 6량체는 인슐린의 물리적으로 화학적으로 가장 안정한 형태이다. 2가지 6량체 형태인 R6 형태 및 T6 형태가 존재한다. 리스프로 인슐린은 R6 6량체 형태 (가장 안정한 형태)의 특징인 251 nm에서 강한 CD 신호를 갖는다. 251 nm에서 CD 신호의 상실은 6량체의 불안정화 (및 따라서 6량체의 2량체로의 변환의 첫번째 징후)와 연결된다.

[1290] EDTA 및 EDTA/시트레이트 혼합물은 리스프로 인슐린의 R6 형태를 완전히 해체시킨다(도 11). EDTA는 따라서 6량체 상에 현저한 효과를 갖는다.

[1291] 반대로, 시트레이트 단독, 화합물 1 단독, 및 또한 혼합물 화합물 1/시트레이트 및 화합물 1/다가음이온성 화합물 1은, 251 nm에서 CD 신호에 사실상 영향을 주지 않는다. 따라서 상기 화합물은 6량체의 R6 구조 상에, 심지어, 6량체 구조 상에 사실상 영향을 주지 않는다.

D2: 화합물 1의 존재 하에 원편광 이색성에 의해 평가된 인간 인슐린의 연합 상태

[1293] 원편광 이색성은 인슐린의 2차 및 4차 구조를 연구하는 것을 가능하게 한다. 인슐린 단량체는 2량체로서 및 6량체로서 조직화된다. 6량체는 인슐린의 물리적으로 화학적으로 가장 안정한 형태이다. 275 nm에서의 CD 신호는 인슐린의 6량체 형태(약 -300°에서의 6량체 신호, -200° 내지 -250°의 2량체에 대한 신호, 및 -200° 미만의 단량체에 대한 신호)의 특징이다. 275 nm에서 CD 신호의 상실은 따라서 6량체의 2량체 또는 단량체로의 불안정화의 특징이다.

[1294] EDTA 및 EDTA/시트레이트 조합은 인간 인슐린의 6량체 구조에 매우 현저한 영향을 준다(6량체의 2량체로의 전체 해리, 도 12). 반대로, 시트레이트 단독, 화합물 1 단독, 다가음이온성 화합물 1 단독 및 또한 화합물 1/시트레이트 및 화합물 1/다가음이온성 화합물 1 조합은 인간 인슐린의 6량체 구조 상에 영향을 주지 않는다. EDTA와 달리, 화합물 1 및 시트레이트 또는 다가음이온성 화합물 1을 포함하는 인간 인슐린 제형은 인간 인슐린 6량체의 임의의 해리를 보이지 않는다.

D3: 화합물 1 내지 11의 존재 하에 원편광 이색성에 의해 평가된 리스프로 인슐린의 연합 상태

[1296] 원편광 이색성은 인슐린의 2차 및 4차 구조를 연구하는 것을 가능하게 한다. 인슐린 단량체는 2량체로서 및 6량체로서 조직화된다. 6량체는 인슐린의 물리적으로 화학적으로 가장 안정한 형태이다. 2가지 6량체 형태인 R6 형태 및 T6 형태가 존재한다. 리스프로 인슐린은 R6 6량체 형태 (가장 안정한 형태)의 특징인 251 nm에서 강한 CD 신호를 갖는다. 251 nm에서 CD 신호의 상실은 6량체의 불안정화 (및 따라서 6량체의 2량체로의 변환의 첫번째 징후)와 연결된다. 수득된 결과를 도 19에 제시한다. 상기 도에는 x-축에:

- A: 리스프로 인슐린 (100 IU/mL)
- B: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 2
- C: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 2 + 시트레이트(9.3 mM)
- D: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 1
- E: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 1 + 시트레이트(9.3 mM)
- F: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 3
- G: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 3 + 시트레이트(9.3 mM)

- [1304] - H: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 4
- [1305] - I: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 4 + 시트레이트(9.3 mM)
- [1306] - J: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 5
- [1307] - K: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 5 + 시트레이트(9.3 mM)
- [1308] - L: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 6
- [1309] - M: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 6 + 시트레이트(9.3 mM)
- [1310] - N: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 7
- [1311] - O: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 7 + 시트레이트(9.3 mM)
- [1312] - P: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 8
- [1313] - Q: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 8 + 시트레이트(9.3 mM)
- [1314] - R: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 9
- [1315] - S: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 9 + 시트레이트(9.3 mM)
- [1316] - T: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 10
- [1317] - U: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 10 + 시트레이트(9.3 mM)
- [1318] - V: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 11
- [1319] - W: 리스프로 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 11 + 시트레이트(9.3 mM)

[1320] y-축에 251 nm에서의 원편광 이색성 신호( $\text{deg} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{dmol}^{-1}$ )를 제시한다.

[1321] 화합물 1 내지 11 단독 및 또한 시트레이트와 조합으로의 화합물 1 내지 11은 리스프로 인슐린의 경우 251 nm에서의 CD 신호에 영향을 주지 않는다. 화합물 1 내지 11은 따라서 6량체의 R6 구조 상에, 심지어, 리스프로 인슐린의 6량체 구조 상에 사실상 영향을 주지 않는다.

