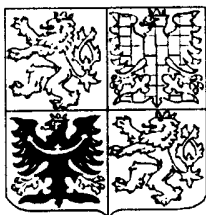


ČESKÁ
REPUBLIKA

(19)



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA
VYNÁLEZU (12)

(22) 01.04.92
(32) 03.04.91, 14.11.91
(31) 91/679706, 91/792105
(33) US, US
(40) 15.09.93

(21) 972-92

(13) A3

5(51)

A 61 K 31/395
A 61 K 31/435

- (71) AMERICAN HOME PRODUCTS CORPORATION, New York, New York, US;
- (72) Baeder William Lee, Cranbury, New Jersey, US;
Sehgal Surendra Nath, Princeton, New Jersey, US;
Adams Laurel Moore, Druham, N. Carolina, US;
Caggiano Thomas Joseph, Morrisville, Pennsylvania, US;
- (54) **Farmaceutický prostředek pro léčení diabetu**
- (57) Farmaceutický prostředek pro léčení diabetu, závislého na insulinu, jako účinnou složku obsahuje rapamycin spolu s farmaceutickým nosičem.

972-92

UR/D	10 III 93	00510	10188	831
PRÁČ. ÚVĚHO				
VLASTNÍ CVIČ				
PŘÍL.				

Farmaceutický prostředek pro léčení diabetu

Oblast vynálezu

Vynález se týká farmaceutického prostředku s obsahem rapamycinu pro léčení diabetu.

Dosavadní stav techniky

Na insulinu závislý diabetes mellitus (insulin dependent diabetes mellitus = dále jen IDDM), je nemoc objevující se u 0,3 % obecné populace, je spojena s nedostatečnou produkcí insulinu způsobující metabolické změny, jako je hyperglykemie, glykosurie a snížené jaterní hladiny glykogenu. Klinicky se nemoc nejprve projevuje neutišitelným hladem, častým močením a neuhasitelnou žízní. Dokonce při léčení exogenně podávaným insulinem se objevují komplikace jako jsou retinopatie, neuropatie, periferní vaskulární onemocnění, atherosklerosa, ztráta hmotnosti, náhlé příhody (jako paralyza), renální selhání a koma vedoucí k smrti.

Etiologie IDDM je přičítána autoimunní odpovědi beta-buněk ostrůvků pankreatu. Pankreatické ostrůvky jsou infiltrovány lymfocyty (insulitis) a insulin produkující beta-buňky jsou zničeny. Přibližně 80 % beta-buněk je zničeno, předtím než se objeví klinicky pozorovatelné symptomy. Adop-
 tivní přenosové studie u NOD myši (DV Serreze, Diabetes 37 : 252, 1988) ukázaly, že T-buňkami zprostředkované děje se z počátku objevují u IDDM, zatímco humorální abnormality (cytoplasmické ostrůvky buněk, insulinové a 64 kd proteinové antoprotilátky) přispívají později v průběhu postupu nemoci (M. A. Atkinson, Scientific A., 62, 1990). Genetická vnímavost ovlivňující třídu II hlavního histokompatibilního komplexu (MHC) zdá se mít větší úlohu v tomto autoimunním onemocnění. Přibližně 60 až 70 % této vnímavosti se nalézá v HLA oblasti (A. C. Tarn,

Lancet 845, 1988). Více než 95 % z těchto jedinců s IDDM jsou HLA-DR3 a/nebo DR4 pozitivní, zatímco DR2 je negativně spojena s onemocněním (K. Wilson, Ann. Rev. Med. 41 : 497, 1990).

Protože léčení IDDM s doplňujícím insulinem není úplně uspokojivé, současný výzkum se zaměřuje na vývoj prostředků pro léčení a prevenci IDDM. Bylo užito několik zvířecích modelů ke studiu etiologie IDDM a vyhodnocení potenciálních forem léčení a prevence.

Dva standardní zvířecí modely byly vyvinuty, které se vyrovnají lidskému IDDM. První standardní zvířecí model vyvinutý Tochinem (Experta Medica, 295, 1982), neobesní diabetická (NOD) myš, je kmen myší, u kterého spontánně vzniká IDDM. Insulitida se zpočátku pozoruje kolem asi 30 dnů věku, a kolem 140 dnů věku, přibližně 70 % samic NOD myší vykazuje IDDM. Byla také pozorována značná infiltrace mononukleárními buňkami obklopující a/nebo invadující Langerhansovy ostrůvky se současnou destrukcí beta-buněk (Y. Mori, Diabetologia, 29 : 244, 1986). Druhým standardním zvířecím modelem jsou bio-pěstované (breeding = BB) krysy, které vyvíjí velké abnormality imunní odpovědi včetně T-buněčné lymfopenie předcházející a provázející nástup IDDM (C. R. Stiller, Science 223 : 1362, 1984).

