



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2009년05월14일  
(11) 등록번호 10-0896945  
(24) 등록일자 2009년05월01일

(51) Int. Cl.

A61K 38/28 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2003-7010645

(22) 출원일자 2003년08월13일

심사청구일자 2007년02월09일

번역문제출일자 2003년08월13일

(65) 공개번호 10-2004-0043113

(43) 공개일자 2004년05월22일

(86) 국제출원번호 PCT/US2002/004440

국제출원일자 2002년02월14일

(87) 국제공개번호 WO 2002/65985

국제공개일자 2002년08월29일

(30) 우선권주장

60/269,198 2001년02월15일 미국(US)

60/347,713 2002년01월11일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

Proceed. Int'l. Symp. Control. Rel. Bioact.  
Mater. 27th, pp. 1038-1039(2000)\*

\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

바이오콘 리미티드

인도 방갈로어 피.오. 560100 일렉트로닉 시티  
제20 케이엠 호수르 로드

(72) 발명자

익크유리브 녹키리 엔.

미국 노쓰 캐롤라이나 27511 캐리 콜츠게이트 드  
라이브 216

프라이스 크리스토퍼 에이치.

미국 노쓰 캐롤라이나 27516 채플 힐 커먼스 웨이  
200

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

리엔목특허법인

전체 청구항 수 : 총 16 항

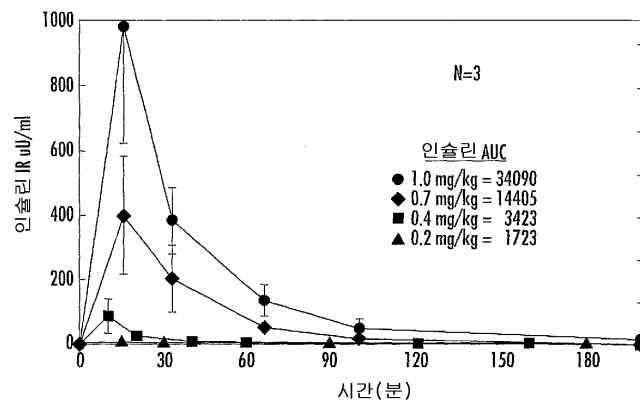
심사관 : 박정민

(54) 당뇨병의 치료방법

(57) 요약

치료가 필요한 환자의 당뇨병을 치료하는 방법은 유효량의 인슐린 약물을 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 본 발명에 따른 방법은 간을 "활성화"시켜 당뇨병 환자의 정상적인 글루코오스 항상성을 회복시킬 수 있다.

대표도 - 도1a



(72) 발명자

**스틸 제임스 고든**

미국 노쓰 캐롤라이나 27613 롤리 오크 웨이 4816

**필베이 제니퍼 앤**

미국 노쓰 캐롤라이나 27613 롤리 톨우드 드라이브  
5021

**라드하크리쉬난 발라싱암**

미국 노쓰 캐롤라이나 27514 채플 힐 텀버 할로우  
코트 104 아파트먼트 338

**안사리 아슬람 엠.**

미국 메릴랜드 20886 몽고메리 빌리지 클럽 레이크  
로드 196 51

**오펜보 아미 엘.**

미국 노쓰 캐롤라이나 27560 모리스빌 웨일 하이  
불르바드 4 023

**특허청구의 범위**

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96



삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

청구항 108

삭제

청구항 109

삭제

청구항 110

삭제

청구항 111

삭제

청구항 112

삭제

청구항 113

삭제

청구항 114

삭제

청구항 115

삭제

청구항 116

삭제

청구항 117

삭제

청구항 118

삭제

청구항 119

삭제

청구항 120

삭제

청구항 121

삭제

청구항 122

삭제

청구항 123

삭제

청구항 124

삭제

청구항 125

삭제

청구항 126

삭제

청구항 127

삭제

청구항 128

삭제

청구항 129

삭제

청구항 130

삭제

청구항 131

삭제

청구항 132

삭제

청구항 133

삭제

청구항 134

삭제

청구항 135

삭제

청구항 136

삭제

청구항 137

삭제

청구항 138

삭제

청구항 139

삭제

청구항 140

삭제

청구항 141

삭제

청구항 142

삭제

청구항 143

삭제

청구항 144

삭제

청구항 145

삭제

청구항 146

삭제

청구항 147

삭제

청구항 148

삭제

청구항 149

삭제

청구항 150

삭제

청구항 151

삭제

청구항 152

삭제

청구항 153

삭제

청구항 154

삭제

청구항 155

삭제

청구항 156

삭제

청구항 157

삭제

청구항 158

삭제

청구항 159

삭제

청구항 160

삭제

청구항 161

삭제

청구항 162

삭제

청구항 163

삭제

청구항 164

삭제

청구항 165

삭제

청구항 166

삭제

청구항 167

삭제

청구항 168

삭제

청구항 169

삭제

청구항 170

삭제

청구항 171

삭제

청구항 172

삭제

청구항 173

삭제

청구항 174

삭제

청구항 175

삭제

청구항 176

삭제

청구항 177

삭제

청구항 178

삭제

청구항 179

삭제

청구항 180

삭제

청구항 181

삭제

청구항 182

삭제

청구항 183

삭제

청구항 184

삭제

청구항 185

삭제

청구항 186

삭제

청구항 187

삭제

청구항 188

삭제

청구항 189

삭제

청구항 190

삭제

청구항 191

삭제

청구항 192

삭제

청구항 193

삭제

청구항 194

삭제

청구항 195

삭제

청구항 196

삭제

청구항 197

삭제

청구항 198

삭제

청구항 199

삭제

청구항 200

삭제

청구항 201

삭제

청구항 202

삭제

청구항 203

삭제

청구항 204

삭제

청구항 205

삭제

청구항 206

삭제

청구항 207

삭제

청구항 208

삭제

청구항 209

삭제

청구항 210

삭제

청구항 211

삭제

청구항 212

삭제

청구항 213

삭제

청구항 214

삭제

청구항 215

삭제

청구항 216

삭제

청구항 217

삭제

청구항 218

삭제

청구항 219

삭제

청구항 220

삭제

청구항 221

삭제

청구항 222

삭제

청구항 223

삭제

청구항 224



삭제

청구항 225

삭제

청구항 226

삭제

청구항 227

삭제

청구항 228

삭제

청구항 229

삭제

청구항 230

삭제

청구항 231

삭제

청구항 232

삭제

청구항 233

삭제

청구항 234

삭제

청구항 235

삭제

청구항 236

삭제

청구항 237

삭제

청구항 238

삭제

청구항 239

삭제

청구항 240

삭제

청구항 241

삭제

청구항 242

삭제

청구항 243

삭제

청구항 244

삭제

청구항 245

삭제

청구항 246

삭제

청구항 247

삭제

청구항 248

삭제

청구항 249

삭제

청구항 250

삭제

청구항 251

삭제

청구항 252

삭제

청구항 253

삭제

청구항 254

삭제

청구항 255

삭제

청구항 256

삭제

청구항 257

삭제

청구항 258

삭제

청구항 259

삭제

청구항 260

삭제

청구항 261

삭제

청구항 262

삭제

청구항 263

삭제

청구항 264

삭제

청구항 265

삭제

청구항 266

삭제

청구항 267

삭제

청구항 268

삭제

청구항 269

삭제

청구항 270

삭제

청구항 271

삭제

청구항 272

삭제

청구항 273

삭제

청구항 274

삭제

청구항 275

삭제

청구항 276

삭제

청구항 277

삭제

청구항 278

삭제

청구항 279

삭제

청구항 280

삭제

청구항 281

삭제

청구항 282

삭제

청구항 283

삭제

청구항 284

삭제

청구항 285

삭제

청구항 286

삭제

청구항 287

삭제

청구항 288

삭제

청구항 289

삭제

청구항 290

삭제

청구항 291

삭제

청구항 292

삭제

청구항 293

삭제

청구항 294

삭제

청구항 295

삭제

청구항 296

삭제

청구항 297

삭제

청구항 298

삭제

청구항 299

삭제

청구항 300

삭제

청구항 301

삭제

청구항 302

삭제

청구항 303

삭제

청구항 304

삭제

청구항 305

삭제

청구항 306

삭제

청구항 307

삭제

청구항 308

삭제

청구항 309

삭제

청구항 310

삭제

청구항 311

삭제

청구항 312

삭제

청구항 313

삭제

청구항 314

삭제

청구항 315

삭제

청구항 316

삭제

청구항 317

삭제

청구항 318

삭제

청구항 319

삭제

청구항 320

삭제

청구항 321

삭제

청구항 322

삭제

청구항 323

삭제

청구항 324

삭제

청구항 325

삭제

청구항 326

삭제

청구항 327

삭제

청구항 328

삭제

청구항 329

삭제

청구항 330

삭제

청구항 331

삭제

청구항 332

삭제

청구항 333

삭제

청구항 334

삭제

청구항 335

삭제

청구항 336

삭제

청구항 337

삭제

청구항 338

삭제

청구항 339

삭제

청구항 340

삭제

청구항 341

삭제

청구항 342

삭제

청구항 343

삭제

청구항 344

삭제

청구항 345

삭제

청구항 346

삭제

청구항 347

삭제

청구항 348

삭제

청구항 349

삭제

청구항 350

삭제

청구항 351

삭제

청구항 352



삭제

**청구항 353**

삭제

**청구항 354**

삭제

**청구항 355**

삭제

**청구항 356**

삭제

**청구항 357**

삭제

**청구항 358**

삭제

**청구항 359**

하기 화학식 3의 구조를 포함하는 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체를 포함하는, 단분산된 접합체 혼합물:

[화학식 3]

인슐린 폴리펩티드— $X(CH_2)_m(OC_2H_4)_nOR$

상기 화학식 3에서,

X는 에스테르 모이어티, 티오-에스테르 모이어티, 에테르 모이어티, 카바메이트 모이어티, 티오-카바메이트 모이어티, 카보네이트 모이어티, 티오-카보네이트 모이어티, 아마이드 모이어티, 유레아 모이어티, 또는 공유결합이고;

m은 1 내지 30이고;

n은 3 내지 12이며;

R은 알킬 모이어티, 당 모이어티, 콜레스테롤, 아다만탄, 알콜 모이어티, 또는 지방산 모이어티이다.

**청구항 360**

삭제

**청구항 361**

제 359 항에 있어서, R은 알킬 모이어티인 것을 특징으로 하는 혼합물.

**청구항 362**

제 359 항에 있어서, R은 지방산 모이어티인 것을 특징으로 하는 혼합물.

**청구항 363**

제 359 항에 있어서, 상기 인슐린 폴리펩티드는 인간 인슐린이고 상기 올리고머는 인간 인슐린의 Lys<sup>B29</sup>에 공유결합되어 있는 것을 특징으로 하는 혼합물.

**청구항 364**

약제학적으로 허용 가능한 담체에 제 359 항의 혼합물을 유효량 포함하는 당뇨병 치료용 약제학적 조성물.

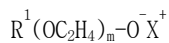
#### 청구항 365

제 364 항에 있어서, 상기 혼합물의 유효량은 식사 한시간 이내에 개체에게 투여 시 투여 후 60분 이내에 간문맥에서의 인슐린 혈중 농도가 10 내지 1,000 U/ml의 범위가 되도록 하는 양인 것을 특징으로 하는 약제학적 조성물.

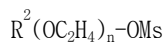
#### 청구항 366

하기 화학식 I의 구조를 갖는 화합물의 단분산된 혼합물과 하기 화학식 II의 구조를 갖는 화합물의 단분산된 혼합물을 폴리에틸렌 글리콜 모이어티를 포함하고 하기 화학식 III의 구조를 갖는 단분산된 폴리머 혼합물을 제 공하기에 충분한 조건 하에서 반응시키는 단계를 포함하는, 하기 화학식 III의 구조를 갖는 폴리에틸렌 글리콜 모이어티를 포함하는, 단분산된 폴리머 혼합물을 합성하는 방법:

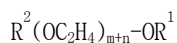
[화학식 I]



[화학식 II]



[화학식 III]



상기 화학식 I에서  $R^1$ 은 H 또는 친지성 모이어티이고, m은 1 내지 6이며,  $X^+$ 는 양이온이고; 상기 화학식 II에서  $R^2$ 는 H 또는 친지성 모이어티이고, Ms는 메실레이트 모이어티이며, n은 1 내지 6이며, 상기 화학식 III에서 m+n은 3 내지 12의 정수이다.

#### 청구항 367

삭제

#### 청구항 368

제 366 항의 방법에 의해 합성된, 폴리에틸렌 글리콜 모이어티를 포함하는 폴리머의 단분산된 혼합물.

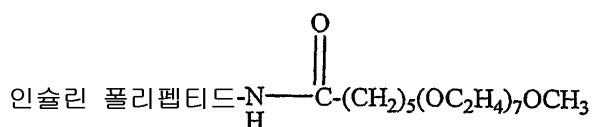
#### 청구항 369

제 366 항에 있어서, 상기  $R^2$ 는 화학식 III의 폴리머가 수불용성이 되도록 선택된 친지성 모이어티인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 370

하기 화학식 5의 구조를 포함하는 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체의 단분산된 혼합물을, 당뇨병을 치료하기 위한 경구 투여 가능한 약물을 제조하기 위해 사용하는 방법:

[화학식 5]



#### 청구항 371

삭제

#### 청구항 372

제 370 항에 있어서, 상기 인슐린은 인간 인슐린인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 373

제 372 항에 있어서, 상기 올리고머는 인슐린의 B29 위치에서 라이신에 결합된 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 374

제 372 항 또는 제 373 항에 있어서, 화학식 5의 접합체는 양쪽친매성인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 375

제 370 항에 있어서, 상기 인슐린 폴리펩티드는 Gly<sup>A21</sup> 인슐린, 인간; Gly<sup>A21</sup> Gln<sup>B3</sup> 인슐린, 인간; Ala<sup>A21</sup> 인슐린, 인간; Ala<sup>A21</sup> Gln<sup>B3</sup> 인슐린, 인간; Gln<sup>B3</sup> 인슐린, 인간; Gln<sup>B30</sup> 인슐린, 인간; Gly<sup>A21</sup> Glu<sup>B30</sup> 인슐린, 인간; Gly<sup>A21</sup> Gln<sup>B3</sup> Glu<sup>B30</sup> 인슐린, 인간; Gln<sup>B3</sup> Glu<sup>B30</sup> 인슐린, 인간; Asp<sup>B28</sup> 인슐린, 인간; Lys<sup>B28</sup> 인슐린, 인간; Leu<sup>B28</sup> 인슐린, 인간; Val<sup>B28</sup> 인슐린, 인간; Ala<sup>B28</sup> 인슐린, 인간; Asp<sup>B28</sup> Pro<sup>B29</sup> 인슐린, 인간; Lys<sup>B28</sup> Pro<sup>B29</sup> 인슐린, 인간; Leu<sup>B28</sup> Pro<sup>B29</sup> 인슐린, 인간; Val<sup>B28</sup> Pro<sup>B29</sup> 인슐린, 인간; Ala<sup>B28</sup> Pro<sup>B29</sup> 인슐린, 인간으로 구성된 그룹에서 선택된 인슐린 유사체인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 376

삭제

#### 청구항 377

제 370 항에 있어서, 약물의 접합체의 양은 투여후 60분 이내에 간문맥에서의 인슐린 폴리펩티드 농도가 10 내지 1000 u/ml가 되도록 하는 양인 것을 특징으로 하는 방법.

#### 청구항 378

제 370 항에 있어서, 상기 약물의 접합체의 양은 투여 후 30 분 이내에 측정을 시작하여 1 시간에 걸쳐 측정된 평균 글루코오스 농도의 +/- 50% 이내로 환자의 말초 글루코오스 농도를 안정화시키는 용량인 것을 특징으로 하는 방법.

## 명세서

## 기술분야

### <1> 관련 출원

<2> 본 출원은, 전체로서 본 명세서에 인용되어 통합된, 2001년 2월 15일자로 출원된 미국 가출원 번호 60/269,198에 대한 우선권을 주장한다. 본 출원은 또한 전체로서 본 명세서에 인용되어 통합된, 2002년 1월 11일자로 출원된 미국 가출원 번호 60/347,713에 대한 우선권을 주장한다.

### <3> 발명의 분야

<4> 본 발명은 당뇨병을 치료하는 방법에 관한 것이다.

## 배경기술

<5> 현재 미국 인구의 5.9%인 1570만명의 미국인이 당뇨병을 앓고 있다. 매일 약 2,200명 정도가 당뇨병으로 진단되고 있으며, 금년에는 약 798,000명 정도가 당뇨병으로 진단될 것이다. 당뇨병은 미국에서 일곱 번째 사망원인(질병에 의한 사망원인으로는 여섯 번째)이다.

<6> 당뇨병은 신체가 당 또는 다른 음식을 에너지로 전환하는 것을 보조하는 역할을 하는 인슐린을 생산 및/또는 적

절한 사용을 하지 못하는 질병이다. 당뇨병을 갖지 않는 사람에 있어서, 인슐린은 위장 및/또는 혈액 중의 글루코오스의 증가에 반응하여 췌장의 랑게르한스 섬에서 생산된다. 그런 다음, 인슐린은 간과 함께 신체의 글루코오스 대사를 조절하는 역할을 한다. 당뇨병은 혈당 질환이라고 인식되고 있지만, 생명을 위협하는 수많은 합병증을 유발할 수 있다. 예를 들어, 당뇨병은 망막병증, 신병증, 및 신경병증과 같은 다양한 모세혈관 질환을 일으킬 수 있다. 미국에서, 당뇨병은 20 내지 74세의 사람들에게 새롭게 시력을 잃게 하는 주요 원인이고, 말기 신장질환(ESRD)의 주요 원인이며, 하지 절단의 가장 빈번한 원인이다. 당뇨병을 앓고 있는 사람은 또한 심장병 및 뇌졸중과 같은 생명을 위협하는 거대혈관 질환이 일어날 가능성이 매우 높다.

<7> 당뇨병에는 여러 가지 종류가 있다. 통상 1형 당뇨병이라고 불리는 인슐린 의존성 당뇨병(IDDM)은 랑게르한스 섬에 영향을 미쳐 신체의 인슐린을 생산하는 능력을 파괴하는 자가면역질환이다. 미국에서 일백만 명이 1형 당뇨병으로 고통받고 있다. 통상 2형 당뇨병이라고 불리는 인슐린 비의존성 당뇨병(NIDDM)은 신체가 충분한 인슐린을 생산할 수 없거나 생산된 인슐린을 적절히 이용할 수 없는 것으로부터 기인한다. 미국의 모든 당뇨병 환자의 약 90%가 2형 당뇨병을 앓고 있으며, 이는 대개 비만과 늘 앉아서 생활하는 좌식생활과 연관이 있다.

<8> 일반적으로, 당뇨병 치료의 목적은 혈중 글루코오스 수치를 조절하여 비당뇨병 정상인의 혈중 글루코오스와 유사한 범위 내로 유지하는 것, 즉 자연적인 생리학적 글루코오스 항상성을 재생산하는 것이다. 현재 이러한 목적은 완전히 효과적으로 달성되지는 않았다.

<9> 당뇨병은 전형적으로 혈액 및/또는 소변을 샘플링하여 신체의 혈중 글루코오스 수치를 모니터하고 식이요법 및 인슐린의 비경구 주사의 조합을 이용함으로써 신체의 글루코오스 수치를 조절하는 것을 시도함으로써 치료한다. 피하주사 및 근육주사와 같은 비경구 주사는 인슐린을 말초 시스템까지 전달한다. DCCT(Diabetes Control and Complications Trial)와 같은 연구에서는 혈중 글루코오스 수치를 정상 범위로 엄격하게 조절하는 것이 당뇨병과 연관된 모세혈관 질환을 감소시키거나 제거할 수 있음을 보여주었다. DCCT에서 알게된 바와 같이, 일부 환자의 경우, 혈중 글루코오스 수치의 엄격한 조절은 매일 세 번 이상의 인슐린 주사를 이용함으로써 또는 인슐린 펌프(계속적인 피하 인슐린 주입)에 의한 치료로 이를 수 있다. 그러한 요법이 엄격하게 수행된다면, 그러한 요법은 질병을 어느 정도 제어할 수 있는 가능성을 제공한다. 그러나, DCCT에서는 말초 투여에 의한 혈중 글루코오스의 철저한 조절을 시도할 경우 저혈당의 발생 위험이 증가하는 것으로 관찰되었다. 부가적으로, 인슐린의 말초 투여는 말초 고인슐린혈증을 일으킬 수 있으며, 이로 인해 다양한 합병증의 위험이 증가할 수 있다. 또한, 인슐린의 피하 투여가 편리하지 않고 곤혹스럽기 때문에 많은 환자들이 일상적으로 이러한 요법을 따르지 못할 수 있다.

<10> 인슐린 피하 투여의 불편함과 불쾌감을 극복하기 위한 시도로서, 인슐린을 주사하기 위한 다양한 비침투적인 대체방법이 제안되었다. 예를 들어, Laube 등의 미국특허 5,320,094, Rubsamen의 미국특허 5,364,838, Patton 등의 미국특허 5,997,848에서는 흡입 기구를 이용한 인슐린의 폐 투여가 제안되어 있다. 이러한 방법의 유용성은 전달 기구의 작동법을 마스터해야 할 필요성, 장기간 사용으로 인한 폐 자극의 잠재성, 및 폐질환 환자에 대한 약물 전달의 실패에 의해 제한될 수 있다. 구강 점막으로 인슐린을 투여하는 것 또한 제안되었다. 이러한 투여방법은 "경구 투여"라고도 말할 수도 있지만, 부수적인 문제점과 어려움을 갖는 비주사형 말초 투여 형태이다.

<11> 스프레이 기구에 의한 비점막(nasal mucosa)을 통한 인슐린 전달이 또한 제안되었다. 이러한 방법에 의하면 환자간에 투여량에 따른 인슐린 흡수성의 변화가 허용될 수 없는 수준이며, 또한 비점막의 자극을 일으킬 수 있다. 상기 폐내 투여 및 구강 점막 투여와 함께, 비점막을 통한 인슐린 투여는 비주사형의 말초 투여 형태이다.

<12> 이러한 비주사형의 말초 투여는 주사의 불편함을 피할 수는 있지만, 그러한 방법들 또한 말초 인슐린 주사와 연관되어 나타나는 것과 동일한 말초 고인슐린혈증의 위험이 있다. 또한, 아마도 가장 중요한 것은, 그러한 방법이 인슐린을 효과적으로 간에 전달하지 않는다는 것이다. 상기한 바와 같이, 그리고 Goodman & Gilman's, *The Pharmacological Basis of Therapeutics* 1487-1507(제9판, 1996)에 상세하게 나와 있는 바와 같이, 인슐린은 간과 함께 작용하여 신체의 글루코오스 대사를 조절한다. 당뇨병의 보다 효과적인 치료를 위해서는, 인슐린의 간으로의 자연적인 전달과 유사한 방법을 제공해야 한다.

