



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 980 828**

⑮ Int. Cl.:

A61K 38/47 (2006.01)

A61K 31/445 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑯ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.05.2013 E 20207542 (0)**

⑯ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.03.2024 EP 3871688**

⑮ Título: **Pautas posológicas para el tratamiento de enfermedad de Pompe**

⑯ Prioridad:

**03.05.2012 US 201261642311 P
25.06.2012 US 201261664011 P
05.09.2012 US 201261697179 P
04.01.2013 US 201361749132 P
04.01.2013 US 201361749234 P**

⑯ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
03.10.2024

⑯ Titular/es:

**AMICUS THERAPEUTICS, INC. (100.0%)
3675 Market Street
Philadelphia, PA 19104, US**

⑯ Inventor/es:

**GREENE, DOUGLAS STUART y
VALENZANO, KENNETH JOSEPH**

⑯ Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 980 828 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Pautas posológicas para el tratamiento de enfermedad de Pompe

REFERENCIA CRUZADA A LAS SOLICITUDES RELACIONADAS

- 5 La presente solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional de EE. UU. n.º de serie 61/642.311 presentada el 3 de mayo de 2012, la solicitud provisional de EE. UU. n.º de serie 61/664.011 presentada el 25 de junio de 2012, la solicitud provisional de EE. UU. n.º de serie 61/697.179 presentada el 5 de septiembre de 2012, la solicitud provisional de EE. UU. n.º de serie 61/749.132 presentada el 4 de enero de 2013 y la solicitud provisional de EE. UU. n.º de serie 61/749.234 presentada el 4 de enero de 2013, a cada una de las cuales se reivindica prioridad.

CAMPO DE LA SOLICITUD

- 10 La presente solicitud proporciona una pauta posológica y programa de administración para el uso de 1-desoxinojirimicina y terapia enzimática sustitutiva para el tratamiento de enfermedad de Pompe.

ANTECEDENTES

- 15 Las mutaciones en la enzima lisosómica a-glucosidasa ácida (GAA) alteran el catabolismo del glucógeno lisosómico y conducen a la enfermedad de Pompe, también denominada enfermedad de almacenamiento de glucógeno de tipo II o deficiencia de maltasa ácida. La GAA hidroliza normalmente el glucógeno en los enlaces a-1,4 y a-1,6 dando glucosa. Las mutaciones en el gen GAA dan como resultado una deficiencia o ausencia de actividad de GAA, que conduce a una acumulación de glucógeno. Se cree que la acumulación de glucógeno conduce a miopatía muscular progresiva en todo el cuerpo, que afecta a diversos tejidos del cuerpo, particularmente al corazón, los músculos esqueléticos, el hígado y el sistema nervioso. En algunos casos de enfermedad de Pompe, se observan niveles 20 reducidos de la proteína precursora de GAA de 110 kDa, mientras que en otros casos se sintetizan niveles normales de proteína precursora de 110 kDa, pero no se procesa en las formas maduras de GAA apropiadamente glucosiladas de 76 y 70 kDa.

- 25 La enfermedad de Pompe se ha dividido históricamente en tres expresiones fenotípicas principales (de aparición en la infancia, la juventud y la madurez). Sin embargo, actualmente se acepta que la enfermedad es un espectro de fenotipos, que varían desde la forma de aparición temprana más intensa hasta la forma de aparición tardía menos intensa. El trastorno es clínicamente heterogéneo en la edad de aparición, el grado de participación de los órganos y la tasa de progresión. La forma de aparición temprana de la enfermedad es la más intensa, y progresiona con mayor rapidez, con acumulación de glucógeno más frecuentemente en el músculo cardíaco, músculo esquelético y tejido hepático. Esta forma de la enfermedad se caracteriza normalmente por síntomas musculoesqueléticos, pulmonares, 30 gastrointestinales y cardíacos. La muerte debido a insuficiencia cardiorrespiratoria ocurre normalmente entre la edad de 1 y 2 años. La forma de aparición tardía de la enfermedad empieza normalmente entre la infancia y la adultez y tiene una tasa más lenta de progresión, normalmente sin participación cardíaca. El fenotipo se caracteriza por síntomas musculoesqueléticos y pulmonares que conducen a debilidad progresiva y a insuficiencia respiratoria. Los síntomas tienden a ser menos intensos, y la acumulación de glucógeno menos extensa, en la forma de aparición tardía que en 35 la de aparición temprana de la enfermedad, dando como resultado mayor supervivencia. La muerte suele producirse debido a insuficiencia cardiorrespiratoria.

El documento de patente US 2006/264467 divulga un método para aumentar la actividad de una enzima alfa-glucosidasa mutante o natural *in vitro* e *in vivo* poniendo en contacto la enzima con una chaperona farmacológica específica que es un derivado de 1-desoxinojirimicina.

- 40 El tratamiento actual para la enfermedad de Pompe implica el tratamiento sintomático de los síntomas cardíacos y respiratorios. No hay tratamiento autorizado para el defecto genético subyacente. El uso de GAA de sustitución, la alglucosidasa alfa (Myozyme® (Genzyme Corporation) y Lumizyme® (Genzyme Corporation)) está autorizado por la FDA de los Estados Unidos. Sin embargo, evaluaciones clínicas usando terapia enzimática sustitutiva (TES) para sustituir GAA defectuoso en pacientes infantiles con Pompe solo fueron moderadamente satisfactorias en mejorar la función cardíaca y esquelética (Klinge et al., *Neuropediatrics*. 2005; 36(1): 6-11). Se mostró que GAA recombinante era más eficaz en resolver la cardiomielitis que la miopatía de músculo esquelético (Raben et al., *Mol Ther*. 2005; 11(1): 48-56), debido en gran medida a que la enzima recombinante no puede penetrar en el tejido conjuntivo. Un método de tratamiento de la enfermedad de Pompe usando GAA recombinante se describe específicamente en la 45 patente de EE. UU. n.º 6.537.785 de Canfield. Una de las principales complicaciones con TES es la obtención y el mantenimiento de cantidades terapéuticamente eficaces de enzima debido a la rápida degradación de la enzima infundida.

50 La 1-desoxinojirimicina y su sal, el clorhidrato de 1-desoxinojirimicina, actúa de chaperona farmacológica para la GAA mutante uniéndose selectivamente a la enzima, aumentando así su estabilidad y ayudando a la enzima a plegarse en su forma tridimensional correcta. Esta estabilización de GAA permite que los mecanismos de control de calidad de la célula reconozcan la enzima como apropiadamente plegada, de manera que aumente el tráfico de la enzima al lisosoma, permitiendo que se lleve a cabo su función biológica prevista, el metabolismo del glucógeno. Como resultado 55 de la restauración del tráfico apropiado de GAA desde el RE hasta el lisosoma, el clorhidrato de 1-desoxinojirimicina

también reduce la acumulación de proteína erróneamente plegada en el RE, que puede aliviar el estrés en células y algunas respuestas de tipo inflamatorio que puedan estar contribuyendo a factores en la enfermedad de Pompe. Se han realizado múltiples estudios preclínicos *in vitro* e *in vivo*, así como estudios clínicos, de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina. Se ha mostrado que el clorhidrato de 1-desoxinojirimicina aumenta la cantidad de proteína GAA intracelular y potencia el transporte de enzima mutante al lisosoma.

5

SUMARIO

La invención se define en las reivindicaciones.

La presente solicitud proporciona una pauta posológica y programa de administración para el uso de 1-desoxinojirimicina y terapia enzimática sustitutiva para su uso en un método para el tratamiento de enfermedad de Pompe como se define en las reivindicaciones. Más particularmente, la presente solicitud proporciona una pauta posológica y programa de administración para el uso de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina y alglucosidasa alfa para su uso en un método para el tratamiento de enfermedad de Pompe como se define en las reivindicaciones.

En una realización, el método incluye administrar una cantidad de 250 mg o 600 mg de 1-desoxinojirimicina y una cantidad eficaz de terapia enzimática sustitutiva con GAA a un paciente que lo necesita como se define en las reivindicaciones. La 1-desoxinojirimicina se administra antes de la terapia enzimática sustitutiva con GAA. En una realización, el paciente ayuna durante un periodo de tiempo que empieza aproximadamente 0,5 a aproximadamente 4 horas antes y que termina aproximadamente 0,5 a aproximadamente 4 horas tras la administración de 1-desoxinojirimicina. En una realización adicional, el paciente ayuna durante al menos aproximadamente 2 horas antes y al menos aproximadamente 2 horas después de la administración de 1-desoxinojirimicina.

En otra realización, la 1-desoxinojirimicina se administra inmediatamente antes de aproximadamente 4 horas antes de la administración de la con terapia enzimática sustitutiva GAA (desde T=-4 horas hasta T=0 horas). En una realización adicional, la 1-desoxinojirimicina se administra aproximadamente 2 horas antes de la administración de la terapia enzimática sustitutiva con GAA.

En una realización particular, la 1-desoxinojirimicina es clorhidrato de 1-desoxinojirimicina. En una realización, la terapia enzimática sustitutiva con GAA es GAAhr. En una realización adicional, la terapia enzimática sustitutiva con GAA es alglucosidasa alfa.

En una realización, la 1-desoxinojirimicina se administra como un adyuvante a la terapia enzimática sustitutiva con GAA. En otra realización, la 1-desoxinojirimicina y la terapia enzimática sustitutiva con GAA se administran como una terapia de combinación.

En una realización particular, la cantidad de 1-desoxinojirimicina administrada según el método descrito anteriormente es desde aproximadamente 50 mg hasta aproximadamente 600 mg. Según la presente invención, la cantidad de 1-desoxinojirimicina administrada se selecciona de 250 mg y 600 mg.

En una realización particular, la 1-desoxinojirimicina se administra inmediatamente antes de la administración de la terapia enzimática sustitutiva con GAA. En una realización alternativa, al paciente se le administra una segunda dosis de 1-desoxinojirimicina entre la administración de la terapia enzimática sustitutiva con GAA y aproximadamente 4 horas a partir de entonces.

En ciertas realizaciones, la 1-desoxinojirimicina se administra cada 1 a 4 semanas a un paciente que también está recibiendo la terapia enzimática sustitutiva con GAA. En una realización adicional, la 1-desoxinojirimicina se administra cada 12 a 16 días a un paciente que también está recibiendo la terapia enzimática sustitutiva con GAA. En ciertas realizaciones, la terapia enzimática sustitutiva con GAA se administra cada 14 días al paciente que también se administra 1-desoxinojirimicina como una combinación de terapia adyuvante.

La presente solicitud también proporciona un kit para tratar enfermedad de Pompe en un sujeto, comprendiendo el kit que comprende desde aproximadamente 25 mg hasta aproximadamente 1000 mg de 1-desoxinojirimicina y una cantidad eficaz de la terapia enzimática sustitutiva con GAA. Según la presente invención, la cantidad de 1-desoxinojirimicina en el kit se selecciona de 250 mg y 600 mg.

La presente solicitud proporciona una pauta posológica y programa de administración para el uso de derivados de 1-desoxinojirimicina (1-DNJ) y terapia enzimática sustitutiva para el tratamiento de enfermedad de Pompe.