Imunosupresivní látky cyklosporin A (CsA) a FK-506 byly hodnoceny u BB krysí a NOD myšího modelu IDDM, a CsA bylo hodnoceno v klinických zkouškách u lidí. Bylo prokázáno, že CsA je účinné v profylaktické prevenci nástupu IDDM a insulitidy jak u NOD myšího tak u BB krysího standardního zvířecího modelu, ale byl je částečně účinný při zmírnění IDDM, když byl poprvé aplikován po nástupu počátečních symptomů IDDM (B. Formby, J. Pharm. Exp. Ther., 241 : 106, 1987).

C. R. Stiller, Metabolism 32, Suppl. 1 : 69, 1983 a M. A. Jaworski, Clin. Invest. Med., 10 : 488, 1987). Jedna studie uvedla, že CsA měl malý terapeutický účinek na IDDM u NOD

myšího standardního modelu po nástupu IDDM (Y. Mori, Diabetologia, 29 : 244, 1986).

CsA byl hodnocen v několika klinických studiích u nově diagnostikovaných IDDM pacientů. Léčení CsA vykazalo snížení dávkovacích požadavků na exogenně aplikovaný insulin a vyvolalo remise (neinsulinovou závislost) asi 23 až 50 % pacientů v těchto studiích do jednoho roku. Procento remisí bylo nejvyšší u pacientů, kteří začali léčení CsA co nejdříve po diagnóze IDDM. Údaje o dlouhodobosti remise po zastavení působení CsA jsou neúplné. Jedna studie referovala o remisích trvajících výše než 9 měsíců, zatímco několik dalších studií uvedlo, že remise nepřetrvávaly po vysazení léčení CsA.

(G. Feutren, Lancet 119, 1986, J. Dupre, Diabetes 37 : 1574, 1988, C. R. Stiller, Science 223 : 1362, 1984, R. Lipton, Diabetes Care, 13 : 776, 1990, K. Wilson, Annu. Rev. Med. 41 : 497, 1990).

Bylo demonstrováno, že FK-506 předchází nástup IDDM jak u NOD, tak u 88 standardních zvířecích modelů IDDM. Dvě studie ukázaly, že FK-506 vyvolala prevenci IDDM trvajících 45 dní a 20 týdnů respektive, později po ukončení působení FK-506 u asi 75 % zvířat se nevyvinul IDDM, když FK-506 léčení bylo skončeno. (N. Murase, Diabetes, 39 : 1534, 1990, K. Kurasawa, Clin. Immun. Immunopath., 57 : 274, 1990, J. Miyagawa, Diabetologia. 33 : 503, 1990).

Rapamycin, makrocyclické trienové antibiotikum produkované *Streptomyces hygroscopicus* (U.S. patent 3 929 002) má, jak bylo ukázáno, preventivní působení na vytváření humorálních (IgE-podobných) protilátek v odpovědi na albuminovou alergickou výzvu (R. Martel, Can. J. Physiol. Pharm., 55 : 43, 1977), inhibuje aktivaci myších T-buněk (M. Staruch, FASEB 3 : 3411, 1989) a prodlužuje přežívací čas orgánových roubů u histoinkompatibilních mlodavců (R. Morris, Med. Sci. Res., 17 : 377, 1989).

Podstata vynálezu

Podstatu tohoto vynálezu tvoří farmaceutický prostředek pro léčení diabetu, závislého na insulinu, vyznačující se tím, že jako svou účinnou složku obsahuje rapamycin spolu s farmaceutickým nosičem.

Farmaceutický prostředek podle vynálezu popřípadě také obsahuje insulin v nižším množství, než jakého by bylo zapotřebí při použití samotného insulinu bez rapamycinu.

