



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0078942
(43) 공개일자 2023년06월05일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 9/00 (2006.01) A61K 47/42 (2017.01)
A61P 1/16 (2006.01) A61P 3/00 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
A61K 9/0019 (2013.01)
A61K 38/28 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2022-7005303
- (22) 출원일자(국제) 2021년11월24일
심사청구일자 2022년02월16일
- (85) 번역문제출일자 2022년02월16일
- (86) 국제출원번호 PCT/KR2021/017429
- (87) 국제공개번호 WO 2023/095944
국제공개일자 2023년06월01일

- (71) 출원인
(주)운트바이오
경기도 의정부시 시민로434번길 11 (용현동)
전용수
경기도 의정부시 장곡로596번길 18, 104동 304호
(신곡동, 드림밸리아파트)
- (72) 발명자
전용수
경기도 의정부시 장곡로596번길 18, 104동 304호
권혁진
경기도 화성시 동탄순환대로21길 53, 1314동 250
3호
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
특허법인태동

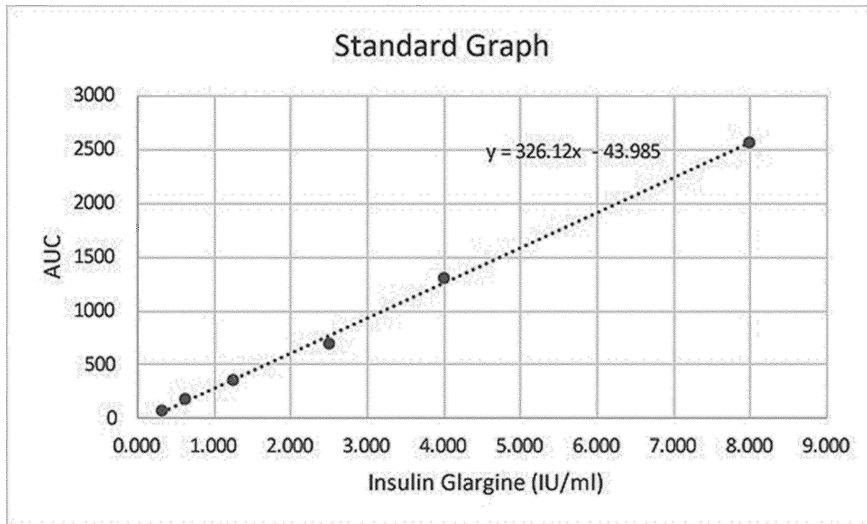
전체 청구항 수 : 총 14 항

(54) 발명의 명칭 인슐린을 포함하는 초 장시간 작용형 의약 조성물

(57) 요약

본 발명은 pH 2 내지 5에서 인슐린 글라진, 콜라겐 및 이들의 하나 이상의 부형제를 포함하는 안정한 초 장시간 작용형 주사 용액을 개시한다. 본 발명은 또한 상기 조성물의 제조 방법 및 당뇨병을 포함하는 대사 장애의 치료를 위한 그의 용도를 개시한다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 47/42 (2013.01)

A61P 1/16 (2018.01)

A61P 3/00 (2018.01)

A61P 9/10 (2018.01)

(72) 발명자

사히브, 마하라지 키셴

C-1802 마힌드라 스피렌도어, LBS로, 반딧 ♯, 뭄바이, 마하라슈트라 400078, 인도

페누마이지, 소마세카르

E-1008, 아파르나 힐 파 애비뉴즈, 샌대너가아 서틸링감펄리, 하이데라바드, 랑가레디, 텔랑가나주, 500050, 인도

파틸, 헤먼트 라메쉬

규저 겔리 압. 만갈 부반 샤하다, 난두르바주, 마하라슈트라, 425409, 인도

아바드, 사티아실라 바바지

38/10 누 무쿤드 나가야, 가저넨 하우스 소우사이 이티, 아흐메드나가, 마하라슈트라, 414001, 인도

박지형

경기도 수원시 영통구 광교중앙로 247, 3205동 1207호

김가빈

강원도 강릉시 울곡초교길 43번길 22, 301호

명세서

청구범위

청구항 1

등전점이 5 내지 8.5인 인슐린 유사체 또는 유도체, 또는 이의 생리학적으로 허용되는 염; 콜라겐; 및 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제 또는 담체를 포함하는 안정적인 초 장시간 작용형 주사용 의약 조성물로서, 상기 의약 조성물은 2 내지 5의 pH를 가지며;

의약 조성물은 투여 시 용액이고, 투여직 후 생리적 pH (physiological pH)에서 데포(depot)를 형성하며;

상기 의약 조성물은 동일한 농도 또는 동일한 용량을 갖는 상기 '등전점이 5 내지 8.5인 인슐린 유사체 또는 유도체'를 포함하는 주사용 의약 조성물에 비해 증가한 생체이용률 및 더 긴 작용 시간을 나타내고 안정적인 초 장시간 작용형 주사용 의약 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 '등전점이 5 내지 8.5인 인슐린 유사체 또는 유도체'는,

인슐린 글라진인 것을 특징으로 하는 안정적인 초 장시간 작용형 주사용 의약 조성물.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 인슐린 글라진은,

100 IU 내지 1,000 IU/ml의 농도 범위로 존재하는 것을 특징으로 하는 안정적인 초 장시간 작용형 주사용 의약 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 콜라겐은,

인간 콜라겐인 것을 특징으로 하는 안정적인 초 장시간 작용형 주사용 의약 조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 의약 조성물은,

작용 지속시간이 24시간 초과하는 것을 특징으로 하는 안정적인 초 장시간 작용형 주사용 의약 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 의약 조성물은,

1주일에 2회 또는 3회 투여되는 것을 특징으로 하는 안정적인 초 장시간 작용형 주사용 의약 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 의약 조성물은,

동일한 농도 또는 동일한 용량을 갖는 상기 '등전점이 5 내지 8.5인 인슐린 유사체 또는 유도체'를 포함하는 주사용 의약 조성물에 비해 면역원성이 낮은 것을 특징으로 하는 안정한 초 장시간 작용형 주사용 의약 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 약제학적으로 허용 가능한 부형제는,

안정화제, 등장제, 계면활성제, 완충제, 보존제, 항산화제, 산성화제, pH 조절제, 유기 용매, 수성 용매, 가용 화제 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 안정한 초 장시간 작용형 주사용 의약 조성물.

청구항 9

등전점이 5 내지 8.5인 인슐린 유사체 또는 유도체, 또는 이의 생리학적으로 허용되는 염; 콜라겐; 및 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제 또는 담체를 포함하는 안정한 초 장시간 작용형 주사용 의약 조성물로서,

상기 의약 조성물은 2 내지 5의 pH를 가지며;

의약 조성물은 투여 시 용액이고, 투여직 후 생리적 pH (physiological pH)에서 데포(depot)를 형성하며;

상기 의약 조성물은 하나 이상의 대사 장애의 치료에 사용하기 위한 동일한 농도 또는 동일한 용량을 갖는 상기 '등전점이 5 내지 8.5인 인슐린 유사체 또는 유도체'를 포함하는 주사용 의약 조성물에 비해 증가된 생체이용률 및 더 긴 작용 지속 시간을 나타내는, 안정한 초 장시간 작용형 주사용 의약 조성물.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 대사 장애는,

인슐린 저항성 증후군, 당뇨병, 고지혈증, 지방간 질환, 악액질, 비만, 죽상동맥경화증 및 동맥경화증으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 안정한 초 장시간 작용형 주사용 의약 조성물.

청구항 11

제1항의 의약 조성물을 이를 필요로 하는 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 환자의 제1 유형 및 제2 유형 진성 당뇨병의 치료 방법.

청구항 12

등전점이 5 내지 8.5인 인슐린 유사체 또는 유도체, 또는 이의 생리학적으로 허용되는 염; 콜라겐; 및 2 내지 5의 pH를 갖는 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제 또는 담체를 포함하는 안정한 초 장시간 작용형 주사용액의 제조 방법으로서,

- a) 수 μ L의 1M HCl의 도움으로 주사용 물에 정확하게 칭량된 아연 함유 인슐린 글라진 결정을 용해하는 단계;
- b) pH 2 내지 5의 완충액을 제조하는 단계;
- c) 완충액에 등장제를 용해하는 단계;
- d) 단계(A)의 농축 인슐린 글라진을 단계 b)의 완충액으로 희석하는 단계;
- e) 일정하게 교반하면서 단계 d)의 용액에 콜라겐을 첨가하는 단계; 및
- f) 용액의 최종 pH를 2 내지 5로 조절하는 단계를 포함하는, 안정한 초 장시간 작용형 주사용액의 제조 방법.

청구항 13

제13항에 있어서,

상기 '등전점이 5 내지 8.5인 인슐린 유사체 또는 유도체'는,

인슐린 글라진인 것을 특징으로 하는 안정한 초 장시간 작용형 주사액의 제조 방법.

청구항 14

의약 조성물로부터 5.8 내지 8.5의 등전점을 갖는 인슐린 유사체, 유도체 또는 대사물의 방출을 조절하는 방법으로서, 상기 방법은 5.8 내지 8.5의 등전점을 갖는 인슐린 유사체, 유도체 또는 대사물, 콜라겐 및 이의 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 염을 포함하는 의약 조성물을 pH 2 내지 5에서 제형화하는 단계 및 투여직 후 생리학적 pH에서 상기 조성물의 침전시키는 단계를 포함하는 인슐린 유사체, 유도체 또는 대사물의 방출 조절방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 광범위하게는 생물약제학 분야, 특히 초장시간 작용형 인슐린 글라진(glargine) 제형에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 인슐린 글라진, 콜라겐 및 이들의 1종 이상의 부형제 조성물을 포함하는 안정한 주사액에 관한 것이다. 본 발명은 또한 상기 조성물의 제조 방법 및 진성 당뇨병(diabetes mellitus)을 포함하는 대사 장애의 치료를 위한 그의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 당뇨병은 신체가 포도당을 대사할 수 없거나 포도당이 결핍되어 있는 것을 특징으로 하는 심각한 의학적 병태이다. 이 질병은 2019년에 전 세계 성인 인구의 약 9.3%에 영향을 미치며, 2045년에는 이 수치가 거의 11%로 증가할 것으로 예상된다(<https://www.statista.com/statistics/271464/percentage-of-diabetics-Worldwide/>).