<13> 간으로의 자연적인 인슐린 전달을 모방하기 위해 시도할 수 있는 다양한 방법들이 제안되었다. 예를 들어, Kidron 등의 미국특허 4,579,730에서는 인슐린의 경구투여를 위해 장용성 코팅된 약제학적 조성물이 제안되었다. 상기 체제를 투여 받은 환자들에서 상기 제안된 약제학적 체제는 혈중 글루코오스 수치에 대해 자연적으로 분비되는 인슐린과 동일한 효과를 갖지만, 인슐린이 장관 내강으로부터 혈류로 신속하게 흡수되지 않

는 것으로 보고되었다. 예를 들어, 상기 특허의 컬럼 4, 15-16행에서는 60분 동안 단지 5-10%의 인슐린이 흡수된다고 보고하고 있다. 부가적으로, 이러한 제제는 투여 후 1시간 이내에 혈중 글루코오스 수치에 대해 제한적인 효과를 갖는 것으로 나타났다(컬럼 4, 표 1 참조).

<14> 또 다른 예로서, Ecanow의 미국특허 4,963,526에서는 인슐린을 시스템의 코아세르베이트 상에 포함시킨 2상(two-phase) 액체 수성 코아세르베이트 시스템에 기초하여 인슐린의 경구 제형을 제안하였다. 이러한 제제를 이용하여 투여된 인슐린은 혈중 글루코오스 수치에 신속한 효과를 미치지 않는 것으로 보인다. 예를 들어, 컬럼 9의 52행 내지 컬럼 10의 12행에서는, 투여 3시간 후에 혈중 글루코오스 수치를 측정된 결과, 혈중 글루코오스 수치가 투여량에 따라 초기 혈중 글루코오스 수치의 66.3 %와 47.1 %인 것으로 나타났다.

<15> 또 다른 예로서, Geho 등의 미국특허 4,863,896에서는 말초로 투여되는 인슐린과 캡슐화된 인슐린(HDVI)을 함유한 간세포 지향성 소포(HDVI)의 조합을 이용하는 당뇨병 치료방법이 제안되었다. 별도로 투여되는 유리 인슐린이 말초 시스템의 수요를 공급하는 반면에, 상기 HDVI는 단지 간에 의해서 흡수될 뿐이다. 상기 특허는 HDVI가 경구로 투여될 수도 있다고 하지만, 투여량 범위가 제공되어 있지 않다. 자연적으로 생산되는 인슐린과 달리 어떠한 HDVI도 간을 통해서 말초 시스템으로 전달하지 않기 때문에 HDVI와 말초 인슐린의 복합 투여가 필요하다(컬럼 2, 3-14행).

<16> 또 다른 예로서, Humes 등의 미국특허 5,704,910에서는 소정의 분자, 예를 들어 인슐린과 같은 호르몬을 포유류의 전신 순환계로 전달하기 위한 이식 가능한 기구가 제안되었다. 상기 특허는 간의 상향(즉, 앞쪽) 간문맥 내에 인슐린 생성 기구를 고정하는 것을 포함한다. 생명을 위협하는 당뇨병을 조절하기 위해 그러한 기구에 의존하는 것은 비현실적일 수 있다. 또한, 그러한 기구에 의해 투여되는 인슐린의 투여량이 얼마인지 그리고 그 필요한 투여량을 어떻게 정확하게 조절할 지가 분명하지 않다.

<17> 전술한 내용의 관점에서, 환자가 사용하기 쉽고 편리한 투여형태이며 간으로의 인슐린의 자연적 전달과 보다 유사하여 향상된 글루코오스 항상성을 이룰 수 있는 당뇨병 치료방법이 당해 기술분야에서 필요하다.

## 발명의 상세한 설명

### <18> 발명의 요약

<19> 본 발명의 구현예는 비당뇨병 정상인에서 나타나는 자연적인 생리학적 글루코오스 항상성을 효과적으로 재현하는, 당뇨병을 치료하는 방법을 제공한다. 전술한 종래의 치료방법과 달리, 본 발명의 구현예의 방법에 따르면 간문맥 혈류로 인슐린이 신속하고 효과적으로 흡수된다. 이러한 간문맥 혈류로의 인슐린 투여는 유효량의 인슐린을 간으로 전달한다; 그러나, 상기 종래 방법에서 사용된 HDVI와는 달리, 간에 제공된 인슐린의 일부는 간을 통해 말초 시스템으로 자유롭게 통과한다. 그러므로, 본 발명의 구현예에 따른 방법은 건강한 간을 갖고 있는 당뇨병 환자가 전술한 종래의 어떤 방법보다도 비당뇨병 정상인의 자연적인 글루코오스 대사와 매우 유사한 방식으로 글루코오스를 대사하는 것을 가능하게 한다. 본 발명의 구현예에 따른 방법은 투여 후 혈중 글루코오스 수치의 신속하지만 제어된 하강을 유발하여 식후 글루코오스 수치를 효과적으로 조절한다. 그러한 결과, 본 발명의 방법은 당뇨병 환자의 혈중 글루코오스 수치를 조절하고 당뇨병과 관련된 많은 합병증의 발현을 제거하거나 줄이는 것을 가능하게 한다. 간이 글루코오스 항상성을 수행하도록 하는 것 이외에, 본 발명의 방법은 또한 간이 지질 및 아미노산 대사의 조절에 있어서 간의 기능을 부분적으로 또는 완전히 보장한다.

<20> 본 발명의 구현예에 따르면, 치료가 필요한 환자의 당뇨병을 치료하는 방법은 당뇨병을 치료하기 위해 환자에게 유효량의 인슐린 약물(투여 후 30분 이내에 간문맥에서 10 내지 1,000 U/ml의 인슐린 약물 농도에 도달하는 용량)을 경구로 투여하는 것을 포함한다.

<21> 본 발명의 구현예에 따르면, 인슐린 약물의 유효량은 환자의 체중 1 kg당 0.05 내지 10 mg이다. 유효량의 인슐린 약물은 바람직하게는 말초혈관의 인슐린 최대 농도가 투여 후 60분 이내에 도달하도록 한다. 유효량의 인슐린 약물은 바람직하게는 투여 후 말초 글루코오스 농도를 안정화시킨다. 예를 들어, 말초 혈관 글루코오스 농도는 투여 후 약 30 분 이내에 측정을 시작하여 약 1시간에 걸쳐 측정된 평균 말초 글루코오스 수치의 약 +/- 50% 이내일 수 있다.

<22> 본 발명의 또 다른 구현예에 따르면, 유효량의 인슐린 약물은 투여 후 90분 이상 경과 후 측정된 평균적인 간의 글루코오스 생산을, 투여 받지 않은 당뇨병 환자의 평균적인 간의 글루코오스 생산에 비해 약 25% 이상 감소시킨다. 바람직하게는, 이러한 간의 글루코오스 생산의 감소는 투여 후 30분 이내에 일어난다.

<23> 본 발명의 또 다른 구현예에서, 유효량의 인슐린 약물은 식사로 인한 글루코오스의 25 % 이상을 간으로 흡수시

킨다. 바람직하게는, 이러한 흡수는 식사한 후 30분 이내에 일어난다. 유효량의 인슐린 약물은 바람직하게는 환자가 식사하기 전 1시간 이내에 투여한다. 상기 인슐린 약물은 바람직하게는 인슐린 유도체이다.

<24> 또 다른 구현예에서, 경구 투여 가능한 당뇨병 치료용 약물을 제조하기 위한 인슐린의 용도를 제공한다.

<25> 본 발명의 방법은 인슐린의 간문맥으로의 신속하고 편리한 전달과 그로 인한 인슐린의 간으로의 전달을 가능하게 한다. 본 발명의 방법을 이용함으로써, 당뇨병 환자는 혈중 글루코오스의 변동과 당뇨병과 연관된 합병증 모두를 효과적으로 치료할 수 있다.

#### <26> **바람직한 구현예의 상세한 설명**

<27> 이하, 본 발명을 바람직한 구현예와 관련지어 설명한다. 그러나, 이러한 구현예는 본 발명을 설명하기 위한 것이지, 청구항에 의해 정해지는 본 발명의 범위를 한정하기 위한 것이 아니라는 것을 알아야 한다.

<28> 비당뇨병 정상인에 있어서, 췌장은 낮은(또는 기저) 수치의 인슐린을 지속적으로 제공한다. 간은 신체가 절식 상태 일 때 신체의 나머지 부분에 글루코오스를 제공한다. 이것을 전형적으로 간의 글루코오스 생산(hepatic glucose production)이라고 한다. 식사에 반응하여, 높은 수치의 인슐린이 췌장에서 분비된다. 인슐린은 우선 간과 상호작용하여 간에게 간의 글루코오스 생산을 중지하고 식사로 섭취된 글루코오스의 흡수를 개시하라는 신호를 준다. 췌장에 의해 급격히 분비된 인슐린 중 일부는 간을 통과하여 다른 체세포, 특히 근육세포와 상호작용하여 그 세포들에게 글루코오스를 흡수하고 사용하라는 신호를 준다. 그러므로, 비당뇨병 정상인에 있어서, 췌장 및 간은 협력하여 글루코오스 항상성을 제공하는 역할을 한다.

<29> 본 발명의 구현예에 따른 방법은 건강한 간(즉, 정상적인 글루코오스 섭취 및 생산이 가능하지만 인슐린 호르몬의 조절능력은 없는 간)을 갖는 당뇨병 환자에게 글루코오스 항상성을 회복시킬 수 있다. 간을 활성화시켜 혈중 글루코오스 수치를 조절함으로써, 본 발명의 방법은 종래의 당뇨병 치료방법과 연관된 고혈당 및/또는 저혈당을 줄이거나 제거할 수 있다. 본 발명의 구현예에 따른 방법은 또한 당뇨병과 전형적으로 연관이 있는 미세혈관 합병증(예: 신장병증, 망막병증, 및/또는 신경병증) 및/또는 거대 혈관 합병증(예: 심근경색 및/또는 뇌졸중)의 일부를 제거하거나 줄일 수도 있다. 또한, 본 발명의 구현예에 따른 방법은 말초 투여(예: 피하, 폐내, 비내, 구강 점막 투여)와 연관된 고인슐린혈증을 줄이거나 제거할 수 있다. 또한, 본 발명의 구현예에 따른 방법은 간을 활성화시켜 지방산 대사를 향상시킴으로써 당뇨병과 연관된 고지혈증을 줄이거나 제거할 수 있다. 간의 적절한 활성화는 다른 간세포를 회복시키고, 당뇨병과 연관된 합병증 관련 유전자-조절 대사 경로를 회복시킬 수 있다.

<30> 본 명세서에서 사용된, 용어 "인슐린 약물"은 인슐린과 연관된 하나 이상의 생물학적 반응(예: 간, 근육, 및/또는 지방조직과 같은 표적 조직에서의 글루코오스 항상성의 조절; 세포의 글루코오스, 아미노산, 및/또는 지방산의 이용 및 저장; 및 글리코겐, 지방, 및 단백질의 붕괴와 같은 이화 작용의 억제)을 유발할 수 있는 임의의 모든 분자를 말하며, 이러한 인슐린 약물로는 인슐린, 인슐린 유사체, 활성 인슐린 단편, 및 활성 인슐린 단편 유사체와 같은 인슐린 폴리펩티드, 인슐린 폴리펩티드 유도체, 및 인슐린 효능 분자, 그들의 조합 또는 그러한 분자 또는 그러한 분자들의 혼합물을 포함하는 약제학적 조성물이 있으나, 이에 한정되지는 않는다.

<31> 본 명세서에서 사용된, 용어 "인슐린"은 천연, 합성, 또는 유전공학적으로 제조된, 인간, 소, 돼지, 양, 말, 개, 닭, 오리 또는 고래 중 어느 하나의 인슐린을 의미한다. 본 발명의 다양한 구현예에서, 인슐린은 바람직하게는 인간 인슐린이다.

<32> 본 명세서에서 사용된, 용어 "인슐린 유사체"는 인슐린의 활성 전부 또는 일부를 보유하면서 하나 이상의 아미노산이 치환된 인슐린을 말한다. 상기 유사체는 치환 아미노산과 함께 그 치환 위치를 윗첨자로 표시하고 인슐린의 종류를 기재함으로써 기술된다. 예를 들어, "Pro<sup>B29</sup> 인슐린, 인간"은 인간 인슐린 분자의 B29 위치에서 전형적으로 발견되는 리신이 프롤린으로 치환되었음을 의미한다.

<33> 인슐린 유사체는 다양한 수단으로 얻을 수 있으며, 이러한 수단은 당해 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 공지되어 있다. 예를 들어, 인슐린 구조에서 예를 들어 항체의 항원-결합 부위, 또는 기질 분자의 결합 부위와 같은 구조와의 상호 결합 능력에 드러나는 정도의 손실 없이 소정의 아미노산은 다른 아미노산으로 치환될 수 있다. 인슐린의 상호작용 능력과 특성이 생물학적 기능적 활성을 결정하기 때문에, 소정의 아미노산 서열의 치환이 아미노산 서열에서 이루어질 수 있으며, 그럼에도 불구하고 유사한 특성을 갖는 폴리펩티드로 유지될 수 있다.

<34> 그러한 치환을 일으키는데 있어서, 아미노산의 수 치료 계수(hydropathic index)를 고려할 수 있다. 폴리펩티



드에 상호작용적 생물학적 기능을 부여하는 데 있어서 수 치료 아미노산 계수의 중요성은 당해 기술분야에 잘 알려져 있다. 아미노산의 상대적인 수 치료 특성은 결과물인 폴리펩티드의 2차 구조에 기여하며, 그 결과 예를 들어, 효소, 기질, 수용체, DNA, 항체, 항원 등과 같은 다른 분자와의 단백질의 상호작용을 결정한다. 각각의 아미노산은 예를 들어, 이소류신(+4.5); 발린(+4.2); 류신(+3.8); 페닐알라닌(+2.8); 시스테인/시스틴(+2.5); 메티오닌(+1.9); 알라닌(+1.8); 글리신(-0.4); 쓰레오닌(-0.7); 세린(-0.8); 트립토판(-0.9); 티로신(-1.3); 프롤린(-1.6); 히스티딘(-3.2); 글루타메이트(-3.5); 글루타민(-3.5); 아스파테이트(-3.5); 아스파라긴(-3.5); 리신(-3.9); 및 아르기닌(-4.5)과 같이 소수성 및 하전 특성에 기초하여 수 치료 계수가 부여된다. 당해 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 알고 있는 바와 같이, 소정의 아미노산은 유사한 수 치료 계수 또는 스코어를 갖는 다른 아미노산으로 치환되어 여전히 유사한 생물학적 활성을 갖는 폴리펩티드로 유지될 수 있다, 즉 여전히 생물학적 기능상 동등한 폴리펩티드를 얻을 수 있다. 그러한 변화를 만드는데 있어서, 수 치료 계수가 서로  $\pm 2$  내에 있는 아미노산으로 치환하는 것이 바람직하며, 특히 바람직하게는  $\pm 1$ , 훨씬 더 바람직하게는  $\pm 0.5$  내에 있는 아미노산으로 치환한다.

<35> 유사한 아미노산의 치환이 친수성을 기초로 하여 효과적으로 이루어질 수 있다는 것이 또한 알려져 있다. 그 전체로서 본 명세서에 통합되는 미국특허 4,554,101에는 인접하는 아미노산의 친수성에 의해 지배되는 단백질의 최대 국소적인 평균 친수성은 단백질의 생물학적 특성과 관련이 있다고 개시되어 있다. 미국특허 4,554,101에 상세하게 기재되어 있는 바와 같이, 아미노산 잔기에 다음과 같은 친수성 값이 부여되어 있다: 아르기닌(+3.0); 리신( $\pm 3.0$ ); 아스파테이트( $+3.0 \pm 1$ ); 글루타메이트( $+3.0 \pm 1$ ); 세린(+3.0); 아스파라긴(+0.2); 글루타민(+0.2); 글리신(0); 쓰레오닌(-0.4); 프롤린( $-0.5 \pm 1$ ); 알라닌(-0.5); 히스티딘(-0.5); 시스테인(-1.0); 메티오닌(-1.3); 발린(-1.5); 류신(-1.8); 이소류신(-1.8); 티로신(-2.3); 페닐알라닌(-2.5); 트립토판(-3.4). 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 공지되어 있듯이, 아미노산은 유사한 친수성 값을 갖는 다른 아미노산으로 치환되어 여전히 생물학적으로 동등한, 특히 면역학적으로 동등한 폴리펩티드를 얻을 수 있다. 그러한 변화에 있어서, 친수성 값이 서로  $\pm 2$  내에 있는 아미노산으로 치환하는 것이 바람직하며, 특히 바람직하게는  $\pm 1$ , 훨씬 더 바람직하게는  $\pm 0.5$  내에 있는 아미노산으로 치환한다.

<36> 상기 약술한 바와 같이, 아미노산 치환은 일반적으로 아미노산 측쇄 치환체의 상대적 유사성, 예를 들어 소수성, 친수성, 전하, 크기 등을 기초로 한다. 다양한 상기 특성을 고려한 예시적인 치환체(즉, 폴리펩티드의 생물학적 활성을 현저히 변화시키지 않으면서 치환될 수 있는 아미노산)는 당해 기술분야의 통상의 지식을 가진 자에게 잘 알려져 있으며, 그러한 예로는 아르기닌과 리신; 글루타메이트와 아스파테이트; 세린과 쓰레오닌; 글루타민과 아스파라긴; 및 발린, 류신 및 이소류신이 있다.

<37> 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 잘 알려져 있는 바와 같이, 인슐린 유사체는 다양한 펩티드 합성 기술로 제조될 수 있으며, 그러한 예로는 고전적인(용해) 방법, 고체상 방법, 반합성 방법, 및 제조용 DNA 방법이 있으나 이에 한정되지는 않는다.

<38> 인간 인슐린의 예로는 Gly<sup>A21</sup> 인슐린, 인간; Gly<sup>A21</sup> Gln<sup>B3</sup> 인슐린, 인간; Ala<sup>A21</sup> 인슐린, 인간; Ala<sup>A21</sup> Gln<sup>B3</sup> 인슐린, 인간; Gln<sup>B3</sup> 인슐린, 인간; Gln<sup>B30</sup> 인슐린, 인간; Gly<sup>A21</sup> Glu<sup>B30</sup> 인슐린, 인간; Gly<sup>A21</sup> Gln<sup>B3</sup> Glu<sup>B30</sup> 인슐린, 인간; Gln<sup>B3</sup> Glu<sup>B30</sup> 인슐린, 인간; Asp<sup>B28</sup> 인슐린, 인간; Lys<sup>B28</sup> 인슐린, 인간; Leu<sup>B28</sup> 인슐린, 인간; Val<sup>B28</sup> 인슐린, 인간; Ala<sup>B28</sup> 인슐린, 인간; Asp<sup>B28</sup> Pro<sup>B29</sup> 인슐린, 인간; Lys<sup>B28</sup> Pro<sup>B29</sup> 인슐린, 인간; Leu<sup>B28</sup> Pro<sup>B29</sup> 인슐린, 인간; Val<sup>B28</sup> Pro<sup>B29</sup> 인슐린, 인간; Ala<sup>B28</sup> Pro<sup>B29</sup> 인슐린, 인간이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

<39> 본 명세서에서 사용된 바와 같이, "활성 인슐린 단편"은 인슐린 활성의 일부 또는 전부를 보유하는 인슐린에서 발견되는 아미노산 서열의 일부분을 의미한다. 인슐린 단편은 아미노산 서열의 위치를 기재한 다음 아미노산을 기재함으로써 나타낸다. 예를 들어, "B25-30 인간 인슐린" 단편은 인간 인슐린 아미노산의 B25, B26, B27, B28, B29, 및 B30 위치에 해당하는 여섯 개의 아미노산 서열일 것이다.

<40> 본 명세서에서 사용된, "활성 인슐린 단편 유사체"는 인슐린 활성의 일부 또는 전부를 보유하면서 하나 이상의 아미노산이 치환된, 인슐린 분자에서 발견되는 아미노산 서열의 일부분을 말한다.

<41> 본 명세서에서 사용된, "인슐린 폴리펩티드 유도체"는 인슐린 폴리펩티드 접합체가 대응하는 비접합된 인슐린 폴리펩티드보다 더 친지성 및/또는 친수성이 되도록 인슐린 폴리펩티드의 친지성 및/또는 친수성을 향상시키는, 아실 모이어티(예: 지방산) 및/또는 올리고머와 같은 하나 이상의 모이어티에 접합된, 인슐린, 인슐린 유사체, 활성 인슐린 단편, 또는 활성 인슐린 단편 유사체와 같은 인슐린 폴리펩티드를 말한다. 인슐린 폴리펩티드 유

도체의 친수성은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 공지된 다양한 방법으로 비접합된 인슐린 폴리펩티드의 친수성과 비교할 수 있다. 예를 들어, 주어진 양의 인슐린 폴리펩티드 유도체를 물에 부가하여 생성된 용액을 혼합하고 여과할 수 있다. 그 여액을 공지된 HPLC 방법을 이용하여 분석함으로써 여액에 존재하는 접합체의 양을 결정할 수 있으며, 그리하여 물에 용해된 접합체의 양을 결정할 수 있다. 또 다른 방법으로는, 여과 전후에 여과지의 무게를 측정하여 물에 용해되지 않은 접합체의 무게를 결정할 수 있다. 이 무게는 이용하여 물에 존재하는 접합체의 농도를 결정할 수 있다. 비접합된 인슐린 폴리펩티드를 사용하여 동일한 공정을 반복할 수 있으며, 그리하여 얻어진 두 농도를 비교할 수 있다. 물에서 더 높은 농도를 나타내는 분자가 보다 더 친수성 분자라고 할 수 있다. 인슐린 폴리펩티드 유도체의 친지성은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 공지된 다양한 방법으로 비접합된 인슐린 폴리펩티드의 친지성과 비교할 수 있다. 예를 들어, 주어진 양의 인슐린 폴리펩티드 유도체를 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 잘 알려져 있는 역상 HPLC로 분석할 수 있다. 비접합된 인슐린 폴리펩티드를 동일한 역상 HPLC 방법을 이용하여 분석할 수 있으며, 인슐린 폴리펩티드 유도체 및 비접합된 인슐린 폴리펩티드의 용리 시간을 비교할 수 있다. 더 긴 용리시간을 갖는 물질이 보다 더 친지성인 분자라고 할 수 있다.