[1322] **D4:** 화합물 1 내지 11의 존재 하에 원편광 이색성에 의해 평가된 인간 인슐린의 연합 상태

[1323] 원편광 이색성은 인슐린의 2차 및 4차 구조를 연구하는 것을 가능하게 한다. 인슐린 단량체는 2량체로서 및 6량체로서 조직화된다. 6량체는 인슐린의 물리적으로 화학적으로 가장 안정한 형태이다. 275 nm에서의 CD 신호는 인슐린의 6량체 형태(약  $-300^\circ$ 에서의 6량체 신호,  $-200^\circ$  내지  $-250^\circ$ 의 2량체에 대한 신호, 및  $-200^\circ$  미만의 단량체에 대한 신호)의 특징이다. 275 nm에서 CD 신호의 상실은 따라서 6량체의 2량체 또는 단량체로의 불안정화의 특징이다. 수득된 결과를 도 20에 제시한다. 상기 도에는 x-축에 :

- [1324] A: 인간 인슐린 (100 IU/mL)
- [1325] B: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 2
- [1326] C: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 2 + 시트레이트(9.3 mM)
- [1327] D: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 1
- [1328] E: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 1 + 시트레이트(9.3 mM)
- [1329] F: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 3
- [1330] G: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 3 + 시트레이트(9.3 mM)
- [1331] H: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 4
- [1332] I: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 4 + 시트레이트(9.3 mM)
- [1333] J: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 5
- [1334] K: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 5 + 시트레이트(9.3 mM)

- [1335] L: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 6
- [1336] M: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 6 + 시트레이트(9.3 mM)
- [1337] N: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 7
- [1338] O: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 7 + 시트레이트(9.3 mM)
- [1339] P: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 8
- [1340] Q: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 8 + 시트레이트(9.3 mM)
- [1341] R: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 9
- [1342] S: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 9 + 시트레이트(9.3 mM)
- [1343] T: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 10
- [1344] U: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 10 + 시트레이트(9.3 mM)
- [1345] V: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 11
- [1346] W: 인간 인슐린 + 7.3 mg/mL의 화합물 11 + 시트레이트(9.3 mM)
- [1347] y-축에 275 nm에서의 원편광 이색성 신호(deg.cm<sup>2</sup>.dmol<sup>-1</sup>)를 제시한다.
- [1348] 화합물 1 내지 11 단독 및 또한 시트레이트와 조합으로의 화합물 1 내지 11은 인간 인슐린의 경우 275 nm에서의 CD 신호에 영향을 주지 않는다. 화합물 1 내지 11은 따라서 인간 인슐린의 6량체 구조 상에 사실상 영향을 주지 않는다.
- [1349] E 등전점에서의 인간 인슐린 및 인슐린 유사체의 해체
- [1350] E1. 등전점에서의 인간 인슐린의 해체
- [1351] 인간 인슐린은 5.3에서 등전점을 갖는다. 상기 5.3의 pH에서, 인간 인슐린은 침전한다. 인간 인슐린과 다양한 화합물과의 복합체의 형성을 입증하는 시험을 등전점에서 실시한다. 상호작용이 존재하는 경우, 그의 등전점에서 인슐린을 용해시키는 것이 가능하다.
- [1352] 200 IU/mL 인간 인슐린 용액을 제조한다. 물 중 상이한 농도(8, 30 또는 100 mg/mL)로의 화합물의 용액을 제조한다. 인간 인슐린 용액 및 화합물의 용액 사이의 동등부피(50/50) 혼합물을 제조하고, 100 IU/mL의 인간 인슐린 및 원하는 농도의 화합물 (4, 15 또는 50 mg/mL)을 함유하는 용액을 산출한다. 다양한 용액의 pH를 200 mM 아세트산을 첨가하여 pH 5.3으로 조정한다.
- [1353] 용액의 출현을 기록한다. 용액이 투명하면, 시험 농도에서 화합물은 인간 인슐린의 해체를 허용하지 않는다. 용액이 투명하면, 화합물은 시험 농도에서 인간 인슐린의 해체를 허용한다. 이런 식으로, 그의 등전점에서 인간 인슐린을 용해시키는데 필요한 화합물의 농도를 결정할 수 있다. 상기 농도가 낮을수록, 인간 인슐린의 경우 화합물의 친화성이 더 크다.
- [1354] 수득된 결과를 표 3에 제시한다. 결과는 화합물 및 폴리사카라이드가 인간 인슐린 해체에 있어 동일한 특성을 갖지 않는다는 것을 보여준다.

표 3

[1355]	화합물(실시예) 또는 폴리사카라이드(반대예)	인간 인슐린(100 IU/mL)의 화합물(4 mg/mL)을 이용한 해체	인간 인슐린(100 IU/mL)의 화합물(15 mg/mL)을 이용한 해체	인간 인슐린(100 IU/mL)의 화합물(50 mg/mL)을 이용한 해체
	반대예			
	폴리사카라이드 1	예	예	예
	폴리사카라이드 4	예	예	예
	폴리사카라이드 3	예	예	예
	폴리사카라이드 2	예	예	예
	폴리사카라이드 5	예	예	예
	실시예			
	화합물 1	아니오	아니오	예

화합물 2	아니오	아니오	예
화합물 3	아니오	아니오	예
화합물 4	아니오	아니오	예
화합물 6	아니오	아니오	예
화합물 8	아니오	아니오	예
화합물 9	아니오	아니오	예
화합물 10	아니오	아니오	예

[1356] E2. 등전점에서의 리스프로 인슐린의 해체리스프로 인슐린은 5.3에서 등전점을 갖는다. 상기 pH에서, 리스프로 인슐린은 침전한다. 리스프로 인슐린과 다양한 화합물과의 복합체의 형성을 입증하는 시험을 등전점에서 실시한다. 상호작용이 존재하는 경우, 그의 등전점에서 리스프로 인슐린을 용해시키는 것이 가능하다.