[0003] 당뇨병은 전 세계의 주요 사망 원인이다. 진성 당뇨병에는 다음의 두 가지 주요 유형이 있다: 생명을 유지하기 위해 외인성 인슐린의 빈번한 투여를 필요로 하는 췌장 베타 세포의 손상으로 인한 인슐린의 불충분한 분비로 인한 제1 유형 당뇨병; 및

[0004] 혈당 수치를 조절하기 위한 내인성 인슐린의 부족으로 인해 발생하는 경우가 많으며, 현재 약 20%의 경우에서 식이 요법, 운동, 약물 또는 인슐린 주사를 통해 관리되는 제2 유형 당뇨병.

[0005] 두 유형의 당뇨병에서 저혈당증은 포도당 수준에 의해 엄밀하게 조절되는 정상적인 생리적 인슐린 분비에 대한 근사치가 매우 낮기 때문에 인슐린 사용으로 인해 자주 발생한다. 혈당 수치를 정상 범위 내로 유지하기 위해 당뇨병 환자는 주기적으로 인슐린을 투여해야 한다.

[0006] 인슐린 주사는 당뇨병을 앓고 있는 환자에게 처방된다. 인슐린은 혈액의 당 포도당 수치를 조절하는 천연 호르몬이다. 건강한 사람의 경우 혈당 농도가 상승함에 따라 췌장에서 혈액으로 인슐린이 방출된다. 증가된 혈당 수치는 식사 후에 발생하며, 이에 상응하는 인슐린 분비 증가로 빠르게 보상된다. 인슐린은 과잉 혈당을 글리코겐으로 전환하고 간에 저장하는 데 중요한 역할을 한다.

[0007] 1920년대에 인슐린이 도입된 이래로 진성 당뇨병의 치료를 개선하기 위한 지속적인 노력이 이루어져 왔다. 극심한 혈당 수치를 회피하기 위해 당뇨병 환자는 종종 식사와 함께 인슐린을 투여하는 복수 회 주사 요법을 시행한다.

[0008] 인슐린은 51개의 아미노산으로 이루어진 폴리펩타이드로, 다음의 2개의 아미노산 사슬로 나뉜다: 21개의 아미노산을 갖는 A 사슬과 30개의 아미노산을 갖는 B 사슬. 두 사슬은 2개의 이황화 가교결합 통해 서로 연결되어 있다. 인슐린 제제는 수년 동안 당뇨병 치료에 사용되어 왔다.

[0009] 전통적으로 속효성 일반 인슐린 제제 또는 이의 중간 작용 인슐린 프로타민 제제는 진성 당뇨병 환자를 치료하는 데 사용되었다. 시간이 지남에 따라 새로운 인슐린 유사체와 유도체가 개발되었다. 인슐린 유사체 및 유도체는 하나 이상의 아미노산 위치 및/또는 아미노산 사슬 길이에서 인간 인슐린과 상이하다.

[0010] 많은 인슐린, 인슐린 유사체 및 유도체가 시장에서 입수할 수 있다. 일반적으로 사용되는 인슐린 유형, 인슐린 유사체 또는 인슐린 유도체는 다음과 같이 분류된다.

[0011] **속효성 인슐린 유사체(블루스):** 예를 들어 인슐린 아스파트(NovoLog®); 인슐린 리스프로(Humalog®); 인슐린 글루리신(Aprida®), 속효성 인간 인슐린(Viaject®). 이러한 유사체는 투여 후 5 내지 15분 이내에 작용하기

시작하고 3 내지 4시간 동안 활성을 나타낸다.

- [0012] 단시간 작용형 인슐린(볼루스): 예를 들어 레글러 인슐린(Humulin® ar Novolin®). 통상의 인슐린은 투여 후 30분 이내에 작용을 시작하며 작용 지속시간은 약 5 내지 8시간이다.
- [0013] 중간 작용형 인슐린: 예를 들어 이소판 인슐린, 아스파트 프로타민, 리스프로 프로타민. 투여 후 1 내지 3시간 후에 작용한다. 작용 시간은 16 내지 24시간 이다.
- [0014] 장시간 작용형 인슐린(Basal): 예를 들어 인슐린 글라진, 인슐린 데글루텍(degludec) 및 인슐린 디터머(detemir). 이러한 유사체는 1 내지 2시간 이내에 작용하기 시작하고, 작용 지속 시간은 약 12시간으로부터 약 24시간까지 다양하다.
- [0015] 혼합 인슐린: 예를 들어 NPH와 일반 인슐린의 혼합물. 혼합 인슐린의 비율이 다른 여러 변형이 있다. 이러한 혼합 제제의 작용 시작은 약 30분이다. 혼합 인슐린은 동일한 유형의 인슐린을 포함한다. 두 가지 다른 유형의 인슐린은 혼합될 수 없다. 즉, 인슐린 리스프로는 인슐린 디터머, 인슐린 아스파트 또는 인슐린 글라진과 혼합될 수 없다. 인슐린 리스프로의 혼합 제형은 인슐린 리스프로 레글러와 인슐린 리스프로 프로타민-2가지 형태의 인슐린 리스프로만 포함할 수 있다.
- [0016] 인슐린 글라진은 1일 1회 투여되는 장시간 작용형 기저(basal) 인슐린의 하나이다. 인슐린 글라진은 산성 용매에서 제형화되며 변경된 등전점(isoelectric point)을 갖는다. 인슐린 글라진은 생리학적 pH에서 등전성이며, 피하 주사 후 침전되어 무정형 데포(depot)를 형성한다. 이 피하 데포에서 점진적으로 재용해하는 것이 주요 지연 원리이다. 인슐린 글라진의 더 긴 작용 지속 시간(최대 24시간)은 미세 침전 입자의 형성; 인슐린 글라진의 단량체 단위로 미세 침전물의 해리 속도; 및 피하 조직으로부터 인슐린 글라진의 더 느린 흡수 속도와 직접적인 관련이 있다. 그러나 많은 환자에서 인슐린 글라진은 24시간 동안 지속되지 않는다. 약물은 피하조직에 주입된 후 침전되어 서서히 재용해되어 여기에서 흡수된다. "피크 적은(peak less)" 작용이 있지만 약물은 개인 간 변동성과 관련이 있으며, 많은 환자가 특히 고 용량에서 작용 피크를 나타낸다.
- [0017] 인슐린 글라진의 또 다른 단점은 이소판 인슐린과 달리 가용성 인슐린과 혼합될 수 없기 때문에 침전이 발생한다는 점이다. 따라서 2상(혼합) 인슐린을 사용하는 많은 환자는 일일 주사 횟수를 늘리거나 기저-볼루스 주사 요법으로 변경해야 한다. 또한, 많은 환자에서 인슐린 저항성은 더 높은 용량의 인슐린 투여를 필요로 하는 기저 인슐린의 만성 투여로 발생한다. 시험관 내 연구에 따르면, 글라진은 인슐린 수용체보다 인슐린 유사 성장 인자-1(IGF-1) 수용체에 우선적으로 결합한다. 이것은 특히 장기간 사용 시 유사분열 잠재력을 생성할 수 있다. 따라서, 더 긴 작용 지속시간을 나타낼 뿐만 아니라 감소된 개체간 변동성과 더 적은 유사분열 잠재력을 갖는 인슐린 글라진 제형이 필요하다.
- [0018] 생체 물질은 체내에서 효율적인 약물 전달을 위해 약물 및 의약 분야에서 널리 활용되고 있다. 알려진 상이한 생체 고분자 중에서 콜라겐은 우수한 생체 적합성, 생분해성 및 약한 항원성, 잘 정립된 구조, 생물학적 특성 및 신체와 상호 작용하는 방식으로 인해 가장 매력적인 선택 중 하나로 부상하였다(Friess, 1998; Lee 일행, 2001).
- [0019] 포유동물에서 가장 풍부한 단백질인 콜라겐은 모든 척추동물 체내 단백질의 약 30%를 차지하는 주요 구조 단백질을 나타낸다. 힘줄과 뼈에 있는 세포외 단백질의 90% 이상, 피부에 있는 50% 이상이 콜라겐으로 구성되어 있다. 동물의 피부, 주로 소 또는 돼지 또는 아킬레스건, 주로 소 또는 말은 현재 콜라겐의 주요 공급원을 구성한다.
- [0020] 현재까지, 28가지 유형의 콜라겐이 확인 및 기술되었으며, 가장 일반적인 것은 다음과 같다;
- [0021] 제1 유형: 뼈의 유기 부분의 주성분.
- [0022] 제2 유형: 연골의 주성분.
- [0023] 제3 유형: 망상 섬유주 성분.
- [0024] 제4 유형: 기저막의 상피 분비층인 기저판을 형성.
- [0025] 제5 유형: 주로 세포 표면, 모발 및 태반에서 발견.
- [0026] 인슐린과 콜라겐의 결합 친화도 및 조합을 포함하는 의약 조성물을 개시하는 많은 선행 기술이 있다.
- [0027] 미국특허출원 20130225492 A1에는 약물 및 콜라겐을 포함하는 의약 조성물이 개시되어 있으며, 이 조성물은 취

급성이 양호하고 서방성을 갖는다. 서방성 의약 조성물은 약물; 콜라겐; 및 단당류, 이당류, 삼당류 및 사당류로부터 선택되는 적어도 1종의 당을 포함한다.