<42> 본 명세서에서 사용된, "양쪽 친매성 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체"란 비접합된 인슐린 폴리펩티드보다 더 친지성이면서 더 친수성인 접합체를 말한다. 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체가 양쪽 친매성인지 여부를 결정하는 방법은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 공지되어 있다. 예를 들어, 주어진 양의 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체를 물에 부가하고, 그 결과물인 용액을 혼합하여 여과할 수 있다. 그 여액을 공지된 HPLC 방법을 이용하여 분석함으로써 여액에 존재하는 접합체의 양을 결정할 수 있으며, 그리하여 물에 용해된 접합체의 양을 결정할 수 있다. 또 다른 방법으로는, 여과 전후에 여과지의 무게를 측정하여 물에 용해되지 않은 접합체의 무게를 결정할 수 있다. 이 무게를 이용하여 물에 존재하는 접합체의 농도를 결정할 수 있다. 물에 존재하는 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체의 농도는 동일한 공정을 사용하여 결정된 비접합된 인슐린-폴리펩티드의 물에서의 농도보다 더 커야한다. 그런 다음, 주어진 양의 인슐린 폴리펩티드 유도체를 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 잘 알려져 있는 역상 HPLC로 분석할 수 있다. 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체의 용리 시간이 비접합된 인슐린 폴리펩티드-올리고머의 용리시간보다 더 커야 한다.

<43> 본 명세서에서 사용된, 용어 "간문맥 투여"는 간문맥에 주어진 투여량 모두 또는 실질적으로 모두를 간문맥으로 투여하는 것을 의미한다. 간문맥 투여는 다양한 투여 경로를 통해서 이를 수 있으며, 이러한 투여 경로로는 경구 투여, 복강으로의 피하 투여, 항문 투여, 및 간문맥으로의 직접적인 주입이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

<44> 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 용어 "말초 투여"는 주어진 양의 투여량 모두 또는 실질적으로 모두를 말초 시스템으로 투여하는 것을 의미한다. 말초 투여는 다양한 투여 경로를 통해서 이를 수 있으며, 이러한 투여 경로로는 폐내, 비내, 구강 점막 경유, 및 비경구 주사(예: 피하 및 근육 주사)가 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

<45> 본 명세서에서 사용된, 용어 "폴리알킬렌 글리콜"은 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜, 및 폴리부틸렌 글리콜과 같은 선형 또는 분지쇄의 폴리알킬렌 글리콜을 말하며, 폴리알킬렌 글리콜의 모노알킬에테르를 포함한다. 용어 "폴리알킬렌 글리콜 서브유닛"은 단일 폴리알킬렌 글리콜 유닛을 말한다. 예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛은  $-O-CH_2-CH_2-O-$ 이다.

<46> 본 명세서에서 사용된, 용어 "친지성"은 지질에 용해될 수 있는 능력 및/또는 생물막을 투과하고, 생물막과 상호작용 및/또는 가로지를 수 있는 능력을 말하며, 용어 "친지성 모이어티" 또는 "리포파일(lipophile)"은 친지성인 모이어티 및/또는 또 다른 화학물질(chemical entity)에 부착될 때 그러한 화학물질의 친지성을 증가시키는 모이어티를 의미한다. 친지성 모이어티의 예로는 알킬, 지방산, 지방산 에스테르, 콜레스테릴, 아다만틸 등이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

<47> 본 명세서에서 사용된, 용어 "저급 알킬"은 1 내지 5개의 탄소원자를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬을 말한다.

<48> 본 명세서에서 사용된, 용어 "고급 알킬"은 6개 이상의 탄소원자를 갖는 치환 또는 비치환된 알킬을 말한다.

<49> 본 명세서에서 사용된, "X와 Y 사이"와 같은 어구는 X 및 Y를 포함하는 것으로 해석되어야 한다.

<50> 본 명세서에서 사용된, 용어 "약 X와 Y 사이"는 "약 X와 약 Y 사이"를 의미하며, "약 X 내지 Y"는 "약 X 내지 약 Y"를 의미한다.



- <51> 본 명세서에서 사용된, 용어 "에스테르 모이어티", "티오-에스테르 모이어티", "카바메이트 모이어티", "에테르 모이어티", "티오-카바메이트 모이어티", "카보네이트 모이어티", "티오-카보네이트 모이어티" "유레아 모이어티", 및 "아미드 모이어티"는 다양한 가능한 방향으로 명명된 모이어티를 의미하는 것으로 사용된다. 예를 들어, 용어 "에스테르 모이어티"는 -O-C(O)-모이어티, 또는 이 모이어티의 한쪽 끝 또는 양쪽 끝에 저급 알킬렌 모이어티를 갖는 모이어티를 의미한다.
- <52> 본 발명의 구현예에 따르면, 치료가 필요한 환자의 당뇨병을 치료하는 방법은 환자에게 유효량의 인슐린 약물을 경구로 투여하는 것을 포함하며, 상기 유효량의 인슐린은 투여되어 간문맥에서의 인슐린 약물 농도가 투여 후 약 60분 이내에, 보다 바람직하게는 투여 후 약 15분 또는 30분 이내에 10, 200 또는 400, 및 600, 800, 또는 1000  $\mu$ U/ml를 이룬다. 본 발명에 따른 방법은 정상적으로 존재하는 인슐린의 기저 수치의 100배까지 혈중 인슐린 약물 농도를 제공할 수 있다.
- <53> 유효량의 인슐린 약물은 바람직하게는 환자 체중 kg당 0.05, 0.1, 0.15, 또는 0.2 및 2, 5, 또는 10 mg 이다. 보다 바람직하게는, 유효량의 인슐린 약물은 환자 체중 kg 당 약 0.3 내지 1 mg 이다. 인슐린 약물의 투여량이 너무 적으면, 간의 바람직한 활성화를 이룰 수 없다. 상기 투여량이 너무 많으면, 과량의 인슐린 약물이 간을 통해 말초 시스템으로 통과하여 잠재적으로 저혈당 상태에 이르게 할 수 있다.
- <54> 본 발명의 구현예에 따르면, 유효량의 인슐린 약물의 경구 투여는 절식중인 말초 혈중 글루코오스 농도의 급격한 하강에 이르게 한다. 말초 혈중 글루코오스 농도는 바람직하게는 투여 후 약 5, 15, 또는 30분 이내에 약 10, 15, 또는 25 % 감소한다.
- <55> 본 발명의 구현예에 따른 방법은 바람직하게는 말초 시스템에 신속한 인슐린 약물의 전달을 제공한다. 유효량의 인슐린 약물의 경구 투여는 바람직하게는 투여 후 약 60분 이내에, 보다 바람직하게는 투여 후 약 30분 이내에, 그리고 보다 더 바람직하게는 투여 후 약 15분 이내에 말초 혈관에서의 최대 인슐린 농도를 제공한다. 신속하게 최대 혈중 글루코오스 농도에 도달하는 것은 식사 후 혈중 글루코오스의 급격한 증가와 반대로 작용하며, 이는 자연적인 식사 시 인슐린 분비 패턴과 유사하다. 투여된 인슐린 약물은 바람직하게는 3 또는 4 시간 이내에, 보다 바람직하게는 2 시간 이내에 혈류를 떠난다.
- <56> 본 발명의 방법의 구현예에 따르면, 유효량의 인슐린 약물의 경구 투여는 말초 당 농도를 안정화시킨다. 예를 들어, 본 발명의 방법을 이용함으로써, 말초 혈중 글루코오스 농도는 평균 말초 글루코오스 농도의  $\pm$  5, 10, 20, 또는 50% 내로 유지할 수 있다. 평균 말초 글루코오스 농도는 투여 후 약 15, 30, 또는 60 분 이내에 시작하여 약 30, 60, 90, 또는 240 분 이상에 걸쳐 결정할 수 있다.
- <57> 본 발명의 또 다른 구현예에 따르면, 당뇨병 환자에게 인슐린을 경구로 투여하는 방법은 환자의 간의 글루코오스 생산을 감소시킨다. 간의 글루코오스 생산은 투여 받지 않은 환자의 간의 글루코오스 생산과 비교해 볼 때 바람직하게는 약 25, 35, 50, 75, 90, 또는 95 % 감소하며, 가장 바람직하게는 약 100% 감소한다. 간의 글루코오스 생산의 감소는 투여 후 약 30, 60, 또는 90분 이내에 일어난다. 간의 글루코오스 생산은 바람직하게는 말초 인슐린 수치가 기저 수준에서 또는 그 가까이에 있을 때 말초 글루코오스 수치를 측정함으로써 결정된다. 측정 시간은 바람직하게는 약 1 내지 4 시간, 보다 바람직하게는 약 1 내지 2 시간, 그리고 가장 바람직하게는 약 1.5 시간이다.
- <58> 본 발명의 다른 구현예에 따르면, 유효량의 인슐린의 경구 투여는 전형적으로 식사를 하는 것과 관련된 증가(즉, 식후 글루코오스 증가)를 조절한다. 식후 글루코오스의 증가는 부분적으로 또는 완전히 본 발명의 방법에 의해 조절 될 수 있다. 바람직하게는, 식후 글루코오스의 약 25 % 이상이 간으로 흡수되며, 보다 바람직하게는 약 40% 이상, 더욱 바람직하게는 약 55 % 이상 흡수된다. 식후 글루코오스 흡수는 바람직하게는 식사 후 약 120 분 이내에 일어나며, 보다 바람직하게는 식사 후 약 15 분 또는 30 분 이내에 일어난다.
- <59> 인슐린 약물의 경구 투여는 하루 중 여러 번 수행할 수 있다. 인슐린 약물은 바람직하게는 식사 시 또는 식사 시간과 가깝게(예: 식사 1 시간 이내에) 투여한다. 본 발명의 구현예에서, 인슐린 약물은 식사 전 약 1 시간 이내에 투여한다. 인슐린 약물은 바람직하게는 식사 전 약 30 분 이내에 투여하며, 보다 바람직하게는 식사 전 약 20 분 이내에 투여한다. 본 발명의 다른 구현예에서, 약물은 식사 후 1 시간 이내에 투여하며, 바람직하게는 식사 후 약 30 분 이내에 투여한다. 또 다른 구현예에서, 인슐린 약물은 식사와 동일한 시간에 투여한다. 식사와 동시에 인슐린 약물을 투여하는 것은 고용량의 투여량을 필요로 하며 투여량에 따른 변동(dose-to-dose variability)을 일으킬 수 있기 때문에, 덜 바람직하다.
- <60> 인슐린 약물의 투여는 하루에 한번 이상의 식사 전에 투여할 수 있다. 부가적으로, 인슐린 약물은 식사시간 이

외에도, 예를 들어 4 시간 이상 자기 위해 잠들기 전에(예: 밤에 잠들기 전) 및/또는 4 시간 이상 잠든 후 깨어 날 때(예: 아침에 일어난 후)와 같은 경우에 여러 번 투여할 수 있다. 4 시간이상 동안 자기 위해 잠들기 전에 본 발명의 방법에 따른 인슐린 약물을 투여하는 것은 취침시간 전부 또는 일부에 걸쳐 효과적인 글루코오스 항상성을 제공할 수 있어, 1형 당뇨병을 갖는 환자에게 전형적으로 일어나며 취침 시간동안 저혈당 증세가 나타나는 것을 특징으로 하는 새벽 현상(Dawn Phenomenon)의 가능성을 줄이거나 예방할 수 있다.

<61> 본 발명의 구현예에 따르면, 인슐린 약물은 바람직하게는 글루코오스 항상성을 이루도록 간의 활성화를 달성 및/또는 유지하기 위해, 적절한 투여용량 및 빈도로 투여한다. 예를 들어, 인슐린 약물은 연속적으로(즉, 하루에 한번 이상 투여) 또는 주기적으로(즉, 하루 이상 연속적으로 투여한 뒤 하루 이상 연속적으로 투약 중단) 투여할 수 있다. 연속적인 투여는 혈류의 글루코오스 수치를 조절/조절보조하도록 간의 활성을 달성 및/또는 유지하기 위해, 하루에 한번 이상 투여할 필요가 있을 때 바람직하다. 연속적인 투여를 이용할 때, 보다 저용량의 인슐린을 사용하는 것이 가능하다.

<62> 간의 활성이 인슐린 투여 후 하루 이상 지속될 경우에는 주기적인 투여가 바람직할 수 있다. 예를 들어, 인슐린 약물은 하루 이상 투여한 다음, 하루 이상 투여하지 않을 수 있다. 주기적인 투여는 균일한 투여 패턴을 따를 필요가 없다. 예를 들어, 주기적인 투여 요법은 4 일동안 투여한 뒤 하루동안 휴약하고 2 일간 투약한 뒤 3 일간 휴약하는 방법을 이용한다. 1 형 및 2 형 당뇨병을 치료하기 위해 주기적인 투여를 이용할 수 있으나, 주기적인 투여는 2 형 당뇨병 치료에 가장 유익할 수 있다.

<63> 본 발명에 따른 다른 구현예에서, 치료가 필요한 환자의 당뇨병을 치료하는 방법은 상기 다양한 구현예에서 기재한 바와 같이 환자에게 유효량의 제 1 인슐린 약물을 경구로 투여하는 단계 및 환자의 말초 시스템에 유효량의 제 2 인슐린 약물을 투여하는 단계를 포함한다. 바람직하게는, 말초 투여는 비경구 주사로 수행한다. 보다 바람직하게는, 말초 투여는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 공지된 바와 같은 계속적인 피하 인슐린 주사(CSII)로 수행한다. CSII 투여량은 바람직하게는 체내에서 기저 수준의 인슐린을 제공하도록 선택된다. CSII 투여량은 시간당 0.1 내지 3 유닛(U)의 범위일 수 있으며, 바람직하게는 약 0.5 내지 1.5 U/hour 이다. 제 1 인슐린 약물 및 제 2 인슐린 약물이 동일하거나 그렇지 않을 수도 있다.

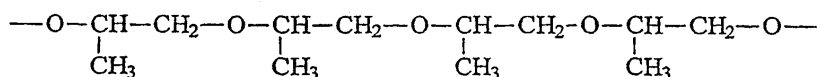
<64> 본 발명에 따른 다른 구현예에서, 치료가 필요한 환자의 당뇨병을 치료하는 방법은 상기 다양한 구현예에서 기재한 바와 같이 환자에게 유효량의 제 1 인슐린 약물을 경구로 투여하는 단계 및 기저량의 제 2 인슐린 약물을 간문맥에 계속해서 투여하는 단계를 포함한다. 이러한 투여는 복강으로 투여되는 CSII에 의해 이루어질 수 있다. 본 발명의 이러한 방법은 식사 후 비당뇨병 정상인의 체장에 의해 간문맥으로 도입되는 인슐린 볼루스(bolus)와 유사하며, 뿐만 아니라 비당뇨병 정상인에게 연속적으로 제공되는 인슐린 기저 수치와 유사하다. 제 1 인슐린 약물 및 제 2 인슐린 약물이 동일하거나 그렇지 않을 수도 있다.

<65> 상기 구현예의 인슐린 약물은 바람직하게는 인슐린 폴리펩티드 유도체이다. 상기 인슐린 폴리펩티드 유도체는 바람직하게는 아실화 인슐린 폴리펩티드 또는 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체이다. 아실화 인슐린 폴리펩티드는 지방산 모이어티 및/또는 아릴아실 모이어티와 같은 하나 이상의 아실 함유 모이어티로 유도된 인슐린 폴리펩티드이다. 지방산 모이어티는 포화되거나 불포화된, 선형 또는 분지쇄의 지방산일 수 있으며, 그러한 예로는 카프로산, 카프릴산, 카프르산,운데칸산, 라우르산, 트리데칸산, 미리스트산, 펜타데칸산, 팔미트산, 헵타데칸산, 스테아르산, 올레산, 엘라이드산, 리놀레산, 리놀렌산, 아라키드산, 아라키돈산, 또는 아릴-지방산 유도체(예: 페닐아세틸) 또는 시클로알킬-지방산 유도체(예: 시클로헥실아세틸 또는 시클로헥실프로피오닐)과 같은 지방산 유도체가 있으나, 이에 한정된 것은 아니다. 아릴아실 모이어티로는 벤조일이 있으나 이에 한정되는 것은 아니다. 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체는 폴리알킬렌 글리콜 모이어티 또는 폴리알킬렌 글리콜-함유 모이어티와 같은 올리고머와 접합된 인슐린 폴리펩티드이다. 본 발명의 구현예에 따른 인슐린 폴리펩티드 유도체는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 공지된 방법을 사용하여 합성될 수 있다.

<66> 본 발명의 구현예에 따르면, 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체는 양쪽 친매성 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체이다. 양쪽 친매성 인슐린 폴리펩티드-올리고머는 바람직하게는 친지성 모이어티에 결합된 친수성 모이어티를 포함하는 올리고머에 접합된 인슐린 폴리펩티드를 포함한다. 인슐린 폴리펩티드는 바람직하게는 인슐린 또는 인슐린 유사체이다. 보다 바람직하게는, 인슐린 폴리펩티드는 인간 인슐린 또는 인간 인슐린 유사체이다. 더욱 바람직하게는, 인슐린 폴리펩티드는 인간 인슐린이다. 상기 친수성 모이어티는 가수분해가 가능한 또는 가수분해가 불가능한 결합으로 친지성 모이어티에 결합될 수 있거나, 친지성 모이어티에 친수성 모이어티를 결합시키는 하나 이상의 중간 모이어티(intervening moiety)가 존재할 수 있다.

<67> 양쪽 친매성 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체의 친수성 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진

자에 공지되어 있는 친수성 모이어티이며, 그러한 예로는 폴리에틸렌 글리콜 또는 폴리프로필렌 글리콜과 같은 폴리알킬렌 글리콜, 그들의 코폴리머, 및 그들의 블록 코폴리폴리머가 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 친수성 모이어티는 바람직하게는 폴리알킬렌 글리콜 모이어티이다. 상기 폴리알킬렌 글리콜 모이어티는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7개의 폴리알킬렌 글리콜 서브유닛을 가진다. 폴리알킬렌 글리콜 모이어티는 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20의 하한 내지 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 또는 그 이상의 상한 사이의 폴리알킬렌 글리콜 서브유닛을 갖는다. 폴리알킬렌 글리콜 모이어티는 바람직하게는 2, 3, 4, 5, 또는 6 의 하한 내지 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20의 상한 사이의 폴리알킬렌 글리콜 서브유닛을 갖는다. 폴리알킬렌 글리콜 모이어티는 보다 바람직하게는, 3, 4, 5, 또는 6의 하한 내지 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12의 상한 사이의 폴리알킬렌 글리콜 서브유닛을 갖는다. 폴리알킬렌 글리콜 모이어티는 더욱 바람직하게는, 4, 5, 또는 6의 하한 내지 6, 7, 또는 8의 상한 사이의 폴리알킬렌 글리콜 서브유닛을 갖는다. 상기 폴리알킬렌 글리콜 모이어티는 가장 바람직하게는 7 개의 폴리알킬렌 글리콜 서브유닛을 갖는다. 올리고머의 폴리알킬렌 글리콜 모이어티는 바람직하게는 폴리에틸렌 글리콜 모이어티, 폴리프로필렌 글리콜 모이어티, 폴리부틸렌 글리콜 모이어티와 같은 저급 알킬 폴리알킬렌 글리콜 모이어티이다. 폴리알킬렌 글리콜 모이어티가 폴리프로필렌 글리콜 모이어티일 경우, 그 모이어티는 균일한(즉, 불규칙하지 않은) 구조를 갖는다. 균일한 구조를 갖는 예시적인 폴리프로필렌 글리콜 모이어티는 다음과 같은 구조이다:



<68>

<69>

이러한 균일한 폴리프로필렌 글리콜 구조는 폴리프로필렌 글리콜 체인에서 각각의 산소에 인접하여 단지 하나의 메틸이 치환된 탄소 원자를 갖는다고 기재될 수 있다. 그러한 균일한 폴리프로필렌 글리콜 모이어티는 친지성 및 친수성 특성 모두를 나타낼 수 있다.

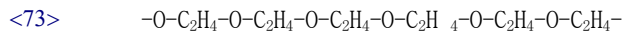
<70>

양쪽 친매성 인술린 폴리펩티드-올리고머 접합체의 친지성 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려진 친지성 모이어티이다. 상기 친지성 모이어티는 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개 이상의 탄소원자를 갖는다. 친지성 모이어티는 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20 개의 하한 내지 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30 개의 상한 사이의 탄소원자를 갖는다. 상기 친지성 모이어티는 보다 바람직하게는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 개의 하한 내지 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 또는 22 개의 상한 사이의 탄소원자를 갖는다. 상기 친지성 모이어티는 더욱 바람직하게는 3, 4, 5, 6, 7, 8, 또는 9 개의 하한 내지 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 또는 14 개의 상한 사이의 탄소원자를 갖는다. 상기 친지성 모이어티는 더더욱 바람직하게는 3, 4, 5, 6, 또는 7의 하한과 6, 7, 8, 9, 또는 10 개의 상한 사이의 탄소원자를 갖는다. 상기 친지성 모이어티는 가장 바람직하게는 6 개의 탄소원자를 갖는다. 상기 친지성 모이어티는 바람직하게는 포화 또는 불포화, 선형 또는 분지쇄의 알킬 모이어티, 포화 또는 불포화, 선형 또는 분지쇄의 지방산 모이어티, 콜레스테롤, 및 아다만탄으로 구성된 그룹에서 선택된다. 알킬 모이어티의 예로는 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸, 헥실, 헵틸, 옥틸, 노닐, 데실, 운데실, 도데실, 트리데실, 테트라데실, 펜타데실, 헥사데실, 옥타데실, 노나데실, 및 에이코실과 같은 포화된 선형 알킬 모이어티; 이소프로필, sec-부틸, tert-부틸, 2-메틸부틸, tert-펜틸, 2-메틸펜틸, 3-메틸펜틸, 2-에틸헥실, 2-프로필펜틸과 같은 포화된 분지쇄의 알킬 모이어티; 및 비닐, 알릴, 1-부테닐, 2-부테닐, 에티닐, 2-프로피닐, 및 2-프로피닐을 포함하지만 이에 한정되지 않는 상기 포화된 알킬 모이어티로부터 유래된 불포화 알킬 모이어티가 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 지방산 모이어티의 예로는 라우롤레이트, 미리스톨레이트, 팔미톨레이트, 올레이트, 엘라이테이트, 에루케이트, 리놀레이트, 리놀네이트, 아라키도네이트, 에이코사헵타엔토에이트, 및 도코사헥사엔오에이트와 같은 불포화 지방산 모이어티; 및 아세테이트, 카프로에이트, 카프릴레이트, 카프레이트, 라우레이트, 미리스테이트, 팔미테이트, 스테아레이트, 아라키테이트, 베헤네이트, 리그노세레이트, 및 세로테이트와 같은 포화된 지방산 모이어티가 있으나, 이에 한정된 것은 아니다.