Účinek rapamycinu na IDDM byl stanoven u NOD myší. Diabetes u NOD myší má následující podobnosti s lidskou IDDM:

- 1) diabetes je geneticky spojen s místy, v rozsahu hlavní histokompatibilní oblasti,
- 2) infiltrace pankreatických ostrůvků lymfocyty (insulitis) je spojena se selektivní destrukcí insulin sekretujících beta-buněk, a
- 3) autoprotilátky proti antigenům povrchu ostrůvků jsou detekovatelné v krvi (M. Fagan, Diabetes, 40:715, 1991). NOD myší model byl také popsán jako hodnotný nejenom pro osvětlení patogenesy typu I IDDM u člověka, ale i v určení a testování účinných terapií pro prevenci IDDM (E. Leiter, Am. J. Path., 128:380, 1987). NOD myš je proto považována za standardní zvířecí model odpovídající IDDM u lidí.

Užité postupy a získané výsledky jsou popsány níže. CSA bylo také hodnoceno u NOD myší za identických klinických podmínek, ke srovnávacím účelům.

Samice H00 myši byly pěstovány v barierovém zařízení a krmeny potravou a vodou ad libitum. Rapamycin byl hodnocen ve dvou testových postupech, které hodnotily různé rozsahy dávek. V první studii byly myši náhodně rozděleny do čtyř pokusných skupin: naivní kontrola, CsA (12 mg/kg), rapamycin (6 mg/kg) a rapamycin (12 mg/kg). Jednotlivé pokusné skupiny měly buď šest nebo sedm myši ve skupině. V druhé studii, myši byly náhodně rozděleny do pěti pokusných skupin: naivní kontrola, vehikulová kontrola, rapamycin (6 mg/kg), rapamycin (0,6 mg/kg) a rapamycin (0,06 mg/kg). Skupiny v druhé studii měly každá deset myši. Obě imunosupresivní látky byly rozpuštěny ve vehikulu obsahujícím 3 % cremofor EL a 2 % ethanol. V první studii aplikace látky začala při 56 dnech věku myši a pokračovala třikrát týdně orálně dokud myši nedosáhly 170 dní stáří. Hmotnost a spotřeba vody byly měřeny na týdenním základě. Krev byla shromažďována v pravidelných intervalech a krevní plasmatické hladiny glukosy byly měřeny enzymaticky. Plasmatické hladiny beta-hydroxybutyrátu, triglycerické a cholesterol byly hodnoceny po konci působení v druhé studii.

Následující tabulka ukazuje střední plasmatické hladiny glukosy pro myši v každé pokusné skupině první studie. Plasmatické hladiny jsou v mg/dl.

Střední plasmatické hladiny glukózy (mg/dl_{±SE})-studie 1

stáří myši	naivní kontrola	Pokusná skupina		
		Rapamycin 6 mg/kg	Rapamycin 12 mg/kg	CsA 12 mg/kg
56 dní	130 _{±5}	113 _{±3}	114 _{±3}	126 _{±2}
66 dní	102 _{±4}	128 _{±6}	116 _{±10}	106 _{±9}
73 dní	119 _{±3}	147 _{±14}	128 _{±5}	127 _{±6}
85 dní	128 _{±8}	138 _{±4}	145 _{±14}	128 _{±5}
94 dní	128 _{±4}	155 _{±8}	143 _{±15}	137 _{±4}
108 dní	137 _{±10}	134 _{±2}	122 _{±6}	130 _{±8}
129 dní	398 _{±133}	150 _{±7}	141 _{±4}	357 _{±0}
143 dní	660 _{±101}	133 _{±6}	137 _{±9}	404 _{±72}
157 dní	483 _{±122}	137 _{±6}	129 _{±11}	570 _{±75}
171 dní	475 _{±69}	151 _{±7}	147 _{±7}	562 _{±52}

Výsledky získané v druhé studii jsou ukázány níže.

stáří myši	naivní kontrola	nosné prostředí	Pokusná stupnice		
			Rapamycin 6mg/kg	Rapamycin 0,6 mg/kg	Rapamycin 0,06mg/kg
79 dní	124 _{±3,7}	138 _{±6,6}	151 _{±4,5}	139 _{±3,2}	129 _{±3,3}
107 dní	420 _{±192}	388 _{±109}	124 _{±3,0}	130 _{±6,2}	430 _{±113}
135 dní	603 _{±46}	595 _{±17}	156 _{±7,4}	139 _{±5,3^x}	598 _{±44}
176 dní	766 _{±76}	769 _{±139}	161 _{±15}	142 _{±19}	718 _{±99}

^x Jedna z deseti myši se stala diabetickou (678 mg/dl) a zahynula ve stáří 166 dní. Tato hodnota není zahrnuta do průměru skupiny.