- [0028] 미국특허 제5,922,356 B2호에는 치료학적 유효물질을 유효성분으로, 콜라겐을 약물 담체로, 글리코사미노글리칸을 첨가제로 함유하는 서방형 제제가 질병의 치료 또는 예방에 사용되는 것이 개시되어 있다.
- [0029] JP 특허 543453에는 콜라겐을 필수 성분으로 함유하는 담체와 상처 치유 촉진 활성을 갖는 생리 활성 물질을 혼합함으로써 얻어지는 상처 치유 촉진용 국소 서방성 제제가 개시되어 있다.
- [0030] JP 특허 56122317에는 콜라겐 농도가 감소될 때 약물을 함유하는 겔화된 콜라겐의 분해가 가속화되는 것과 약물의 지속 방출도 가속화되는 것이 개시되어 있다.
- [0031] Yaoi 일행, 1991에는 8개의 세포의 기질 단백질인 피브로넥틴, 비트리넥틴, 라미닌, 콜라겐 제1, 제2, 제3, 제4 및 제5 유형이 인슐린에 결합하는 능력을 분석함으로써 인슐린과 콜라겐의 결합 효율에 대해 개시하고 있다.
- [0032] Manolache 일행, 2016에는 pH 7.4에서 콜라겐 겔, 산화아연 및 인슐린 글라진을 포함하는 겔 복합체 및 해당 매트릭스에 대해 개시하고 있다.
- [0033] 미국 특허 6,468,959에는 젤라틴, 분별 젤라틴, 콜라겐 가수분해물, 가교된 젤라틴 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택되는 구성 요소를 포함하는 매트릭스에 분산된 주어진 순 전하를 갖는 적어도 하나의 펩타이드 약제를 포함하는 경구, 협측(buccal), 설하 또는 비강 투여 가능한 제형의 펩타이드 약제를 함유하는 건조 펠릿이 개시되어 있는데, 상기 친수성 분자 군의 구성 요소(들)은 상기 펩타이드 약제와 함께 슈도코아제르베이트를 형성하기에 충분한 반대 순 전하를 보유한다.
- [0034] 미국 특허 출원 20140213963에는 인슐린용 저장소, 저장소를 밀봉하는 포도당-반응성 플러그를 포함하고, 선택적으로 포도당-반응성 플러그의 노출된 표면을 덮고 저장소를 추가로 밀봉하는 보호 미세 다공성 막을 포함하는 생체적합성 인슐린 전달 장치가 개시되어 있는데, 여기서 플러그는 자극에 반응하여 플러그의 다공성을 변경하도록 적응된 자극-반응성 성분 및 무기 성분을 갖는 중합체 매트릭스를 포함하고, 그리고 플러그는 고혈당 포도당 농도에 반응하여 저장소로부터 인슐린을 방출하고 저혈당 포도당 농도에 반응하여 저장소에서 인슐린이 방출되는 것을 방지하는 기능을 한다.
- [0035] 인슐린 및 콜라겐을 포함하는 조성물은 선행 기술에 공지되어 있다. 선행 기술의 조성물은 겔 제형, 펠릿 또는 임플란트이다. 겔 또는 임플란트로 인슐린을 투여하려면 특수 주사기 또는 장치가 필요하므로 투여 용이성이 떨어진다. 당뇨병 환자는 인슐린을 반복적으로 투여해야 하기 때문에 투여 용이성이 중요하다. 겔이나 임플란트의 투여는 주사 부위에 통증을 유발하고 부기가 자주 발생하여 환자에게 불편을 주어 순응하지 않게 된다. 또한, 이러한 특수 주사기 또는 장치는 제품의 총 비용을 증가시켜 많은 환자에게 적합하지 않다. 펠릿으로 인슐린을 경구 투여하는 것은 흡수의 큰 변동성과 관련이 있다. 인슐린의 경우 경구 경로로부터의 약동학적 반응은 종종 예측할 수 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0036] 따라서, 표준 펜 및 주사기를 사용하여 투여하기 쉬운 뿐만 아니라 동일한 용량의 시판되는 인슐린 글라진 조성물에 비해 증가된 생체이용률, 더 긴 작용 지속 기간 및 감소된 면역원성을 갖는 인슐린 글라진 및 콜라겐 제형이 필요하다.
- [0037] 선행 기술 중 어느 것도 인슐린 글라진, 콜라겐 및 pH 2 내지 5를 갖는 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제를 포함하고, 주사 가능하며, 동일한 농도 또는 동일한 용량을 갖는 상기 '등전점이 5 내지 8.5인 인슐린 유사체 또는 유도체'를 포함하는 주사용 의약 조성물에 비해 증가한 생체이용률을 나타냄을 개시하고 있지 않다.

과제의 해결 수단

- [0038] 본 명세서에서 사용된 용어 "인슐린(들)"은 포유동물 인슐린, 인슐린 유사체 또는 유도체를 포함한다.
- [0039] 본 발명에서 사용되는 "인슐린 유사체 또는 유도체"라는 용어는 인간 인슐린 분자의 구조를 변형시켜 생긴 자연 발생 인슐린의 유사체 또는 유도체, 즉 인간 인슐린 또는 동물 인슐린을 포함하고, 그 결과 물리화학적, 약동학

적 및 약력학적(pharmacodynamic) 특성 변화를 가져오는 것을 의미한다.

- [0040] 본 발명의 양태 중 하나는 등전점이 5 내지 8.5인 인슐린 유사체 또는 유도체, 또는 이의 생리학적으로 허용되는 염; 콜라겐; 및 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제 또는 담체를 포함하는 안정한 초 장시간 작용형 주사용 의약 조성물을 제공하는데, 여기서, 의약 조성물은 투여 시 용액이고, 투여직 후 생리적 pH (physiological pH)에서 데포(depot)를 형성하며, 의약 조성물은 동일한 농도 또는 동일한 용량을 갖는 상기 '등전점이 5 내지 8.5인 인슐린 유사체 또는 유도체'를 포함하는 주사용 의약 조성물에 비해 증가된 생체이용률 및 더 긴 작용 지속시간을 나타낸다.
- [0041] 본 발명의 양태 중 하나는 인슐린 글라진 또는 이의 생리학적으로 허용되는 염; 콜라겐; 및 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제 또는 담체를 포함하는 안정한 초 장시간 작용형 주사용 의약 조성물을 제공하고, 여기서 의약 조성물은 pH가 2 내지 5이고; 의약 조성물은 투여 시 용액이고, 투여직 후 생리적 pH (physiological pH)에서 데포(depot)를 형성하며; 의약 조성물은 동일한 농도 또는 동일한 용량의 인슐린 글라진을 포함하는 주사용 의약 조성물에 비해 증가된 생체이용률 및 더 긴 작용 지속시간을 나타낸다.
- [0042] 본 발명의 양태 중 하나는 인슐린 글라진 또는 이의 생리학적으로 허용되는 염; 콜라겐; 및 하나 이상의 약제학적으로 허용 가능한 부형제 또는 담체를 포함하는 안정한 초 장시간 작용형 주사용 의약 조성물을 제공하고, 여기서 의약 조성물은 pH가 2 내지 5이고; 의약 조성물은 투여 시 용액이고, 투여직 후 생리적 pH (physiological pH)에서 데포(depot)를 형성하며; 그리고 의약 조성물은 증가된 생체이용률 및 24시간 이상의 작용 지속시간을 나타낸다.
- [0043] 본 발명의 양태 중 하나는 인슐린 글라진 또는 이의 생리학적으로 허용되는 염; 인간 콜라겐; 및 하나 이상의 약제학적으로 허용 가능한 부형제 또는 담체를 포함하는 안정한 초 장시간 작용형 주사용 의약 조성물을 제공하고, 여기서 의약 조성물은 pH가 2 내지 5이고; 의약 조성물은 투여 시 용액이고, 투여직 후 생리적 pH (physiological pH)에서 데포(depot)를 형성하며; 의약 조성물은 동일한 농도 또는 동일한 용량의 인슐린 글라진을 포함하는 주사용 의약 조성물에 비해 증가된 생체이용률 및 더 긴 작용 지속시간을 나타낸다.
- [0044] 본 발명의 양태 중 하나는 등전점이 5 내지 8.5인 인슐린 유사체 또는 유도체, 또는 이의 생리학적으로 허용되는 염; 콜라겐; 및 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제 또는 담체를 포함하는 안정한 초 장시간 작용형 주사용 의약 조성물을 제공하고, 여기서 의약 조성물은 2 내지 5의 pH를 가지며; 의약 조성물은 투여 시 용액이고, 투여직 후 생리적 pH (physiological pH)에서 데포(depot)를 형성하며; 의약 조성물은 동일한 농도 또는 동일한 용량을 갖는 상기 '등전점이 5 내지 8.5인 인슐린 유사체 또는 유도체'를 포함하는 주사용 의약 조성물과 비교하여 증가된 생체이용률 및 더 긴 작용 지속시간을 나타내고; 약제학적으로 허용 가능한 부형제 또는 담체는 하나의 안정화제, 등장제(isotonic agent), 계면활성제, 완충제, 보존제, 항산화제, 산성화제, pH 조절제, 유기 용매, 수성 용매, 가용화제 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0045] 본 발명의 양태 중 하나는 5 내지 8.5의 등전점을 갖는 인슐린 유사체 또는 유도체, 또는 이의 생리학적으로 허용되는 염; 콜라겐; 및 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제 또는 담체를 포함하는 안정한 초 장시간 작용형 주사용 의약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 환자의 제1 유형 및 제2 유형의 진성 당뇨병을 치료하는 방법을 제공하고, 여기서 의약 조성물은 2 내지 5의 pH를 가지며; 의약 조성물은 투여 시 용액이고, 투여직 후 생리적 pH (physiological pH)에서 데포(depot)를 형성하며; 동일한 농도 또는 동일한 용량을 갖는 상기 '등전점이 5 내지 8.5인 인슐린 유사체 또는 유도체'를 포함하는 주사용 의약 조성물과 비교하여 증가된 생체이용률 및 더 긴 작용 지속시간을 나타내고, 그리고 의약 조성물은 주당 2 내지 3회 투여된다.
- [0046] 본 발명의 양태 중 하나는 5 내지 8.5의 등전점을 갖는 인슐린 유사체 또는 유도체, 또는 이의 생리학적으로 허용되는 염; 콜라겐; 및 2 내지 5의 pH를 갖는 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제 또는 담체를 포함하는 안정한 초 장시간 작용형 주사용액의 제조 방법을 제공하고, 이 방법은 다음 단계를 포함한다:
- [0047] a) 수 μL 의 1M HCl의 도움으로 주사용 물에 정확하게 칭량된 아연 함유 인슐린 글라진 결정을 용해하는 단계;
- [0048] b) pH 2 내지 5의 완충액을 제조하는 단계;
- [0049] c) 완충액에 등장제를 용해하는 단계;
- [0050] d) 단계(A)의 농축 인슐린 글라진을 단계 b)의 완충액으로 희석하는 단계;
- [0051] e) 일정하게 교반하면서 단계 d)의 용액에 콜라겐을 첨가하는 단계;