En una realización, según la divulgación, el método incluye administrar desde aproximadamente 25 mg hasta aproximadamente 1000 mg de un derivado de 1-desoxinojirimicina y una cantidad eficaz de la terapia enzimática sustitutiva con GAA a un paciente que lo necesita. El derivado de 1-desoxinojirimicina se administra antes de la terapia enzimática sustitutiva con GAA. En una realización, el paciente ayuna durante un periodo de tiempo que empieza aproximadamente 0,5 a aproximadamente 4 horas antes y que termina aproximadamente 0,5 a aproximadamente 4 horas tras la administración de derivado de 1-desoxinojirimicina. En una realización adicional, el paciente ayuna durante al menos aproximadamente 2 horas antes y al menos aproximadamente 2 horas después de la administración de derivado de 1-desoxinojirimicina.

Según la invención reivindicada, el derivado de 1-desoxinojirimicina se administra inmediatamente antes de aproximadamente 4 horas antes de la administración de la terapia enzimática sustitutiva con GAA (desde T=-4 horas hasta T=0 horas). En una realización adicional, el derivado de 1-desoxinojirimicina se administra aproximadamente 2 horas antes de la administración de la terapia enzimática sustitutiva con GAA.

5 En algunas realizaciones, el derivado de 1-desoxinojirimicina es (2R,3R,4R,5S)-1=1-butil-2-(hidroximetil)piperidin-3,4,5-triol, o miglustat, o N-Butil DNJ. La terapia enzimática sustitutiva con GAA es GAAhr. En una realización adicional, la terapia enzimática sustitutiva con GAA es alglucosidasa alfa.

10 En una realización, el derivado de 1-desoxinojirimicina se administra como un adyuvante a la terapia enzimática sustitutiva con GAA. En otra realización, el derivado de 1-desoxinojirimicina y la terapia enzimática sustitutiva con GAA se administran como una terapia de combinación.

En una realización particular, la cantidad de derivado de 1-desoxinojirimicina administrada según el método descrito anteriormente es desde aproximadamente 50 mg hasta aproximadamente 600 mg. En una realización, según la invención reivindicada, la cantidad de derivado de 1-desoxinojirimicina administrado se selecciona de 250 mg y 600 mg.

15 En una realización particular, el derivado de 1-desoxinojirimicina se administra inmediatamente antes de la administración de la terapia enzimática sustitutiva con GAA. Al paciente se le puede administrar una segunda dosis de derivado de 1-desoxinojirimicina entre la administración de la terapia enzimática sustitutiva con GAA y aproximadamente 4 horas a partir de entonces.

20 En ciertas realizaciones, el derivado de 1-desoxinojirimicina se administra cada 1 a 4 semanas a un paciente que también está recibiendo la terapia enzimática sustitutiva con GAA. En una realización adicional, el derivado de 1-desoxinojirimicina se administra cada 12 a 16 días a un paciente que también está recibiendo la terapia enzimática sustitutiva con GAA. En ciertas realizaciones, la terapia enzimática sustitutiva con GAA se administra cada 14 días al paciente al que también se administra el derivado de 1-desoxinojirimicina como una combinación de terapia adyuvante.

25 El derivado de 1-DNJ se selecciona del grupo que consiste en N-metil-DNJ, N-butil-DNJ, N-ciclopropilmetil-DNJ, N-(2-(N,N-dimetilamido)etiloxi-DNJ, N-4-t-butiloxicarbonil-piperidinilmetil-DNJ, N-2-R-tetrahidrofuranylmetil-DNJ, N-2-R-tetrahidrofuranylmetil-DNJ, N-(2-(2,2,2-trifluoroetoxi)etil-DNJ, N-2-metoxietil-DNJ, N-2-etoxyetil-DNJ, N-4-trifluorometilbencil-DNJ, N-alfa-ciano-4-trifluorometilbencil-DNJ, N-4-trifluorometoxibencil-DNJ, N-4-n-pentoxibencil-DNJ y N-4-n-butoxibencil-DNJ, o C1-nonil DNJ. Solo NB-DNJ es un derivado de DNJ según la invención, como se define en las reivindicaciones. La presente solicitud también proporciona un kit para tratar la enfermedad de Pompe en un sujeto, comprendiendo el kit desde aproximadamente 25 mg hasta aproximadamente 1000 mg de derivado de 1-desoxinojirimicina y una cantidad eficaz de la terapia enzimática sustitutiva con GAA. La cantidad de derivado de 1-desoxinojirimicina en el kit se selecciona de 250 mg y 600 mg.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

35 La **Figura 1A-B** muestra gráficos combinados de la actividad plasmática de GAAhr en los sujetos de la cohorte 1 por tratamiento, como se describe por el Ejemplo 2. La Figura 1A muestra la actividad plasmática de GAAhr después del tratamiento con TES con GAA sola. La Figura 1B muestra la actividad plasmática de GAAhr después del tratamiento con administración conjunta de TES con GAA y 50 mg de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina.

40 La **Figura 2A-B** muestra (A) la actividad plasmática de GAAhr media en los cuatro sujetos de la cohorte 1 por tratamiento, y (B) la proteína GAAhr total media como se mide por transferencia Western en los cuatro sujetos de la cohorte 1 por tratamiento, como se describe por el Ejemplo 2.

La **Figura 3A-B** muestra gráficos combinados de la actividad plasmática de GAAhr en los seis sujetos de la cohorte 2 por tratamiento, como se describe por el Ejemplo 2. La Figura 3A muestra la actividad plasmática de GAAhr después del tratamiento con TES con GAA sola. La Figura 3B muestra la actividad plasmática de GAAhr después del tratamiento con la administración conjunta de TES con GAA y 104 mg de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina.

45 La **Figura 4** muestra la actividad plasmática de GAAhr media en los seis sujetos de la cohorte 2 por tratamiento.

La **Figura 5** muestra los perfiles de concentración-tiempo de 1-DNJ-HCL en plasma medios (DE) de los sujetos de la cohorte 1 y 2 por tratamiento.

La **Figura 6** muestra los perfiles concentración de proteína GAAhr en plasma total de los sujetos de la cohorte 1 y 2 por tratamiento, como se mide por transferencia Western.

50 La **Figura 7** muestra los niveles de Hex 4 en orina por día de estudio de los sujetos de la cohorte 1 y 2, que se recogió como parte de los datos de seguridad.

La **Figura 8** muestra los niveles de CPK en suero por día de estudio de los sujetos de la cohorte 1 y 2, que se recogió como parte de los datos de seguridad.

La **Figura 9A-B** muestra la actividad de GAAhr en plasma combinada por periodo de tratamiento para los sujetos de la cohorte 3.

La **Figura 10A-D** muestra la actividad de GAAhr en plasma media (DE) de AT2220-010 para las cohortes 1-4.

5 La **Figura 11** muestra el gráfico de flechas de ABC para la actividad de GAAhr en plasma para los sujetos de la cohorte 3.

La **Figura 12A-B** muestra la actividad de GAAhr en músculo de biopsias hechas en los días 3 o 7 de los periodos 1 y 2, y una biopsia basal en el seguimiento, para los sujetos de la cohorte 3.

La **Figura 13** muestra un resumen de actividad de GAAhr de músculo combinada por periodo de tratamiento para los sujetos de la cohorte 1-3.

10 La **Figura 14A-B** muestra la actividad de GAAhr en CMSP (células mononucleares de sangre periférica): Día 3 combinaciones por tratamiento para los sujetos de la cohorte 3.

La **Figura 15A-B** muestra la actividad de GAAhr en CMSP: Día 7 combinaciones por tratamiento para los sujetos de la cohorte 3.

15 La **Figura 16A-B** muestra una combinación de concentraciones de AT2220 en plasma y un gráfico semilogarítmico para los sujetos de la cohorte 3.

La **Figura 17A-B** muestra una combinación de actividad de GAAhr en plasma por periodo de tratamiento para los sujetos de la cohorte 4.

La **Figura 18** muestra un gráfico de flechas de ABC para la actividad de GAAhr en plasma para los sujetos de la cohorte 4.

20 La **Figura 19** muestra un resumen de actividad de GAAhr en músculo combinado por periodo de tratamiento para las cohortes 1-4.

La **Figura 20** muestra IRM de músculo del muslo antes (arriba) y después (abajo) de TES. En un año, 9,8 % de disminución en la masa muscular en el muslo anterior, 11 % de disminución en la masa muscular en el muslo posterior y +8,9 % de aumento en la acumulación de grasa intramuscular (6,6 % de grasa subcutánea).

25 La **Figura 21** muestra un resumen de actividad enzimática de GAAhr en el área bajo la curva (ABC) en plasma para las cohortes 1-4.

La **Figura 22** muestra un resumen de actividad enzimática de GAA en el músculo en el día 3 para las cohortes 2-4.

30 La **Figura 23** muestra que la distribución y semivida en músculo esquelético de N-butil-DNJ (AT2221) es similar a la de 1-DNJ (AT2220); Cmáx AT2220: 120 uM; AT2221: 140 uM. Se administraron ratones C57BL/6 naturales de ocho semanas con una dosis oral de 100 mg/kg de 1-DNJ o N-butil-DNJ. Se recogieron muestras de plasma y de tejido 0,5, 2, 4, 24, 48, 72, 96, 120, 144 y 168 horas después de la administración y se analizó la presencia de fármaco. La concentración de fármaco en plasma se expresa como ng/mL. La concentración de fármaco en muestras de tejido se expresa como ng/g.

35 La **Figura 24** muestra que N-butil-DNJ (AT2221) y 1-DNJ (AT2220) tienen un efecto similar sobre la farmacocinética de GAAhr. Se administraron ratones con genes GAA inactivados de ocho semanas con GAAhr (10 mg/kg IV). Se administró por vía oral AT2220 o AT2221 (100 mg/kg) 30 min antes de GAA (Myozyme); se recogieron muestras de plasma antes de la administración, 0,08, 0,25, 0,50, 0,75, 1, 2, 4, 8 y 24 horas después de la administración de GAA y se determinó la actividad enzimática. AT2220 y AT2221 aumentó la semivida en circulación de GAAhr en al menos ~2 veces.

40 **Figura 25** Transferencia Western de GAA recombinante en plasma 2, 8 y 24 horas después de la administración i.v. de GAA.

45 **Figura 26** La administración conjunta de DNJ o NB-DNJ con GAAhr tiene un efecto similar sobre la reducción de glucógeno. Se administraron ratones con genes GAA inactivados de doce semanas con GAA humano recombinante (Myozyme) 20 mg/kg i.v. cada dos semanas durante 8 semanas. Se administró una dosis oral de AT2220 o AT2221 (30 mg/kg) 30 minutos antes de GAAhr Myozyme. Se recogieron los tejidos 21 días después de la última dosis de GAAhr y se midió el nivel de glucógeno (sustrato de GAA). n=5-ratones/grupo; *p<0,05 frente a la prueba de la t para no tratados; #p<0,05 frente a la prueba de la t para Myozyme solo; la línea de puntos indica niveles de glucógeno natural. Cmáx ~40 µM tras la administración de 30 mg/kg de AT2220 o AT2221; equivalente a aproximadamente 600 mg en seres humanos.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente solicitud proporciona una pauta posológica y programa de administración para el uso de 1-desoxinojirimicina y terapia enzimática sustitutiva para el tratamiento de enfermedad de Pompe, como se define en las reivindicaciones.