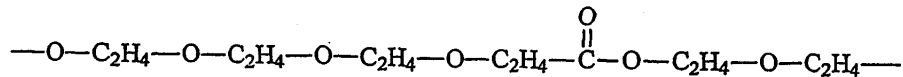
<71>

양쪽 친매성 인술린 폴리펩티드-올리고머 접합체가 올리고머 부분은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려진 하나 이상의 다른 모이어티를 포함할 수 있으며, 그러한 모이어티로는 부가적인 친수성 모이어티, 스페이서 모이어티, 링커 모이어티, 및 종결 모이어티가 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 올리고머의 다양한 모이어티는 가수분해 가능한 또는 가수분해 되지 않는 결합에 의해 서로 공유결합된다.

<72> 양쪽 친매성의 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체의 올리고머 부분은 하나 이상의 부가적인 친수성 모이어티 (즉, 친수성 모이어티에 부가적인 모이어티)를 포함할 수 있으며, 이러한 예로는 당, 폴리알킬렌 글리콜, 및 폴리아민/PEG 코폴리머가 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 인접하는 폴리알킬렌 글리콜 모이어티는 그들이 에테르 결합에 의해 결합된다면 동일한 모이어티로 인정될 것이다. 예를 들어, 하기 모이어티는



<74> 여섯 개의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 갖는 단일 폴리에틸렌 글리콜 모이어티이다. 이러한 모이어티가 올리고머의 유일한 친수성 모이어티라면, 상기 올리고머는 부가적인 친수성 모이어티를 함유하지 않을 것이다. 인접하는 폴리에틸렌 글리콜 모이어티가 에테르 결합 이외의 결합에 의해 결합된다면, 그것은 서로 다른 모이어티로 인정될 것이다. 예를 들어, 하기 모이어티는



<75>

<76> 4 개의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛과 두 개의 폴리에틸렌 글리콜 서브유닛을 갖는 부가적인 친수성 모이어티를 갖는 폴리에틸렌 글리콜 모이어티이다. 바람직하게는, 본 발명의 구현예에 따른 올리고머는 폴리알킬렌 글리콜 모이어티를 포함하며 부가적인 친수성 모이어티를 포함하지 않는다.

<77> 양쪽 친매성 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체의 올리고머 부분은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 공지되어 있는 하나 이상의 스페이서 모이어티를 포함할 수 있다. 스페이서 모이어티는, 예를 들어 친수성 모이어티를 친지성 모이어티로부터 분리시키고, 친지성 모이어티 또는 친수성 모이어티를 인슐린 폴리펩티드로부터 분리시키고, 제 1 친수성 또는 친지성 모이어티를 제 2 친수성 또는 친지성 모이어티로부터 분리시키고, 또는 친수성 모이어티 또는 친지성 모이어티를 링커 모이어티로부터 분리시키는데 사용될 수 있다. 스페이서 모이어티는 바람직하게는 당, 콜레스테롤, 및 글리세린 모이어티로 구성된 그룹으로부터 선택된다. 당 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 당 모이어티일 수 있으며, 그러한 예로는 단당류 모이어티 및 이당류 모이어티가 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 바람직한 단당류 모이어티는 4 내지 6 개의 탄소원자를 갖는다.

<78> 양쪽-친매성 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체의 올리고머 부분은 올리고머를 인슐린 폴리펩티드와 결합하는데 사용되는, 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 하나 이상의 링커 모이어티를 포함할 수 있다. 링커 모이어티는 바람직하게는 알킬 모이어티 및 지방산 모이어티로 구성된 그룹에서 선택된다. 상기 알킬 링커 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 포화 또는 불포화된, 선형 또는 분지쇄의 알킬 모이어티일 수 있으며, 그러한 예로는 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸, 헥실, 헵틸, 옥틸, 노닐, 데실, 운데실, 도데실, 트리데실, 테트라데실, 펜타데실, 헥사데실, 옥타데실, 노나데실, 에이코실, 이소프로필, sec-부틸, tert-부틸, 2-메틸부틸, tert-펜틸, 2-메틸펜틸, 3-메틸펜틸, 2-에틸헥실, 2-프로필펜틸, 비닐, 알릴, 1-부테닐, 2-부테닐, 에티닐, 2-프로피닐, 및 2-프로피닐이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 알킬 링커 모이어티는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20 개의 하한 내지 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30 개의 상한의 탄소원자를 가지며, 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 또는 5 개 내지 8, 9, 10, 11, 또는 12 개의 탄소원자를 가질 수 있다. 상기 지방산 링커 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 포화 또는 불포화된, 선형 또는 분지쇄의 지방산일 수 있으며, 그러한 예로는 라우롤레이트, 미리스톨레이트, 팔미톨레이트, 올레이트, 엘라이드이트, 에루케이트, 리놀레이트, 리놀네이트, 아라키도네이트, 에이코사펜타엔트에이트, 도코사헥사엔트에이트, 아세테이트, 카프로에이트, 카프릴레이트, 카프레이트, 라우레이트, 미리스테이트, 팔미테이트, 스테아레이트, 아라키테이트, 베헤네이트, 리그노세레이트, 및 세로테이트가 있으나, 이에 한정된 것은 아니다. 지방산 링커 모이어티는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20 개의 하한 내지 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30 개의 상한의 탄소원자를 가지며, 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 또는 5 개 내지 8, 10, 12, 14 또는 16 개의 탄소원자를 가질 수 있다.

<79> 양쪽-친매성 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체의 올리고머 부분은 하나 이상의 올리고머 말단에, 인슐린 폴리펩티드에 결합되지 않은 하나 이상의 종결 모이어티를 포함할 수 있다. 상기 종결 모이어티는 바람직하게는 알킬 또는 알콕시 모이어티이다. 상기 알킬 또는 알콕시 모이어티는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12,



13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20 개의 하한 내지 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30 개의 상한의 탄소원자를 가진다. 상기 알킬 및 알콕시 모이어티는 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7 개의 하한 내지 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 또는 14 개의 상한의 탄소원자를 갖는다. 상기 알킬 및 알콕시 모이어티는 보다 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 또는 5 개의 하한 내지 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 개의 상한의 탄소원자를 갖는다. 상기 알킬 및 알콕시 모이어티는 더욱 바람직하게는 1, 2, 3, 또는 4 개의 하한 내지 5, 6, 또는 7 개의 상한의 탄소원자를 갖는다. 상기 알킬 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 포화 또는 불포화된, 선형 또는 분지쇄의 알킬 모이어티일 수 있으며, 그러한 예로는 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸, 헥실, 헵틸, 옥틸, 노닐, 데실, 운데실, 도데실, 트리데실, 테트라데실, 펜타데실, 헥사데실, 옥타데실, 노나데실, 에이코실, 이소프로필, sec-부틸, tert-부틸, 2-메틸부틸, tert-펜틸, 2-메틸펜틸, 3-메틸펜틸, 2-에틸헥실, 2-프로필펜틸, 비닐, 알릴, 1-부테닐, 2-부테닐, 에티닐, 2-프로피닐, 및 2-프로피닐이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 알콕시 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 알콕시 모이어티일 수 있으며, 그러한 예로는 메톡시, 에톡시, 프로폭시, 부톡시, 펜틸옥시, 헥실옥시, 헵틸옥시, 옥틸옥시, 노닐옥시, 데실옥시, 운데실옥시, 도데실옥시, 트리데실옥시, 테트라데실옥시, 펜타데실옥시, 헥사데실옥시, 옥타데실옥시, 노나데실옥시, 에이코실옥시, 이소프로폭시, sec-부톡시, tert-부톡시, 2-메틸부톡시, tert-펜틸옥시, 2-메틸-펜틸옥시, 3-메틸펜틸옥시, 2-에틸헥실옥시, 2-프로필펜틸옥시, 비닐옥시, 알릴옥시, 1-부테닐옥시, 2-부테닐옥시, 에티닐옥시, 1-프로피닐옥시, 및 2-프로피닐옥시가 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 종결 모이어티는 보다 바람직하게는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, sec-부틸, tert-부틸, 펜틸, 또는 tert-펜틸과 같은 저급 알킬 모이어티, 또는 메톡시, 에톡시, 프로폭시, 이소프로폭시, 부톡시, sec-부톡시, tert-부톡시, 펜틸옥시, 또는 tert-펜틸옥시와 같은 저급 알콕시 모이어티이다. 가장 바람직하게는, 상기 종결 모이어티는 메틸 또는 메톡시이다. 상기 종결 모이어티는 바람직하게는 알킬 또는 알콕시 모이어티이지만, 종결 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 모이어티일 수 있으며, 그러한 예로는 당, 콜레스테롤, 알콜, 및 지방산이 있으나, 이에 한정되지는 않는다.

<80> 본 발명의 다른 구현예에 따르면, 상기한 바와 같은 치료가 필요한 환자의 당뇨병을 치료하는 방법에 따라 투여되는 인슐린 약물은 화학식 1의 구조를 포함하는 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체이다:

<81> [화학식 1]

<82> 인슐린 폴리펩티드—B—L<sub>j</sub>—G<sub>k</sub>—R—G'<sub>m</sub>—R'—G"<sub>n</sub>—T

<83> 상기 화학식 1에서,

<84> B는 결합 모이어티이고;

<85> L은 링커 모이어티이고;

<86> G, G', 및 G"은 개별적으로 선택된 스페이서 모이어티이고;

<87> R은 친지성 모이어티이고 R'은 폴리알킬렌 글리콜 모이어티이거나, R'은 친지성 모이어티이고 R은 폴리알킬렌 글리콜 모이어티이고;

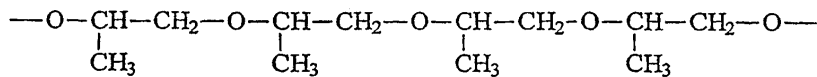
<88> T는 종결 모이어티이며;

<89> j, k, m, 및 n은 각각 0 또는 1이다.

<90> 본 발명의 이러한 구현예에 따르면, 인슐린 폴리펩티드는 바람직하게는 인슐린 또는 인슐린 유사체이다. 보다 바람직하게는, 인슐린 폴리펩티드는 인간 인슐린 또는 인간 인슐린 유사체이고, 더욱 바람직하게는 인슐린 폴리펩티드는 인간 인슐린이다. 화학식 1의 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체는 바람직하게는 양쪽 친매성 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체이다.

<91> 본 발명의 이러한 구현예에 따르면, 상기 폴리알킬렌 글리콜 모이어티는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7개 이상의 폴리알킬렌 글리콜 서브유닛을 갖는다. 상기 폴리알킬렌 글리콜 모이어티는 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20 개의 하한 내지 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 50 개 이상의 상한의 폴리알킬렌 글리콜 서브유닛을 갖는다. 상기 폴리알킬렌 글리콜 모이어티는 보다 바람직하게는 2, 3, 4, 5, 또는 6 개의 하한 내지 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13,

14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20 개의 상한의 폴리알킬렌 글리콜 서브유닛을 갖는다. 더욱 바람직하게는, 상기 폴리알킬렌 글리콜 모이어티는 3, 4, 5, 또는 6 개의 하한 내지 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12 개의 상한의 폴리알킬렌 글리콜 서브유닛을 갖는다. 상기 폴리알킬렌 글리콜 모이어티는 더욱 바람직하게는 4, 5, 또는 6 개의 하한 내지 6, 7, 또는 8 개의 상한의 폴리알킬렌 글리콜 서브유닛을 갖는다. 상기 폴리알킬렌 글리콜 모이어티는 가장 바람직하게는 7 개의 폴리알킬렌 글리콜 서브유닛을 갖는다. 올리고머의 폴리알킬렌 글리콜 모이어티는 바람직하게는 폴리에틸렌 글리콜 모이어티, 폴리프로필렌 글리콜 모이어티, 또는 폴리부틸렌 글리콜 모이어티와 같은 저급 알킬 폴리알킬렌 글리콜 모이어티이다. 폴리알킬렌 글리콜 모이어티가 폴리프로필렌 글리콜 모이어티일 경우, 그 모이어티는 균일한(즉, 불규칙하지 않은) 구조를 갖는다. 균일한 구조를 갖는 예시적인 폴리프로필렌 글리콜 모이어티는 다음과 같은 구조이다:



<92>

<93>

이러한 균일한 폴리프로필렌 글리콜 구조는 폴리프로필렌 글리콜 체인에서 각각의 산소에 인접하여 단지 하나의 메틸이 치환된 탄소 원자를 갖는다고 기재될 수 있다. 그러한 균일한 폴리프로필렌 글리콜 모이어티는 친지성 및 친수성 특성 모두를 나타낼 수 있다.

<94>

본 발명의 이러한 구현예에 따르면, 상기 친지성 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 친지성 모이어티이다. 상기 친지성 모이어티는 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개 이상의 탄소원자를 갖는다. 친지성 모이어티는 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20 개의 하한과 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30 개의 상한 사이의 탄소원자를 갖는다. 상기 친지성 모이어티는 바람직하게는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 개의 하한과 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 또는 22 개의 상한 사이의 탄소원자를 갖는다. 상기 친지성 모이어티는 더욱 바람직하게는 3, 4, 5, 6, 7, 8, 또는 9 개의 하한과 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 또는 14 개의 상한 사이의 탄소원자를 갖는다. 상기 친지성 모이어티는 더욱 바람직하게는 3, 4, 5, 6, 또는 7의 하한과 6, 7, 8, 9, 또는 10 개의 상한 사이의 탄소원자를 갖는다. 상기 친지성 모이어티는 가장 바람직하게는 6 개의 탄소원자를 갖는다. 상기 친지성 모이어티는 바람직하게는 포화 또는 불포화, 선형 또는 분지쇄의 알킬 모이어티, 포화 또는 불포화, 선형 또는 분지쇄의 지방산 모이어티, 콜레스테롤, 및 아다만탄으로 구성된 그룹에서 선택된다. 알킬 모이어티의 예로는 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸, 헥실, 헵틸, 옥틸, 노닐, 데실, 운데실, 도데실, 트리데실, 테트라데실, 펜타데실, 헥사데실, 옥타데실, 노나데실, 및 에이코실과 같은 포화된 선형 알킬 모이어티; 이소프로필, sec-부틸, tert-부틸, 2-메틸부틸, tert-펜틸, 2-메틸펜틸, 3-메틸펜틸, 2-에틸헥실, 2-프로필헵틸과 같은 포화된 분지쇄의 알킬 모이어티; 및 비닐, 알릴, 1-부테닐, 2-부테닐, 에티닐, 2-프로피닐, 및 2-프로피닐을 포함하지만 이에 한정되지 않은 상기 포화된 알킬 모이어티로부터 유래된 불포화 알킬 모이어티가 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 지방산 모이어티의 예로는 라우롤레이트, 미리스톨레이트, 팔미톨레이트, 올레이트, 엘라이드레이트, 에루케이트, 리놀레이트, 리놀레이트, 아라키도네이트, 에이코사헵타엔토에이트, 및 도코사헵사엔토에이트와 같은 불포화 지방산 모이어티; 및 아세테이트, 카프로에이트, 카프릴레이트, 카프레이트, 라우레이트, 미리스테이트, 팔미테이트, 스테아레이트, 아라키데이트, 베헤네이트, 리그노세레이트, 및 세로테이트와 같은 포화된 지방산 모이어티가 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

<95>

본 발명의 이러한 구현예에 따르면, 상기 스페이서 모이어티 G, G', 및 G"은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 스페이서 모이어티이다. 상기 스페이서 모이어티는 바람직하게는 당 모이어티, 콜레스테롤, 및 글리세린 모이어티로 구성된 그룹으로부터 선택된다. 당 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 당 모이어티일 수 있으며, 그러한 예로는 단당류 모이어티 및 이당류 모이어티가 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 바람직한 단당류 모이어티는 4 내지 6 개의 탄소원자를 갖는다. 바람직하게는, 이러한 구현예의 올리고머는 스페이서 모이어티를 포함하지 않는다(즉, k, m, 및 n은 0이다).

<96>

본 발명이 이러한 구현예에 따르면, 결합 모이어티 B는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 결합 모이어티일 수 있으며, 그러한 예로는 에스테르 모이어티, 티오-에스테르 모이어티, 에테르 모이어티, 카바메이트 모이어티, 티오-카바메이트 모이어티, 카보네이트 모이어티, 티오-카보네이트 모이어티, 아마이드 모이어티, 유레아 모이어티, 및 공유결합이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 결합 모이어티가 카바메이트 모이어티 또는 아마이드 모이어티일 때, 그 모이어티의 질소 부분은, LysB29의 ε-아미노 모이어티와

같은 인슐린 폴리펩티드의 아미노 모이어티가 제공한다. 상기 결합 모이어티는 바람직하게는 에스테르 모이어티, 에테르 모이어티, 카바메이트 모이어티, 카보네이트 모이어티, 아미드 모이어티, 또는 공유결합이다. 상기 결합 모이어티는 보다 바람직하게는 에스테르 모이어티, 카바메이트 모이어티, 카보네이트 모이어티, 또는 아미드 모이어티이다. 상기 결합 모이어티는 더욱 바람직하게는 인슐린 폴리펩티드의 아미노 모이어티가 제공하는 아미드 모이어티의 질소 부분을 갖는 아미드 모이어티이다.

<97> 본 발명의 이러한 구현예에 따르면, 링커 모이어티, L은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려진 다양한 링커 모이어티일 수 있다. 링커 모이어티는 바람직하게는 알킬 모이어티 및 지방산 모이어티로 구성된 그룹에서 선택된다. 상기 알킬 링커 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 포화 또는 불포화된, 선형 또는 분지쇄의 알킬 모이어티일 수 있으며, 그러한 예로는 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸, 헥실, 헵틸, 옥틸, 노닐, 데실, 운데실, 도데실, 트리데실, 테트라데실, 펜타데실, 헥사데실, 옥타데실, 노나데실, 에이코실, 이소프로필, sec-부틸, tert-부틸, 2-메틸부틸, tert-펜틸, 2-메틸펜틸, 3-메틸펜틸, 2-에틸헥실, 2-프로필펜틸, 비닐, 알릴, 1-부테닐, 2-부테닐, 에티닐, 2-프로피닐, 및 2-프로피닐이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 알킬 링커 모이어티는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20 개의 하한 내지 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30 개의 상한의 탄소원자를 가지며, 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 또는 5 개 내지 8, 9, 10, 11, 또는 12 개의 탄소원자를 가질 수 있다. 상기 지방산 링커 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 포화 또는 불포화된, 선형 또는 분지쇄의 지방산일 수 있으며, 그러한 예로는 라우롤레이트, 미리스톨레이트, 팔미톨레이트, 올레이트, 엘라이데이트, 에루케이트, 리놀레이트, 리놀네이트, 아라키도네이트, 에이코사펜타엔토에이트, 도코사헥사노에이트, 아세테이트, 카프로에이트, 카프릴레이트, 카프레이트, 라우레이트, 미리스테이트, 팔미테이트, 스테아레이트, 아라키데이트, 베헤네이트, 리그노세레이트, 및 세로테이트가 있으나, 이에 한정된 것은 아니다. 지방산 링커 모이어티는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20 개의 하한 내지 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30 개의 상한의 탄소원자를 가지며, 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 또는 5 개 내지 8, 10, 12, 14 또는 16 개의 탄소원자를 가질 수 있다.

<98> 본 발명의 이러한 구현예에 따르면, 상기 종결 모이어티, T는 바람직하게는 알킬 또는 알콕시 모이어티이다. 상기 알킬 또는 알콕시 모이어티는 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20 개의 하한 내지 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30 개의 상한의 탄소원자를 가진다. 상기 알킬 및 알콕시 모이어티는 보다 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 또는 7 개의 하한 내지 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 또는 14 개의 상한의 탄소원자를 갖는다. 상기 알킬 및 알콕시 모이어티는 더욱 바람직하게는 1, 2, 3, 4, 또는 5 개의 하한 내지 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10 개의 상한의 탄소원자를 갖는다. 상기 알킬 및 알콕시 모이어티는 더욱 바람직하게는 1, 2, 3, 또는 4 개의 하한 내지 5, 6, 또는 7 개의 상한의 탄소원자를 갖는다. 상기 알킬 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 포화 또는 불포화된, 선형 또는 분지쇄의 알킬 모이어티일 수 있으며, 그러한 예로는 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸, 헥실, 헵틸, 옥틸, 노닐, 데실, 운데실, 도데실, 트리데실, 테트라데실, 펜타데실, 헥사데실, 옥타데실, 노나데실, 에이코실, 이소프로필, sec-부틸, tert-부틸, 2-메틸부틸, tert-펜틸, 2-메틸펜틸, 3-메틸펜틸, 2-에틸헥실, 2-프로필펜틸, 비닐, 알릴, 1-부테닐, 2-부테닐, 에티닐, 2-프로피닐, 및 2-프로피닐이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 알콕시 모이어티의 예로는 메톡시, 에톡시, 프로폭시, 부톡시, 펜틸옥시, 헥실옥시, 헵틸옥시, 옥틸옥시, 노닐옥시, 데실옥시, 운데실옥시, 도데실옥시, 트리데실옥시, 테트라데실옥시, 펜타데실옥시, 헥사데실옥시, 옥타데실옥시, 노나데실옥시, 에이코실옥시, 이소프로폭시, sec-부톡시, tert-부톡시, 2-메틸부톡시, tert-펜틸옥시, 2-메틸-펜틸옥시, 3-메틸펜틸옥시, 2-에틸헥실옥시, 2-프로필펜틸옥시, 비닐옥시, 알릴옥시, 1-부테닐옥시, 2-부테닐옥시, 에티닐옥시, 1-프로피닐옥시, 및 2-프로피닐옥시가 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 종결 모이어티는 보다 바람직하게는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, sec-부틸, tert-부틸, 펜틸, 또는 tert-펜틸과 같은 저급 알킬 모이어티, 또는 메톡시, 에톡시, 프로폭시, 이소프로폭시, 부톡시, sec-부톡시, tert-부톡시, 펜틸옥시, 또는 tert-펜틸옥시와 같은 저급 알콕시 모이어티이다. 가장 바람직하게는, 상기 종결 모이어티는 메틸 또는 메톡시이다. 상기 종결 모이어티가 바람직하게는 알킬 또는 알콕시 모이어티이지만, 종결 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 모이어티일 수 있으며, 그러한 예로는 당, 콜레스테롤, 알콜, 및 지방산이 있으나, 이에 한정되지는 않는다.