[0052] f) 용액의 최종 pH를 2 내지 5로 조절하는 단계.

발명의 효과

[0053] 본 발명은 pH 2 내지 5에서 인슐린 글라진, 콜라겐 및 이들의 하나 이상의 부형제를 포함하는 안정한 초 장시간 작용형 주사액을 개시한다. 본 발명은 또한 상기 조성물의 제조 방법 및 진성 당뇨병을 포함하는 대사 장애의 치료를 위한 그의 용도를 개시한다.

도면의 간단한 설명

[0054] 도 1은 콜라겐의 존재하에 인슐린 글라진의 표준 곡선을 나타낸다.

도 2는 선행 기술에 따른 Gla 100 또는 Gla-300을 1일 1회 투여한 혈장 인슐린 농도의 시물레이션을 도시한다 (참고문헌: 제1 유형의 당뇨병에서 장시간 작용 인슐린 글라진의 아급성 흡수 모델링(Modelling of Subcutaneous Absorption of Long -Acting Insulin Glargine in Type 1 Diabetes), Michele 등: IEE Trans Biomed Eng 202; 67(2): 624-631.)

도 3은 제안된 '인슐린 글라진 방출의 시험관 내 모델'을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0055] 24시간 이상의 작용 지속시간을 나타낼 뿐만 아니라 투여가 용이하고 생체이용률이 더 높고 면역원성이 낮은 인슐린 글라진을 포함하는 의약 조성물을 제조하기 위해 다른 가능한 제형에 대해 연구하는 동안, 본 발명자들은 인간 II형 콜라겐을 산성 pH에서 인슐린 글라진과 혼합시키는 경우, 생리학적 pH에서 인슐린 글라진의 가용성 대사물인 M-1 및 M-2의 형성(간질액(interstitial fluid) 조성물을 모방하는 생리 식염수 내 프로테아제에 노출 시)을 상당히 감소시킬 수 있다는 사실을 확인하였다. 인슐린 글라진의 상기 대사물은 혈당 저하 활성을 담당하므로, 상기 대사물의 형성을 감소시킬 수 있는 모든 약물 제형은 약물의 지속 방출 정도 및 편평도와 직접적인 상관관계가 있고, 시험관 내 M-1, M-2 형성 동태는, 데포(depot)을 주사 부위에서 형성하는 한, 순환 중 활성 약물의 더 긴 반감기를 동반한 생리학적/약리학적 개선된 약리학적 활성을 가질 것으로 해석된다.

[0056] 본 발명의 조성물은 산성이고 생체 내 투여된 후 생리학적 pH에서 데포(depot)를 형성한다. 본 발명자들은 주사 부위(생리학적 pH)에서 삼중 나선 단백질인 인간 I형 콜라겐 분자가 인슐린을 트랩하여 주사 부위에서 세포외 기질의 간질액에서 프로테아제의 억제작용으로 인해 생리학적 pH인 pH 7.4의 주사 부위에서 이미 결정화된 인슐린 글라진에 대한 추가 장벽을 형성한다는 것을 관찰하였다. 이를 2 구획 모델을 통해 확인하였다. 침전물이 재용해되어 6량체가 형성되는 것을 확인하기 위한 구획 1 및 그 다음 6량체에서 단량체로의 용해를 확인하기 위한 구획 2(피하 조직의 모세관 구멍을 통해 운반된 후의 혈액을 의미함). 이를 통해, 인슐린의 방출이 생리학적 pH인 pH 7.4에서 콜라겐의 추가 장벽에 의해 제어됨을 확인하였다. 또한, 콜라겐은 주사 부위에서 인슐린을 분해하는 프로테아제를 억제한다. 이러한 프로테아제 억제는 혈액 내 인슐린의 생체이용률을 증가시키며, 콜라겐은 인슐린과 상승 작용을 하여 혈당 수치를 조절하는 데 도움이 되는 것을 의미한다. 따라서, 본 발명의 의약 조성물은 동일한 농도의 인슐린 글라진을 함유하는 시판 조성물에 비해 생체이용률이 더 우수하다.

[0057] 본 발명의 의약 조성물은 인슐린 글라진 및 콜라겐 모두가 산성 pH에서 가용성이기 때문에 용액이다. 본 발명의 용액은 통상적인 주사기 또는 펜으로 투여하기 쉬우며, 투여를 위한 어떠한 특별한 주사기 또는 장치도 필요로 하지 않는다. 관리의 용이성은 환자의 순응도로 이어진다. 또한, 본 발명의 의약 조성물은 기존의 펜 및 주사기를 통해 용이하게 투여될 수 있어 비용 면에서 효과적이며 환자에게 추가적인 부담을 주지 않는다.

[0058] 본 명세서에 사용된 용어 "의약 조성물"은 포유동물에 영향을 미치는 특정 질병 또는 병태를 예방, 치료 또는 제어하기 위해 포유동물, 예를 들어 인간에게 투여될 치료 화합물을 함유하는 혼합물을 의미한다.

[0059] 본 명세서에서 사용된 "콜라겐"은 뼈, 연골, 힘줄 및 기타 연결 조직을 구성하는 섬유질 단백질질을 의미한다. 본 명세서에 사용된 "콜라겐"은 콜라겐 제1, 제2, 제3, 제4, 제5 유형, 인간 콜라겐, 가공되거나 달리 변형된 콜라겐을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.

[0060] 본 명세서에서 사용된 용어 "완충액"은 약산과 그 염 또는 약염기와 그 염을 함유하는 용액으로서 pH 변화에 내성이 있는 용액을 의미한다. 본 명세서에 사용된 "완충액"은 포스페이트, 아세테이, 시트레이트, 아르기닌, 글리실글리신 또는 트리스(즉, 2-아미노-2-히드록시메틸-1,3-프로판디올) 완충액 및 상응하는 염 및 이들의 조합을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.