Definiciones

5 "Enfermedad de Pompe", también denominada deficiencia de maltasa ácida, enfermedad de almacenamiento de glucógeno de tipo II (GSDII) y glucogenosis de tipo II, es un trastorno de almacenamiento lisosómico genético caracterizado por mutaciones en el gen GAA que metaboliza el glucógeno. Como se usa en el presente documento, este término incluye tipos de aparición en la infancia, la juventud y la madurez de la enfermedad.

10 La "α-glucosidasa ácida" (GAA) es una enzima lisosómica que hidroliza polímeros de D-glucosa unidos en α-1,4 y α-1,6 presentes en glucógeno, maltosa e isomaltosa. Los nombres alternativos son los siguientes: glucoamilasa; 1,4-α-D-glucanoglucohidrolasa; amiloglucosidasa; gamma-amilasa; y exo-1,4-α-glucosidasa y gamma-amilasa.

15 El término "GAAhr" se refiere a α-glucosidasa ácida humana recombinante. Los ejemplos no limitantes de GAAhr incluyen alglucosidasa alfa y los descritos en la patente de EE. UU. n.º 7.560.424 y la patente de EE. UU. n.º 7.396.811 de Lebowitz et al., solicitudes publicadas de EE. UU. n.º 2009/0203575, 2009/0029467, 2008/0299640, 2008/0241118, 2006/0121018 y 2005/0244400 de Lebowitz et al., las patentes de EE. UU. n.º 7.423.135, 6.534.300 y 6.537.785; solicitud publicada internacional n.º 2005/077093 y solicitudes publicadas de EE. UU. n.º 2007/0280925 y 2004/0029779.

20 El término "ABC" representa un cálculo matemático para evaluar la exposición total del cuerpo con el tiempo a un fármaco dado. En un gráfico que representa la concentración en la sangre después de la administración, la variable de la concentración de fármaco se encuentra en el eje y y el tiempo se encuentra en el eje x. El área entre una curva de concentración de fármaco y el eje x para un intervalo de tiempo designado es el ABC. Se usan las ABC como una guía para los programas de administración y para comparar la disponibilidad de diferentes fármacos en el cuerpo.

25 El término "C_{máx}" representa la máxima concentración plasmática alcanzada después de la administración.

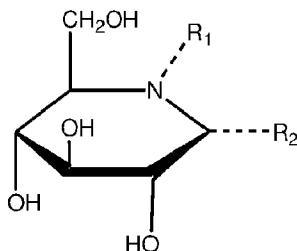
30 Los términos "dosis terapéuticamente eficaz" y "cantidad eficaz" se refieren a la cantidad del compuesto farmacéutico específico o composición que es suficiente para dar como resultado una respuesta terapéutica beneficiosa. Una respuesta terapéutica beneficiosa puede ser cualquier respuesta que un usuario (por ejemplo, un profesional clínico) reconocerá como una respuesta eficaz a la terapia, que incluye los síntomas anteriores y marcadores clínicos indirectos. Así, una respuesta terapéutica será, en general, una mejora de uno o más síntomas de una enfermedad o trastorno, por ejemplo, la enfermedad de Pompe, tal como los conocidos en la técnica para la enfermedad o trastorno, por ejemplo, para la enfermedad de Pompe.

35 Los ejemplos no limitantes de síntomas o marcadores clínicos indirectos de la enfermedad de Pompe incluyen: disminución de la actividad tisular por GAA; cardiomiopatía; cardiomegalia; debilidad muscular progresiva, especialmente en el tronco o las extremidades inferiores; hipotonía profunda; macroglosia (y en algunos casos, prolapso de la lengua); dificultad para tragar, succionar y/o alimentarse; insuficiencia respiratoria; hepatomegalia (moderada); laxitud de los músculos faciales; arreflexia; intolerancia al ejercicio; disnea de esfuerzo; ortopnea; apnea del sueño; cefaleas matutinas; somnolencia; lordosis y/o escoliosis; disminución de los reflejos profundos; lumbalgia; y fracaso para cumplir hitos del desarrollo motor.

40 La expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a entidades moleculares y composiciones que son fisiológicamente tolerables y no producen normalmente reacciones no deseadas cuando se administran a un humano. Preferentemente, como se usa en el presente documento, el término "farmacéuticamente aceptable" significa autorizado por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o listado en la Farmacopea Estadounidense u otra farmacopea, en general, reconocida para su uso en animales, y más particularmente en seres humanos. El término "vehículo" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el que se administra el compuesto. Dichos vehículos farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, tales como agua y aceites. Se emplean preferentemente agua o soluciones salinas en disoluciones acuosas y disoluciones acuosas de dextrosa y glicerol como vehículos, particularmente para disoluciones inyectables. Los vehículos farmacéuticos adecuados se describen en "Remington's Pharmaceutical Sciences" por E.W. Martin, 18^a edición, u otras ediciones, que se incorpora en la presente por referencia en su totalidad.

45 "1-desoxinojirimicina" (DNJ) se refiere a (2R,3R,4R,5S)-2-hidroximetil-piperidin-3,4,5-triol. Como se usa en el presente documento, referencia a "1-desoxinojirimicina" o "DNJ" en todo él incluye tanto la base libre como cualquier forma de sal farmacéuticamente aceptable de la misma. La sal de clorhidrato de DNJ se conoce como "clorhidrato de 1-desoxinojirimicina" o "HCl DNJ".

50 "Derivado de 1-desoxinojirimicina" o "derivado de 1-DNJ" o "derivado de DNJ" se refiere a un compuesto con la siguiente estructura:



donde R₁ es H o un alquilo, cicloalquilo, alquenilo, alcoxialquilo o aminoalquilo lineal o ramificado que contiene 1 - 12 átomos de carbono, un arilo, alquilarilo, heteroarilo o heteroararylalquilo que contiene 5 - 12 átomos de anillo, donde R₁ está sustituido opcionalmente con uno o más -OH, -COOH, -Cl, -F, -CF₃, -OCF₃, -O-C(-O)N-(alquilo)₂;

5 R₂ es H; un alquilo, cicloalquilo, alquenilo, alquilarilo o alcoxialquilo lineal o ramificado, que contiene 1 - 9 átomos de carbono o arilo que contiene 5 - 12 átomos de carbono, en donde R₂ está sustituido opcionalmente con -OH, -COOH, -CF₃, -OCF₃ o un anillo heterocíclico; y al menos uno de R₁ y R₂ no es H; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 "Derivado de 1-desoxinojirimicina" o "derivado de 1-DNJ" o "derivado de DNJ" según la invención se refiere a (2R,3R,4R,5S)-1-butil-2-(hidroximetil)piperidin-3,4,5-triol o miglustat o N-butil-DNJ.

El término "adyuvante" o "terapia con adyuvante" se refiere a cualquier sustancia, tratamiento o procedimiento adicional usado para aumentar la eficacia, seguridad, o facilitar o potenciar de otro modo el rendimiento de una sustancia primaria, tratamiento o procedimiento.

15 El término "terapia de combinación" se refiere a cualquier terapia en donde los resultados se potencian en comparación con el efecto de cada terapia cuando se realiza individualmente. Las terapias individuales en una terapia de combinación se pueden administrar simultáneamente o consecutivamente.

20 El potenciamiento puede incluir cualquier mejora del efecto de las diversas terapias que pueda dar como resultado un resultado ventajoso en comparación con los resultados logrados por las terapias cuando se realizan solas. Se pueden medir el efecto potenciado y la determinación del efecto potenciado por diversos parámetros tales como, pero no se limitan a: parámetros temporales (por ejemplo, duración del tratamiento, tiempo de recuperación, efecto del tratamiento a largo plazo o reversibilidad del tratamiento); parámetros biológicos (por ejemplo, número de células, volumen de células, composición de las células, volumen tisular, tamaño del tejido, composición del tejido); parámetros espaciales (por ejemplo, fortaleza del tejido, tamaño del tejido o accesibilidad al tejido) y parámetros fisiológicos (por ejemplo, delimitación del cuerpo, dolor, molestia, tiempo de recuperación o marcas visibles). El efecto potenciado puede incluir 25 un potenciamiento sinérgico, en donde el efecto potenciado es superior a los efectos aditivos de cada terapia cuando se realiza por sí mismo. El efecto potenciado puede incluir un potenciamiento aditivo, en donde el efecto potenciado es sustancialmente igual al efecto aditivo de cada terapia cuando se realiza por sí misma. El efecto potenciado puede incluir menos de un efecto sinérgico, en donde el efecto potenciado es inferior al efecto aditivo de cada terapia cuando se realiza por sí misma, pero aún mejor que el efecto de cada terapia cuando se realiza por sí misma.

30 Los términos "alrededor de" y "aproximadamente" deben significar, en general, un grado aceptable de error para la cantidad medida dada la naturaleza o precisión de las mediciones. Grados de error típicos a modo de ejemplo están dentro del 20 por ciento (%), preferentemente dentro del 10 %, y más preferentemente dentro del 5 % de un valor o intervalo de valores dado. Alternativamente, y particularmente en sistemas biológicos, los términos "alrededor de" y 35 "aproximadamente" pueden significar valores que están dentro de un orden de magnitud, preferentemente dentro de 5 veces y más preferentemente dentro de 2 veces de un valor dado. Las cantidades numéricas dadas en el presente documento son aproximadas, a menos que se establezca de otro modo.

Formulación y administración

40 Se puede administrar 1-desoxinojirimicina como la base libre o como una forma de sal farmacológicamente aceptable, que incluye clorhidrato de 1-desoxinojirimicina. Se puede administrar en una forma adecuada por cualquier vía de administración, que incluye, por ejemplo, por vía oral en forma de comprimidos, cápsulas o líquido, o en disolución acuosa estéril para inyección. Se puede administrar por vía oral en forma de comprimidos, cápsulas, óvulos, elixires, disoluciones o suspensiones, geles, jarabes, enjuagues bucales, o un polvo seco para constitución con agua u otro vehículo adecuado antes de uso, opcionalmente con aromatizantes y colorantes para administraciones de liberación inmediata, retardada, modificada, sostenida, pulsada o controlada. También se pueden usar composiciones sólidas 45 tales como comprimidos, cápsulas, pastillas para chupar, pastillas, píldoras, bolos, polvo, pastas, gránulos, balas, o preparaciones de premezcla también. Se pueden preparar composiciones sólidas y líquidas para uso oral según métodos bien conocidos en la técnica. Dichas composiciones también pueden contener uno o más vehículos y excipientes farmacéuticamente aceptables que pueden estar en forma sólida o líquida. Cuando el compuesto se formula para administración por vía oral, los comprimidos o cápsulas se pueden preparar mediante medios convencionales con excipientes farmacéuticamente aceptables tales como aglutinantes (por ejemplo, almidón

pregelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropilmetylcelulosa); cargas (por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina o hidrogenofosfato de calcio); lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco o sílice); disgregantes (por ejemplo, almidón de patata o glicolato sódico de almidón); o agentes humectantes (por ejemplo, laurilsulfato de sodio). Los comprimidos se pueden recubrir por métodos bien conocidos en la técnica.