[1357] 리스프로 인슐린의 시판 제형(Humalog<sup>®</sup>)을 1 mM PO<sub>4</sub> 완충액(pH 7)에 대해 투석한다. 투석 후, 리스프로 인슐린 농도는 약 90 IU/mL이다. 동결건조된 화합물을 청량하고 리스프로 인슐린 용액에 용해시켜, 리스프로 인슐린(90 IU/mL) 및 원하는 농도의 화합물(4, 15 또는 50 mg/mL)을 함유하는 제형을 산출한다. 다양한 용액의 pH를 200 mM 아세트산을 첨가하여 pH 5.3으로 조정한다.

[1358] 용액의 출현을 기록한다. 용액이 탁해지면, 시험 농도에서 화합물은 리스프로 인슐린의 해체를 허용하지 않는다. 용액이 투명하면, 화합물은 시험 농도에서 리스프로 인슐린의 해체를 허용한다. 이런 식으로, 그의 등전점에서 리스프로 인슐린을 용해시키는데 필요한 화합물의 농도를 결정할 수 있다. 상기 농도가 낮을수록, 리스프로 인슐린의 경우 화합물의 친화성이 더 크다.

[1359] 수득된 결과를 표 4에 제시한다. 결과는 화합물 및 폴리사카라이드가 리스프로 인슐린 해체에 있어 동일한 특성을 갖지 않는다는 것을 보여준다.

표 4

화합물(실시예) 또는 폴리사카라이드(반대예)	리스프로 인슐린(90 IU/mL)의 화합물(4 mg/mL)을 이용한 해체	리스프로 인슐린(90 IU/mL)의 화합물(15 mg/mL)을 이용한 해체	D리스프로 인슐린(90 IU/mL)의 화합물(50 mg/mL)을 이용한 해체
반대예			
폴리사카라이드 1	예	예	예
폴리사카라이드 3	예	예	예
폴리사카라이드 2	예	예	예
실시예			
화합물 1	아니오	아니오	예
화합물 2	아니오	아니오	예
화합물 3	아니오	아니오	예

[1361] F 알부민과의 상호작용 F1: 다양한 폴리사카라이드 또는 화합물과 알부민과 같은 모델 단백질 사이의 상호작용을 측정하기 위해, 센트리콘(Centricon) 시험(50 kDa의 컷-오프(cut-off) 역치값을 갖는 멤브레인)을 수행하였다. 폴리사카라이드 또는 화합물(7.3 mg/mL)의 용액을 PBS 중의 20 mg/mL으로의 BSA(소혈청 알부민)의 용액 중에 3배 희석하였다(혼합물 중의 농도: 2.43 mg/mL의 폴리사카라이드 또는 화합물, 13.3 mg/mL의 알부민 및 약 100 mM의 염).

[1362] 상기 혼합물을 센트리콘(Centricon)으로 원심분리하여 대략 부피의 반이 멤브레인을 통과하도록 한다. 알부민은 센트리콘(Centricon) 멤브레인 상에 정량적으로 보유된다. 폴리사카라이드 및 화합물은 멤브레인을 통해 다량으로 단독 통과한것으로 분석된다(최대 몰 질량을 갖는 폴리사카라이드의 경우, 약 20%의 폴리사카라이드가 보유된다).

[1363] 농축 후, 폴리사카라이드 또는 화합물을 여과액 내에서 UV에 의해 어세이한다. 알부민에 결합된 폴리사카라이드 또는 화합물의 백분율을 하기 방정식을 통해 계산한다:

[1-[알부민의 존재 하에 여과액 내 폴리사카라이드 또는 화합물]/[알부민의 부재 하에 여과액 내 폴리사카라이드 또는 화합물])\*100

[1365] 수득된 결과를 표 5에 제시한다. 몰 질량 5-15 kDa의 폴리사카라이드는 상기 시험에서 알부민에 의해 강하게 보유된다는 것이 매우 명백하게 관찰된다. 반대로, 낮은 몰 질량의 본 발명의 화합물은 본 시험에서 알부민에 의해 현저하게 덜 보유된다.