- [0061] 본 명세서에 사용된 "보존제"는 진균 및 기타 미생물의 성장을 방지하기 위해 사용될 수 있는 화합물을 지칭한다. 본 명세서에 사용된 "보존제"는 벤조산, 부틸 파라벤, 에틸 파라벤, 메틸 파라벤, 프로필 파라벤, 벤조산나트륨, 프로피온산나트륨, 염화벤잘코늄, 염화벤제토늄, 벤질 알코올, 염화세티피리디늄, 클로로부탄올, 페놀, 페닐 에틸 알코올, 2-페녹시에탄올, 페닐 수은 질산염, 티메로살, 메타크레졸 및 이들의 조합을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0062] 본 명세서에 사용된 "등장제"는 생리학적으로 허용되고 제제와 접촉하는 세포막을 가로질러 물의 순 흐름을 방지하기 위해 제제에 적합한 긴장성(tonicity)을 부여하는 화합물을 지칭한다. "등장제"는 글리세린과 같은 화합물이며, 알려진 농도에서 이러한 목적을 위해 일반적으로 사용된다. 다른 가능한 긴장 조절제는 염, 예를 들어 염화나트륨, 텍스트로스, 락토스 및 이들의 조합을 포함한다.
- [0063] 본 명세서에 사용된 "pH 조절제"는 산 및 알칼리의 조합을 의미한다. 본 명세서에 사용된 "pH 조절제"는 o-인산, 시트르산, 아세트산, 숙신산, 락트산, 글루콘산, 타르타르산, 1,2,3,4-부탄 테트라카르복시산, 푸마르산 또는 말산으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 알칼리는 수산화나트륨, 수산화칼륨, 수산화나트륨, 수산화암모늄, 산화마그네슘, 수산화칼슘, 탄산칼슘, 탄산마그네슘, 규산알루미늄마그네슘, 디에탄올아민, 모노에탄올아민, 탄산나트륨, 중탄산나트륨 또는 트리에탄올아민 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0064] 본 명세서에 사용된 "가용화제"는 치료 화합물 및/또는 중합체를 가용화하거나 부분적으로 가용화할 수 있는 물질을 지칭한다. 본 명세서에 사용된 적합한 "가용화제"는 폴리소르베이트 및 폴록사머, 비이온성 및 이온성 계면활성제, 식품 산 및 염기(예를 들어, 중탄산나트륨), 다가 알코올, 알코올 및 이들의 조합과 같은 습윤제를 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.
- [0065] 본 명세서에 사용된 "산성화제"는 양성자 또는 수소 이온을 제공하고 및/또는 전자를 수용하는 화합물을 지칭한다. 적합한 산성화제는 포름산, 아스코르브산, 아스파르트산, 벤젠 술폰산, 벤조산, 염산, 황산, 인산, 질산, 타르타르산, 디아트리지산, 글루탐산, 락트산, 말레산, 숙신산, 아세트산, 시트르산 또는 무수 시트르산 및 이들의 조합을 포함하나 이에 제한되지는 않으며, 이러한 산성화제는 미립자 고체 형태를 포함한다.
- [0066] 본 명세서에 사용된 적합한 "유기 용매"는 N-메틸피롤리돈(NMP), 디클로로메탄, 디메틸포름아미드(DMF), 디메틸아세트아미드(DMAC), 아세토니트릴, 테트라히드로푸란, 디옥산, 메탄올, 에탄올, 이소프로판올, tert-부탄올 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되지만, 이에 제한되지 않는다.
- [0067] 본 명세서에 사용된 적합한 "수성 용매"는 물, 주사용 물, 물과 알코올 혼합물을 포함한다.
- [0068] 본 명세서에 사용된 "계면활성제"는 글리세롤, 소르비톨 등과 같은 다가 알코올의 부분 및 지방산 에스테르 및 에테르(Span®, Tween®, 특히 Tween® 20 및 Tween®80, Myrj®, Brij®, Cremophore® 또는 폴록사머, Pluronic® 및 Tetronics®), 폴리소르베이트(Tween™), 나트륨 도데실 설페이트(라우릴 설페이트 나트륨), 라우릴 디메틸 아민 옥사이드, 세틸트리메틸암모늄 브로마이드(CTAB), 폴리에톡실화 알코올 폴리옥시에틸렌 소르비탄, 옥톡시놀(Triton X100™), N,N-디메틸도데실아민-N-옥사이드, 헥사데실트리메틸암모늄 브로마이드(HTAB), 폴리옥실 10 라우릴 에테르, Brij 721™, 담즙염(나트륨 데옥시콜레이트, 나트륨 콜레이트), 폴리옥실 피마자유(Cremophor™), 노닐페놀 에톡실레이트(Tergitol™), 시클로텍스트린, 레시틴, 메틸벤제토늄 클로라이드(Hyamine™) 및 이들의 조합을 포함하지만 이들에 제한되지 않는다.
- [0069] 본 명세서에 사용된 "산화방지제"는 아스코르브산염(나트륨/산), 중아황산 나트륨, 부틸화 히드록시 아니솔(bha), 부틸화 히드록시 톨루엔(bht), 시스테인/시스테인산 염산염, 디티오나이트 나트륨(나트륨 하이드로설파이트, 나트륨 설포실레이트), 겐티식산, 겐티식산 에탄올아민, 글루타메이트 모노나트륨, 글루타티온, 포름알데히드 설포실레이트 나트륨, 메타비설파이트 칼륨, 메타비설파이트 나트륨, 메티오닌, 모노티오글리세롤(트오글리세롤), 프로필 갈레이트, 설파이트 나트륨, 토코페롤 알파, 알파 토코페롤 수소 속시네이트, 티오글리콜레이트 나트륨 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0070] 본 명세서에 사용된 "하나 이상의 안정화제"는 계면활성제, 항산화제, 보존제, 가용화제, 에스테라제 억제제 및 이들의 조합을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. 하나 이상의 안정화제는 글리세롤, 소르비톨 등과 같은 다가 알코올의 부분 및 지방산 에스테르 및 에테르(Span®, Tween®, 특히 Tween® 20 및 Tween®80, Myrj®, Brij®, Cremophore® 또는 폴록사머, Pluronic® 및 Tetronics®), 폴리소르베이트(Tween™), 나트륨 도데실 설페이트(라우릴 설페이트 나트륨), 라우릴 디메틸 아민 옥사이드, 세틸트리메틸암모늄 브로마이드(CTAB), 글리세롤, 폴리에톡실화 알코올, 폴리옥시에틸렌 소르비탄, 옥톡시놀(Triton X100™), N,N-디메틸도데실아민-N-옥사

이드, 핵사테실트리메틸암모늄 브로마이드(HTAB), 폴리옥실 10 라우릴 에테르, Brij 721™, 담즙염(나트륨 데옥시콜레이트, 나트륨 콜레이트), 폴리옥실 피마자유(Cremophor™), 노닐페놀 에톡실레이트(Tergitol™), 시클로덱스트린, 레시틴, 메틸벤제토늄 클로라이드(Hyamane™), 벤조산, 산화아연으로서의 아연, 부틸파라벤, 에틸 파라벤, 메틸 파라벤, 프로필파라벤, 벤조산나트륨, 프로피온산나트륨, 염화벤잘코늄, 폴리비닐알코올, 염화벤질알코올, 벤질 알코올, 세티피리디늄 클로라이드, 클로로부탄올, 페놀, 페닐에틸알코올, 2-페녹시에탄올, 질산페닐수은, 티메로살, 메타크레졸, 아스코르브산염(나트륨/산), 비설파이트나트륨, 부틸화 히드록시 아니솔(BHA), 부틸화 히드록시 톨루엔(BHT), 시스테인/시스테인산염 HCl, 디티오나이트 나트륨(나트륨 하이드로설파이트, 나트륨 설폭실레이트), 젠티신산, 젠티신산 에탄올아민, 글루타메이트 모노나트륨, 글루타티온, 포름알데히드 설폭실레이트 나트륨, 메타비설파이트 칼륨, 메타비설파이트 나트륨, 메티오닌, 모노티오글리세롤(티오글리세롤), 프로필 갈레이트, 설파이트 나트륨, 토코페롤 알파, 알파 토코페롤 수소 숙시네이트, 티오글리콜레이트 나트륨, 에스테라제 억제제, 이를테면 췌장 분비 억제제, 프로테아제 억제제, 및 세린 에스테라제 억제제, 이를테면 아프로티닌 및 이들의 조합으로부터 선택된다.

[0071] 본 발명의 양태 중 하나는 등전점이 5 내지 8.5인 인슐린 유사체 또는 유도체, 또는 생리학적으로 허용되는 그의 염; 콜라겐; 및 1종 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제 또는 담체를 포함하는 안정한 초 장시간 작용형 주사용 의약 조성물을 제공하고, 여기서 의약 조성물은 2 내지 5의 pH를 가지며; 의약 조성물은 투여 시 용액이고, 투여직 후 생리적 pH (physiological pH)에서 데포(depot)를 형성하며; 의약 조성물은 동일한 농도 또는 동일한 용량을 갖는 상기 '등전점이 5 내지 8.5인 인슐린 유사체 또는 유도체'를 포함하는 주사용 의약 조성물과 비교하여 증가된 생체이용률 및 더 긴 작용 지속시간을 나타내고; 그리고 상기 '등전점이 5 내지 8.5인 인슐린 유사체 또는 유도체'는 인슐린 글라진이다. 인슐린 글라진은 100 IU 내지 1,000 IU/ml의 농도 범위로 존재한다. 본 발명의 바람직한 실시형태에서 인슐린 글라진은 ml당 100 IU 내지 300 IU의 농도 범위로 존재한다.

[0072] 본 발명의 양태 중 하나는 등전점이 5 내지 8.5인 인슐린 유사체 또는 유도체, 또는 이의 생리학적으로 허용되는 염; 콜라겐; 및 하나 이상의 약제학적으로 허용 가능한 부형제 또는 담체를 포함하는 안정한 초 장시간 작용형 주사용 의약 조성물을 제공하고, 여기서 의약 조성물은 2 내지 5의 pH를 가지며; 의약 조성물은 투여 시 용액이고, 투여직 후 생리적 pH (physiological pH)에서 데포(depot)를 형성하며; 의약 조성물은 동일한 농도 또는 동일한 용량을 갖는 상기 '등전점이 5 내지 8.5인 인슐린 유사체 또는 유도체'를 포함하는 주사용 의약 조성물과 비교하여 증가된 생체이용률 및 더 긴 작용 지속시간을 나타내고; 그리고 여기서 조성물에 존재하는 콜라겐은 인간 콜라겐이다. 본 발명에서 사용되는 인간 콜라겐은 재조합 DNA 기술로부터 얻어진다. 본 발명의 바람직한 실시형태에서, 급속 인간 콜라겐 용액은 산성의 콜라겐 용액으로부터 염을 서서히 제거하고 EDTA를 첨가하여 제조된다. 한편, 콜라겐은 3 내지 10 mg/ml의 농도 범위에서 사용해야 한다.

[0073] 본 발명의 조성물은 대사 장애의 치료에 유용하다. 상기 대사 장애는 인슐린 저항성 증후군, 당뇨병, 고지혈증, 지방간 질환, 악액질, 비만, 죽상동맥경화증(atherosclerosis) 및 동맥경화증으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 본 발명의 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 조성물은 제1 유형 및 제2 유형 당뇨병의 치료에 유용하다.

[0074] 본 발명의 조성물은 동일한 농도 또는 용량의 시판되는 조성물과 비교할 때 더 긴 작용 지속시간, 즉 24시간 초과를 나타낸다. 본 발명의 조성물은 주 1 내지 3회 투여될 수 있다.