Kriteriem užitým k určení zřejmého nástupu IDDM byly plasmatické hladiny glukosy soustavně nad 200 mg/dl. S výjimkou jedné myši ve skupině s dávkou 0,6 mg/kg, plasmatické hladiny glukosy u myši léčených rapamycinem v orálních dávkách 12,6 a 0,6 mg/kg zůstávaly pod 200 mg/dl v průběhu vlastní periody působení a demonstrovaly, že rapamycin předchází nástupu IDDM. Podle očekávání neovlivněná IDDM myši (naivní) vyvinuly IDDM za 129 dní ve studii 1 a za 107 dní ve studii 2, jak u naivní tak u vehikulem léčených IDDM myši. Tyto výsledky také ukazují, že CsA za těchto podmínek je neúčinný v prevenci nástupu IDDM; střední plasmatické hladiny glukosy byly nad 200 mg/dl za 129 dní. Rapamycin podávaný orálně v 0,06 mg/kg byl rovněž neúčinný v prevenci nástupu IDDM.

Následující tabulka ukazuje procento myši v každé pokusné skupině, u kterých vznikl IDDM. Plasmatické hladiny glukosy soustavně nad 200 mg/dl byly považovány za určující pro nástup IDDM.

Procento myši u kterých vznikl IDDM-studie 1

stáří myši	Pokusná skupina			
	naivní kontrola	Rapamycin 6mg/kg	Rapamycin 12 mg/kg	CsA 12 mg/kg
129 dní	33 %	0 %	0 %	14 %
143 dní	33 %	0 %	0 %	43 %
157 dní	67 %	0 %	0 %	57 %
171 dní	67 %	0 %	0 %	71 %

Následující tabulka ukazuje výsledky získané ve druhé studii.

Procento myší u kterých vznikl IDDM-studie 2

stáří myší	Pokusná skupina				
	naivní kontrola	nosné prostředí	Rapamycin 6 mg/kg	Rapamycin 0,6mg/kg	Rapamycin 0,06mg/kg
79 dní	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
107 dní	20 %	30 %	0 %	0 %	30 %
135 dní	50 %	50 %	0 %	10 %	60 %
176 dní	60 %	60 %	0 %	10 %	60 %

V první studii byl nástup IDDM pozorován za 129 dní u myší, které byly buď neléčené nebo léčené CsA. Za 171 dní 67 % neléčených myší a 71 % myší léčených CsA vznikl IDDM. V první studii rapamycin v orálních dávkách 6 a 12 mg/kg signifikantně ($p = 0,008$, Fisherův přesný test) předcházel nástupu IDDM ve srovnání s kontrolní skupinou. Žádná rapamycinem léčená myš (6 mg/kg a 12 mg/kg) nevyvinula IDDM. Ve druhé studii rapamycin v orálních dávkách 6 a 0,6 mg/kg předcházel nástupu u 10 z 10 a 9 z 10 hodnocených myší respektive. Výskyt IDDM u rapamycinu léčených NOD myší v druhé studii byl signifikantně nižší ($p = 0,029$ pro 0,6 mg/kg a $p = 0,005$ pro 6 mg/kg rapamycinu), než výskyt pozorovaných naivních nebo vehikulem léčených NOD myší. Nebyly žádné signifikantní rozdíly ve výskytu IDDM u naivních (neléčených) myší a u myší léčených vehikulem. Výsledky demonstrují, že rapamycin účinně předcházel vývoji IDDM v orálních dávkách 12,6 a 0,6 mg/kg.

Progresivní vzestup ve spotřebě vody je pozorován s nástupem IDDM jak u NOD myší, tak u lidí. Následující tabulka ukazuje střední spotřebu vody pro NOD myši v každé pokusné skupině.