<99> 본 발명의 또 다른 구현예에 따르면, 상기한 바와 같은 치료가 필요한 환자의 당뇨병을 치료하는 방법에 따라

투여되는 인슐린 약물은 화학식 2의 구조를 포함하는 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체이다:

[화학식 2]

인슐린 폴리펩티드— $X(CH_2)_mY(C_2H_4O)_nR$

상기 화학식 2에서,

X는 에스테르 모이어티, 티오-에스테르 모이어티, 에테르 모이어티, 카바메이트 모이어티, 티오-카바메이트 모이어티, 카보네이트 모이어티, 티오-카보네이트 모이어티, 아마이드 모이어티, 유레아 모이어티, 또는 공유결합이고; 바람직하게는 에스테르 모이어티, 에테르 모이어티, 카바메이트 모이어티, 카보네이트 모이어티, 아마이드 모이어티, 또는 공유결합이고; 보다 바람직하게는 에스테르 모이어티, 카바메이트 모이어티, 카보네이트 모이어티, 또는 아마이드 모이어티이며; 더욱 바람직하게는 아마이드 또는 카바메이트 모이어티의 질소 부분이다.

Y는 에스테르 모이어티, 티오-에스테르 모이어티, 에테르 모이어티, 카바메이트 모이어티, 티오-카바메이트 모이어티, 카보네이트 모이어티, 티오-카보네이트 모이어티, 아마이드 모이어티, 유레아 모이어티, 또는 공유결합이고; 바람직하게는 에스테르 모이어티, 에테르 모이어티, 카바메이트 모이어티, 카보네이트 모이어티, 아마이드 모이어티, 또는 공유결합이고; 보다 바람직하게는 에스테르 모이어티, 에테르, 카바메이트 모이어티, 카보네이트 모이어티, 또는 아마이드 모이어티이며; 더욱 바람직하게는 에테르 모이어티이고;

m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20의 하한 내지 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30의 상한을 가지고, 보다 바람직하게는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10의 하한 내지 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 또는 22의 상한을 가지고, 더욱 바람직하게는 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9의 하한 내지 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 또는 14의 상한을 가지며, 더욱 바람직하게는 3, 4, 5, 6, 또는 7의 하한 내지 6, 7, 8, 9, 또는 10의 상한을 가지고;

n은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20의 하한 내지 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 50의 상한을 가지고, 보다 바람직하게는 2, 3, 4, 5, 또는 6의 하한 내지 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20의 상한을 가지고, 더욱 바람직하게는 3, 4, 5, 또는 6의 하한 내지 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12의 상한 사이의 폴리알킬렌 글리콜 서브 유닛이고, 더욱 바람직하게는 4, 5, 또는 6의 하한 내지 6, 7, 또는 8의 상한 사이의 폴리알킬렌 글리콜 서브 유닛이며, 가장 바람직하게는 7이고;

R은 알킬 모이어티, 당 모이어티, 콜레스테롤, 아다만탄, 알콜 모이어티, 또는 지방산 모이어티이다. 상기 알킬 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 선형 또는 분지쇄의, 포화 또는 불포화된 알킬 모이어티일 수 있으며, 그러한 예로는 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸, 헥실, 헵틸, 옥틸, 노닐, 데실, 운데실, 도데실, 트리데실, 테트라데실, 펜타데실, 헥사데실, 옥타데실, 노나데실, 에이코실, 이소프로필, sec-부틸, tert-부틸, 2-메틸부틸, tert-펜틸, 2-메틸펜틸, 3-메틸펜틸, 2-에틸헥실, 2-프로필펜틸, 비닐, 알릴, 1-부테닐, 2-부테닐, 에티닐, 2-프로피닐, 및 2-프로피닐이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 알킬 모이어티는 보다 바람직하게는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, sec-부틸, tert-부틸, 펜틸, 또는 tert-펜틸과 같은 저급 알킬 모이어티이다. 상기 알킬 모이어티는 더욱 바람직하게는 C<sub>1</sub> 내지 C<sub>3</sub> 알킬이다. 상기 알킬 모이어티는 가장 바람직하게는 메틸이다. 상기 지방산 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 포화 또는 불포화된, 선형 또는 분지쇄의 지방산일 수 있으며, 그러한 예로는 라우롤레이트, 미리스톨레이트, 팔미톨레이트, 올레이트, 엘라이트이트, 에루케이트, 리놀레이트, 리놀네이트, 아라키도네이트, 에이코사펜타엔토에이트, 도코사헥사엔노에이트, 아세테이트, 카프로에이트, 카프릴레이트, 카프레이트, 라우레이트, 미리스테이트, 팔미테이트, 스테아레이트, 아라키테이트, 베헤네이트, 리그노세레이트, 및 세로테이트가 있으나, 이에 한정된 것은 아니다. 상기 당 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 당 모이어티 일 수 있다. 유사하게, 상기 알콜 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 알콜 모이어티 일 수 있다.

본 발명의 이러한 구현예에 따르면, 인슐린 폴리펩티드는 바람직하게는 인슐린 또는 인슐린 유사체이다. 보다



바람직하게는, 인슐린 폴리펩티드는 인간 인슐린 또는 인간 인슐린 유사체이이고, 더욱 바람직하게는 인슐린 폴리펩티드는 인간 인슐린이다. 화학식 2의 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체는 바람직하게는 양쪽 친매성 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체이다.

<109> 본 발명의 또 다른 구현예에 따르면, 상기한 바와 같은 치료가 필요한 환자의 당뇨병을 치료하는 방법에 따라 투여되는 인슐린 약물은 화학식 3의 구조를 포함하는 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체이다:

<110> [화학식 3]

<111> 인슐린 폴리펩티드— $X(CH_2)_m(OC_2H_4)_nOR$

<112> 상기 화학식 3에서,

<113> X는 에스테르 모이어티, 티오-에스테르 모이어티, 에테르 모이어티, 카바메이트 모이어티, 티오-카바메이트 모이어티, 카보네이트 모이어티, 티오-카보네이트 모이어티, 아마이드 모이어티, 유레아 모이어티, 또는 공유결합이고; 바람직하게는 에스테르 모이어티, 에테르 모이어티, 카바메이트 모이어티, 카보네이트 모이어티, 아마이드 모이어티, 또는 공유결합이고; 보다 바람직하게는 에스테르 모이어티, 카바메이트 모이어티, 카보네이트 모이어티, 또는 아마이드 모이어티이며; 더욱 바람직하게는 아마이드 모이어티이다. 상기 X가 아마이드 모이어티 또는 카바메이트 모이어티일 경우, 인슐린 폴리펩티드의 아미노기는 바람직하게는 아마이드 또는 카바메이트 모이어티의 질소 부분이다.

<114> m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20의 하한 내지 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30의 상한을 가지고, 보다 바람직하게는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10의 하한 내지 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 또는 22의 상한을 가지고, 더욱 바람직하게는 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9의 하한 내지 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 또는 14의 상한을 가지며, 더더욱 바람직하게는 3, 4, 5, 6, 또는 7의 하한 내지 6, 7, 8, 9, 또는 10의 상한을 가지고;

<115> n은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20의 하한 내지 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 50의 상한을 가지고, 보다 바람직하게는 2, 3, 4, 5, 또는 6의 하한 내지 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20의 상한을 가지고, 더욱 바람직하게는 3, 4, 5, 또는 6의 하한 내지 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12의 상한 사이의 폴리알킬렌 글리콜 서브 유닛이고, 더더욱 바람직하게는 4, 5, 또는 6의 하한 내지 6, 7, 또는 8의 상한 사이의 폴리알킬렌 글리콜 서브 유닛이며, 가장 바람직하게는 7이고;

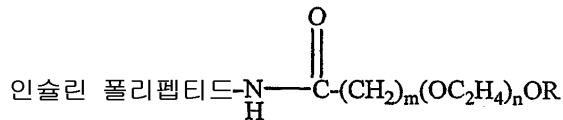
<116> R은 알킬 모이어티, 당 모이어티, 콜레스테롤, 아다만탄, 알콜 모이어티, 또는 지방산 모이어티이다. 상기 알킬 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 선형 또는 분지쇄의, 포화 또는 불포화된 알킬 모이어티일 수 있으며, 그러한 예로는 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸, 헥실, 헵틸, 옥틸, 노닐, 데실, 운데실, 도데실, 트리데실, 테트라데실, 펜타데실, 헥사데실, 옥타데실, 노나데실, 에이코실, 이소프로필, sec-부틸, tert-부틸, 2-메틸부틸, tert-펜틸, 2-메틸펜틸, 3-메틸펜틸, 2-에틸헥실, 2-프로필펜틸, 비닐, 알릴, 1-부테닐, 2-부테닐, 에티닐, 2-프로피닐, 및 2-프로피닐이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 알킬 모이어티는 보다 바람직하게는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, sec-부틸, tert-부틸, 펜틸, 또는 tert-펜틸과 같은 저급 알킬 모이어티이다. 상기 알킬 모이어티는 더욱 바람직하게는 C<sub>1</sub> 내지 C<sub>3</sub> 알킬이다. 상기 알킬 모이어티는 가장 바람직하게는 메틸이다. 상기 지방산 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 포화 또는 불포화된, 선형 또는 분지쇄의 지방산일 수 있으며, 그러한 예로는 라우롤레이트, 미리스톨레이트, 팔미톨레이트, 올레이트, 엘라이데이트, 에루케이트, 리놀레이트, 리놀네이트, 아라키도네이트, 에이코사펜타엔토에이트, 도코사헥사엔토에이트, 아세테이트, 카프로에이트, 카프릴레이트, 카프레이트, 라우레이트, 미리스테이트, 팔미테이트, 스테아레이트, 아라키테이트, 베헤네이트, 리그노세레이트, 및 세로테이트가 있으나, 이에 한정된 것은 아니다. 상기 당 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 당 모이어티 일 수 있다. 유사하게, 상기 알콜 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 알콜 모이어티 일 수 있다.

<117> 본 발명의 이러한 구현예에 따르면, 인슐린 폴리펩티드는 바람직하게는 인슐린 또는 인슐린 유사체이다. 보다 바람직하게는, 인슐린 폴리펩티드는 인간 인슐린 또는 인간 인슐린 유사체이이고, 더욱 바람직하게는 인슐린 폴

리펩티드는 인간 인슐린이다. 화학식 3의 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체는 바람직하게는 양쪽 친매성 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체이다.

<118> 본 발명의 또 다른 구현예에 따르면, 상기한 바와 같은 치료가 필요한 환자의 당뇨병을 치료하는 방법에 따라 투여되는 인슐린 약물은 화학식 4의 구조를 포함하는 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체이다:

<119> [화학식 4]



<120>

<121> 상기 화학식 4에서,

<122> m은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20의 하한 내지 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30의 상한을 가지고, 보다 바람직하게는 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10의 하한 내지 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 또는 22의 상한을 가지고, 더욱 바람직하게는 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9의 하한 내지 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 또는 14의 상한을 가지며, 더더욱 바람직하게는 3, 4, 5, 6, 또는 7의 하한 내지 6, 7, 8, 9, 또는 10의 상한을 가지고;

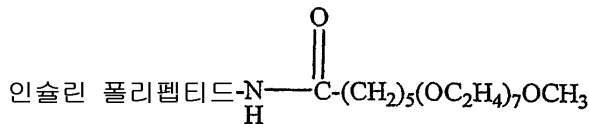
<123> n은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20의 하한 내지 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 50의 상한을 가지고, 보다 바람직하게는 2, 3, 4, 5, 또는 6의 하한 내지 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20의 상한을 가지고, 더욱 바람직하게는 3, 4, 5, 또는 6의 하한 내지 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 또는 12의 상한 사이의 폴리알킬렌 글리콜 서브 유닛이고, 더더욱 바람직하게는 4, 5, 또는 6의 하한 내지 6, 7, 또는 8의 상한 사이의 폴리알킬렌 글리콜 서브 유닛이며, 가장 바람직하게는 7이고;

<124> R은 알킬 모이어티, 당 모이어티, 콜레스테롤, 아다만탄, 알콜 모이어티, 또는 지방산 모이어티이다. 상기 알킬 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 선형 또는 분지쇄의, 포화 또는 불포화된 알킬 모이어티일 수 있으며, 그러한 예로는 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸, 헥실, 헵틸, 옥틸, 노닐, 데실, 운데실, 도데실, 트리데실, 테트라데실, 펜타데실, 헥사데실, 옥타데실, 노나데실, 에이코실, 이소프로필, sec-부틸, tert-부틸, 2-메틸부틸, tert-펜틸, 2-메틸펜틸, 3-메틸펜틸, 2-에틸헥실, 2-프로필펜틸, 비닐, 알릴, 1-부테닐, 2-부테닐, 에티닐, 2-프로피닐, 및 2-프로피닐이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 상기 알킬 모이어티는 보다 바람직하게는 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필, 부틸, sec-부틸, tert-부틸, 펜틸, 또는 tert-펜틸과 같은 저급 알킬 모이어티이다. 상기 알킬 모이어티는 더욱 바람직하게는 C<sub>1</sub> 내지 C<sub>3</sub> 알킬이다. 상기 알킬 모이어티는 가장 바람직하게는 메틸이다. 상기 지방산 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 포화 또는 불포화된, 선형 또는 분지쇄의 지방산일 수 있으며, 그러한 예로는 라우롤레이트, 미리스톨레이트, 팔미톨레이트, 올레이트, 엘라이데이트, 에루케이트, 리놀레이트, 리놀네이트, 아라키도네이트, 에이코사펜타엔토에이트, 도코사헥사노에이트, 아세테이트, 카프로에이트, 카프릴레이트, 카프레이트, 라우레이트, 미리스테이트, 팔미테이트, 스테아레이트, 아라키테이트, 베헤네이트, 리그노세레이트, 및 세로테이트가 있으나, 이에 한정된 것은 아니다. 상기 당 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 당 모이어티 일 수 있다. 유사하게, 상기 알콜 모이어티는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 알콜 모이어티 일 수 있다.

<125> 본 발명의 이러한 구현예에 따르면, 인슐린 폴리펩티드는 바람직하게는 인슐린 또는 인슐린 유사체이다. 보다 바람직하게는, 인슐린 폴리펩티드는 인간 인슐린 또는 인간 인슐린 유사체이고, 더욱 바람직하게는 인슐린 폴리펩티드는 인간 인슐린이다. 화학식 4의 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체는 바람직하게는 양쪽 친매성 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체이다.

<126> 본 발명의 또 다른 구현예에 따르면, 상기한 바와 같은 치료가 필요한 환자의 당뇨병을 치료하는 방법에 따라 투여되는 인슐린 약물은 화학식 5의 구조를 포함하는 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체이다:

[화학식 5]



본 발명의 이러한 구현예에 따르면, 인슐린 폴리펩티드는 바람직하게는 인슐린 또는 인슐린 유사체이다. 보다 바람직하게는, 인슐린 폴리펩티드는 인간 인슐린 또는 인간 인슐린 유사체이고, 더욱 바람직하게는 인슐린 폴리펩티드는 인간 인슐린이다. 화학식 5의 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체가 인간 인슐린이고, 상기 올리고머가 인간 인슐린의 B29 리신에 접합될 경우, 상기 인슐린-올리고머 접합체를 HIM2라고 한다. HIM2는 인슐린-올리고머 접합체의 다분산 혼합물(polydispersed mixture)이다. Ekwuribe 등에 의해 2001년 6월 4일자로 출원된, 발명의 명칭이 "Mixture of Insulin Drug-Oligomer Conjugates Comprising Polyalkylene Glycol, Uses Thereof, and Methods of Making Same"인 미국특허 09/873,899에 기재되어 있는 인슐린-올리고머 접합체의 실질적으로 단분산된 혼합물 또는 단분산된 혼합물을 사용하는 것이 더욱 바람직하다. 화학식 V의 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체는 상기 인슐린 폴리펩티드가 인슐린일 경우 양쪽 친매성이다.

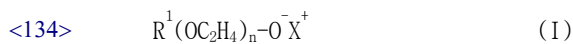
HIM2는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 방법으로 합성될 수 있다. HIM2는 바람직하게는 Soltero 등에 의해 2001년 12월 21일자로 출원된, 발명의 명칭이 "Methods of Synthesizing Insulin Polypeptide-Oligomer Conjugates, and Proinsulin Polypeptide-Oligomer Conjugates and Methods of Synthesizing Same"인 미국특허 \_\_\_\_\_에 기재되어 있는 바와 같이, 프로인슐린을 출발물질로서 이용하여 합성된다. 예를 들어, HIM2는 다음과 같이 합성된다. 리더(leader) 펩티드(MW 10,642 달톤)을 갖는 재조합 프로인슐린을 브라질, Belo Horizonte의 Biobras에서 입수하였다.  $2.32 \times 10^{-3}$  mmol의 프로인슐린을 10ml의 DMSO에 용해하였다. 그 용액에 트리에틸아민 324  $\mu\text{l}$ 를 부가하였다. 그리하여 생성된 용액을 5 분동안 교반한 다음, 아세트니트릴 중의 활성화된 메틸헵타에틸렌 글리콜((PEG7)-헥실 올리고머)( $9.30 \times 10^{-3}$  mmol) 용액을 부가하였다. 접합(아실화)반응의 경로를 HPLC로 모니터 하였다. 반응이 종결된 것으로 보일 때, 5 %의 수성 트리플루오로아세트산 용액 3.54 mL를 부가하여 반응을 중지시켰다. 그런 다음, 상기 반응 혼합물을 pH 7.6의 100 mM Tris-HCl 완충용액으로 처리하고 교환하여, 생성 혼합물을 얻었다. 상기 생성 혼합물의 Tris-HCl 용액의 분액을 HPLC로 분석하여 폴리펩티드 농도를 결정하였다. pH 7.6의 100 mM Tris-HCl 완충용액을 이용하여 트립신 용액(TPCK로 처리; 소 체장으로부터 유래)을 제조하였다. pH 7.6의 100 mM Tris-HCl 완충용액을 이용하여 카르복시펩티다제 B 용액을 제조하였다. 그리고 나서, 상기 생성 혼합물( $0.424 \mu\text{mol/mL}$ )을 트립신( $5.97 \times 10^{-4} \mu\text{mol/mL}$ ) 및 카르복시펩티다제 B( $1.93 \times 10^{-4} \mu\text{mol/mL}$ )와 반응시켰다. 30분 후에, 그 반응을 아세트니트릴 중의 1% 트리플루오로아세트산 용액 1.58 mL를 부가하여 반응을 중지시켰다. 주요 생성물을 (공지의 참고 표준 물질의 머무름 시간에 상대적인)HPLC의 머무름 시간(retention time)과 질량 분광 분석법으로 확인하였다. 그 결과, 인슐린(10 %) 및 Lys<sup>B29</sup>-헥실-PEG7-올리고머 접합 인슐린(84 %)를 얻었다.

상기 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체의 다양한 구현예에서, 올리고머는 인슐린 폴리펩티드에 공유결합된다. 어떤 구현예에서, 상기 올리고머는 가수분해 가능한 결합(예: 에스테르 또는 카보네이트 결합)으로 인슐린 폴리펩티드에 결합된다. 가수분해 가능한 결합은 프로드럭으로서 작용하는 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체를 제공할 수 있다. 다른 구현예에서, 상기 올리고머는 비가수분해성 결합(예: 카바메이트, 아마이드, 또는 에테르 결합)으로 인슐린 폴리펩티드에 결합된다.

상기 다양한 구현예에서 이용되는 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 방법으로 합성될 수 있다. 예를 들어, 다분산된 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체는 전체로서 본 명세서에 인용되어 통합된 다음 참고문헌: Ekwuribe의 미국특허 5,359,030; Ekwuribe의 미국특허 5,438,040; Ekwuribe의 미국특허 5,681,811; Ekwuribe의 미국특허 6,309,633; 및 2001년 12월 21일자로 출원된, 발명의 명칭이 "Methods of Synthesizing Insulin Polypeptide-Oligomer Conjugates, and Proinsulin Polypeptide-Oligomer Conjugates and Methods of Synthesizing Same"인 Soltero 등의 미국특허출원 \_\_\_\_\_ 중 하나 이상에서 제공되는 방법으로 합성될 수 있다. 다분산이 아닌 (예: 실질적으로 단분산 및 단분산된) 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체는 전체로서 본 명세서에 인용되어 통합된 다음 참고문헌: 2001년 6월 4일자로 출원된, 발명의 명칭이 "Mixtures of Drug-Oligomer Conjugates Comprising Polyalkylene Glycol, Uses Thereof, and Methods of Making Same"인 Ekwuribe 등의 미국특허출원; 2001년 6월 4일자로 출원된, 발명의 명

칭이 "Mixtures of Insulin Drug-Oligomer Conjugates Comprising Polyalkylene Glycol, Uses Thereof, and Methods of Making Same"인 Ekwuribe 등의 미국특허출원; 2001년 12월 21일자로 출원된, 발명의 명칭이 "Methods of Synthesizing Insulin Polypeptide-Oligomer Conjugates, and Proinsulin Polypeptide-Oligomer Conjugates and Methods of Synthesizing Same"인 Soltero 등의 미국특허출원 \_\_\_\_\_ 의 하나 이상에서 제공되는 방법으로 합성될 수 있다. 본 발명의 구현예에 따른 올리고머는 바람직하게는 실질적으로 단분산되며, 더욱 바람직하게는 단분산된다.

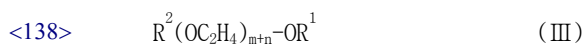
<133> 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체의 단분산된 혼합물은 예를 들어 Ekwuribe의 미국특허 5,359,030; Ekwuribe의 미국특허 5,438,040; Ekwuribe의 미국특허 5,681,811; Ekwuribe의 미국특허 6,309,633에 기재되어 있는 방법을 이용하고, 단분산된 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 혼합물을 출발물질로 사용함으로써 합성될 수 있다. 그러한 단분산된 PEG 혼합물은 Yiyan Chen & Gregory L. Baker, *Synthesis and Properties of ABA Amphiphiles*, 64J. Org. Chem. 6870-6873 (1999) 및 Geard Coudert 등, *A Novel, Unequivocal Synthesis of Polyethylene Glycols*, *Synthetic Communication*, 16(1): 19-26 (1986)에 기재되어 있는 방법에 의해 제공될 수 있다. 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체의 단분산된 혼합물을 생성시키는데 사용되는 단분산된 PEG 혼합물을 합성하는 바람직한 방법은, 하기 화학식 I의 구조를 갖는 화합물의 단분산된 혼합물과 하기 화학식 II의 구조를 갖는 화합물의 단분산된 혼합물을 폴리에틸렌 글리콜 모이어티를 포함하고 하기 화학식 III의 구조를 갖는 단분산된 폴리머 혼합물을 제공하기에 충분한 조건 하에서 반응시키는 단계를 포함한다.