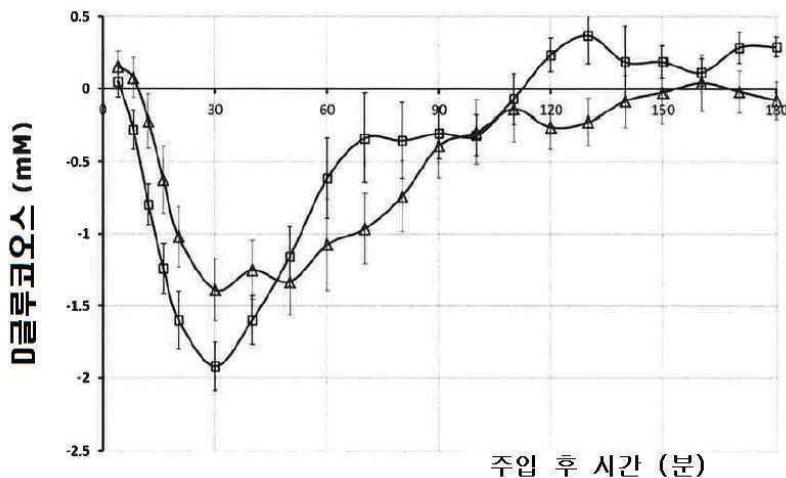
표 5

[1366]

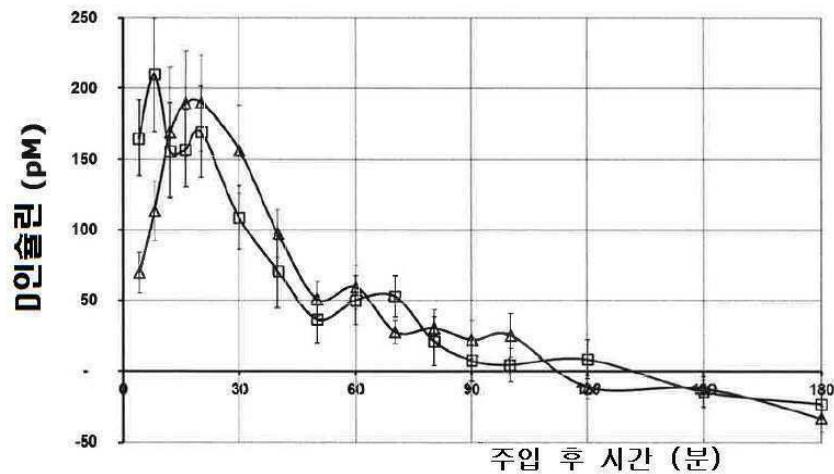
폴리사카라이드 또는 화합물	% 폴리사카라이드 또는 % BSA에 결합된 화합물
반대 예	
폴리사카라이드 4	97%
폴리사카라이드 1	95%
폴리사카라이드 3	77%
폴리사카라이드 5	86%
폴리사카라이드 2	82%
실시 예	
화합물 2	21%
화합물 1	20%
화합물 3	27%
화합물 4	24%
화합물 5	24%
화합물 6	26%
화합물 7	27%
화합물 8	27%
화합물 9	43%
화합물 11	35%