[0075] 본 발명의 양태 중 하나는 인슐린 글라진 또는 이의 생리학적으로 허용되는 염; 콜라겐; 및 pH 2 내지 5를 갖는 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 부형제 또는 담체를 포함하는 안정한 초 장시간 작용형 주사용의 제조 방법을 개시하고, 여기서 이 방법은 다음 단계를 포함한다:

[0076] a) 수 μ L의 1M HCl의 도움으로 주사용 물에 정확하게 칭량된 아연 함유 인슐린 글라진 결정을 용해하는 단계;

[0077] b) pH 2 내지 5의 완충액을 제조하는 단계;

[0078] c) 완충액에 등장제를 용해하는 단계;

[0079] d) 단계 (A)의 농축 인슐린 글라진을 단계 b)의 완충액으로 희석하는 단계;

[0080] e) 일정하게 교반하면서 단계 d)의 용액에 콜라겐을 첨가하는 단계; 및

[0081] f) 용액의 최종 pH를 2 내지 5로 조절하는 단계.

[0082] 본 발명의 또 다른 양태는 의약 조성물로부터 5.8 내지 8.5의 등전점을 갖는 인슐린 유사체, 유도체 또는 대사물의 방출을 조절하는 방법을 제공한다. 여기서 이 방법은 인슐린 글라진을 콜라겐 및 이의 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 염과 함께 pH 2 내지 5에서 제형화하는 단계 및 투여직 후 생리학적 pH에서 상기 조성물을 침

전시켜 인슐린 주위에 콜라겐의 추가 장벽을 생성하는 단계를 포함한다. 추가 장벽은 인슐린 글라진 침전물이 인슐린 글라진 6량체로 방출 및 6량체에서 단량체로의 방출을 제어할 뿐만 아니라 프로테아제 분해로부터 인슐린을 보호한다.

[0083] 실시형태들은 하기 실시예에서 추가로 규정된다. 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것이며 본 발명의 범위를 어떤 식으로든 제한하려는 것이 아니다.

[0084] **실시예 1: 단위 조성물 제조**

표 1

인슐린 글라진 조성물 (100 IU)

일련 번호	성분	양
1.	인슐린 글라진	100 IU (3.6378 mg) 또는 300 IU (10.9134)
2.	급속 중합 콜라겐(RPC)	3-5 mg
3.	아연(Zn)	25-35 mcg
4.	m-크레졸	2.5-3.0 mg
5.	85% 글리세롤	15-25 mg
6.	폴리소르베이트 20	15-25 mcg
7.	주사용 물	최대 10ml

[0086] 초 장시간 작용성 인슐린 글라진의 제조는 먼저 급속 중합 콜라겐 용액을 제조한 다음 이를 부형제로 사용하여 제조할 수 있었다.

[0087] **A. 급속 중합 콜라겐(Rapid Polymerizing Collagen; RPC) 용액의 제조**

[0088] 시판의 인간 제1유형 콜라겐 2g을 1M 아세트산 50ml에 용해시켜 콜라겐 용액을 제조하였다. 0.5M 아세트산을 사용하여 상기 콜라겐 용액을 2회 투석하고, 0.25M 아세트산을 첨가하여 2 mg/ml가 되도록 희석하였다. 등전점(pH 7)에서 콜라겐을 침전시켰다. 침전물을 주사용 물로 2회 세척하였다. 세척한 침전물을 주사용 물에 현탁시키고, 최소 부피의 1 노르말(normal) HCl을 첨가하여 용해시켰다. 주사용 물을 첨가하여 40 mg/ml로 희석하였다. 용액을 0.2 마이크론 필터를 통해 멸균된 실리콘화 유리병으로 통과시켜 멸균 여과하였다. 이후 멸균 여과된 콜라겐 용액이 들어있는 상기 실리콘화 유리병을 2 내지 8℃에서 보관하였다.

[0089] **상기 제조된 용액의 급속 중합 속성 평가**

[0090] 인산염 완충 식염수 4.5ml를 5개의 유리 시험관에 분배하였다. 유리 시험관에 상기 제조된 급속 중합 콜라겐 용액 0.5 ml를 첨가하여 중합 속성을 시험하였고 시험 결과는 다음과 같았다:

[0091] **PBS 환경에서 RPC 용액의 중합 동역학**

[0092] 시간 관찰

[0093] 0분 변화 없음

[0094] 1.0분 유백색이 나타나기 시작

[0095] 5.0분 투명한 용액 계면이 보이는 겔

[0096] 10분 투명한 데포(depot)

[0097] 20분 피브릴(fibril) 형성

[0098] 상기 제조된 콜라겐은 생리학적 pH 및 염 농도에서 1분 내에 겔 형성을 시작하고, 20분 내에 완전한 피브릴(fibril)을 형성하여 피하 세포외 기질 환경을 모방한다.

[0099] **B. 초 장시간 작용 인슐린 글라진(100 IU)의 제조**

[0100] 182 mg의 인슐린 글라진(5,000 IU)을 주사용 물 25ml에 현탁시킨 후, 최소 부피의 1M HCl을 첨가하여 용해시켰다. 인슐린 글라진 용액에 1.5 mg Zn에 해당하는 ZnCl₂, 135 mg m-크레졸, 1.00 gm 85%(w/v) 글리세롤, 1 mg 폴

리소르베이트 20 및 200 mg RPC(5ml)를 첨가하였다. 이 용액에 1M HCl 몇 방울을 첨가하여 pH를 4로 조절하였다. 이 용액의 부피가 50 ml가 되도록 주사용 물을 첨가하였다. 용액을 멸균된 0.2 마이크론 필터에 통과시켜 필터 멸균하였다. 여과액은 멸균된 10개의 5ml 실리콘 처리된 유리병에 분배하였다.

[0101] **실시예 2: 단위 조성물 제조**

표 2

[0102] 인슐린 글라진 조성물 (300 IU)

일련 번호	성분	양
1.	인슐린 글라진	300 IU (10.9134 mg)
2.	급속 중합 콜라겐(RPC)	3-5 mg
3.	아연(Zn)	25-35 mcg
4.	m-크레졸	2.5-3.0 mg
5.	85% 글리세롤	15-25 mg
6.	폴리소르베이트 20	15-25 mcg
7.	주사용 물	최대 10 ml

[0103] **A. 급속 중합 콜라겐(RPC) 용액의 제조:** RPC 용액은 실시예 1의 A에 기재된 바와 같이 제조된다.

[0104] **B. 실시예 2의 초 장시간 작용 인슐린 글라진(300 IU)의 제조**

[0105] 인슐린 글라진 546 mg, 15,000 IU를 상기와 실시예 1의 B와 같이 용해시켰다. 인슐린 글라진 용액에 4.5 mg Zn에 해당하는 ZnCl₂, 135 mg m-크레졸, 1 mg 85% 글리세롤 및 200 mg RPC(5ml)을 첨가하였다. 1M HCl 몇 방울을 첨가하여 용액의 pH를 조절하였다. 이 용액의 부피가 50 ml가 되도록 주사용 물을 첨가하였다. 용액을 멸균된 0.2 마이크론 필터에 통과시켜 필터 멸균하였다. 여과액은 멸균된 10개의 5ml 실리콘 처리된 유리병에 분배하였다.

[0106] **실시예 3: 글라진 조성물을 시험하기 위한 표준 곡선**

[0107] **인슐린 글라진 조성물의 표준 곡선을 작성하기 위한 희석 용액 제조**

[0108] 주사용 물 25ml에 1.5 mg Zn에 해당하는 ZnCl₂, 135 mg m-크레졸, 1.00 gm 85% 글리세롤, 1 mg 폴리소르베이트 20 및 200 mg RPC(5ml)를 순차적으로 첨가하였다. 1M HCl 몇 방울을 첨가하여 용액의 pH를 4로 조절하였다. 이 용액의 부피가 50 ml가 되도록 주사용 물을 첨가하였다. 이 용액은 인슐린 글라진 조성물의 표준 곡선을 작성하기 위해, 인슐린 글라진을 희석하기 위한 플라세보(placebo)로 사용하였다.

[0109] **HPLC 주입을 위한 샘플 제조**

[0110] 더 장시간 작용하는 인슐린 글라진 용액인 실시예 1의 인슐린 글라진 용액 100 IU/ml를 표준 물질로 사용하였다. 상기 글라진 용액을 상기 제조한 희석 용액을 사용하여 다른 농도로 희석하였다. 희석 용액을 블랭크로 사용하였다. 희석된 샘플 2 ml 분취량을 5 ml 30Kd 컷오프 Vivaspin 튜브에 넣었다. 튜브를 냉장 원심분리기에서 5,000 rpm에서 30분 동안 원심 분리하였다. 여과액을 하기에 기술된 바와 같이 HPLC 분석에 사용하였다.

[0111] **HPLC 방법**

[0112] 크로마토그래피 시스템: Agilent HPLC

[0113] 모드 - LC

[0114] 검출기 - 214 nm

[0115] 컬럼 - Kromasil C18, 3.0mm x 250mm, 4 μ

[0116] 컬럼 온도 - 35°C

[0117] 유속 - 0.6 mL/분

[0118] 주입량 - 5 μL

표 3

[0119]

시간 (분)	용액 A (%)	용액 B (%)
0	96	4
20	83	17
30	63	37
33	96	4

[0120]

분석 - 무수(anhydrous) 기준으로 94.0% 내지 105.0%.

[0121]

분석 결과는 하기 표 4와 같으며, 표준 곡선은 도 1에 그래프로 나타냈다.