<135> 상기 화학식 I에서  $R^1$ 은 H 또는 친지성 모이어티이고; n은 1 내지 25이며;  $X^+$ 는 양이온이고,



<137> 상기 화학식 II에서  $R^2$ 은 H 또는 친지성 모이어티이며; m은 1 내지 25이고,



<139> 예시적인 반응도를 도 14 및 15에 나타내었다.

<140> 상기 본 발명의 구현예에 따른 방법을 상기 인슐린 약물을 포함하는 약제학적 조성물 및 약제학적 담체를 이용하여 수행할 수 있다. 상기 담체는 약제학적 조성물의 그 이외의 모든 성분과 양립 가능하다는 의미에서 적합해야 함은 물론, 투여 개체에 해롭지 않아야 한다. 상기 담체는 고체 또는 액체이거나 두 가지 모두일 수 있으며, 바람직하게는 단위-투여 제제, 예를 들어 인슐린 약물을 약 0.01 또는 0.5 중량% 내지 약 95 또는 99 중량%를 함유하는 정제로 인슐린과 함께 제제화된다. 상기 약제학적 조성물은, 선택적으로는 하나 이상의 추가적인 성분을 포함한 구성성분을 혼합하는 것을 포함하지만, 이에 한정되지는 않는, 약학에서의 임의의 잘 알려진 기술로 제조될 수 있다(Remington, *The Science And Practice of Pharmacy*(9th Ed. 1995)).

<141> 경구투여에 적절한 약제학적 조성물은 각각 소정 양의 인슐린 약물-올리고머 접합체의 혼합물을 함유하는 캡슐, 카펫, 로젠지, 또는 정제와 같이 분리된 유닛; 산제 또는 과립; 수성 또는 비수성 액체 중의 용액 또는 현탁제; 또는 수중유 또는 유중수 유제로서 존재할 수 있다. 그러한 제제는 인슐린 약물과 적절한 담체를 결합시키는 단계를 포함하는 임의의 적절한 약학적인 방법으로 제조될 수 있다.

<142> 인슐린 약물 이외에, 본 발명의 방법의 구현예에 따른 경구투여용 고체 약제학적 조성물은, 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 다른 구성성분을 포함할 수 있으며, 그러한 구성성분으로는 전제로서 본 명세서에 인용되어 통합된 National Formulary 19, 2404-2406 쪽(2000)에 기재되어 있는 하나 이상의 구성성분이 있지만, 이에 한정되는 것은 아니다. 예를 들어, 고체 약제학적 조성물은 탈크, 스테아린산 마그네슘, 및 광유와 같은 활택제; 습윤제; 유화제 및 현탁화제; 전분, 아라비아검, 미정질 셀룰로오스, 셀룰로오스, 메틸셀룰로오스, 및 시럽과 같은 결합제; 규산칼슘과 같은 항조해제(anticaking agent); 메타크릴레이트 및 셀락과 같은 코팅제; 메틸- 및 프로필 히드록시벤조에이트와 같은 보존제; 감미제; 또는 방향제를 포함할 수 있다. 폴리올, 완충제, 및 불활성 필러 또한 사용될 수 있다. 폴리올의 예로는 만니톨, 솔비톨, 자일리톨, 수크로오스, 말토오스, 글루코오스, 락토오스, 텍스트로오스 등이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 적절한 완충제로는 포스페이트, 시트레이트, 타르트레이트, 숙시네이트 등이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 그 이외의 사용될 수 있는 필러에는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있으며 다양한 제형을



제조하는데 유용한 것들이 포함된다. 필요하다면, 고체 제제는 증량제 및/또는 과립화제 등과 같은 다른 성분을 포함할 수 있다. 고체 약제학적 조성물은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 방법에 의해 제공될 수 있다.

<143> 본 발명의 방법의 구현예에 따른 경구투여를 위한 고체 투여 유닛은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 방법에 의해 제조할 수 있다. 예를 들어, 인슐린 약물은 유효제(예: 스테아린산 마그네슘, 스테아린산 칼슘, 및 폴리에틸렌 글리콜 왁스) 뿐만 아니라 고체 분말 담체(예: 락토오스, 사카로오스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아밀로펙틴, 셀룰로오스 유도체, 또는 젤라틴)와 혼합할 수 있다. 그리고 나서, 상기 혼합물을 압축하여 정제로 만들 수 있다. 경구용 정제는 또한 다른 기술을 이용하는 다음 방법을 이용하여 제조할 수 있다. 고체 물질을 갈아내고 체로 쳐서 원하는 입자크기로 하고, 결합제를 적절한 용매에서 균질화하고 현탁시킨다. 활성성분과 보조제를 상기 결합제 용액과 혼합한다. 그리하여 생성된 혼합물을 가습하여 균일한 현탁물을 형성시킨다. 상기 가습은 전형적으로 입자들을 다소 응집시키며, 그러한 덩어리를 원하는 사이즈를 갖는 스테인레스 스틸 체를 통해 눌러 내린다. 그런 다음, 그 혼합물 층을 원하는 입자 크기와 균기를 갖도록 소정의 시간동안 조절된 건조 유닛에서 건조한다. 그 건조 혼합물의 과립을 체로 쳐서 파우더를 제거한다. 이 혼합물에, 붕해제, 유효제, 및 항부착제를 부가한다. 최종적으로, 그 혼합물을 원하는 정제 크기를 얻기에 적절한 편치와 다이가 구비된 기계를 이용하여 타정한다. 기계의 작동 파라미터는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 선택할 수 있다.

<144> 코팅 정제를 원할 경우, 상기 제조된 핵정을 농축된 설탕용액 또는 휘발성 유기용매나 용매의 혼합물에 용해된 래커로 코팅할 수 있으며, 상기 설탕 용액은 아라비아검, 젤라틴, 탈크, 이산화티타늄을 함유할 수 있다. 부가적으로, 코팅은 수성 또는 비수성 매질에서 다양한 부형제를 이용하여 수행될 수 있으며, 상기 다양한 부형제로는 분산된 메틸셀룰로오스, 분산된 에틸셀룰로오스, 분산된 메타크릴레이트, 또는 그들의 혼합물이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 서로 다른 활성성분을 갖는 정제 또는 서로 다른 용량의 활성성분을 갖는 정제를 서로 구별하기 위해, 이러한 코팅에 다양한 색소를 부가할 수 있다.

<145> 캡셀이 활성 성분 및 식물유와 같은 액체를 함유하는 연질 캡셀을 제조할 수도 있다. 경질 캡셀은 예를 들어, 락토오스, 사카로오스, 솔비톨, 만니톨, 감자 전분, 옥수수 전분, 아밀로펙틴, 셀룰로오스 유도체, 또는 젤라틴과 같은 고체 분말 담체와 함께 활성성분 과립을 함유할 수 있다.

<146> 건조 파우더 캡셀은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 방법으로 제조될 수 있다. 본 발명의 구현예에 따라 경구로 투여될 수 있는 건조 파우더 캡셀의 구현예는 다음과 같다:

구성성분	% (w/w)
HIM2	1.11
소동 콜레이트	13.29
카프르산	5.13
라우르산	5.13
트리스(히드록시메틸)아미노메탄	41.04
인산나트륨	30.97
수산화나트륨	1.03

<147>

<148> 본 발명의 방법의 구현예에 따라 경구로 투여될 수 있는 액체 약제학적 조성물은 활성성분으로서 인슐린 약물을 함유하는, 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 액체 약제학적 조성물일 수 있으며, 그러한 예로는 수성 또는 비수성 액체 중의 액체 또는 현탁제, 및 수중유 또는 유중수 유제가 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 액체 약제학적 조성물은 활성 인슐린 약물 이외에 다양한 성분을 포함할 수 있으며, 그러한 성분의 예로는 흡수 촉진제, 완충제, 다가 알콜, 폴리알킬렌 옥사이드, 및 방향제가 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

<149> 흡수 촉진제는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 흡수 촉진제일 수 있으며, 그러한 예로는 콜산, 테옥시콜산, 우루소테옥시콜산, 리토콜산, 및 타우로콜산, 및/또는 약제학적으로 허용 가능한 그들의 담체(예: 토금속염)와 같은 그러나 이에 한정되지 않는 담즙산, 및 카프로산, 카프틸산, 카프르산, 운데칸산, 라우르산, 트리도데칸산, 미리스트산, 펜타데칸산, 팔미트산, 헵타데칸산, 스테아르산, 올레산, 엘라이드산, 리놀레산, 리놀렌산, 아라키드산, 아라키돈산, 및 그들의 혼합물과 같은 그러나 이에 한정되지 않는 지

방산이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

<150> 완충제는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 완충제일 수 있으며, 그러한 예로는 트리스(히드록시메틸)아미노메탄, 트리에탄올아민, 인산나트륨, 시트르산, 및 그들의 혼합물이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

<151> 다가 알콜은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 다가 알콜일 수 있으며, 그러한 예로는 글리세롤이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다. 폴리알킬렌 글리콜은 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 폴리알킬렌 글리콜일 수 있으며, 그러한 예로는 폴리에틸렌 글리콜 및 폴리프로필렌 글리콜이 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

<152> 방향제는 당해 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 알려져 있는 다양한 방향제일 수 있으며, 그러한 예로는 천연 또는 인공 방향제 또는 감미제가 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.

<153> 본 발명의 방법의 구현예에 따라 경구로 투여될 수 있는 액체 약제학적 조성물의 구현예는 다음과 같은 조성을 포함한다:

구성성분	농도	단위	% (w/v)
HIM2	2.5	mg/ML	0.25
소듐 콜레이트	3	%	3.00
올레산	2	%	2.00
트리스(히드록시메틸)아미노메탄	250	mM	3.03
인산나트륨	250	mM	3.00
수크랄로오스	0.2	%	0.20
딸기향	0.4	%	0.4
수산화나트륨	pH 7.8로 조정	-	-
물	적량	-	-

<154>

구성성분	농도	단위	% (w/v)
HIM2	2.5	mg/ML	0.25
소듐 콜레이트	3	%	3.00
올레산	2	%	2.00
트리스(히드록시메틸)아미노메탄	500	mM	6.05
수크랄로오스	0.2	%	0.20
딸기향	0.4	%	0.4
수산화나트륨	pH 7.8로 조정	-	-
물	적량	-	-

<155>

구성성분	농도	단위	% (w/v)
HIM2	2.5	mg/ML	0.25
소듐 콜레이트	3	%	3.00
올레산	2	%	2.00
트리스(히드록시메틸)아미노메탄	250	mM	3.03
트리에탄올아민	250	mM	3.73
수크랄로오스	0.2	%	0.20
딸기향	0.4	%	0.4
수산화나트륨	pH 7.8로 조정	-	-
물	적량	-	-

<156>

구성성분	농도	단위	% (w/v)
HIM2	2.5	mg/ML	0.25
나트륨 콜레이트	3	%	3.00
올레산	2	%	2.00
시트르산	500	mM	9.60
트리에탄올아민	250	mM	3.73
수크랄로오스	0.2	%	0.20
딸기향	0.4	%	0.4
수산화나트륨	pH 7.8로 조정	-	-
물	적량	-	-

<157>

구성성분	농도	단위	% (w/v)
HIM2	2.5	mg/ML	0.25
나트륨 콜레이트	3	%	3.00
올레산	2	%	2.00
시트르산	500	mM	9.60
트리스(히드록시메틸)아미노메탄	250	mM	3.03
수크랄로오스	0.2	%	0.20
딸기향	0.4	%	0.4
수산화나트륨	pH 7.8로 조정	-	-
물	적량	-	-

<158>

구성성분	농도	단위	% (w/v)
HIM2	2.5	mg/ML	0.25
소듐 콜레이트	3	%	3.00
올레산	2	%	2.00
시트르산	500	mM	9.60
인산나트륨	250	mM	3.00
수크랄로오스	0.2	%	0.20
딸기향	0.4	%	0.4
수산화나트륨	pH 7.8로 조정	-	-
물	적량	-	-

<159>

구성성분	농도	단위	% (w/v)
HIM2	2.5	mg/ML	0.25
소듐 콜레이트	3	%	3.00
올레산	2	%	2.00
시트르산	350	mM	6.72
트리스(히드록시메틸)아미노메탄	350	mM	4.24
수크랄로오스	0.2	%	0.20
딸기향	0.4	%	0.4
수산화나트륨	pH 7.8로 조정	-	-
물	적량	-	-

<160>

구성성분	농도	단위	% (w/v)
HIM2	2.5	mg/ML	0.25
소듐 콜레이트	3	%	3.00
라우르산	2	%	2.00
시트르산	350	mM	6.72
트리에탄올아민	350	mM	4.24
수크랄로오스	0.2	%	0.20
딸기향	0.4	%	0.4
프로필렌 글리콜	20	%	20.00
수산화나트륨	pH 7.8로 조정	-	-
물	적량	-	-

<161>

구성성분	농도	단위	% (w/v)
HIM2	2.5	mg/ML	0.25
소듐 콜레이트	3	%	3.00
올레산	1	%	2.00
카프르산	0.5	%	0.50
라우르산	0.5	%	0.50
트리에탄올아민	350	mM	5.22
트리(히드록시메틸)아미노메탄	350	mM	4.24
인산나트륨	350	mM	4.20
수크랄로오스	0.2	%	0.20
딸기향	0.4	%	0.4
수산화나트륨	pH 7.8로 적정	-	-
물	적량	-	-

<162>

구성성분	농도	단위	% (w/v)
HIM2	2.5	mg/ML	0.25
소듐 콜레이트	3	%	3.00
올레산	1	%	2.00
카프르산	0.5	%	0.5
라우르산	0.5	%	0.5
시트르산	350	mM	6.72
트리스(히드록시메틸)아미노메탄	350	mM	4.24
트리에탄올아민	350	mM	5.22
수크랄로오스	0.2	%	0.20
딸기향	0.4	%	0.4
수산화나트륨	pH 7.8로 조정	-	-
물	적량	-	-

<163>

구성성분	농도	단위	% (w/v)
HIM2	2.5	mg/ML	0.25
소듐 콜레이트	3	%	3.00
올레산	1	%	2.00
카프르산	0.5	%	0.50
라우르산	0.5	%	0.50
시트르산	175	mM	3.36
트리에탄올아민	350	mM	5.22
트리스(히드록시메틸)아미노메탄	350	mM	4.24
인산나트륨	175	mM	4.20
수크랄로오스	0.2	%	0.20
딸기향	0.4	%	0.4
수산화나트륨	pH 7.8로 조정	-	-
물	적량	-	-

<164>



- <165> 약제학적 제제의 상기 구현예가 HIM2를 활성성분으로서 포함하고 있지만, 상기 활성성분은 본 명세서에 기재된 다양한 다른 인슐린 약물일 수 있다는 것을 알아야 한다. 상기 활성성분은 바람직하게는 상기 인슐린 폴리펩티드-올리고머 접합체이다.
- <166> 이제 본 발명을 하기 실시예를 참고로 하여 설명하고자 한다. 이러한 실시예는 본 발명의 측면을 설명하기 위한 것이지 청구항에 의해 한정되는 발명의 범위를 한정하는 것이 아니라는 것을 인지해야 한다.

## 실시예

- <190> 실시예 1
- <191> 웨장이 적출된 개와 정상인 개를 대상으로 한 수많은 연구에서, 절식한 개는, 경구 투여된 접합된 인슐린은 신속하게 용량-의존적인 방식으로 흡수됨과 동시에 용량-의존적인 글루코오스-하강 효과와 연관이 있음을 보여주었다. 도 1a 및 도 1b는 웨장이 적출된 개에서 다양한 경구 투여량의 HIM2를 투여한 후의 효과를 나타낸다. 투여된 가장 고용량의 HIM2, 1.0mg/kg 에서, 모든 개는 현저한 증후성 저혈당으로 인해 글루코오스 지원을 필요로 하였다.
- <192> 실시예 2
- <193> 건강한 지원자를 대상으로 I상 시험(Phase I Study)을 수행하였다. 초기의, 덜 정제된(그리하여 덜 활성인) 형태의 접합된 인슐린(핵심 인슐린 혼합물, HIMX)을 이용하였다. HIMX는 보다 정제된 HIM2 보다 활성이 약 5배 작다; 그러므로, 2.4 mg/kg 용량의 HIMX는 대략 0.5 mg/kg 용량의 HIM2와 동가이다. HIMX를 절식 상태에서 4개의 서로 다른 투여량 수준으로 투여한 뒤, 말초 인슐린 및 글루코오스 농도를 측정하였다. 도 2에 나타낸 바와 같이, 인슐린 농도는 HIMX(4ml의 투여량 부피)를 경구 투여한지 10-15분 후에 최고 수치( $C_{max}$ )에 도달하였으며, 용량 의존적이었다. 더 많은 투여량 부피(20 ml)를 동일한 투여를 위해 사용하였을 때는, 모든 투여량에서 인슐린의  $C_{max}$ 가 현저히 더 커졌으며, 이는 제제의 부피가 흡수에 현저한 영향을 미친다는 것을 증명해준다(도 3a). 도 3b는 20 ml 투여량 부피를 투여한 후의 혈장 글루코오스 값을 나타내며, 이는 앞서 개를 대상으로 한 실험에서 보여진 바와 같은 접합된 인슐린의 용량 의존적 글루코오스 하강 효과를 확인시켜준다. 건강한 지원자를 대상으로 한 이 연구에서는 HIMX의 어떠한 부작용도 나타나지 않았다.
- <194> 실시예 3
- <195> 1형 당뇨병을 대상으로 한 이 시험의 목적은 1) 경구로 투여되는 HIM2의 투여량을 증감시킴으로써 안정성과 내약성을 결정하는 것; 2) HIM2를 경구 투여한 것을 속효성 인슐린 및 플라스시보를 피하 투여한 것과 비교하여 HIM2의 약물 동태학을 평가하는 것; 및 3) 약물 효과의 마커로서 혈중 글루코오스를 사용하여, 인슐린을 피하 투여한 것과 비교하여 HIM2의 약물 동역학을 평가하는 것이었다.
- <196> 이것은 무작위, 이중 맹검, 세가지 투여량과 활성(인슐린의 피하 투여) 대조군, 이중-위조(double-dummy), 플라스시보 대조군, 5개의 주기, 교차시험으로 하였다. 정맥 내 인슐린 투여에 의해 정상 혈당치를 유지하면서 밤새 절식한 뒤에, 인슐린 투여를 중지하고, 2 시간의 워시아웃(wash-out) 기간 뒤에, 플라스시보 또는 HIM2(0.15, 0.3, 및 0.6 mg/kg)의 경구 투여 및 속효성 인슐린(4 IU) 또는 인슐린 플라스시보의 피하투여를 하기 표 1에 나타낸 바와 같은 불규칙한 방식으로 환자에게 1회 실시하였다. 그런 다음, 혈장 중의 글루코오스 및 인슐린 수치를 이후 4시간에 걸쳐 측정하였다.

[표 1]

시험기간	투여경로 및 치료					
	경구				피하	
	플라시보	0.15 mg/kg HIM2	0.3 mg/kg HIM2	0.6 mg/kg HIM2	플라시보	인간 재조합 인슐린(4IU)
1	P1, P2		P3, P4, P5, P6, P7, P8		P3, P4, P5, P6, P7, P8	P1, P2
2	P3, P4		P1, P2	P5, P6, P7, P8	P1, P2, P5, P6, P7, P8	P3, P4
3	P5, P6	P7, P8		P1, P2, P3, P4	P1, P2, P3, P4, P7, P8	P5, P6
4	P7, P8	P1, P2, P3, P4, P5, P6			P1, P2, P3, P4, P5, P6	P7, P8
5	P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8				P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8	

HIM2는 내성이 우수하여, 용량 의존적인 부작용 증가의 증거가 나타나지 않았다. 어떠한 환자에서도 증후성 저혈당이 나타나지 않았다. HIM2의 경구투여 후, 평균 인슐린 농도는 용량 의존적인 방식으로 증가하였으며 투여 후 15분 이내에 피크에 도달하였고, 20분 이내에 기저 라인으로 회복되었다(도 4a). 0.6 mg/kg 투여 시, 인슐린 수치는 환자 8명중 7명에서(88 %) 현저히 증가하였다. 이와 비교해 볼 때, 피하로 투여된 속효성 인슐린 4 IU는 투여 후 66분까지도 평균 최대 농도( $C_{max}$ )에 도달하지 않는 광범위한 인슐린 피크를 생성하였다. 이러한 환자 그룹에서, HIM2는 모든 인슐린 치료를 제거할 경우 당뇨병 환자에게서 나타나는 혈장 글루코오스 농도의 현저한 증가를 예방하거나 약화시키는 것으로 보인다(도 4b). 부가적으로, HIM2 투여 후 간의 글루코오스 생산의 명백한 감소를 반영하는 용량-의존적 글루코오스-안정화 효과가 이러한 환자에게서 나타났다. 글루코오스 효과의 지속은 120분까지 유지되었으며, 이는 혈장 인슐린 증가의 지속시간으로부터 예상된 효과 지속시간보다 현저히 더 길었다.

0.15, 0.3, 및 0.6 mg/kg의 HIM2 1회 투여는 1형 당뇨병 환자에서 내약성이 우수하였으며, 부작용의 용량-의존적 증가에 대한 아무런 증거가 없었다. 혈장 인슐린 수치의 용량-의존적 증가가 일어났으며, 15분 이내에  $C_{max}$ 로 신속히 도달하였고, 90-120분 이내에 기저 라인으로 돌아갔다. 다른 어떤 인슐린 치료의 중지 후 예상되는 혈장 글루코오스 수치의 증가는 약화되거나 억제되었으며, 글루코오스에 대한 효과는 혈장 인슐린 증가 기간으로부터 예상되었던 것보다 실질적으로 더 길었다. 이러한 결과는 경구 투여된 HIM2는 간의 글루코오스 배출 감소와 말초의 인슐린유사 효과의 조합에 의해 말초 글루코오스 수치에 영향을 줄 가능성이 있다는 것을 보여준다. 생리학적 간문맥-간 전달(portal-hepatic delivery)의 재생성에 의한 당뇨병 치료에서 HIM2의 잠재적인 역할이 제안된다.

#### 실시예 4

두 번째, 초기 II상 시험은(early Phase II Study) 1형 당뇨병 환자를 대상으로 2 개의 연속적인 투여, 확대 계획을 이용하였다. 첫 번째 1형 당뇨병 시험에서와 같이, 환자를 밤새 절식시키고 정맥 인슐린 투여로 정상 혈당상태를 유지하였다. 아침에 정맥 인슐린 투여를 중지하고 2시간 동안의 위시아웃 후, 각 투여량 그룹별로 6 명의 환자로 구성된 그룹의 환자들에게 0.6, 0.8, 또는 1.0 mg/kg 의 용량으로 투여하였다. 투여 후 말초 글루코오스 및 인슐린을 일정한 간격으로 측정하였다. 간장 글루코오스 생산 및 말초 인슐린 농도에 대한 경구 HIM2의 초회량("priming" dose) 투여의 효과를 측정하기 위해, HIM2를 1차 투여한 뒤 2시간 후에 HIM2의 두 번째 투여를 수행하였다. 이 시험에서 사용된 액체 제제는 약물을 복용한 첫 여섯 명의 환자들의 구강 인두부를 자극하는 것으로 밝혀졌다. 그러므로, 이 시험은 대체 캡셀 제제가 개발되는 동안 중단되었다. 다시 시작된

시험에서는 두 가지 크기의 캡셀상의 반고형 제형을 사용하였다.