- 5 Los excipientes farmacéuticamente aceptables también incluyen, pero no se limitan a, celulosa microcristalina, lactosa, citrato de sodio, carbonato cálcico, fosfato de calcio dibásico y glicina, disgregantes tales como almidón (preferentemente almidón de maíz, patata o tapioca), glicolato sódico de almidón, croscarmelosa sódica y ciertos silicatos complejos, y aglutinantes de granulación tales como polivinilpirrolidona, hidroxipropilmetylcelulosa (HPMC), hidroxipropilcelulosa (HPC), sacarosa, gelatina y goma arábiga. Además, se pueden incluir lubricantes tales como estearato de magnesio, ácido esteárico, behenato de glicerilo y talco.
- 10 En una realización específica, se formula clorhidrato de 1-desoxinojirimicina con estearato de magnesio y almidón pregelatinizado en una cápsula de gelatina dura blanca.

Terapia enzimática sustitutiva

- 15 El actual tratamiento autorizado para la enfermedad de Pompe es la terapia enzimática sustitutiva. Están actualmente disponibles dos productos de alglucosidasa alfa para el tratamiento de la enfermedad de Pompe: Myozyme® (Genzyme Corporation) y Lumizyme® (Genzyme Corporation). Estas dos formas de TES están previstas para compensar la actividad de GGA insuficiente de un paciente con una forma recombinante de la enzima, administradas por vía intravenosa. Mientras que TES es eficaz en muchos ámbitos, la GAAhr tiene una semivida circulante corta, baja captación tisular, y puede provocar respuestas inmunitarias que afectan adversamente la tolerabilidad y la eficacia
- 20 La dosis recomendada de alglucosidasa alfa es 20 mg/kg de peso corporal infundida cada 2 semanas como una infusión intravenosa. Esta infusión se administra durante un periodo de 4 horas.

- 25 El clorhidrato de 1-desoxinojirimicina estabiliza la GAAhr *in vitro* e *in vivo*. La unión del clorhidrato de 1-desoxinojirimicina a GAAhr da como resultado aumentos significativos dependientes de la concentración en la estabilidad física de la enzima en un tampón a pH neutro, como se mide por desnaturización térmica y por actividad enzimática. Además, la estabilidad de GAAhr en sangre humana disminuye significativamente cuando se incuba con clorhidrato de 1-desoxinojirimicina, como se mide por la actividad (la semivida es aproximadamente 6 horas en ausencia de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina, mientras que en presencia de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina no hubo pérdida medible en la actividad enzimática durante un periodo de 24 horas).

- 30 En ratas, la administración intravenosa en bolo de 10 mg/kg de GAAhr 30 minutos después de una única administración por vía oral de 3 o 30 mg/kg de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina produjo aumentos de 1,5 y 2,1 veces en la semivida circulante de GAAhr, respectivamente, como se mide por actividad y transferencia Western. Se observaron efectos similares sobre la semivida circulante de GAAhr cuando el clorhidrato de 1-desoxinojirimicina (3 o 30 mg/kg PO) se administró a ratas, seguido 30 minutos después por una infusión intravenosa de 1 hora de GAAhr (10 mg/kg). Y, lo que es más importante, estas dosis de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina dan como resultado niveles de exposición plasmática en la rata que son comparables a los que se pueden lograr tras la administración por vía oral de 50 o 600 mg de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina, respectivamente, a seres humanos.

- 35 En ratones con genes GAA inactivados, la administración por vía oral de 10, 100 o 1000 mg/kg de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina 30 minutos antes y 8, 16 y 24 horas después de la administración intravenosa en bolo de GAAhr (10 mg/kg, una vez por semana hasta 1, 2 o 3 semanas) produjo aumentos significativos y dependientes de la dosis en los niveles de GAA tisular como se mide por actividad y transferencia Western 2, 4 y 7 días después de la administración. La administración conjunta de 10 mg/kg de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina (que da exposición en ratones que es comparable a la observada en seres humanos tras la administración de aproximadamente 200 mg) produjo aumentos máximos de GAA que fueron hasta 2,5, 2,3, 2,2, 4,0 y 1,7 veces mayores en corazón, diafragma, cuádriceps, gastrocnemio y tríceps, respectivamente, en comparación con los observados tras la administración de GAAhr sola. Se observaron resultados similares en ratones C57BL/6 naturales después de una administración única de 3, 30 o 100 mg/kg de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina 30 minutos antes de una administración única intravenosa en bolo de GAAhr (10 mg/kg). Y, lo que es más importante, las dosis de 3, 10 y 30 mg/kg de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina dan como resultado niveles de exposición en plasma en el ratón que son comparables a los que se pueden lograr después de la administración por vía oral de 50, 150 o 600 mg de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina, respectivamente, a seres humanos.

- 50 Se estudió el efecto de una administración única por vía oral de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina sobre la captación tisular de GAAhr en ratones con genes GAA inactivados. La administración intravenosa en bolo de GAAhr (20 mg/kg) 30 minutos después de una administración única por vía oral de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina (30 mg/kg cada dos semanas durante 8 semanas; cuatro administraciones en total) produjo un aumento significativo en la actividad de GAA medida 7 días después de la última inyección. Los aumentos en la actividad de GAA fueron aproximadamente 2,1, 2,0, 1,5, 1,7, 1,6 y 2,0 veces mayores después de la administración conjunta de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina en comparación con la administración de GAAhr sola, en corazón, diafragma, gastrocnemio, cuádriceps, tríceps y la lengua, respectivamente. Estos datos indican que en ratones con genes GAA inactivados, la administración de 30

mg/kg de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina antes de la administración de GAAhr cada dos semanas durante 8 semanas da captación tisular de GAAhr significativamente mayor en comparación con la observada después de la administración de GAAhr sola.

- 5 Se realizaron estudios de administración repetida de GAAhr en ratones con genes GAA inactivados para evaluar los efectos sobre los niveles de glucógeno tisular. La administración intravenosa en bolo de GAAhr (20 mg/kg) 30 minutos después de una administración única por vía oral de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina (10 o 30 mg/kg) una vez cada dos semanas durante 8 semanas produjo una reducción dependiente de la dosis en los niveles de glucógeno tisular medidos 21 días después de la última inyección. La reducción de glucógeno fue aproximadamente 2,3, 1,6, 2,6, 2,7, 2,2, 1,2, 1,4 y 1,3 veces mayor en corazón, diafragma, cuádriceps, gastrocnemio, tríceps, sóleo, bíceps y la lengua, respectivamente, después de la administración conjunta de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina en comparación con GAAhr sola, respectivamente. Se observaron efectos similares sobre los niveles de glucógeno tisular después de cuatro administraciones por vía oral cada dos semanas de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina (30 mg/kg), seguida 30 minutos después por la administración intravenosa en bolo de GAAhr (40 mg/kg).
- 10

EJEMPLOS

- 15 **EJEMPLO 1: Pauta posológica para el tratamiento de enfermedad de Pompe usando clorhidrato de 1-desoxinojirimicina y alglucosidasa alfa**

Es un objetivo del estudio evaluar la seguridad, eficacia y farmacodinámica de pautas posológicas que comprenden administrar conjuntamente clorhidrato de 1-desoxinojirimicina (también denominado AT2220) y alglucosidasa alfa en pacientes con enfermedad de Pompe.

- 20 Es otro objetivo del estudio evaluar los efectos de diversas dosis de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina sobre la actividad de GAA. Esto se evaluará midiendo la actividad de GAA en músculo después de administrar alglucosidasa alfa sola y alglucosidasa alfa en combinación con clorhidrato de 1-desoxinojirimicina, 3 y/o 7 días después de la administración, midiendo la actividad de GAA y los niveles de proteína.

- 25 Se medirán la actividad de GAA en leucocitos (CMSP) y los niveles de proteína, así como el título de anticuerpos anti-GAAhr antes del inicio de una infusión de alglucosidasa alfa. Todas las mediciones de actividad enzimática de GAA en plasma, leucocitos y músculo se realizan con y sin captura de Con A y la determinación de los niveles de proteína es por transferencia Western.

- 30 **Diseño del estudio.** Es un estudio clínico de fase 2, de dosis única, de etiqueta abierta, para evaluar la seguridad y la eficacia de la administración conjunta de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina y alglucosidasa alfa. El estudio se realizará en hombres y mujeres de entre 18 y 65 años que han estado recibiendo una dosis estable de alglucosidasa alfa durante al menos un mes antes de la entrada en el estudio. Se reclutarán aproximadamente 16 sujetos.

- 35 Este estudio será para evaluar la seguridad y el efecto de dosis ascendentes (50, 100, 250 y 600 mg) de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina administrado 1 hora antes del inicio de una infusión de alglucosidasa alfa sobre la farmacocinética de GAA. Se reclutarán cuatro sujetos en cada uno de los cuatro niveles de dosis de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina. Cada cohorte de cuatro sujetos recibirá una única infusión intravenosa de alglucosidasa alfa sola, seguido dos a cuatro semanas después por una única dosis oral de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina administrado 1 hora antes del inicio de una infusión intravenosa de alglucosidasa alfa.

- 40 El aumento de dosis hasta el siguiente nivel de dosis de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina puede transcurrir después de la revisión de los datos de seguridad y de tolerabilidad del (de los) grupo(s) del nivel de dosis previa. Los datos de seguridad revisados incluirán acontecimientos adversos (incluyendo reacciones a la infusión), pruebas analíticas (incluyendo creatina cinasa, LDH (LDH-5), fosfatasa alcalina, AST, ALT), Hex4, ECG de 12 derivaciones, exploraciones físicas, pruebas de fuerza muscular y constantes vitales.

- 45 Cada sujeto recibirá alglucosidasa alfa sola como una infusión intravenosa en el periodo 1 y una dosis única de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina una hora antes del inicio de una infusión intravenosa de alglucosidasa alfa en el periodo 2. La dosis de alglucosidasa alfa administrada en los períodos 1 y 2 serán idénticas.

- 50 Cada cohorte consistirá en 4 sujetos. Los sujetos se reclutarán en orden a una de las cuatro cohortes de administración a clorhidrato de 1-desoxinojirimicina en los siguientes niveles de dosis en el periodo 2:

Cohorte 1: Una dosis única oral de 50 mg de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina;

Cohorte 2: Una dosis única oral de 100 mg de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina;

50 Cohorte 3: Una dosis única oral de 250 mg de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina;

Cohorte 4: Una dosis única oral de 600 mg de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina.

Para el periodo 1, antes de su siguiente infusión de alglucosidasa alfa programada, a los sujetos se les harán las siguientes evaluaciones: evaluación de acontecimientos adversos, medicaciones simultáneas, exploración física,

peso, constantes vitales, ECG de 12 derivaciones, pruebas analíticas (incluyendo análisis de creatina, LDH (LDH-5), fosfatasa alcalina, AST, ALT), Hex4 y pruebas de fuerza muscular.