표 4

[0122]

실온에서 인슐린 글라진 농도 의존 AUC

IU/mL	AUC
8.000	2569
4.000	1300
2.500	690
1.250	358
0.625	182
0.313	79

[0123]

실시에 4: 인슐린 글라진의 피하로의 방출을 시뮬레이션하는 시험관 내 모델 설정

[0124]

생체 내 글라진의 혈액 pK 프로파일을 모방하는 시험관 내 모델의 검증은 피하("Sc") 경로에 의해 전달된 약물의 pK 프로파일에 대해 제안된 생체 내 모델을 이해하는 것을 필요로 한다. 인슐린 글라진 용액은 투명하고, 완충되지 않은 산성 용액이며, Sc 엑스트라 셀룰라(ECM)에 주입된 후 침전물을 형성하는 등전점이 생리학적 pH인 7.4이다. 한편, 인슐린 글라진은 생체 내에 주입되면, 6량체로 해리되고, 이 6량체는 희석으로 인해 주변 유체로 Zn 및 m-크레졸을 잃고 이량체 및 단량체로 전환된다. 그런 다음 인슐린 글라진 단량체는 혈액에서 M1과 M2로 대사되며 M1은 주요 대사물이다. M1은 표적 조직의 인슐린 수용체와 상호작용하여 한편으로는 약리학적 효과(혈당 저하 반응)를 일으키고 인슐린 분해효소에 의해 더 작은 펩타이드로 분해된 다음 아미노산으로 분해된다. 한편, Tojeo 모델에 따르면, 300 IU 인슐린 글라진은 더 응축된 침전물을 형성하므로 6량체의 방출이 상대적으로 더 느리다. 이에 따라, 인슐린 글라진 이량체 및 단량체의 형성도 더 느리다. 따라서 단량체의 흡수와 M1, M2로의 전환도 아래 도 2에 표시된 대로 비례적으로 더 느리다.

[0125]

그러나, 정맥내 경로로 투여된 동일한 용량의 약물에 대해 혈장 글라진/글라진 대사물 pK 프로파일의 차이는 관찰되지 않았다.

[0126]

제안된 시험관 내 모델은 생체 내 모델을 모방할 수 있어야 한다. 생체 내 모델에서는, Sc 경로를 통해 인슐린 글라진이 전달되는 경우, 인슐린 방출의 단계가 동일한 용량의 100 IU/ml 버전보다 인슐린 글라진 300 IU/ml의 경우 비례적으로 더 느리다는 중요한 관찰을 하였다.

[0127]

본 발명에서는, Sc ECM을 나타내는 투석 튜빙(구획 1)과 혈액을 나타내는 구획 2에 완충 용액(PBS)을 넣어서, Sc 경로의 인슐린 글라진 시험관 내 모델을 구축(도 3 참조)하였고, 인슐린 글라진이 생리학적 완충 용액(PBS)에서 침전물의 반응을 테스트함으로써 생체 내 반응을 검증하고자 했다.

[0128]

구획 1에서 글라진 침전물이 재용해 되면서, 글라진 침전물이 글라진 6량체, 이량체 및 단량체로 해리되고, 투석막의 0.1 미크론 기공(피하 조직의 모세관 기공을 나타냄)을 통해 혈액을 나타내는 투석액(1L PBS 용액; 구획 2)으로 확산되어 대사물 M1, M2를 형성할 것으로 여겨졌다. 따라서, 구획 1에서는 인슐린 글라진 침전물의 재용해가 나타날 것이고, 구획 2에서는 가용성 인슐린 글라진 단량체 및 그 대사물이 수송/확산에 의해 나타날 것이다. 한편, 시험관 내 구획 2에 해당하는 표적 조직 또는 이에 상응하는 조직이 없는 경우 약물의 분해가 관찰되지 않을 수 있다.

[0129]

시험관 내 모델에서 생체 내에서 관찰된 바와 같이, 글라진 300 IU/ml(실시에 2)이 글라진 100 IU/ml(실시에 1)보다 더 느린 방출 단계를 보이는 경우, 본 발명의 시험관 내 모델이 적합하게 검증하였음을 의미하며, 인슐린/

인슐린 글라진 제형의 조절 방출을 테스트하는 데 사용하기 적합한 것을 의미한다. 도 3은 본 발명에서 사용한 시험관 내 모델의 개념을 보여준다.

[0130] **실시예 5: 인슐린 글라진의 시험관 내 프로테아제 유도 방출의 동역학 검증**

[0131] 2가지 구획의 인슐린 글라진 검증 장치(시험관 내 모델)는 전술(실시예 4)한 바와 같이 설정되었으며, 각 장치에는 입구가 넓은 1L 쇼트(Schott) 병과 상기 병 안에 떠 있는 10 ml의 100 Kd 절단 투석 튜브가 있다. 완전히 사전 세척되고 사전 멸균된(70% 에탄올 수용액에 담그고 PBS로 평형화함) 투석 튜브에 5 ml의 멸균 PBS(pH 7.4)를 추가하고, 이 튜브를 멸균 PBS(pH 7.4) 1L를 포함하는 사전 멸균된 1L 쇼트 병에 장착함으로써, 투석 튜브가 부유체(floater)에 수직으로 유지된다. 멸균 테프론 코팅 5.08 cm x 0.95 cm 자석 막대를 각 병에 넣고, 장치를 무균 후드 아래 자기 교반기에 배치하였다.

[0132] 세트 1에는 실시예 1의 0.5 ml 100 IU/ml 글라진(약명: Lantus)을 투석 튜브 내의 PBS에 첨가하고, 세트 2에는 실시예 2의 0.5 ml 300 IU/ml 글라진(약명: Tojeo)을 첨가하였다.

[0133] 각 구획 1(투석 튜브)에는 10 mm 단위의 필터 멸균된 r-랫트 트립신(r-rat trypsin), 20 마이크로리터 용액을 추가하였다. 이후 자기 교반기를 켜고 교반을 100 rpm으로 설정하였다. 0.5 ml 샘플을 상이한 간격으로 각 구획(투석 튜브 및 병으로부터)에서 회수하였다. 샘플을 가용성 인슐린 글라진에 대해 HPLC로 분석하고, 그 결과를 하기에 표에 나타냈다:

표 5

[0134] 구획 2에서의 가용성 인슐린 글라진의 시험관 내 프로테아제 유도 방출의 동역학 관찰 결과

시간 (h)	방출된 글라진 (Milli IU/ml)			
	Lantus(글라진 100 IU/ml; 0.6 ml)		Tojeo (300 IU/ml ; 0.20 ml)	
	구획 1	구획 2	구획 1	구획 2
0	0	0	0	0
0.50	90	89	75	66
1.00	118	120	124	126
2.00	230	228	155	153
4.00	288	290	194	196
6.00	360	362	248	246
8.00	450	460	310	307

[0135] 위의 표에 제시된 결과로부터, 30분 후 인슐린 글라진 방출은 두 구획 모두에서 유사한 것으로 나타났다. 이후 가용성 인슐린 글라진의 방출은 구획 1에서 전자의 더 콤팩트한 인슐린 글라진 침전물/결정 형성으로 인해 Lantus(100 IU/ml 글라진 제형)보다 Tojeo(300 IU/ml 글라진 제형)에서 비례적으로 지연된 것을 확인할 수 있었다. 이는 본 발명의 시험관 내 모델 실험에서 생체 내 인간 및 동물 pK 연구와 유사한 관찰이 확인되었음을 의미한다.

[0136] 따라서, 본 발명에서는 구획 1의 데포(depot)로부터 글라진 재용해 및 구획 2로의 글라진 흡수/확산에 대한 급속 중합 콜라겐(RPC) 추가의 효과를 평가하기 위해 이 시험관 내 방법을 사용하기로 결정하였다.

[0137] **실시예 6 및 7: 인슐린 글라진에 대한 콜라겐의 상이한 농도의 효과 검증**

[0138] 6개의 20ml 유리병에 '인슐린 글라진 100 IU/ml의 2배 농도 제형' 10ml를 각각 첨가하고, 숫자 1부터 5까지 표시하였다. 1번 유리병은 비워두고, 2 내지 5번의 유리병에 각각 급속 중합 콜라겐(RPC) 10, 20, 40 및 50 mg(0.25, 0.5, 1.0, 및 1.25ml 용량)을 첨가하였다. 이후 각각 10ml가 되도록 제조하였다.

[0139] 5개의 인슐린 글라진 검증 장치(시험관 내 모델)를 준비하였다. 제1 구획인 투석 튜브에 상기 제조한 5가지의 인슐린 글라진 100 IU/ml(0, 1, 2, 4, 5 mg/ml RPC 함유) 0.5 ml를 각각 주입하였다. 각각의 제2 구획인 병에서 0.5ml 샘플을 다른 시간 간격으로 회수하여 샘플에서 인슐린 글라진 함량을 분석하였다.

표 6

[0140]

가용성 인슐린 글라진(100 IU) 방출의 RPC 농도 의존적 지연

시간 (h)	Milli IU 인슐린 글라진 방출 RPC 농도 (mg/ml)				
	0	1	2	4	5
0	0	0	0	0	0
0.5	80	78	65	58	60
1.0	175	170	80	98	120
2.0	230	220	160	145	160
4.0	288	260	250	195	190
6.0	360	348	376	247	255
8.0	455	440	400	305	310

[0141]

6개의 20ml 유리병에 '인슐린 글라진 300 IU/ml의 2배 농도 제형' 10ml를 각각 첨가하고, 숫자 1부터 5까지 표시하였다. 1번 유리병은 비워두고, 2 내지 5번의 유리병에 각각 급속 중합 콜라겐(RPC) 10, 20, 40 및 50 mg(0.25, 0.5, 1.0, 및 1.25ml 용량)을 첨가하였다. 이후 각각 10ml가 되도록 제조하였다.