### 3 mg HIM2 캡셀 제제

구성성분	MS 수	mg/캡셀	백분율	중량
단백질 HIM2	236	3.00	1.6	4.35
폴리에틸렌 글리콜 400	027	30.00	16.2	43.5
물 USP	012	1.5	0.8	2.18
라브라솔(Labrasol)	240	117.00	63.2	169.65
실로이드 244(Syloid 244)	238	33.00	17.8	47.85
제 1 인산나트륨	239	0.09	0.05	0.13
제 2 인산나트륨	237	0.41	0.23	0.59
총계		185	100	268.25

크기: "3" 녹색 젤라틴 캡셀

<203>

### 15 mg HIM2 캡셀 제제:

구성성분	MS 수	mg/캡셀	백분율	중량
HIM2 단백질	236	15.00	3.2	10.2
폴리에틸렌 글리콜 400	027	75.0	16.0	51.00
물 USP	012	3.8	0.8	2.58
라브라솔(Labrasol)	240	292.0	62.1	198.56
실로이드 244(Syloid 244)	238	83.0	17.6	56.44
제 1 인산나트륨	239	0.2	0.04	0.14
제 2 인산나트륨	237	1.0	0.21	0.68
총계		470	100	319.60

크기: "0 EL" 녹색 젤라틴 캡셀

<204>

<205> 이 시험의 결과는 (a) 새로운 캡셀 제제가 내성이 우수하고, (b) 부작용이 나타나지 않았으며, (c) 혈중 글루코오스에 대한 효과가 투여 후 1 시간 내지 2 시간 후에 안정화된 수치로부터 기저 값에서 다소 하강하는 변화가 있었다는 것을 알려준다(도 5). 이 시험에서 사용된 가장 작은 투여량과 가장 큰 투여량에서의 평균 반응을 나타낸 도 6에서 알 수 있는 바와 같이, 사용된 투여량에 따른 글루코오스 반응 정도가 현저한 차이를 나타내지 않았다. 사용된 어떤 투여량에서도 환자는 저혈당을 경험하지 않았다. 이러한 결과는 사용된 투여량에서의 경구 HIM2가 현저한 말초 인슐린 효과는 없이 주로 간의 글루코오스 배출에 영향을 미침으로써 글루코오스에 영향을 준다는 것을 암시한다.

<206>

### 실시예 5

<207>

캡셀 제제를 이용하여 1형 당뇨병 환자를 대상으로 한 두 가지의 부가적인 연구로서, 표준 기초 요법(계속적인 피하 인슐린 주입 또는 CSII)과 동시에 투여할 경우의 HIM2의 효과뿐만 아니라 HIM2의 흡수 및 글루코오스 저하 활성화에 대한 음식의 영향을 조사하였다. 첫 번째 시험의 예비 결과는 HIM2 투여와 동시에 섭취된 표준 식사가 HIM2 흡수 및 글루코오스 저하 효과의 약화를 일으킬 수 있다는 것을 보여준다. 그러나, HIM2를 표준 식사 섭취 30분 전에 투여할 경우에는, 흡수 및 글루코오스 효과가 실질적으로 보존된다. 제 2 시험은 CSII로 기저 인슐린 수치를 유지하며 절식한 1형 환자에게 HIM2를 투여 후, 계속해서 절식이나 표준 식사를 할 경우, HIM2의 흡수 및 효과를 평가한다. 제한된 숫자의 환자에서의 예비 결과는 HIM2가 절식상태에서의 글루코오스를 낮출

뿐만 아니라 식사 후 예상되는 혈장 글루코오스의 농도 또한 약화시키는 것을 보여준다(도 7 및 도 8). 2형 당뇨병 환자에서의 첫 시험에서는 제한된 숫자의 환자에서 절식 시의 혈중 글루코오스 수치에 대한 HIM2의 유사한 효과를 보여주었다. 다른 시험에서는 2형 당뇨병 환자의 식사 후 고혈당을 약화시키는 HIM2의 잠재성을 조사하고 있다. 12명의 2형 당뇨병 환자를 대상으로 한 한 시험에서는, 단일 경구 투여(적정(titration) 없이) 후 식사를 한다. 24명의 2형 당뇨병 환자를 대상으로 한 또 다른 시험에서는, 식사와 함께 하루 세 번 투여(적정 없이)하는 것을 3일 동안 실시한다. 또한, 고혈당에 대한 가능한 효과를 알아내기 위해 늦은 밤에 투여한다.

#### <208> 실시예 6

<209> 수컷 CF-1 마우스(그룹 당 n=5-10)를 밤새 절식시킨 다음, HIM2(하기 표에 나타낸 제제를 1.25 또는 2.5 mg/kg, 10mL/kg 으로 투여) 또는 제조합 인간 인슐린(pH 4.1의 1% 아세테이트 완충용액으로 12.5 또는 25  $\mu$ g /kg 복강 피하 투여)을 투여하였다.

구성성분	농도	유닛	% (w/v)
HIM2	2.5	mg/ML	0.25
소듐 클레이트	3	%	3.00
올레산	1	%	2.00
카프르산	0.5	%	0.5
라우르산	0.5	%	0.5
시트르산	350	mM	6.72
트리스(히드록시메틸)아미노메탄	350	mM	4.24
트리에탄올아민	350	mM	5.22
수크랄로오스	0.2	%	0.20
말기향	0.4	%	0.4
수산화나트륨	pH 7.8로 조정	-	-
물	적량	-	-

<210> 15, 20, 또는 60분 후에, 에테르로 마취한 상태에서 간문맥(PV) 및 대정맥(VC) 모두에서 혈액 샘플을 헤파린으로 처리한 주사기로 얻었다. 혈액을 글루코미터에 스팟팅하여 혈중 글루코오스를 측정하였다. ELISA(ALPCO)로 면역 반응성 인슐린을 결정하기 위해 남아 있는 샘플을 원심분리하여 혈장을 분리하였다.

<212> 도 16에 나타낸 바와 같이, HIM2를 경구 투여한지 15 분 후에 PV에서 인슐린의 증가가 크게(2789  $\mu$ U/mL 까지) 나타났으며, 인슐린 농도는 투여 후 30분 뒤에 221  $\mu$ U/mL로 떨어졌다. 이러한 프로파일은, 절식한 마우스에게 텍스트로오스 용액을 경구 투여한 후의 간문맥 및 대정맥의 혈중 글루코오스 및 혈장 인슐린 수치를 보여주는 도 17에 나타낸 식사에 반응하는 제 1 상의 인슐린 분비와 유사하다. 도 16에 덧붙여 나타낸 바와 같이, VC에서의 피크 인슐린 수치는 PV의 피크 인슐린 수치의 31 내지 36 % 였다.

<213> 대조적으로, 도 18에 나타낸 바와 같이, 인슐린의 피하 투여의 경우에는 PV에서의 농도보다 VC(즉, 말초)(투여 15분 후 186  $\mu$ U/mL 까지)에서의 농도가 2.4-6.9배 더 높은 것으로 나타났다. 또한 기저 라인으로의 복귀가 더 늦었다(투여 30분 후 74  $\mu$ U/mL).

<214> 인슐린 수치의 이런 현저한 차이에도 불구하고, 비당뇨병 마우스에서 인슐린의 피하 투여에 의한 혈중 글루코오스의 감소와 비교해 볼 때, HIM2는 그에 따른 혈중 글루코오스의 현저한 감소를 일으키지 않았다. 예를 들어, 인슐린의 피하 투여 시 혈중 글루코오스 농도가 VC에서 약 23 mg/dL 까지 하강한 것(도 19)과 비교해 볼 때, 도 18에 나타낸 바와 같이, HIM2의 경구 투여는 VC에서 약 31 mg/dL까지 혈중 글루코오스를 감소시켰다. 이러한 결과는 HIM2의 경구투여가 인슐린의 피하 투여보다 저혈당을 일으키는 경향이 더 적다는 것을 의미하는 것으로 보인다.

<215> 치료받지 않은 마우스에서, 혈중 글루코오스는 PV에서 보다 VC에서 더 높았다. 이러한 PV-VC 차이는 HIM2의 경구투여로 역전되었지만, 인슐린의 피하 투여에 의해서는 역전되지 않았다. 이러한 결과는 HIM2의 경구투여가 인슐린의 피하투여보다 간의 글루코오스 배출을 더 억제한다는 것을 나타낸다.

<216> 본 명세서에서는, 본 발명의 전형적인 바람직한 구현예를 개시하였으며, 비록 특정 용어가 사용되었다고 할 지라도 그것은 단지 일반적이고 서술적인 의미로 사용되었을 뿐이지, 이하 청구항에서 나타내고 있는 본 발명의 범위를 제한하기 위한 것이 아니다.

## 도면의 간단한 설명

- <167> 도 1a는 본 발명의 구현예에 따라 투여량을 증가시키면서 HIM2를 경구로 투여한, 췌장이 절제된 개에서의 인슐린 수치를 나타낸 것이고;
- <168> 도 1b는 본 발명의 구현예에 따라 투여량을 증가시키면서 HIM2를 경구 투여한, 췌장이 절제된 개에서의 글루코스 수치를 나타낸 것이고;
- <169> 도 2는 정상 지원자에게 플라시보를 경구 투여한 후와 본 발명의 구현예에 따라 4 ml 투여량 부피의 HIMX를 경구 투여한 후의 혈청 인슐린 수치(+/- SEM)를 나타낸 것이고;
- <170> 도 3a는 정상 지원자에게 플라시보를 경구 투여한 후와 본 발명의 구현예에 따라 20 ml 투여량 부피의 HIMX를 경구 투여한 후의 혈청 인슐린 수치(+/- SEM)를 나타낸 것이고;
- <171> 도 3b는 정상 지원자에게 플라시보를 경구 투여한 후와 본 발명의 구현예에 따라 4 ml 투여량 부피의 HIMX를 경구 투여한 후의 혈청 인슐린 수치(+/- SEM)를 나타낸 것이고;
- <172> 도 4a는 1형 당뇨병 환자에게 인슐린 4 유닛을 피하(SQ) 투여한 후와 본 발명의 구현예에 따라 HIM2를 경구 투여한 후의 말초 인슐린 농도(+/- SEM)를 나타낸 것이고;
- <173> 도 4b는 1형 당뇨병 환자에게 프라시보를 경구 투여한 후와 본 발명의 구현예에 따라 HIM2를 경구 투여한 후의 말초 글루코오스 농도(+/- SEM)를 나타낸 것이고;
- <174> 도 5는 절식한 1형 당뇨병 환자에게 본 발명의 구현예에 따라 HIM2를 2회 연속적으로 경구 투여하되 다른 인슐린은 투여하지 않은 경우의 글루코오스 및 인슐린에 대한 효과를 나타낸 것이고;
- <175> 도 6은 절식한 1형 당뇨병 환자에게 본 발명의 구현예에 따라 HIM2를 2회 연속적으로 경구 투여한 경우의 혈장 글루코오스에 대한 효과를 나타낸 것이고;
- <176> 도 7은 절식한 1형 당뇨병 환자에게 본 발명의 구현예에 따라 HIM2를 경구 투여하여한 후의 혈장 글루코오스에 대한 효과를 나타내고;
- <177> 도 8은 1형 당뇨병 환자에게 본 발명의 구현예에 따라 HIM2를 경구 투여하고 1 주 후에 동일한 투여량의 HIM2 투여를 반복한 후의 혈액 글루코오스에 대한 효과를 나타내고;
- <178> 도 9는 1형 당뇨병 환자에게 본 발명의 구현예에 따라 기저(펌프)인슐린 투여와 함께 HIM2를 경구투여한 후의 절식 시 혈액 글루코오스에 대한 효과를 나타내고;
- <179> 도 10은 1형 당뇨병 환자에게 본 발명의 구현예에 따라 HIM2를 경구 투여한 후의 식사후 글루코오스에 대한 효과를 나타내고;
- <180> 도 11은 1형 당뇨병 환자에게 본 발명의 구현예에 따라 HIM2를 경구 투여한 후의 식사후 글루코오스에 대한 효과를 나타내고;
- <181> 도 12는 1형 당뇨병 환자에게 본 발명의 구현예에 따라 HIM2를 경구 투여한 후의 식사후 글루코오스에 대한 효과를 나타내고;
- <182> 도 13은 1형 당뇨병 환자에게 본 발명의 구현예에 따라 HIM2를 경구 투여한 후의 식사후 글루코오스에 대한 효과를 나타내고;
- <183> 도 14는 폴리에틸렌 글리콜의 단분산된 혼합물을 제공하기 위한 반응 개략도를 나타내고;
- <184> 도 15는 폴리에틸렌 글리콜 모이어터를 포함하는 올리고머의 단분산 혼합물을 제공하기 위한 반응 개요를 나타내고;
- <185> 도 16은 본 발명의 구현예에 따라 2.5 mg/kg의 HIM2를 경구 투여한 후의 간문맥(PV) 및 대동맥(VC)의 혈장 인슐린 수치를 나타낸 것이고;
- <186> 도 17은 절식한 마우스에게 텍스트로오스 용액을 경구 투여한 후의 간문맥(PV) 및 대동맥(VC)의 혈중 글루코오스와 혈장 인슐린 수치를 비교 목적으로 나타낸 것이고;
- <187> 도 18은 25  $\mu$ g/kg의 인간 재조합 인슐린을 피하 투여한 후의 간문맥(PV) 및 대동맥(VC)의 혈장 인슐린 수치를

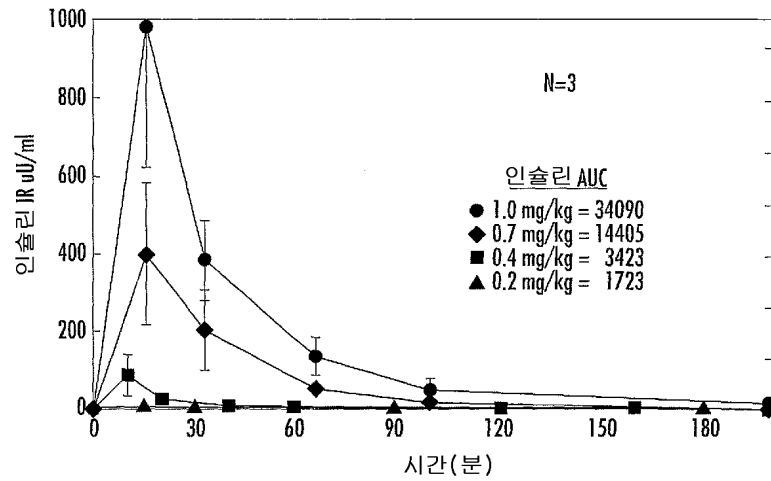
비교 목적으로 나타낸 것이고;

<188> 도 19는 본 발명의 구현예에 따라 2.5mg/kg(2 x ED<sub>50</sub>)의 HIM2를 경구 투여한 후의 간문맥(PV) 및 대동맥(VC)의 혈장 글루코오스 수치를 나타낸 것이며;

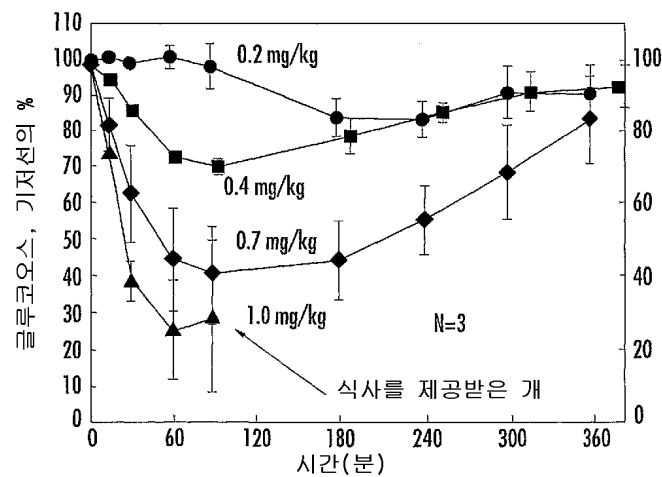
<189> 도 20은 25  $\mu$ g/kg(2 x ED<sub>50</sub>)의 인간 재조합 인슐린을 피하 투여한 후의 간문맥(PV) 및 대동맥(VC)의 혈장 글루코오스 수치를 비교 목적으로 나타낸 것이다.