## 도면

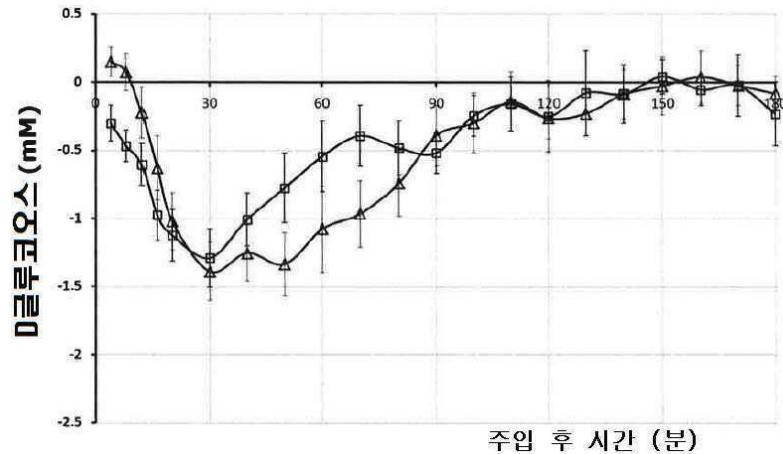
### 도면1



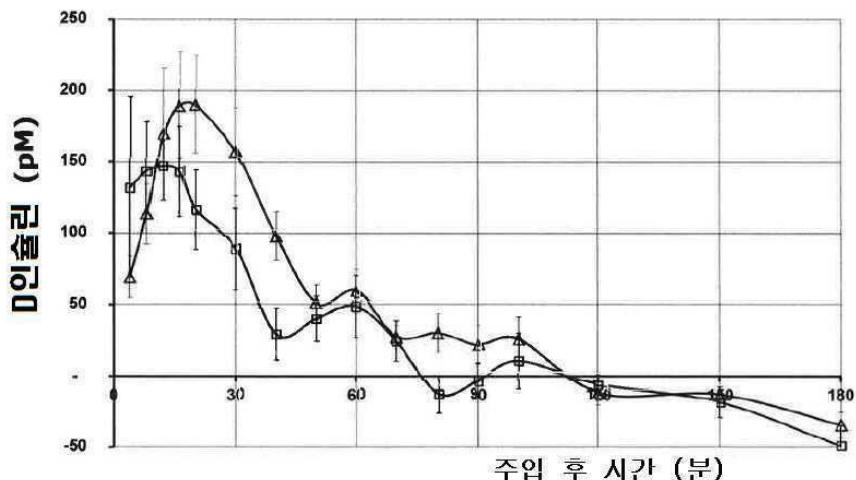
도면2



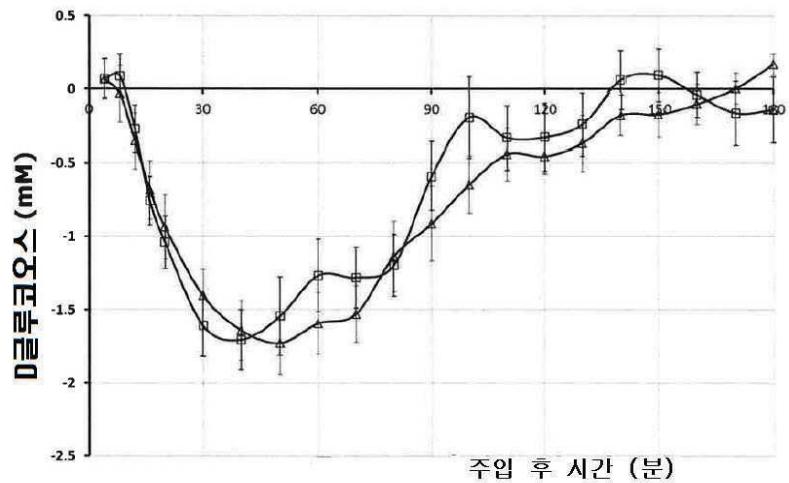
도면3



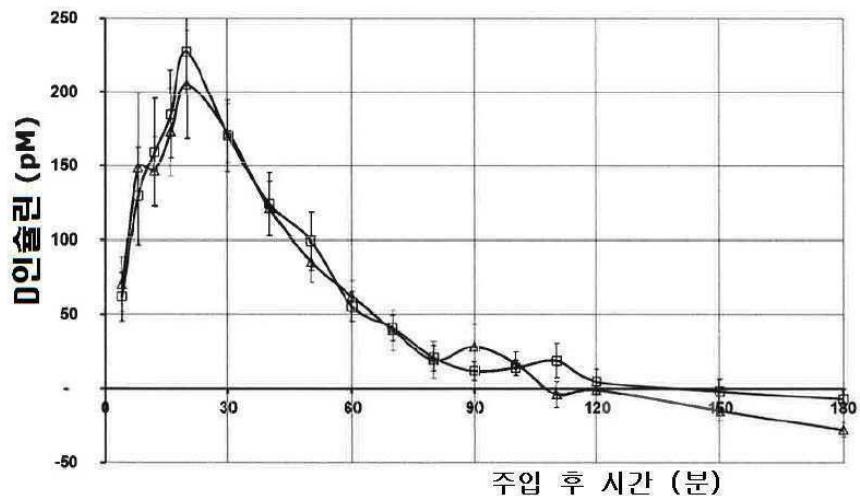
도면4