Střední spotřeba vody (ml/den \pm SE)-studie 1

stáří myši	Pokusná skupina			
	naivní kontrola	Rapamycin 6 mg/kg	Rapamycin 12 mg/kg	CsA 12 mg/kg
60 dní	4,3 \pm 0,04	3,4 \pm 0,4	4,0 \pm 0	4,6 \pm 0,1
74 dní	5,0 \pm 0,02	4,5 \pm 0,1	4,5 \pm 0,1	4,3 \pm 0,04
88 dní	5,2 \pm 0,02	5,0 \pm 0,1	5,6 \pm 0,3	4,5 \pm 0,1
102 dní	5,1 \pm 0,1	4,3 \pm 0,2	5,6 \pm 0,1	4,0 \pm 0,2
116 dní	5,5 \pm 0,2	4,6 \pm 0,2	6,6 \pm 0,3	4,2 \pm 0,2
130 dní	8,8 \pm 1,7	5,2 \pm 0,1	6,6 \pm 0,2	4,7 \pm 0,2
144 dní	17,2 \pm 5,5	5,2 \pm 0,2	6,5 \pm 0,5	9,5 \pm 0,5
158 dní	16,7 \pm 4,9	4,5 \pm 0,1	5,8 \pm 0,8	13,3 \pm 0,4
172 dní	19,6 \pm 3,3	4,8 \pm 0,1	6,9 \pm 0,6	24,5 \pm 0,2

Následující výsledky byly získány ve druhé studii.

Střední spotřeba vody (ml/den \pm SE)-studie 2

stáří myši	Pokusná skupina				
	naivní kontrola	nosné prostředí	Rapamycin 6mg/kg	Rapamycin 0,6mg/kg	Rapamycin 0,06mg/kg
75 dní	4,4 \pm 0	4,4 \pm 0,1	4,9 \pm 0	4,4 \pm 0,1	4,3 \pm 0,1
89 dní	4,5 \pm 0,1	4,0 \pm 0	4,2 \pm 0,1	4,0 \pm 0,1	4,2 \pm 0
103 dní	7,1 \pm 1,2	6,3 \pm 0,9	4,4 \pm 0,1	4,2 \pm 0,1	6,9 \pm 0,3
117 dní	7,5 \pm 1,2	3,5 \pm 1,5	4,7 \pm 0,1	5,2 \pm 0,2	10,2 \pm 1,6
131 dní	10,5 \pm 1,2	14,0 \pm 1,6	4,7 \pm 0	5,3 \pm 0,3	17,0 \pm 3,6
146 dní	16,3 \pm 2,2	22,9 \pm 2,2	4,9 \pm 0,1	3,3 \pm 2,2 ^x	16,1 \pm 1,3
159 dní	17,2 \pm 1,5	20,3 \pm 2,4	4,3 \pm 0,1	5,5 \pm 0,6	21,3 \pm 1,9
173 dní	20,1 \pm 1,5	14,6 \pm 2,9	4,7 \pm 0,1	5,2 \pm 0	15,4 \pm 2,3

x U jedné z deseti myší se rozvinul diabetes (678 mg/dl) a zanyula ve stáří 166 dní. Tato hodnota byla zahrnuta do průměru skupiny a vede ke zvýšenému průměru spotřeby vody pozorovaném za 145 dní.

Výsledky ukazují, že rapamycin v orálních dávkách 12,6 a 0,6 mg/kg předcházel progresivní vzestup ve spotřebě vody, který je spojen s nástupem IDDM; spotřeba vody vzrostla jen málo v průběhu času souhlasně s normálním nárůstem hmotnosti myší. Spotřeba vody neléčených IDDM myší rostla, jak je očekáváno s nástupem IDDM. Myši léčené CsA spotřebovaly vodu přibližně ve stejných množstvích jako neléčené myši, což znamená, že CsA za těchto podmínek nepředchází nástupu IDDM.

Ve druhé studii bylo léčení započato ve stáří myší 64 dní. Po skončení léčení ve druhé studii, když myši měly 176 dní stáří, byly měřeny plasmatické hladiny beta-hydroxybutyrátu, triglyceridů a cholesterolu. U NID myší, u kterých vznikl IDDM, hladiny beta-hydroxybutyrátu, triglyceridů a cholesterolu byly signifikantně zvýšeny ve srovnání s vehikulovou kontrolou u nediabetických myší. Podobné zvýšení hladin beta-hydroxymáselnanu, triglyceridů a cholesterolu bylo pozorováno u lidí s IDDM. Léčení rapamycinem buď 0,6 nebo 6 mg/kg orálně, předcházelo zvýšení hladin beta-hydroxymáselnanu, triglyceridů a cholesterolu, které je spojeno s nástupem a progresí IDDM, čímž dále potvrdilo schopnost předcházet nástupu IDDM u NID myší.