표 7

[0142]

가용성 인슐린 글라진(300 IU) 방출의 RPC 농도 의존적 지연

시간 (h)	Milli IU 인슐린 글라진 방출 RPC 농도 (mg/ml)				
	0	1	2	4	5
0	0	0	0	0	0
0.5	58	55	50	45	50
1.0	90	88	75	50	55
2.0	148	150	115	60	65
4.0	230	230	166	126	136
6.0	315	318	210	190	205
8.0	397	400	263	255	279

[0143]

실시예 8: 실시예 1 의약 조성물의 시험관 내 방출

표 8

[0144]

인슐린 글라진-RPC(100 IU) 조성물의 시험관 내 방출

시간 (h)	실시예 1로부터의 글라진 방출 (Milli IU/ml)
2	148
4	200
6	258
8	318

[0145]

실시예 9: 실시예 2 의약 조성물의 시험관 내 방출

표 9

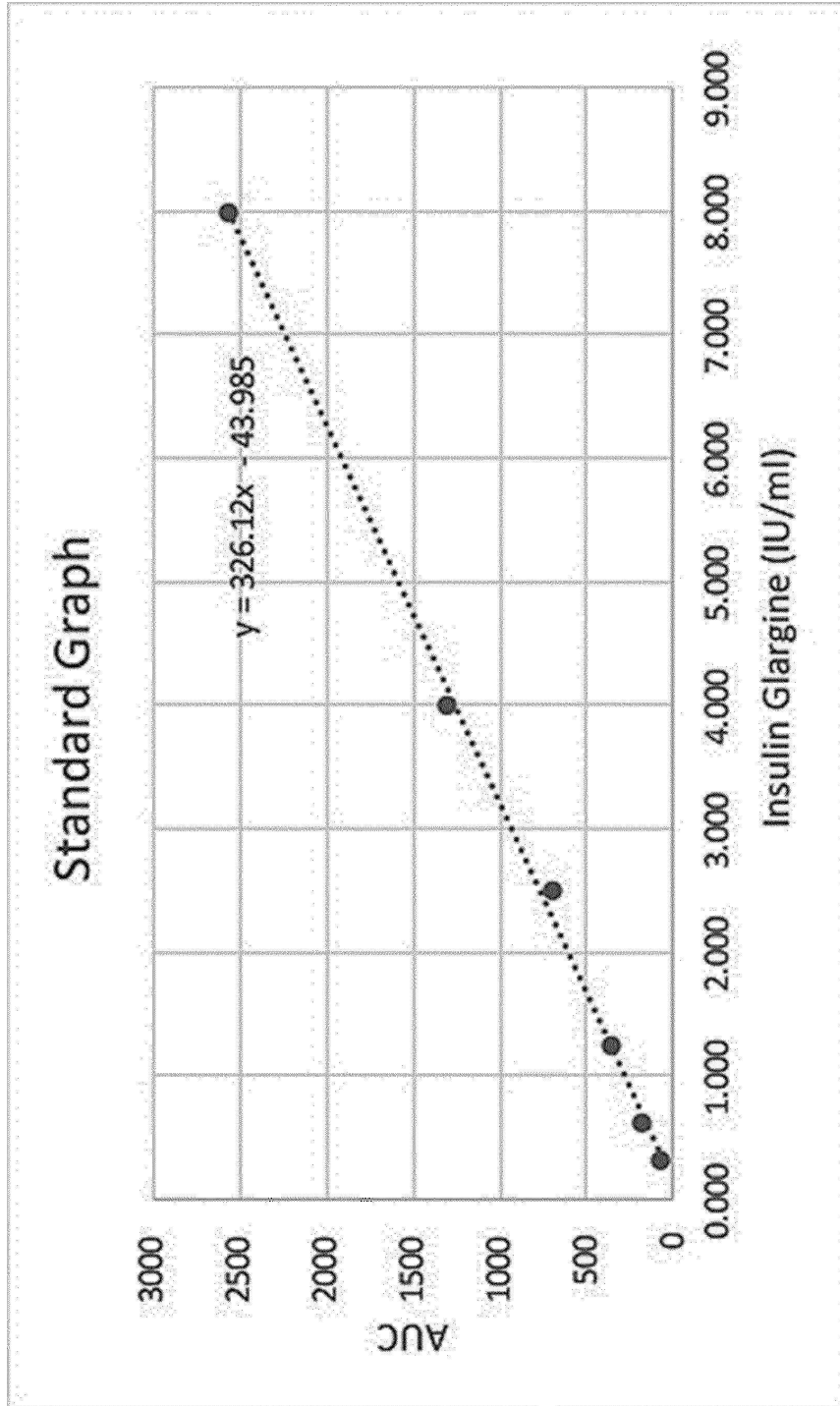
[0146]

인슐린 글라진-RPC(300 IU) 조성물의 시험관 내 방출

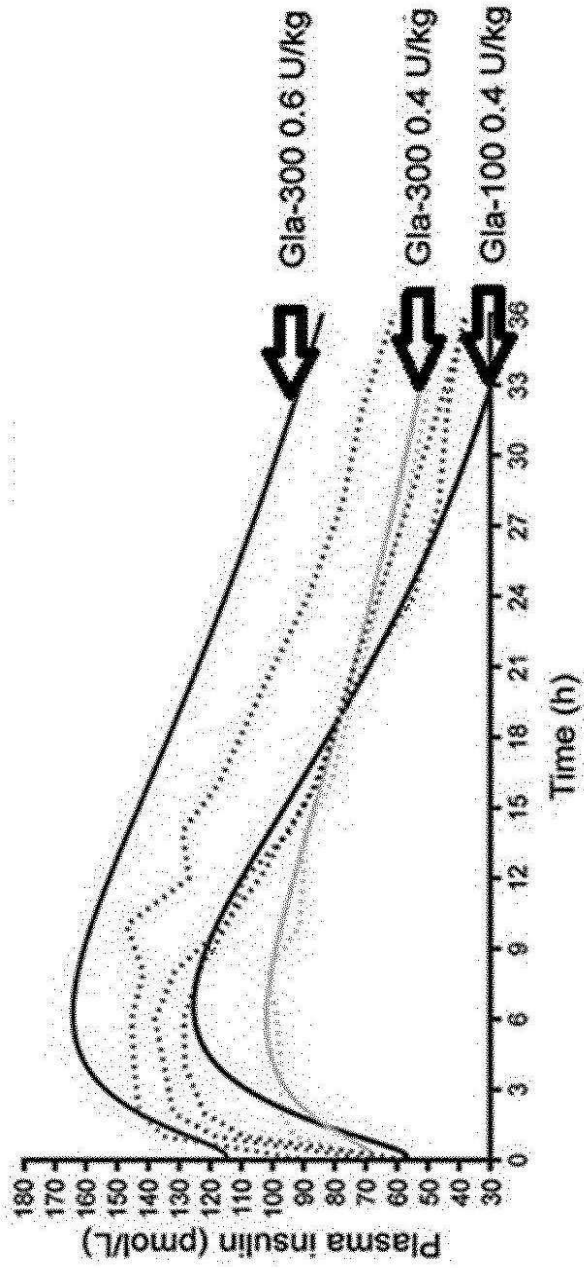
시간 (h)	실시예 2로부터의 글라진 방출 (Milli IU/ml)
2	50
4	95
6	142
8	196

도면

도면1



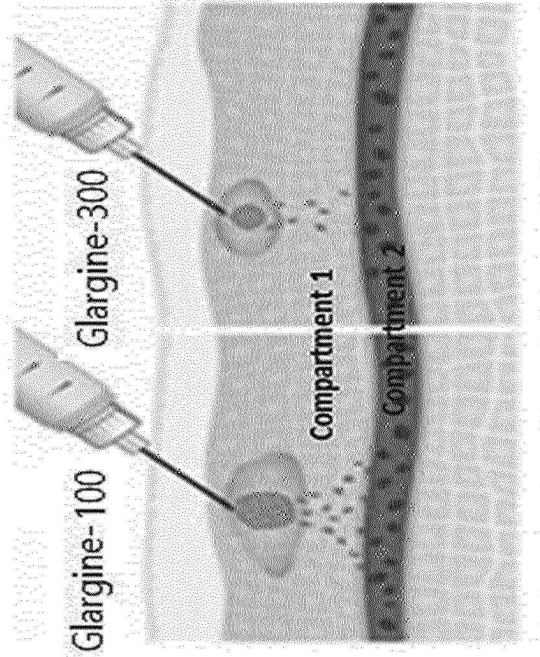
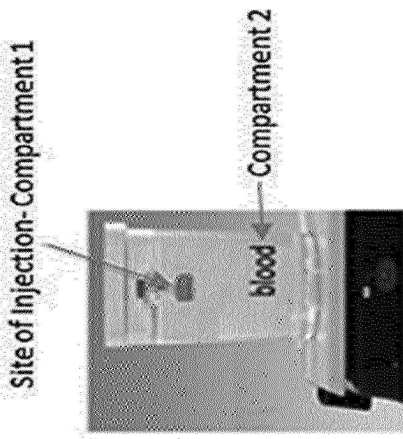
도면2



매일 1회 Gla-100 또는 Gla-300을 정상 상태로 사용하여 36시간 동안의 혈장 인슐린 농도 시뮬레이션. 0.4 U/Kg (2.4 nmol/kg)의 Gla-100과 0.4 U/kg (2.4 nmol/kg) 또는 0.6 U/kg (3.6 nmol)을 투여받는 제1 유형 당뇨병 환자(체중 80kg)를 기반으로 한 시뮬레이션. 예시를 위해, 24시간째의 주사는 모델화 되지 않음. 실선 = 시뮬레이션 데이터. 점선 = 제1 유형 당뇨병 환자를 대상으로 한 정상 혈당 클램프 연구의 실험 데이터.

도면3

Sc 글라진 주사 pK 시뮬레이션 2 구획 시험관내 모델



시험관내 인슐린에 적합한 200 ml
 PBS-혈액 구획에서 부유체 투석 100
 kd 컷오프 막 튜브(5ml PBS 주사 부위)