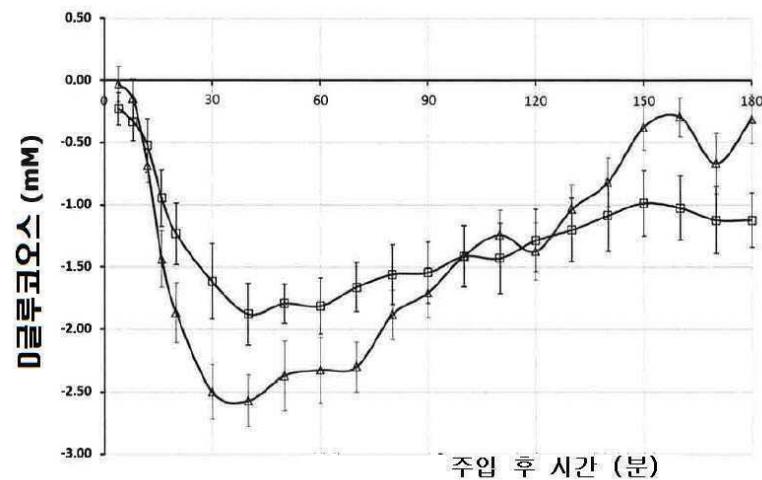
도면5



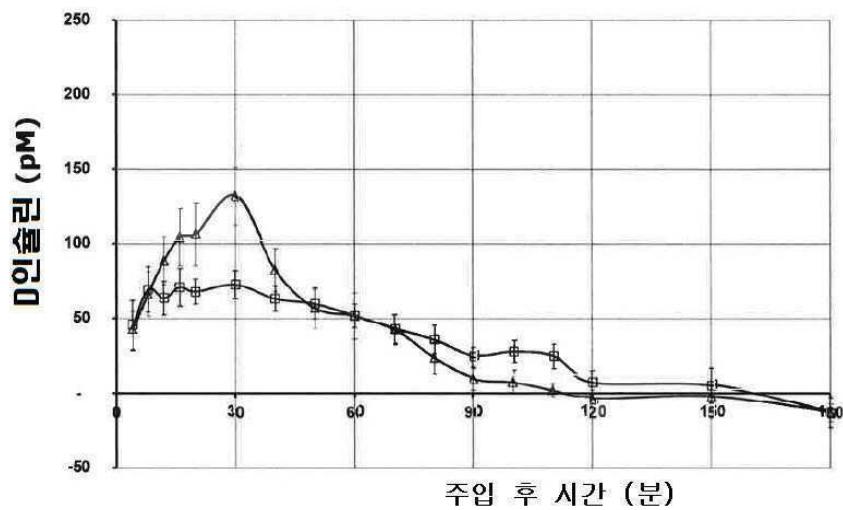
도면6



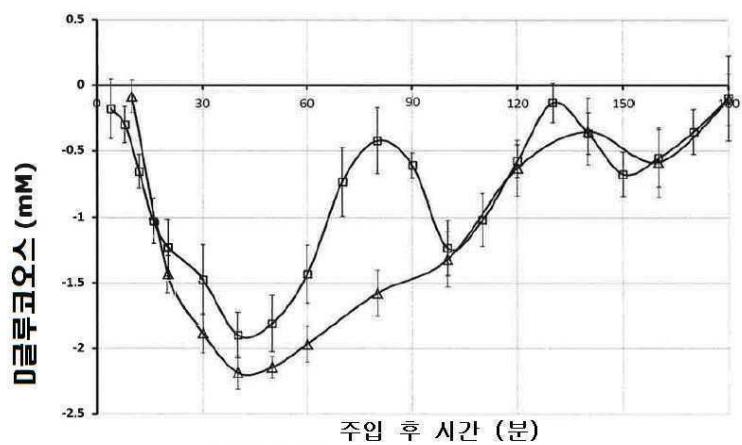
도면7



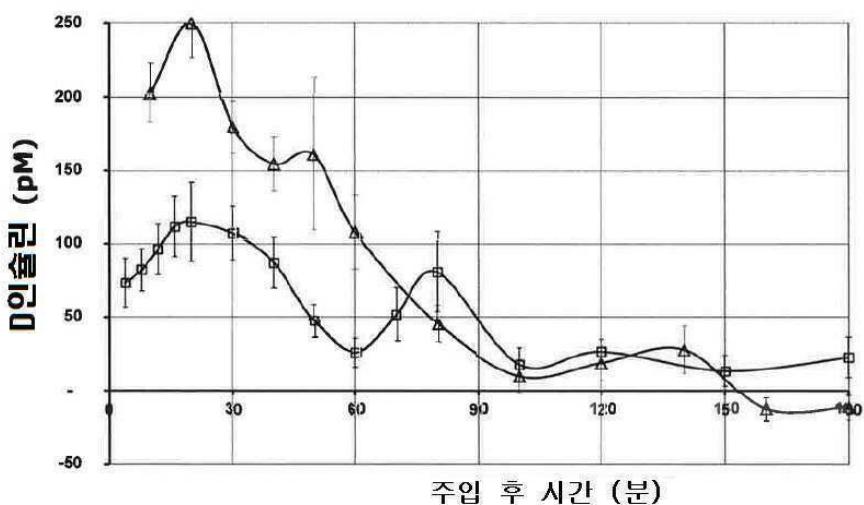
도면8



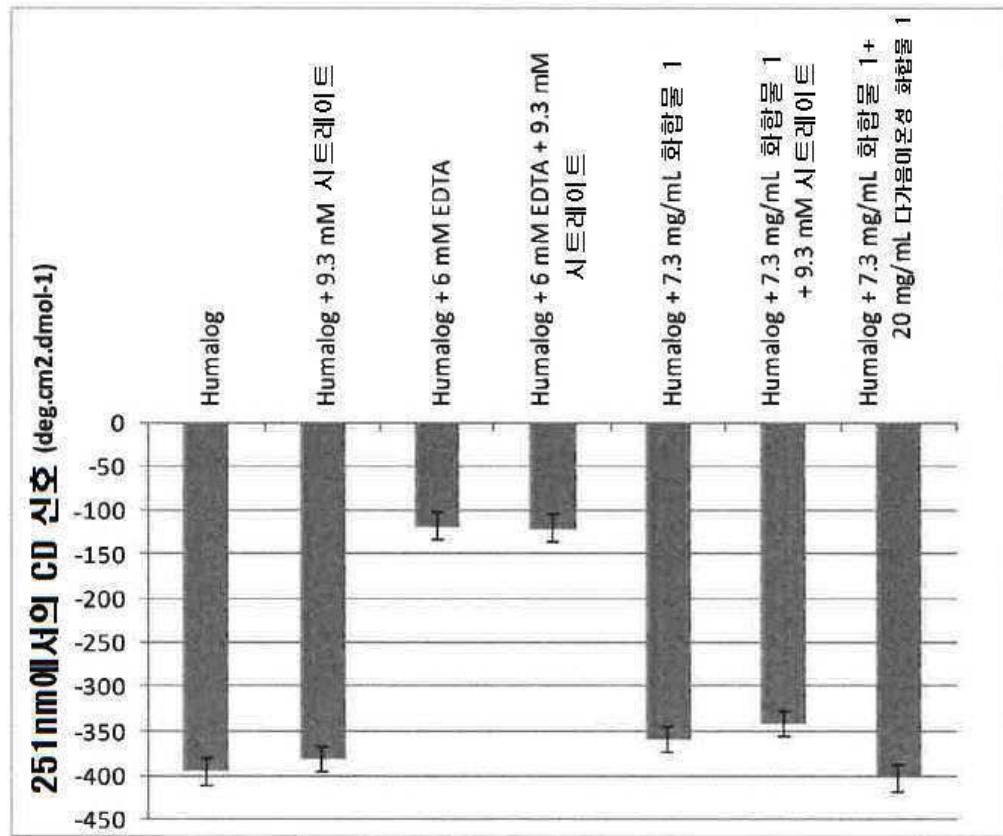