En la mañana del día 1, se administrará la dosis de alglucosidasa alfa actual del sujeto como una infusión usando una bomba de infusión. La tasa de infusión (y cualquier cambio en la tasa durante la infusión), la duración de la infusión y la dosis de alglucosidasa alfa administrada deben ser idénticas en los períodos 1 y 2. Se recogerán muestras de sangre para el análisis farmacocinético inmediatamente antes del inicio de la infusión de alglucosidasa alfa y durante un periodo de 24 horas después del inicio de la infusión de alglucosidasa alfa. Se determinarán la actividad enzimática de GAA en plasma y leucocitos y el título de anticuerpos anti-GAAhr en plasma a partir de las muestras de sangre recogidas en los momentos resumidos en la Tabla 2. Se realizará un ECG de 12 derivaciones al final de la infusión de alglucosidasa alfa, inmediatamente después de la recogida de la muestra de sangre después de la infusión.

Después de la recogida de la última muestra para farmacocinética, se harán las siguientes evaluaciones: evaluación de acontecimientos adversos (incluyendo reacciones a la infusión), medicaciones simultáneas, constantes vitales, ECG de 12 derivaciones, pruebas analíticas (incluyendo creatina cinasa, LDH (LDH-5), fosfatasa alcalina, AST, ALT), Hex4 y pruebas de fuerza muscular.

En el día 7, se les harán las siguientes evaluaciones a los sujetos: evaluación de acontecimientos adversos, medicaciones simultáneas, exploración física, constantes vitales, pruebas analíticas (incluyendo creatina cinasa, LDH (LDH-5), fosfatasa alcalina, AST, ALT), Hex4 y pruebas de fuerza muscular. Se hará una biopsia de músculo a partir de la cual se determinará la actividad enzimática de GAA. También se recogerá una muestra de sangre para las determinaciones del nivel de GAA enzimática en plasma y leucocitos.

También se hará una biopsia de músculo a partir de la cual se determinará la actividad enzimática de GAA y los niveles de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina, en el día 3.

Para el periodo 2, antes de su siguiente infusión de alglucosidasa alfa programada, aproximadamente 2 semanas después de la administración de la infusión de alglucosidasa alfa en el periodo 1, a los sujetos se les harán las siguientes evaluaciones: evaluación de acontecimientos adversos, medicaciones simultáneas, exploración física, peso, constantes vitales, ECG de 12 derivaciones, pruebas analíticas (incluyendo análisis de creatina, LDH (LDH-5), fosfatasa alcalina, AST, ALT), Hex4 y pruebas de fuerza muscular.

En la mañana del día 1, se administrará una dosis oral de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina 1 hora antes de la infusión de alglucosidasa alfa programada. Los sujetos ayunarán durante al menos 2 horas antes y 2 horas después de la administración de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina. La tasa de infusión (y cualquier cambio en la tasa durante la infusión), la duración de la infusión y la dosis de alglucosidasa alfa administrada deben ser idénticas en los períodos 1 y 2.

Se recogerán muestras de sangre para el análisis farmacocinético antes de administrar el clorhidrato de 1-desoxinojirimicina y 1 hora después de la administración del clorhidrato de 1-desoxinojirimicina (es decir, inmediatamente antes del inicio de la infusión de alglucosidasa alfa) y durante el periodo de 24 horas después del inicio de la infusión de alglucosidasa alfa. Se determinarán la actividad enzimática de GAA en plasma y leucocitos, concentraciones de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina en plasma y título de anticuerpos anti-GAAhr en plasma a partir de las muestras de sangre recogidas en los momentos resumidos en la Tabla 2. Se hará un ECG de 12 derivaciones al final de la infusión de alglucosidasa alfa, inmediatamente después de la recogida de la muestra de sangre después de la infusión.

Después de la recogida de la última muestra para farmacocinética, se harán las siguientes evaluaciones: evaluación de acontecimientos adversos (incluyendo reacciones a la infusión), medicaciones simultáneas, constantes vitales, ECG de 12 derivaciones, pruebas analíticas (incluyendo creatina cinasa, LDH (LDH-5), fosfatasa alcalina, AST, ALT), Hex4 y pruebas de fuerza muscular.

En el día 7, se les hará las siguientes evaluaciones a los sujetos: evaluación de acontecimientos adversos, medicaciones simultáneas, exploración física, constantes vitales, pruebas analíticas (incluyendo creatina cinasa, LDH (LDH-5), fosfatasa alcalina, AST, ALT), Hex4 y pruebas de fuerza muscular. Se hará una biopsia de músculo a partir de la cual se determinará la actividad enzimática de GAA y se determinarán los niveles de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina. También se recogerán una muestra de sangre para las determinaciones del nivel de GAA enzimática en plasma y leucocitos.

También se hará una biopsia de músculo a partir de la cual se determinará la actividad enzimática de GAA y los niveles de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina, en el día 3.

En el seguimiento 26 a 30 días después de la administración del clorhidrato de 1-desoxinojirimicina y la alglucosidasa alfa en el periodo 2, se harán las siguientes evaluaciones a los sujetos: evaluación de acontecimientos adversos, medicaciones simultáneas, exploración física, constantes vitales, ECG de 12 derivaciones, pruebas analíticas (incluyendo creatina cinasa, LDH (LDH-5), fosfatasa alcalina, AST, ALT), Hex4, pruebas de fuerza muscular y títulos de anticuerpos anti-GAAhr.

Programa de evaluaciones y de recogida de muestras. La Tabla 1 muestra el programa de evaluaciones durante los períodos 1 y 2. Los momentos de recogida de muestras y los analitos para administración conjunta de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina con alglucosidasa alfa se muestran en la Tabla 2.

Tabla 1: Programa de evaluaciones

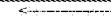
Actividad	Selección	periodos 1 y 2				Seguimiento 26-30 días después de la administración en el periodo 2
	En el plazo de 28 días desde el reclutamiento	Día -1	Día 1	Día 2	Día 7	
Consentimiento informado	X					
Antecedentes médicos y datos demográficos	X					
Exploración física	X	X			X	X
ECG (12 derivaciones)	X	X	X	X		X
Constantes vitales ¹	X	X	X	X	X	X
Hematología	X	X		X	X	X
ANÁLISIS DE ORINA	X	X		X	X	X
Bioquímica sérica	X	X		X	X	X
Hex4	X	X		X	X	X
Relación de medicación simultánea	X	X	X	X	X	X
FGe	X					
Dosis de fármaco			X ²			
ANÁLISIS DE SANGRE PARA FC ³			X	X	X	
Prueba de fuerza muscular (dinamómetro)	X	X		X	X	X
Biopsia de músculo					X	
Título de anticuerpos			X			X
Acontecimientos adversos		X	X	X	X	X

¹ Las constantes vitales incluyen temperatura, tensión arterial, frecuencia cardíaca y respiración.

² Fármaco(s) administrado(s): alglucosidasa alfa (períodos 1 y 2), clorhidrato de 1-desoxinojirimicina (período 2).

³ Los momentos de recogida de muestras y analitos se resumen en la Tabla 2.

Tabla 2: Momentos de recogida de sangre y músculo y análisis de muestras

Después del inicio de la Infusión de alglucosidasa alfa (h)														Día
Muestra recogida	Antes de la dosis	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	24	
Sangre	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Músculo														X
Infusión de alglucosidasa alfa ¹ 														
Plasma	GAA en plasma	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	GAA en leucocitos	X			X								X	X
	Anticuerpo	X												
Músculo	GAA													X
Periodo 2														
Antes de la dosis de HCl DNJ		Después del inicio de la Infusión de alglucosidasa alfa (h)												
Muestra recogida	0 ²	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	24	Día
Sangre	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Músculo														X
Infusión de alglucosidasa alfa ¹³ 														
Dosis de HCl DNJ		X												
Plasma	GAA en plasma	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	GAA en leucocitos	X	X			X								X
	Anticuerpo	X												
	HCl DNJ	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Músculo	GAA													X
	HCl DNJ													X
¹ La duración de la infusión para sujetos individuales se puede diferenciar 4 horas, sin embargo, la duración de la infusión y la tasa de infusión deben ser idénticas en ambos períodos. Se recogerá una muestra de sangre adicional inmediatamente antes de la finalización de la infusión (para ser analizada para GAA en plasma sola) si la duración de infusión varía de 4 horas y el final de la infusión no coincide con una muestra de sangre previamente establecida.														
² Muestra recogida 1 hora después de la dosis de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina, inmediatamente antes del inicio de la infusión de alglucosidasa alfa.														
³ La infusión de alglucosidasa alfa empezó una hora después de la administración de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina.														

5 **Farmacocinética en plasma de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina y GAA.** Se medirán en plasma las concentraciones de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina en muestras de sangre usando un ensayo de CL-EM/EM validado. Se determinará la actividad de GAA en plasma por un ensayo validado que mide la actividad enzimática usando 4-MUG, con y sin Con A. Se medirán los niveles de proteína GAA por transferencia Western usando anticuerpo anti-GAA humana.

10 10 **Actividad enzimática de GAA y niveles de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina en músculo.** Se examinará la actividad enzimática de GAA en muestras de biopsia de músculo. Se extirpará un trozo de tejido muscular como se describe en la Tabla 1. La actividad de GAA en músculo se determinará por un ensayo validado que mide la actividad enzimática usando 4-MUG, con y sin Con A. Se medirán los niveles de proteína GAA por transferencia Western usando anticuerpo anti-GAA humana. Se determinará las concentraciones de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina en muestras de músculo recogidas en el periodo 2 usando un ensayo de CL-EM/EM validado.

15 **Actividad de GAA en leucocitos (CMSP).** Se determinará la actividad de GAA en leucocitos en muestras de sangre por un ensayo validado que mide la actividad enzimática usando 4-MUG, con y sin Con A. Se medirán los niveles de proteína GAA por transferencia Western usando anticuerpo anti-GAA humana.

20 15 **Título de anticuerpos anti-GAAhr.** Se recogerán muestras de sangre y se medirán los títulos de anticuerpos anti-GAAhr en las muestras descritas en la Tabla 2.

25 **Parámetros de seguridad.** Se evaluarán los parámetros de seguridad por revisión de los cambios en los datos obtenidos en la exploración clínica, constantes vitales, cambios de ECG con el tiempo, pruebas analíticas, Hex4 y acontecimientos adversos.

30 20 **Constantes vitales, peso y altura.** Se medirán la temperatura corporal y la respiración en la selección y el registro. Para monitorizar la seguridad, se medirán la temperatura corporal, respiración, tensión arterial sentado y frecuencia cardíaca antes de la administración y aproximadamente 1, 2, 3, 4 y 6 horas después de la administración de alglucosidasa alfa (periodo 1) o clorhidrato de 1-desoxinojirimicina (periodos 2), y en los días descritos en la Tabla 1. Si el momento de control de las constantes vitales coincide con un análisis de sangre, el análisis de sangre tiene prioridad y las constantes vitales se ajustarán en consecuencia.

35 **Monitorización del ECG.** La monitorización del ECG se realizará con un ECG de 12 derivaciones habitual.

40 **Pruebas analíticas.** Se recogerán muestras de sangre para pruebas analíticas (hematología, bioquímica sérica) y análisis de orina según el programa en la Tabla 1.