Po zastavení léčení rapamycinem v druhé studii, myši u kterých nevznikl IDDM v průběhu studie (100 % NID myší při 6 mg/kg a 90 % NID myší při 0,6 mg/kg) bylo hodnoceno po dalších 41 týdnů k dalšímu stanovení ochranného účinku rapamycinu. Následující tabulka ukazuje výskyt IDDM po zástavě aplikace

rapamycinu u 1100 myší, u kterých nevznikl IDDM v průběhu léčení rapamycinem. Nástup IDDM byl stanoven hladinami plasmatické glukosy a ostatními klinickými znaky IDDM včetně ztráty hmotnosti a zvýšené spotřeby vody.

Výskyt IDDM po zástavě léčení - studie 2^x

počet týdnů po zástavě	Rapamycin (6 mg/kg) procento IDDM	Rapamycin (0,6 mg/kg) procento IDDM
1	0 %	0 %
3	0 %	0 %
6	0 %	11 %
9	0 %	11 %
15	0 %	11 %
21	0 %	22 %
26	0 %	22 %
33	0 %	33 %
37	0 %	33 %
41	0 %	33 %

^x V hodnocení této části je zahrnuto 10 myší léčených 6 mg/kg rapamycinu, u kterých nevznikl IDDM v průběhu léčebného období a 9 myší léčených 0,6 mg/kg rapamycinu, u kterých nevznikl IDDM v průběhu léčebného období.

Tyto výsledky ukazují, že rapamycin nejen předcházel nástupu IDDM v průběhu období léčení, ale léčení rapamycinem buď redukovalo očekávané hladiny výskytu nemoci nebo předcházelo nástupu IDDM po zástavě léčení, což indikuje, že počáteční léčení rapamycinem zachovává funkci beta-buněk dokonce i po zástavě léčení. Tyto údaje dále potvrzují schopnost

rapamycinu profylakticky předcházet nástupu IDDM. Nadto tyto údaje vedou k domněnce, že kontinuální dlouhodobé léčení nemusí být nutné, ale pravděpodobně dovoluje intramitentní dávkový režim aplikace rapamycinu k prevenci nástupu, zklidnění vývoje nebo zpomalení progresu IDDM.

Výsledky těchto standardních farmakologických testů in vivo napodobujících IDDM u lidí demonstrují, že rapamycin účinně předcházet zřejmý nástup IDDM a je proto užitečný v profylaktické prevenci nástupu, zklidnění vývoje nebo zpomalení progresu IDDM.

Rapamycin (6 mg/kg) byl také aplikován intermitentně NOD myším, u kterých se již vyvinul IDDM (130 - 144 dní stáří), a byl neschopen zvrátit průběh nemoci. Je možné, že rapamycin nemohl zvrátit průběh IDDM, protože intermitentní dávkové schéma nemusí zvednout krevní hladiny rapamycinu na terapeutickou úroveň tak včas, aby zrušily ohrožení zbývajících pankreatických beta-buněk T-lymfocyty. Vyšší krevní hladiny rapamycinu jsou získány, když je rapamycin aplikován parenterálně. Po nástupu IDDM rapamycin by měl být aplikován v dostatečných dávkách (výhodně cestou parenterální aplikace), a výhodně v kombinaci s insulinem ke zklidnění vývoje a zpomalení progresu IDDM, při zachování jakýchkoli beta-buněk, které dosud nebyly zničeny. Kombinační terapie v klinických studiích užívajících CsA a insulin zahájené brzo po diagnóze IDDM zvýšila četnost remisí IDDM a zvýšila funkce beta-buněk v průběhu prvního roku IDDM (C. R. Stiller, Diabetes, 37 : 1574, 1988).

Jako takový bude rapamycin obecně užitečný při nejmenším ve dvou třídách lidských pacientů. Prvou skupinou jsou pacienti, u kterých se již vyvinuly klinicky pozorovatelné znaky IDDM. Jak je vidět v klinických studiích s CsA, je výhodné začít léčení s rapamycinem co nejčasněji po stanovení

diagnózy, aby se ušetřily zbývající beta-buňky před zničením (J. Dupre, Diabetes 37 : 1574, 1988 a C. R. Stiller, Science 223 : 1362, 1984). U této populace pacientů je výhodné, aby rapamycin byl aplikován v kombinaci s insulinem. Nádavkem k pomoci zachování normální tolerance glukózy, současná aplikace insulinu je také považována za příčinu snížení zátěže zbývajících beta-buněk a tak má na ně šetřící účinek.