도면9



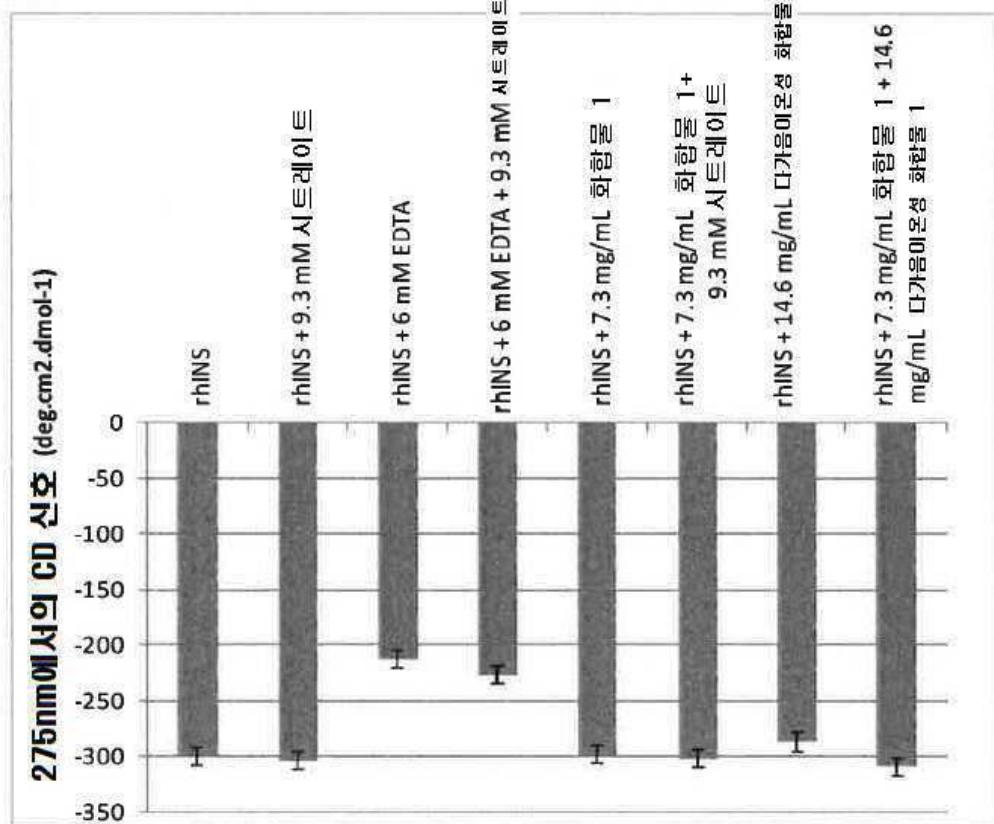
도면10



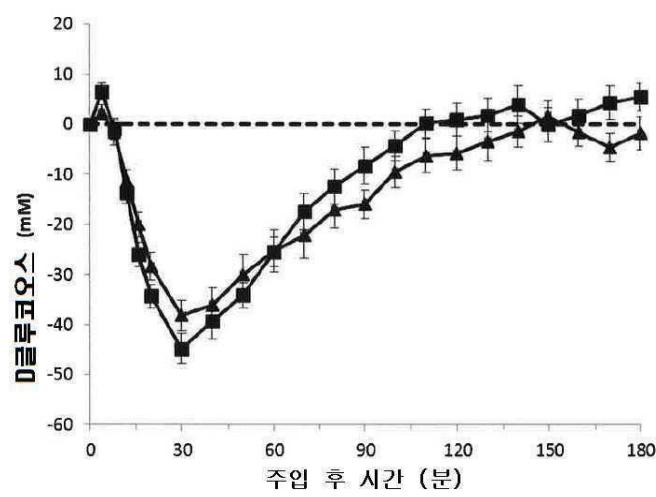
도면11



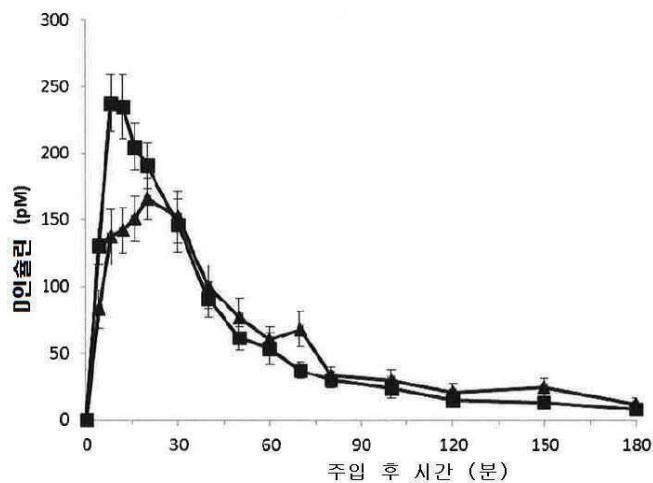
도면12



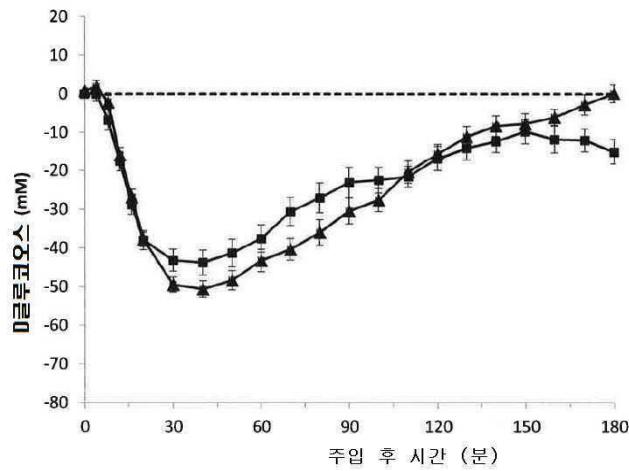
도면13