- 30 · Las pruebas de hematología incluyen hemoglobina total, hematocrito, recuentos de eritrocitos, plaquetas y leucocitos con diferencial.
- La coagulación (selección solo) incluye INR y aPTT.
- La bioquímica sérica incluye medición de AST, ALT, fosfatasa alcalina, bilirrubina total, creatinina, creatina cinasa, urea, glucosa, calcio, sodio, potasio, magnesio, proteína total, albúmina, bicarbonato, LDH (LDH-5), nitrógeno ureico en sangre, cloruro y fosfato.
- 35 · El análisis de orina incluye color, aspecto, gravedad específica, pH, proteína, glucosa, cetonas, sangre, esterasa leucocitaria, nitrito, bilirrubina, urobilinógeno y microscopía del sedimento

45 **Tetasacáridos urinarios (Hex4).** Se recogerán muestras de orina para las determinaciones de Hex4 en los momentos indicados en la Tabla 1.

50 **Pruebas de fuerza muscular (dinamómetro portátil).** Se realizarán pruebas de fuerza muscular, evaluadas por dinamómetro portátil, en la selección, días -1 y 7 de cada periodo y en el seguimiento. Se evaluarán grupos de músculos proximales y distales.

45 **Parámetros farmacocinéticos.** Se calcularán los parámetros farmacocinéticos no compartimentales de ABC_{0-t} , ABC_{infinito} , $C_{\text{máx}}$, $t_{\text{máx}}$, K_{el} y semivida a partir de las concentraciones de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina en plasma y los niveles de la enzima GAAhr en plasma. Se resumirán los parámetros farmacocinéticos por tratamiento usando estadística descriptiva. Se calcularán las relaciones de ABC_{0-t} , ABC_{infinito} para actividad enzimática de GAA sola o después de la administración con clorhidrato de 1-desoxinojirimicina. Se analizarán por separado datos farmacocinéticos y farmacodinámicos para los sujetos que reciben Myozyme® y Lumizyme®.

50 **Ánálisis estadístico.** Se proporcionará estadística descriptiva (N, media, desviación estándar y coeficiente de variación, error estándar, mediana, mínimo y máximo) según convenga. Se evaluará el efecto del clorhidrato de 1-desoxinojirimicina sobre la actividad enzimática de GAA por cálculo de las relaciones de ABC y $C_{\text{máx}}$ individuales (por sujeto) del siguiente modo:

$$\text{Relación de ABC} = \frac{\text{ABC}_{\text{inf inito (combinación)}}}{\text{ABC}_{\text{inf inito (solo)}}}$$

$$\text{Relación de Cmáx} = \frac{\text{C}_{\text{máx (combinación)}}}{\text{C}_{\text{máx (solo)}}}$$

Se expresarán las relaciones de ABC y de C_{máx} como una media de las relaciones individuales y 90 % de intervalo de confianza para la media. Se analizarán por separado los datos farmacocinéticos y farmacodinámicos para los sujetos

5 que reciben Myozyme® y Lumizyme®. Se comparará la actividad de GAA en músculo con y sin administración conjunta de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina. Los resultados se presentarán en formas tabulada y gráfica, según convenga. Se incluirán en los análisis de seguridad y farmacocinético todos los sujetos que se administren con la medicación del estudio y tengan datos suficientes para generar parámetros farmacocinéticos fiables.

10 La presente solicitud no se debe limitar en alcance por las realizaciones específicas descritas en el presente documento. De hecho, diversas modificaciones de la solicitud, además de las descritas en el presente documento, serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la descripción anterior y las figuras adjuntas. Dichas modificaciones pretenden entrar dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

15 Se debe entender además que todos los valores son aproximados, y se proporcionan para descripción.

EJEMPLO DE REFERENCIA 2: Pauta posológica para el tratamiento de enfermedad de Pompe usando clorhidrato de 1-desoxinojirimicina y alglucosidasa alfa -- Cohortes 1 y 2

20 Era un objetivo del estudio evaluar la seguridad, eficacia y farmacodinámica de pautas posológicas que comprenden administrar conjuntamente clorhidrato de 1-desoxinojirimicina y alglucosidasa alfa en pacientes con enfermedad de Pompe.

25 Era otro objetivo del estudio evaluar los efectos de diversas dosis de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina sobre la actividad de GAA. Esto se evaluó midiendo la actividad enzimática de GAA y los niveles de proteína en músculo esquelético en el día 3 y/o día 7 después de una única infusión intravenosa con alglucosidasa alfa sola y después de la administración previa de una dosis oral ascendente única de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina.

Métodos. El estudio se realizó esencialmente según los métodos descritos en el Ejemplo 1. La cohorte 1 comprendió 4 sujetos. La cohorte 2 comprendió 6 sujetos. Cada sujeto recibió alglucosidasa alfa sola como una infusión intravenosa en el periodo 1 y una dosis única de 50 mg (cohorte 1) o 100 mg (cohorte 2) de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina una hora antes del inicio de una infusión intravenosa de alglucosidasa alfa en el periodo 2. Se muestra a continuación el genotipo, que incluye cambios de nucleótidos y de aminoácidos, para cada sujeto (cuanto esté disponible):

Genotipos de GAA

30

Paciente ID	Cambio de nucleótido	Cambio de aminoácido
A	c.-32-13T>G	Mutación de corte y empalme
B	No disponible	-
C	No disponible	-
D	c.1222A>G/c.-32-13T>G	M408V / Mutación de corte y empalme
E	c.-32-13T>G	Mutación de corte y empalme
F	No disponible	-
G	c.-32-13T>G / c.1445C>G	Mutación de corte y empalme / P482R
H	No disponible	-
I	c.692+5G>T/c.1211A>G	Mutación de corte y empalme / D404G
J	No disponible	-

Resultados: Cohorte 1

La actividad de GAAhr en plasma aumenta con la administración conjunta de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina y α -glucosidasa ácida con respecto a α -glucosidasa ácida sola

5 Para la administración conjunta de α -glucosidasa ácida con 50 mg de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina (periodo 2) con respecto a TES sola (periodo 1), se observó un aumento medio de 1,5 veces en el ABC (área bajo la curva) de la actividad de GAAhr en plasma como se muestra en la Tabla 3. La Tabla 3 también muestra el cambio en veces en la actividad de GAAhr entre los períodos 1 y 2 en las biopsias de músculo del día 7 de los sujetos de la cohorte 1.

Tabla 3. Resumen FC de la actividad de GAAhr media en plasma para la cohorte 1 (4 sujetos):

Tratamiento	$C_{\text{máx}}^a$ (nmol/h/mL)	$T_{\text{máx}}^b$ (h)	ABC_{0-T}^a (h*nmol/h/mL)	$ABC_{0-\infty}^a$ (h*nmol/h/mL)	$T_{1/2}^c$ (h)	F_{rel}^d
20 mg/kg de GAA sola	16441 (31,6)	5,0 (4 - 5)	105834 (30,7)	107707 (31,1)	3,9 (0,6)	-
20 mg/kg de GAA + 50 mg de AT2220	19922 (24,4)	5,0 (4 - 6)	152207 (21,3)	157162 (22,4)	4,2 (0,8)	1,5

10 ^a Media geométrica (% de CV)

^b Mediana (intervalo)

^c Media aritmética (DE)

^d F_{rel} = Media geométrica de las relaciones de $ABC_{0-\infty}$

Tratamiento	Periodo	Día de la biopsia	Actividad de GAA en músculo (pmol/mg/h)	Cambio en veces
GAAhr sola	1	7	1243 (302)	
GAAhr + 50 mg de AT2220	2	7	1211 (216)	1,02 (0,30)

15 Para la administración conjunta de α -glucosidasa ácida con 50 mg de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina (periodo 2) con respecto a TES sola (periodo 1), los aumentos individuales del sujeto en el ABC para actividad de GAAhr en plasma fueron 1,2, 1,5, 1,5 y 1,6 veces, como se muestra en las Tablas 4-7. Las Tablas 4-7 también muestran el cambio en veces en la actividad de GAAhr entre los períodos 1 y 2 en las biopsias de músculo del día 7.

Tabla 4. Actividad de GAAhr en plasma y músculo para el sujeto 2031-0101 (paciente A) (cohorte 1)

20

Tratamiento [dosis total (mg), duración de la infusión (h:min), tasa de infusión (mL/h)]	$C_{\text{máx}}$ (nmol/h/mL)	$T_{\text{máx}}$ (h)	ABC_{0-T} (h*nmol/h/mL)	$ABC_{0-\infty}$ (h*nmol/h/mL)	$T_{1/2}$ (h)	F_{rel}
20,2 mg/kg de GAA sola (1450, 4:59, 112)	17415	5,0	109403	111239	3,9	
20,2 mg/kg de GAA + 50 mg de AT2220 (1450, 5:03, 112)	20725	5,0	165304	170617	4,3	1,5

Peso corporal: 71,8 kg

Tratamiento	Periodo	Día de la biopsia	Actividad de GAA en músculo (pmol/mg/h)	Cambio en veces
GAAhr sola	1	7	1352,8	
GAAhr + 50 mg de AT2220	2	7	1398,5	1,03

Tabla 5. Actividad de GAAhr en plasma y músculo para el sujeto 2031-0102 (paciente B) (cohorte 1)

Tratamiento [dosis total (mg), duración de la infusión (h:min), tasa de infusión (mL/h)]	C _{máx} (nmol/h/mL)	T _{máx} (h)	ABC _{0-T} (h*nmol/h/mL)	ABC _{0-∞} (h*nmol/h/mL)	T _{1/2} (h)	F _{rel}
19,5 mg/kg de GAA sola (1750, 4:58, 112)	19139	5,0	125684	126956	3,3	
19,5 mg/kg GAA + 50 mg de AT2220 (1750, 5:10, 112)	19321	6,0	179229	190630	5,3	1,5

Peso corporal: 89,8 kg

Tratamiento	Periodo	Día de la biopsia	Actividad de GAA en músculo (pmol/mg/h)	Cambio en veces
GAAhr sola	1	7	1010,5	
GAAhr + 50 mg de AT2220	2	7	956,3	0,95

Tabla 6. Actividad de GAAhr en plasma y músculo para el sujeto 2031-0103 (paciente C) (cohorte 1)

Tratamiento [dosis total (mg), duración de la infusión (h:min), tasa de infusión (mL/h)]	C _{máx} (nmol/h/mL)	T _{máx} (h)	ABC _{0-T} (h*nmol/h/mL)	ABC _{0-∞} (h*nmol/h/mL)	T _{1/2} (h)	F _{rel}
20,6 mg/kg de GAA sola (1150, 5:00, 112)	10495	5,0	68617	69526	3,7	
20,6 mg/kg de GAA + 50 mg de AT2220 (1150, 5:04, 112)	14808	5,0	111781	114447	4	1,6

Peso corporal: 55,8 kg

Tratamiento	Periodo	Día de la biopsia	Actividad de GAA en músculo (pmol/mg/h)	Cambio en veces
GAAhr sola	1	7	988,4	
GAAhr + 50 mg de AT2220	2	7	1383,1	1,40

Tabla 7. Actividad de GAAhr en plasma y músculo para el sujeto 6003-0101 (paciente D) (cohorte 1)

Tratamiento [dosis total (mg), duración de la infusión (h:min), tasa de infusión (mL/h)]	C _{máx} (nmol/h/mL)	T _{máx} (h)	ABC _{0-T} (h*nmol/h/mL)	ABC _{0-∞} (h*nmol/h/mL)	T _½ (h)	F _{rel}
19,7 mg/kg de GAA sola (2150, 3:50, 175)	20889	4,0	132970	137064	4,6	
19,7 mg/kg de GAA + 50 mg de AT2220 (2150, 3:50, 175)	26568	4,0	162063	163896	3,4	1,2

Peso corporal: 109,0 kg

Tratamiento	Periodo	Día de la biopsia	Actividad de GAA en músculo (pmol/mg/h)	Cambio en veces
GAAhr sola	1	7	1620,4	
GAAhr + 50 mg de AT2220	2	7	1109,0	0,68

- 5 La siguiente Tabla 8 muestra las ABC acumuladas para actividad de GAAhr en plasma de la cohorte 1.