Druhou skupinou pacientů jsou takoví, u kterých se ještě nevyvinuly klinicky pozorovatelné symptomy IDDM, ale kteří jsou predisponováni k vývoji IDDM, buď na základě subklinického vývoje IDDM nebo pro genetické předpoklady. Klinicky pozorovatelný IDDM se nevyvíjí náhle, ale postupuje skrytě po několik roků, jak imunní systém pomalu eliminuje beta-buňky (M. A. Atkinson, Sci. Am. 60, July 1990). Zatímco klasické symptomy IDDM se objeví pouze, když nejméně 80 % beta-buněk bylo zničeno, stalose nyní mnohem předvídatelnější určit, u kterých jedinců vznikne IDDM, dlouho před objevením klinických příznaků. Nástup IDDM se stal zvýšeně předvídatelným pro detekci s ním spojených autoprotilátek a ostatních výběrových znaků. Předvídatelnost je aplikována jak u obecné populace s nízkým rizikem, tak u příbuzných pacientů, kteří mají zvýšené riziko (N. Maclaren, Diabetes 37 : 1951, 1988). Tyto autoprotilátky a znaky zahrnují autoprotilátky cytoplasmatických ostrůvkových buněk (ICA), insulinové autoprotilátky (IAA), autoprotilátky na 64K protein a snížkou prvou fází insulinu v odpovědi na intravenosní zátěž glukosou. Jak ICA tak IAA byly u lidí pozorovány desítky let před tím, než u nich vznikl IDDM (K. Wilson, Am. Rev. Med., 41 : 497, 1990). Bylo prokázáno, že jedinci s ICA mají 46% riziko vývoje IDDM, zatímco jedinci bez ICA mají pouze 0,6 % rizika vzniku IDDM. Analýza podfrakcí ICA dále zjemnila tuto předvídatelnost. Projekty analýzy životních tabulek stanovily, že u 78 % jedinců, kteří mají pozitivní test na ICA fixaci komplementu, se rozvine IDDM, zatímco pouze u 3 % těch jedinců, kteří nemají ICA fixaci kom-

plementu, dojde k rozvoji IDDM, (A. C. Tarn, Lancet 845, 1988). Nadto se má za to, že vnitřně 100 % z dětí a mladých dospělých bude vytvářet autoprotilátky na 64K-beta-buněčný membránový protein před nástupem IDDM (M. Maclaren, Diabetes, 37 : 1591, 1988).

Ostatní vnímaví jedinci zahrnují příbuzné prvního stupně osob s IDDM (5% riziko vývoje IDDM) a identická dvojčata jedinců s IDDM (50% riziko vývoje IDDM). Obě tyto kategorie mají v podstatě větší riziko vývoje IDDM než obecná populace (0,3% riziko vývoje IDDM), (K. Wilson, Ann. Rev. Med. 41 : 497, 1990).

K profylaxi IDDM u vnímavých jedinců, rapamycin může být aplikován jako jediná aktivní složka nebo v kombinaci s insulinem. Profylaktická aplikace insulinu ukázala, že vede ke snížení výskytu vývoje IDDM u NOD myší (M. A. Atkinson, Diabetes, 39 : 933, 1990).

Ostatní skupiny vnímatelných jedinců, kterým může být podáván rapamycin profylakticky jsou zřejmě odborníkům.

Když rapamycin je užit v léčení IDDM, může být připraven v orálních dávkových formách, takových jako tablety, kapsle a podobně. Rapamycin se může podávat sám nebo v kombinaci s běžnými nosiči takovými jako uhličitan hořečnatý, stearan hořečnatý, mastek, cukr, laktosa, pektin, dextran, škrob, želatina, tragakanth, methylcelulosa, sodná karboxymethylcelulosa, nízkotající vosk, kakaové máslo a podobně. Ředidla, aromatisační činidla, solubizátory, lubrikancia, suspensní činidla, vazebná činidla, tablety desintegrující činidla a podobně se mohou také použít. Rapamycin může být uložen do kapslí bez nebo s dalšími nosiči. Ve všech případech, podél aktivních složek ve zmíněných přípravcích jak tekutých, tak pevných bude při nejmenším zprostředkovat

jejich žádanou aktivitu při orální aplikaci. Rapamycin se může také injikovat parenterálně, v těchto případech je užít ve formě sterilního roztoku obsahujícího další rozpustné látky například dosti solí nebo glukózy, aby se roztok stal isotonickým. Pro aplikaci intranasální nebo pro intra-bronchiální inhalaci nebo insuflaci, rapamycin může být připraven jako vodný nebo částečně vodný roztok, který se může užít formou aerosolu.