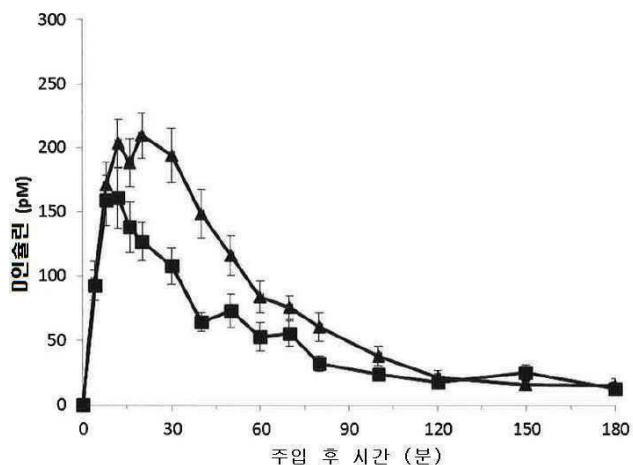
도면14



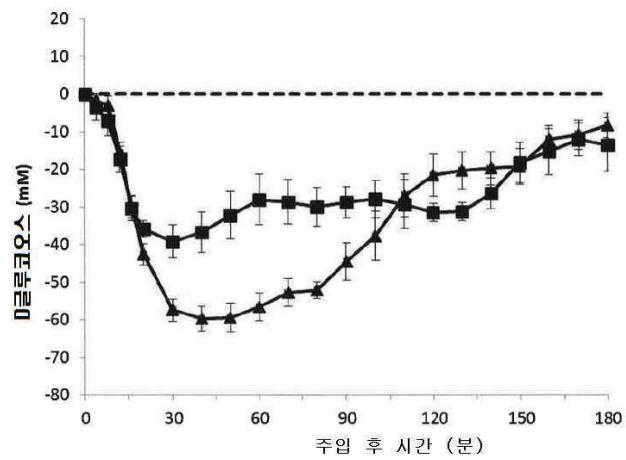
도면15



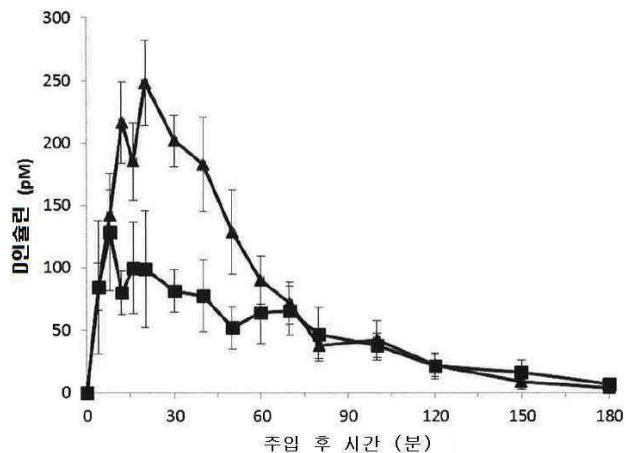
도면16



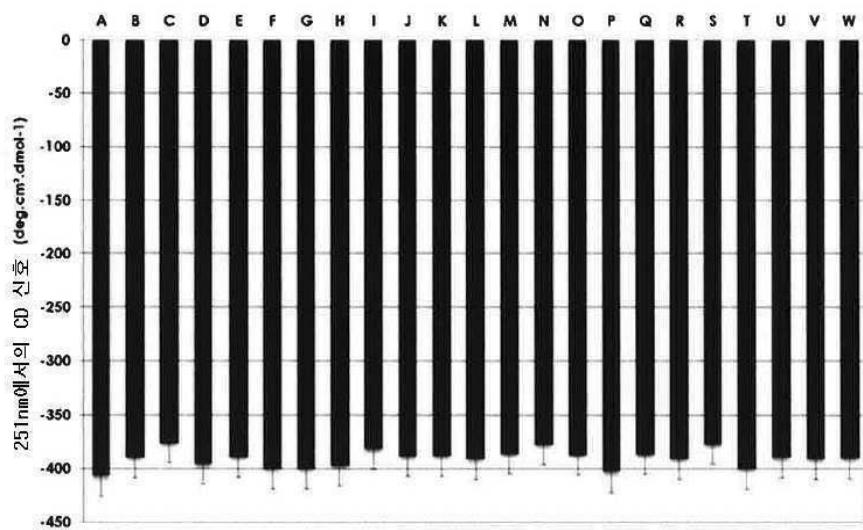
도면17



도면18



도면19



## 도면20