Tabla 8.

Tiempo (h)	2031-0101		2031-0102		2031-0103		6003-0101	
	Periodo 1	Periodo 2						
0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	995	797	1498	1317	1094	840	1528	1296
2	5514	4620	7422	7154	4549	4462	8617	7784
3	14322	13802	18433	18370	10513	12120	23531	21747
4	27215	28049	33967	33603	19342	23519	43327	43801
5	43537	46504	52486	50460	29815	37448	62700	67755
6	58363	66269	68174	68442	39357	51079	76972	87223
7	69498	83355	79546	86144	46438	62230	86420	102711
8	78151	97251	88568	100655	51167	71026	93589	114607
9	84748	109173	95606	112503	54568	77778	99912	123747
10	89665	119039	101047	122588	57196	83434	105495	131397
12	96302	133401	109601	138339	61036	92644	113716	142712
24	109403	165304	125684	179229	68617	111781	132970	162063

La Tabla 9 muestra la proteína GAAhr total en el resumen FC en plasma por transferencia Western (cohorte 1)

Tabla 9.

Periodo 1 (Tratamiento = GAAhr sola)					
Sujeto ID	C _{máx} (ng/mL)	T _{máx} (h)	ABC _{0-T} (ng*h/mL)	ABC _{0-∞} (ng*h/mL)	T _{1/2} (h)
2031-0101	197632	5	1573875	1842902	8,9
2031-0102	240858	5	2035347	2235425	6,9
2031-0103	266201	5	1907938	2142094	2,7
6003-0101	507039	5	2513158	2523836	0,8
N	4	4	4	4	4
Media	302932	5,0	2007580	2186064	4,8
DE	138984	0,0	389191	280606	3,7
Mín	197632	5,0	1573875	1842902	0,8
Mediana	253529	5,0	1971643	2188760	4,8
Máx	507039	5,0	2513158	2523836	8,9
% de CV	45,9	0,0	19,4	12,8	77,2
Media geométrica	283118	5,0	1979695	2172404	3,4

Periodo 2 (Tratamiento = GAAhr + 50 mg de AT2220)						
Sujeto ID	C _{máx} (ng/mL)	T _{máx} (h)	ABC _{0-T} (ng*h/mL)	ABC _{0-∞} (ng*h/mL)	F _{rel}	T _{1/2} (h)
2031-0101	259022	6,0	2440258	2712963	1,5	6,8
2031-0102	281085	5,0	3037230	3344934	1,5	6,3
2031-0103	334448	6,0	2400468	2903123	1,4	4
6003-0101	645181	4,0	3437632	3618220	1,4	2
N	4	4	4	4	4	4
Media	379934	5,3	2828897	3144810	1,4	4,8
DE	179644	1,0	499517	411935		2,2
Mín	259022	4,0	2400468	2712963		2,0
Mediana	307767	5,5	2738744	3124029		5,2
Máx	645181	6,0	3437632	3618220		6,8
% de CV	47,3	18,2	17,7	13,1		46,4
Media geométrica	354035	5,2	2796515	3124625		4,3

Resultados: Cohorte 2

- 5 La actividad de GAAhr en plasma aumenta con la administración conjunta de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina y α-glucosidasa ácida con respecto a α-glucosidasa ácida sola

Para la administración conjunta de α -glucosidasa ácida con 100 mg de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina (periodo 2) con respecto a TES sola (periodo 1), se observó un aumento medio de 1,7 veces en la ABC (área bajo la curva) para actividad de GAAhr en plasma, como se muestra en la Tabla 10A. La Tabla 10A también muestra el cambio en veces en la actividad de GAAhr entre los periodos 1 y 2 en las biopsias de músculo del día 3 y día 7 de los sujetos de la cohorte 2. La Tabla 10B muestra el resumen FC en plasma para el clorhidrato de 1-desoxinojirimicina a partir del periodo 2 de las cohortes 1 y 2. La Tabla 10C muestra las concentraciones de proteína GAAhr total de las cohortes 1 y 2 como se mide por transferencia Western.

Tabla 10A. Sumario FC de la actividad media de GAAhr en plasma para las cohortes 1 (4 sujetos) y la cohorte 2 (6 sujetos), y actividad media de GAAhr en biopsia de músculo para la cohorte 2 (6 sujetos):

Periodo / tratamiento	Cohorte	C _{máx} ^a (nmol/h/mL)	T _{máx} ^b (h)	ABC _{0-T} ^a (h*nmol/h/mL)	ABC _{0-∞} ^a (h*nmol/h/mL)	Relación de ABC ^a	t _{1/2} ^c (h)
GAAhr sola (N=4)	1	16441 (31,6)	5,0 (4 - 5)	105834 (30,7)	107707 (31,1)	-	3,9 (0,6)
GAAhr + 50 mg de AT2220 (N=4)	1	19922 (24,4)	5,0 (4 - 6)	152207 (21,3)	157162 (22,4)	1,5 (13,2)	4,2 (0,8)
GAAhr sola (N=6)	2	22785 (18,0)	4,0 (3 - 5)	142415 (30,4)	144953 (31,5)	-	3,8 (0,6)
GAAhr + 100 mg de AT2220 (N=6)	2	28607 (13,9)	4,0 (3 - 6)	229434 (25,3)	241203 (27,5)	1,7(10,1)	4,9 (0,8)

^aMedia geométrica (% de CV)

^bMediana (intervalo) (DE)

^cMedia aritmética (DE)

Tratamiento	Día de la biopsia	Actividad de GAAhr en músculo (pmol/mg/h)	Cambio en veces
GAAhr sola	-	1538,8	
GAAhr +100 mg de AT2220	3	2846,1	1,3
GAAhr + 100 mg de AT2220	7	1115,0	1,2
Seguimiento para el nivel basal	28	634,5	

Tabla 10B. Resumen FC medio de AT2220 para las cohortes 1 y 2

Tabla resumen de FC de AT2220						
Dosis de AT2220	C _{máx} ^a (ng/mL)	T _{máx} ^b (h)	ABC _{0-T} ^a (ng·h/mL)	ABC _{0-∞} ^a (ng·h/mL)	Relación de ABC _{0-∞}	t _{1/2} ^c (h)
50 mg (N=4)	1035 (25,0)	2,0 (1-3)	6972 (28,1)	7008 (28,2)	-	3,1(0,2)
100 mg (N=6)	1863 (13,1)	3,0 (1-4)	13003 (18,9)	13137 (19,2)	1,9	3,4(0,3)

^aMedia geométrica (% de CV)

^bMediana (intervalo)

^cMedia aritmética (DE)

Tabla 10C. Resumen FC de proteína GAAhr en plasma de las cohortes 1 y 2

Resumen FC de proteína GAAhr en plasma de las cohortes 1 y 2							
Periodo/ Tratamiento	Cohorte	C _{máx} ^a (nmol/h/mL)	T _{máx} ^b (h)	ABC _{0-T} ^a (h*nmol/h/mL)	Relación de ABC _{0-T} ^a	ABC _{0-∞} ^a (h*nmol/h/mL)	T _{1/2} ^c (h)
GAAhr sola (N=4)	1	283118 (45,9)	5,0 (5-5)	1979695 (19,4)	-	2172404 (12,8)	4,8 (3,7)
GAAhr + 50 mg de AT2220 (N=4)	1	354035 (47,3)	5,5 (4-6)	2796515 (17,7)	1,4 (9,2)	3124625 (13,1)	4,8 (2,2)
GAAhr sola (N=6)	2	399623 (25,8)	4,0 (4-5)	2315249 (44,3)	-	2862876 (86,8)	3,9 (4,5)
GAAhr + 100 mg de AT2220 (N=6)	2	430738 (30,5)	4,0 (4-7)	3841773 (44,5)	1,7(18,5)	5123518 (42,3)	6,1 (3,2)

^aMedia geométrica (% de CV)

^bMediana (intervalo)

^cMedia aritmética (DE)

5 Para la administración conjunta con 100 mg de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina (periodo 2) con respecto a TES sola (periodo 1), los aumentos del sujeto individual en el ABC para actividad de GAAhr plasmática fueron 1,5, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8 y 1,9 veces, como se muestra en las Tablas 11-16. Las Tablas 11-16 también muestran el cambio en veces en la actividad de GAAhr entre los períodos 1 y 2 en las biopsias de músculo del día 3 o día 7 de los sujetos de la cohorte 2.

Tabla 11. Actividad de GAAhr en plasma y músculo para el sujeto 2028-0201 (paciente F) (cohorte 2)

Tratamiento [dosis total (mg), duración de la infusión (h:min), tasa de infusión (mL/h)]	C _{máx} (nmol/h/mL)	T _{máx} (h)	ABC _{0-T} (h*nmol/h/mL)	ABC _{0-∞} (h*nmol/h/mL)	t _{1/2} (h)	F _{rel}
18,2 mg/kg de GAA sola (1850, 4:00, 175)	20541	4,0	125868	127210	3,5	-
18,2 mg/kg de GAA + 100 mg de AT2220 (1850, 3:57,175)	28053	4,0	212384	222194	4,8	1,75

10 Peso corporal: 101,5 kg

Tratamiento	Día de la biopsia	Actividad de GAA (pmol/mg/h)	Cambio en veces	Relación restado el nivel basal	% de cambio desde el nivel basal
GAAhr sola	7	756,4			13,6
GAAhr + 100 mg de AT2220	7	794,1	1,0	1,4	19,2
Seguimiento para el nivel basal	28	666,0			

Tabla 12. Actividad de GAAhr en plasma y músculo para el sujeto 2029-0202 (paciente G) (cohorte 2)

Tratamiento [dosis total (mg), duración de la infusión (h:min), tasa de infusión (mL/h)]	C _{máx} (nmol/h/mL)	T _{máx} (h)	ABC _{0-T} (h*nmol/h/mL)	ABC _{0-∞} (h*nmol/h/mL)	t _{1/2} (h)	F _{rel}
31,3 mg/kg de GAA sola (2200, 5:12, 115)	29167	5,0	231174	240183	4,6	-
31,3 mg/kg de GAA + 100 mg de AT2220 (2200, 5:24, 115)	34882	6,0	321065	349917	5,9	1,46

Peso corporal: 70,4 kg

Tratamiento	Día de la biopsia	Actividad de GAA (pmol/mg/h)	Cambio en veces	Relación restado el nivel basal	% de cambio desde el nivel basal
GAAhr sola	7	1019,9			178
GAAhr + 100 mg de AT2220	7	1608,9	1,6	1,9	339
Seguimiento para el nivel basal	28	366,8			