## 도면

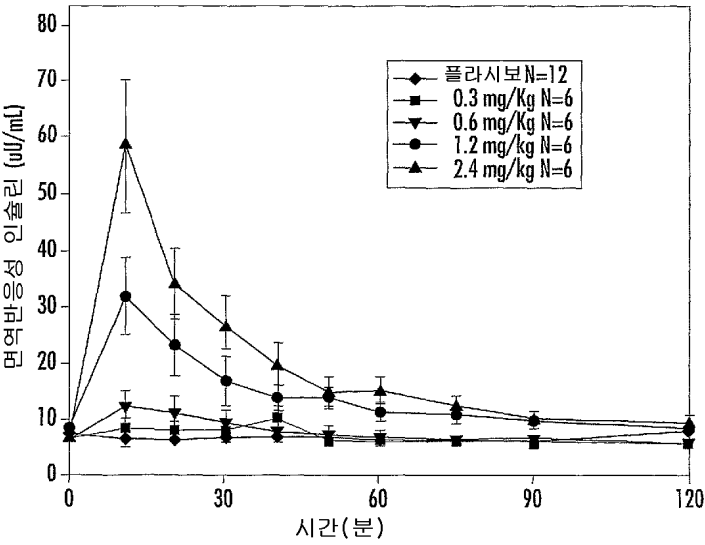
도면1a



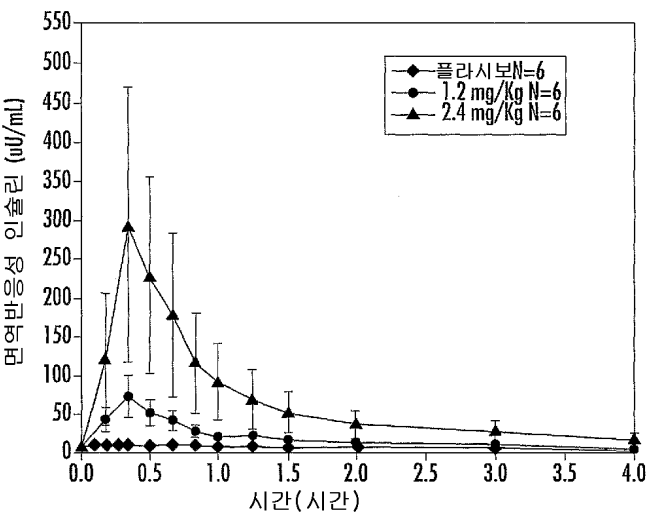
도면1b



도면2

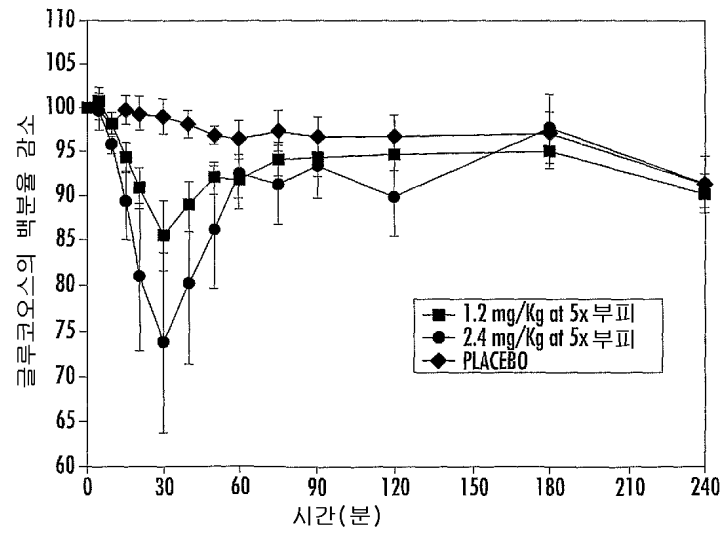


도면3a

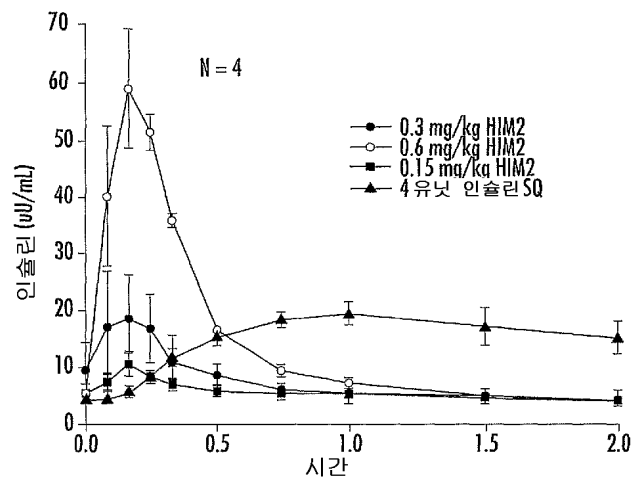




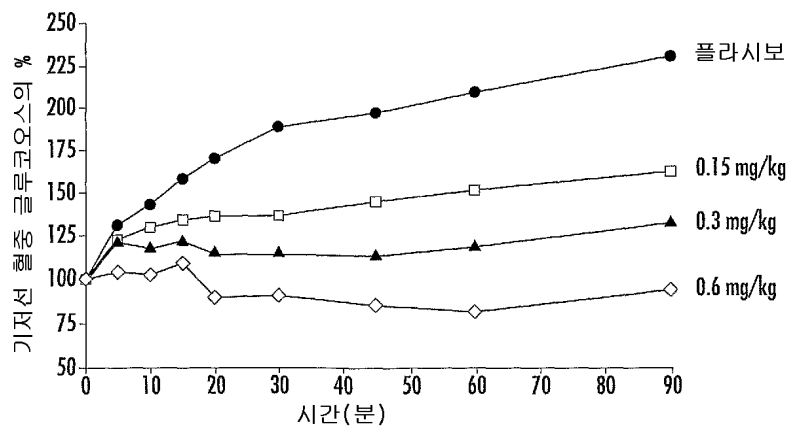
도면3b



도면4a

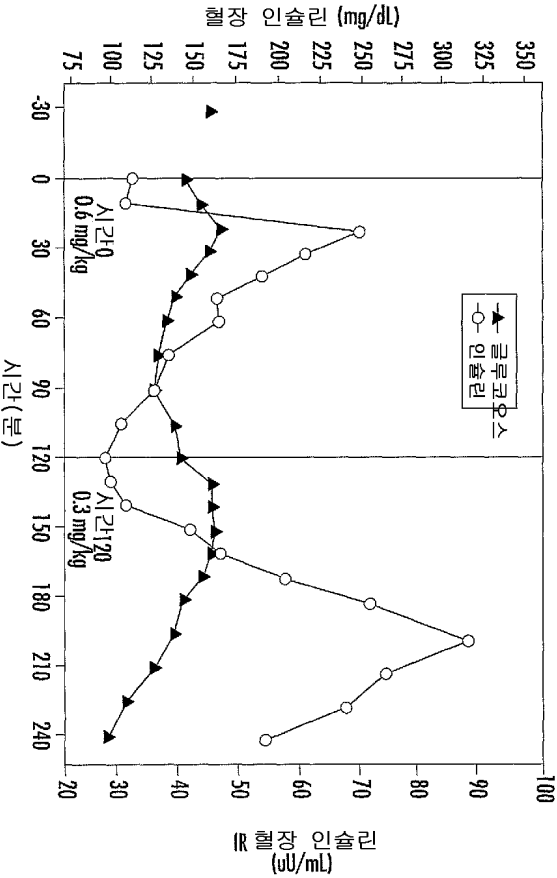


도면4b

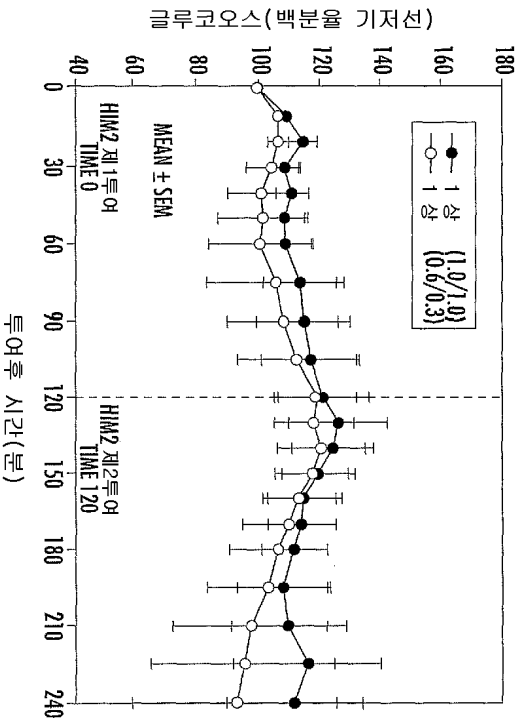




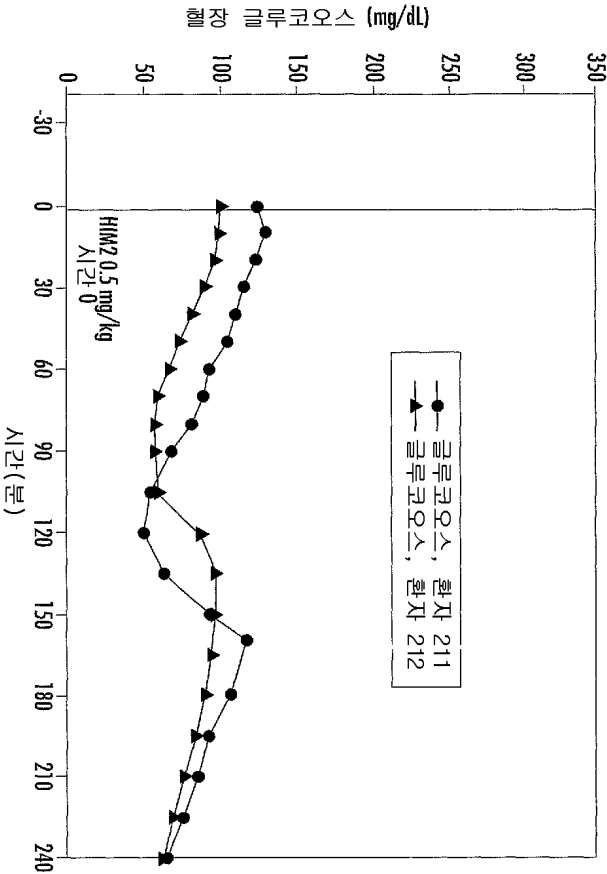
도면5



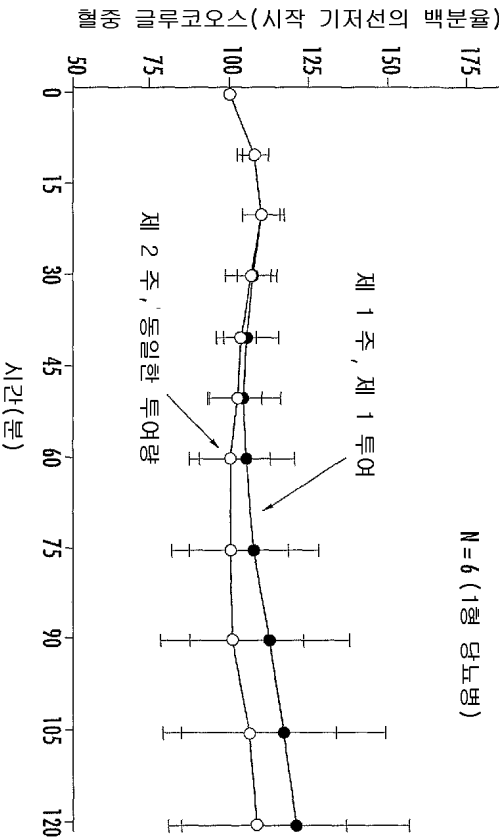
도면6



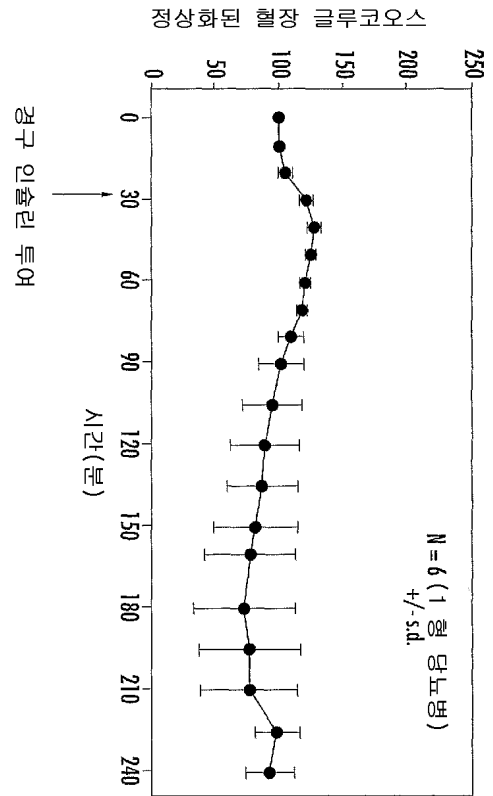
도면7



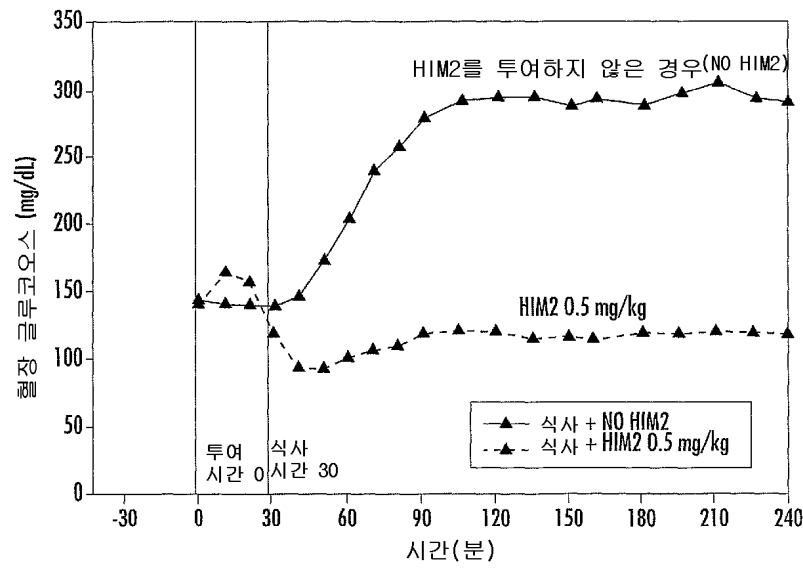
도면8



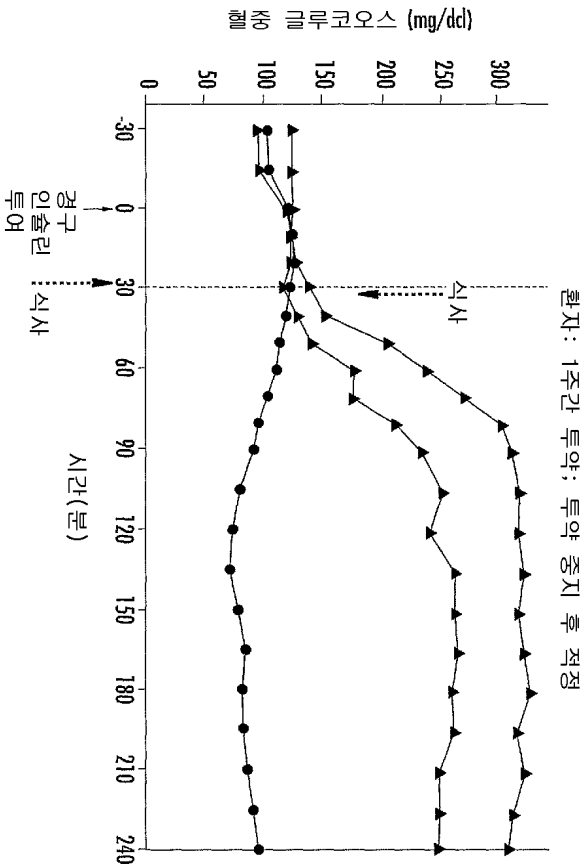
도면9



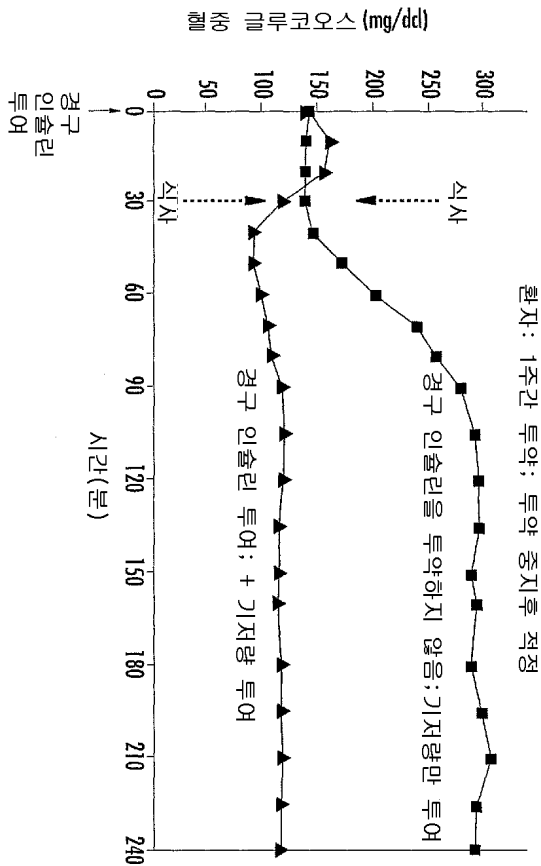
도면10



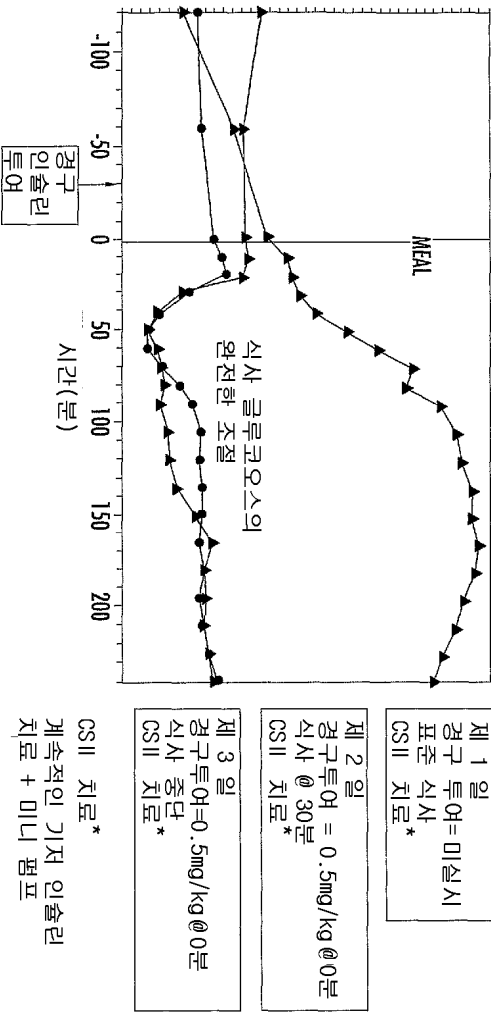
도면11

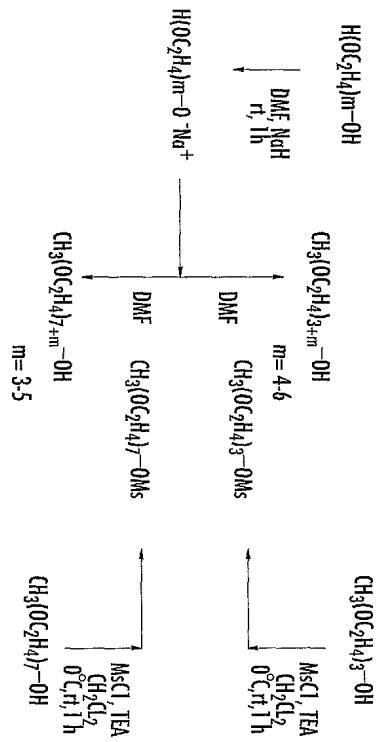


도면12



도면13

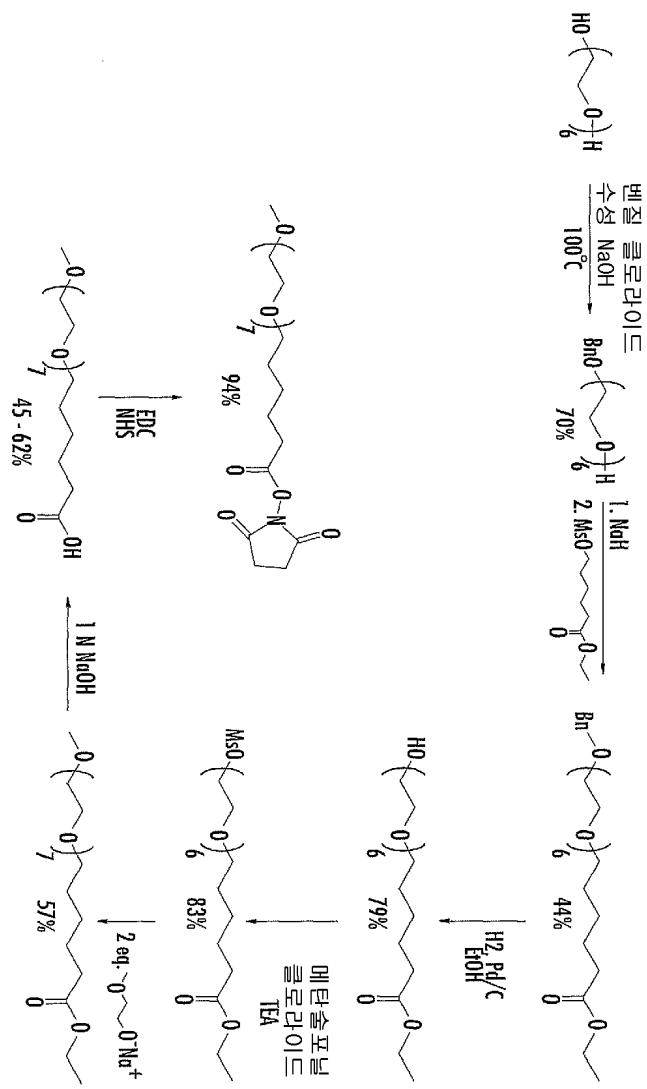




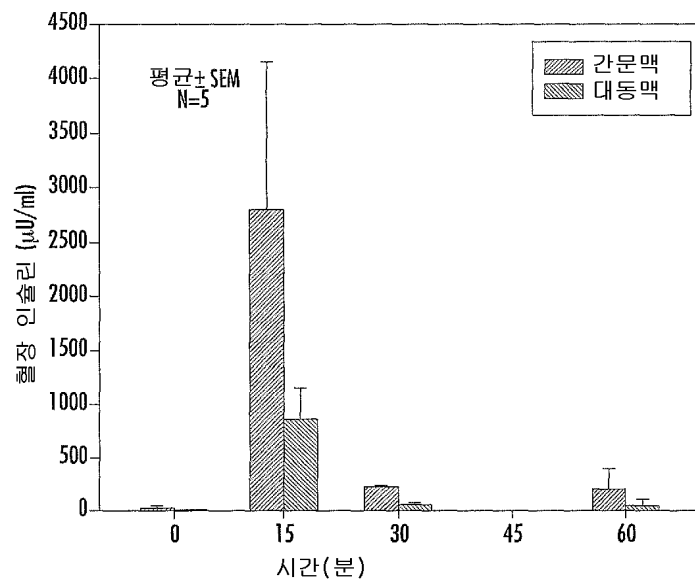
도면14



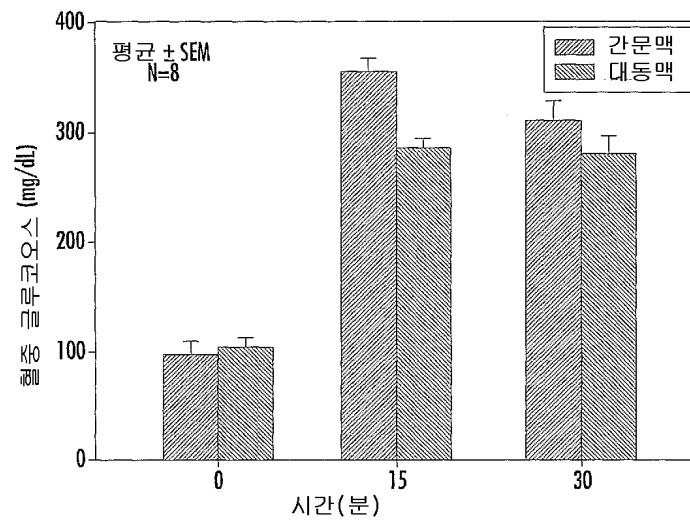
도면15



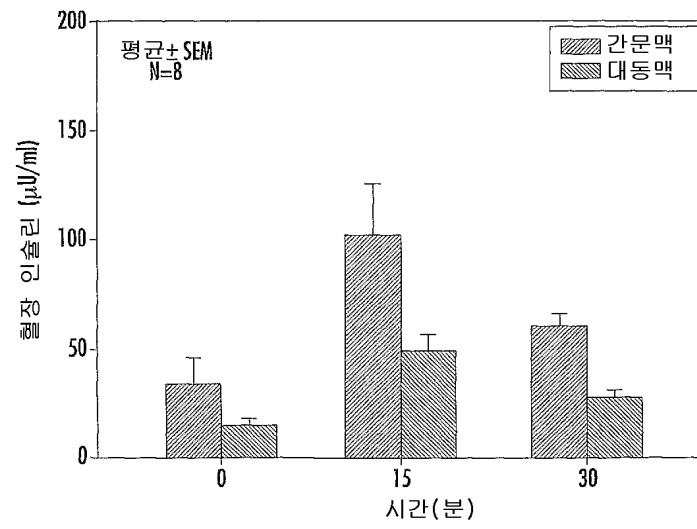
도면16



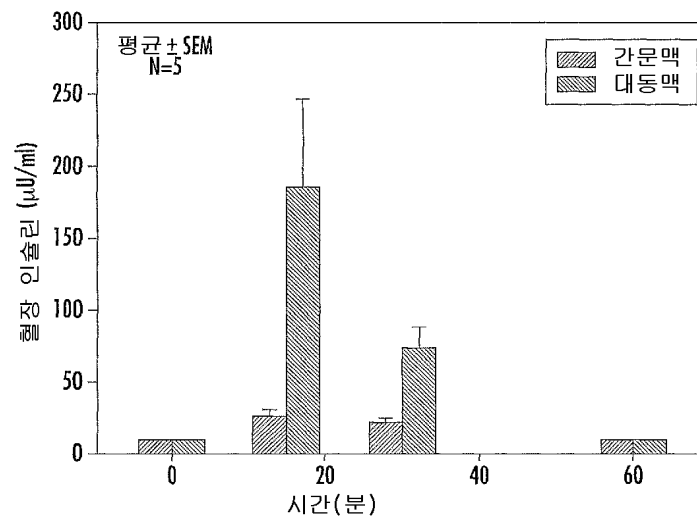
도면17a



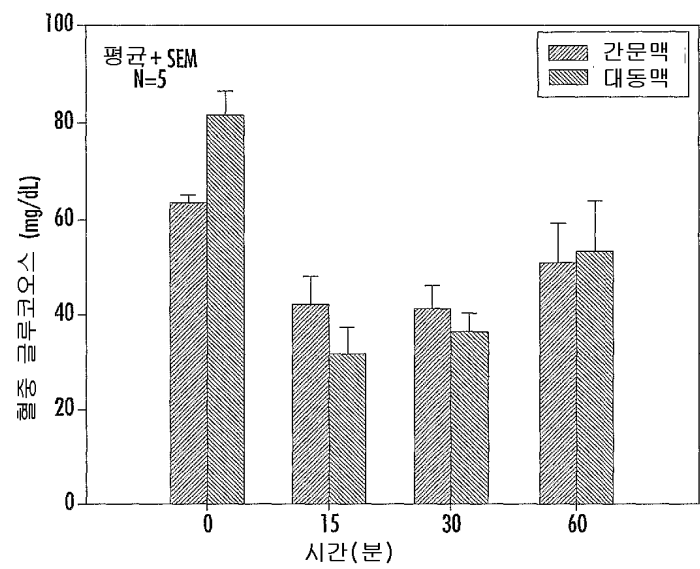
도면17b



도면18



도면19



도면20