Rapamycin může být rovněž kombinován s insulinem a výhodně aplikován parenterálně, v takovém případě je užít ve formě sterilního roztoku obsahujícího další rozpustné látky například dosti solí nebo glukózy, aby se roztok stal isotonickým.

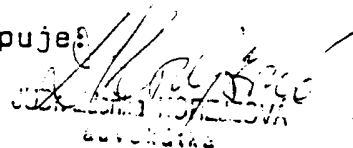
Požadavky na dávky se mění s určitými užitými přípravky, cestou aplikace, závažnosti přítomných symptomů a určité osobě jež má být léčena. Založeno na výsledcích získaných ve standardních farmakologických testovacích postupech, projektované orální denní dávky rapamycinu k zachování normálních hladin glukózy by měly být 0,1 až 25 mg/kg, výhodně mezi 0,5 až 18 mg/kg a nejvýhodněji mezi 0,5 až 12 mg/kg. Je-li rapamycin aplikován parenterálně, očekává se, že minimální dávkové požadavky budou asi desetkrát menší. Proto projektované parenterální denní dávky rapamycinu k zachování normálních hladin glukózy by měly být 0,01 až 25 mg/kg, výhodně mezi 0,05 až 18 mg/kg, nejvýhodněji mezi 0,05 až 12 mg/kg.

Když je rapamycin aplikován v kombinaci s insulinem, dávka insulinu může být buď stejná, jak je potřebné bez použití rapamycinu, nebo může být snížena pod jinak potřebné množství k zachování normálních hladin glukózy. Hladiny glukózy v kapilární krvi mohou snadno být měřeny samotným pacientem a dávky insulinu mohou být aplikovány v rozsahu nezbytném zachovat přijatelné hladiny glukózy. Rapamycin a insulin nemusí být aplikovány simultánně. Například rapamycin se může aplikovat jednou denně, několikrát za den nebo něko-

likrát za týden, zatímco insulin může být pouze potřeba aplikovat jednou za den. Dávkové schema se bude měnit v závislosti na individuálních potřebách pacienta. Stejně dávkové rozsahy pro rapamycin jsou aplikovatelné, když je rapamycin podáván v kombinaci s insulinem.

Léčení bude obecně zahájeno malými dávkami než jsou optimální dávky sloučeniny. Potom se dávkování zvyšuje dokud není dosažen za daných okolností optimální účinek, přesné dávky pro orální, parenterální, nasální nebo intra-bronchiální aplikaci bude určovat ošetřující lékař a budou založeny na zkušenostech s individuálním léčeným subjektem. Účinnými dávkami budou obecně dávky při kterých jsou zachovány normální hladiny glukózy. Obecně, rapamycin je nejlépe aplikován v koncentracích, které budou obecně skýtat účinné výsledky bez působení jakýchkoli škodlivých nebo zhoubných vedlejších účinků, a může být aplikován buď v jednotkové dávkové formě, nebo je-li to žádoucí, dávkování může být rozděleno na vhodné podjednotky aplikované ve vhodných obdobích během dne nebo týdne, v závislosti na pacientovi.

Zastupuje:



Handwritten signature and stamp, likely of a medical professional, with some illegible text below it.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

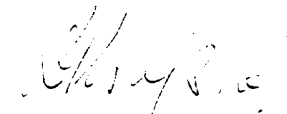
1. Farmaceutický prostředek pro léčení diabetu, závislého na insulinu, v y z n a č u j í c í s e t í m, že jako svou účinnou složku obsahuje rapamycin spolu s farmaceutickým nosičem.

2. Farmaceutický prostředek podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že jako svou další složku obsahuje insulin.

3. Farmaceutický prostředek podle nároku 2, v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje insulin v nižším množství, než jakého by bylo zapotřebí při použití samotného insulinu bez rapamycinu.

č. j.	0 1 0 8 5
DOŠLO	
10. III. 93	
ORZ/D	
PRŮM. JVEHO	
VLASTNÍCI VI	
PŘÍL.	

Zastupuje_



DR. EDINKA KOBREZIOVÁ