5

Tabla 13. Actividad de GAAhr en plasma y músculo para el sujeto 6003-0202 (paciente I) (cohorte 2)

Tratamiento [dosis total (mg), duración de la infusión (h:min), tasa de infusión (mL/h)]	C _{máx} (nmol/h/mL)	T _{máx} (h)	ABC _{0-T} (h*nmol/h/mL)	ABC _{0-∞} (h*nmol/h/mL)	t _{1/2} (h)	F _{rel}
20,0 mg/kg de GAA sola (2100, 3:55, 175)	20799	4,0	117942	119400	3,6	-
20,0 mg/kg de GAA + 100 mg de AT2220 (2100, 3:58, 175)	29775	4,0	185508	190894	4,2	1,60

Peso corporal: 105,1 kg

Tratamiento	Día de la biopsia	Actividad de GAA (pmol/mg/h)	Cambio en veces	Relación restado el nivel basal	% de cambio desde el nivel basal
GAAhr sola	7	844,7			-
GAAhr + 100 mg de AT2220	7	942,0	1,1	-	-
Seguimiento para el nivel basal	28	N/A			

Tabla 14. Actividad de GAAhr en plasma y músculo para el sujeto 2029-0203 (paciente H) (cohorte 2)

Tratamiento [dosis total (mg), duración de la infusión (h:min), tasa de infusión (mL/h)]	C _{máx} (nmol/h/mL)	T _{máx} (h)	ABC _{0-T} (h*nmol/h/mL)	ABC _{0-∞} (h*nmol/h/mL)	t _{1/2} (h)	F _{rel}
20,6 mg/kg de GAA sola (1850, 3:42, 175)	17907	4,0	107204	110173	4,6	-
20,6 mg/kg de GAA + 100 mg de AT2220 (1850, 3:44, 175)	23243	4,0	161694	166686	4,4	1,51

Peso corporal: 89,7 kg

Tratamiento	Día de la biopsia	Actividad de GAA (pmol/mg/h)	Cambio en veces	Relación restado el nivel basal	% de cambio desde el nivel basal
GAAhr sola	3	1347,7			54,8
GAAhr + 100 mg de AT2220	3	1103,2	0,8	0,5	26,7
Seguimiento para el nivel basal	28	870,7			

5

Tabla 15. Actividad de GAAhr en plasma y músculo para el sujeto 6003-0203 (paciente J) (cohorte 2)

Tratamiento [dosis total (mg), duración de la infusión (h:min), tasa de infusión (mL/h)]	C _{máx} (nmol/h/mL)	T _{máx} (h)	ABC _{0-T} (h*nmol/h/mL)	ABC _{0-∞} (h*nmol/h/mL)	t _{1/2} (h)	F _{rel}
19,9 mg/kg de GAA sola (1450, 3:25, 175)	23779	3,0	153974	155601	3,4	-
19,9 mg/kg de GAA + 100 mg de AT2220 (1450, 3:25, 175)	26219	3,0	269271	292137	5,8	1,88

Peso corporal: 73,0 kg

Tratamiento	Día de la biopsia	Actividad de GAA (pmol/mg/h)	Cambio en veces	Relación restado el nivel basal	% de cambio desde el nivel basal
GAAhr sola	3	3908,7			-
GAAhr + 100 mg de AT2220	3	5296,6	1,4	-	-
Seguimiento para el nivel basal	28	N/A			

Tabla 16. Actividad de GAAhr en plasma y músculo para el sujeto 2001-0201 (paciente E) (cohorte 2)

Tratamiento [dosis total (mg), duración de la infusión (h:min), tasa de infusión (mL/h)]	C _{máx} (nmol/h/mL)	T _{máx} (h)	ABC _{0-T} (h*nmol/h/mL)	ABC _{0-∞} (h*nmol/h/mL)	t _{1/2} (h)	F _{rel}
GAA sola	26371	4,0	147283	148324	3,13	-
GAA+ 100 mg de AT2220	30869	4,0	264841	272353	4,07	1,84

Peso corporal: 106,9 kg

Tratamiento	Día de la biopsia	Actividad de GAA (pmol/mg/h)	Cambio en veces	Relación restado el nivel basal	% de cambio desde el nivel basal
GAAhr sola	3	1355,4			-
GAAhr + 100 mg de AT2220	3	2138,5	1,6	-	-
Seguimiento para el nivel basal	28	N/A			

- 5 La siguiente Tabla 17 muestra las ABC acumuladas para actividad de GAAhr en plasma de la cohorte 2.

Tabla 17.

Tiempo (h)	2028-0201		2029-0202		2030-0202		2029-0203		2030-0203		2001-0201	
	Periodo 1	Periodo 2										
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	1472	1769	1443	1610	1034	1068	1220	1337	1671	1659	1386	1454
2	7965	8315	7828	9621	7705	7937	7214	7450	10498	10615	7949	8983
3	22987	22573	22121	26716	22685	23428	20011	20154	29546	31020	22185	26097
4	43259	46080	43930	50207	42426	48006	36988	39704	52442	56689	44429	52571
5	62103	72142	70971	78427	59273	72180	52355	60588	72064	79937	67125	80667
6	77708	92769	98881	111294	71064	90597	63550	77746	88561	101224	83577	104121
7	89164	109551	122363	141376	80584	107070	72339	92388	102076	122069	96025	124866
8	96948	124505	140329	164267	67328	120678	78879	103874	112225	141195	105784	143930
9	102833	137830	155433	184205	92657	132007	83646	113265	120241	157686	112846	160285
10	107669	150103	168382	203675	97345	141786	87638	121326	126846	173053	118271	174339
12	114263	168912	187295	235455	104183	155687	93505	139617	136582	199017	126701	198053
24	125868	212384	231174	321065	117942	185508	107204	161694	153974	269271	147283	264841

La Tabla 18A muestra la actividad de GAAhr de las biopsias de músculo tomadas en los días 3 o 7 de los períodos 1 y 2, más una biopsia opcional en el seguimiento para el sujeto de la cohorte 2.

Tabla 18A. Actividad de GAAhr en músculo (cohorte 2)

Sujeto ID/ período	Día de la biopsia	% de cambio desde el nivel basal	Relación restada el nivel basal	Cambio desde GAAhr sola
6003-0203*	3	-	-	1,4
2001-0201*	3	-	-	1,6
2029-0202/P1	7	178,1		-
2029-0202/P2	7	338,6	1,9	1,6
2029-0203/P1	3	54,8		-
2029-0203/P2	3	26,7	0,5	0,8
6003-0202*	7	-	-	1,1
2028-0201/P1	7	13,6		-
2028-0201/P2	7	19,2	1,4	1,0

* Nivel basal no disponible

- 5 La Tabla 18B muestra las concentraciones de 1-DNJ-HCL (AT2220) en músculo individual tomadas en los días 3 o 7 de las cohortes 1 y 2.

Tabla 18B. Concentraciones de 1-DNJ-HCL (AT2220) en músculo individual

Conc. de AT2220 en músculo de AT2220-010 para la cohorte 2				
Sujeto ID	Dosis (mg)	Periodo	Día del estudio	Conc. de AT2220 en músculo (ng/g) ^a
Paciente A	50 mg	Periodo 2	Día 7	11,8
Paciente B	50 mg	Periodo 2	Día 7	10,0
Paciente C	50 mg	Periodo 2	Día 7	13,1
Paciente D	50 mg	Periodo 2	Día 7	BLQ
Paciente E	100 mg	Periodo 2	Día 3	17,8
Paciente F	100 mg	Periodo 2	Día 7	BLQ ^b
Paciente F	0 mg	Seguimiento	Nivel basal	BLQ
Paciente G	100 mg	Periodo 2	Día 7	BLQ
Paciente G	0 mg	Seguimiento	Nivel basal	BLQ
Paciente N	100 mg	Periodo 2	Día 3	BLQ ^b
Paciente H	0 mg	Seguimiento	Nivel basal	BLQ
Paciente I	100 mg	Periodo 2	Día 7	BLQ ^b
Paciente J	100 mg	Periodo 2	Día 3	BLQ ^c

^aLLOQ = 8,0 ng/g

^bDebido al pequeño volumen del músculo, la muestra se diluyó 2 veces, por tanto LLOQ = 16,0 ng/g

^cDebido al pequeño volumen del músculo, la muestra se diluyó 3 veces, por tanto LLOQ = 32,0 ng/g

Resumen de resultados

Se ha encontrado que dosis únicas de 50 mg y 100 mg de 1-DNJ-HCl (AT2220) son seguras y bien toleradas en pacientes con enfermedad de Pompe. Solo se ha informado de acontecimientos adversos (AA) transitorios leves, ninguno de los cuales estuvo relacionado con AT2220 (los acontecimientos adversos representativos se describen a continuación). Un AA grave fue la prolongación de QTc inducida por citalopram. La prolongación de QTc se atenuó después de la reducción de dosis de citalopram. En general, los niveles de hex 4 en orina o no cambiaron desde el nivel basal, o no mostraron una tendencia coherente después de una dosis única de AT2220 (Fig. 7). Además, los niveles de CPK no cambiaron apreciablemente desde el nivel basal en las cohortes 1 y 2 (Fig. 8).

- 5 El ABC para actividad de GAAhr en plasma aumentó para todos los pacientes para ambas dosis conjuntas administradas con respecto a la alglucosidasa alfa sola. Los aumentos en ABC fueron principalmente inducidos por la semivida en plasma prolongada debido a aumentos en la actividad de GAAhr en momentos de tiempo posteriores a Tmáx (Tabla 10A, Fig. 2A y Fig. 4). Los aumentos en el ABC para actividad de GAAhr en plasma sugieren un aumento en la captación estabilizada de GAAhr para distribución tisular.
- 10 15 Se hicieron biopsias de músculo en el día 7 para los cuatro pacientes de la cohorte 1, y en el día 3 o día 7 para 3 de los 6 pacientes de la cohorte 2. Tres pacientes de la cohorte 2 tuvieron una biopsia de músculo opcional en el día 30, que se usó como un nivel basal para los pacientes. De los pacientes de la cohorte 1, después de la administración conjunta de 50 mg de AT2220, uno tuvo un aumento del 40 % en la actividad de GAAhr en músculo, dos no mostraron cambio y uno tuvo una disminución del 30 % en la actividad de GAAhr con respecto a GAAhr sola. De los pacientes 20 de la cohorte 2, después de la administración conjunta de 100 mg de AT2220, dos pacientes tuvieron aumentos del 60 % y 40 % en la actividad de GAAhr con respecto a GAAhr sola, pero uno disminuyó en 20 % de las biopsias tomadas en el día 3. A partir de las biopsias tomadas en el día 7, dos aumentaron en 60 % y 10 %, y una no mostró cambio en la actividad de GAAhr.
- 25 La farmacocinética de AT2220 en plasma es aproximadamente lineal para las dosis de 50 mg y 100 mg evaluadas en este momento en el estudio. Se observa un aumento aproximado de 2 veces en Cmáx y ABC con la dosis (Tabla 10B, Fig. 5). La tasa de absorción (Tmáx) es 2 a 3 horas, que indica que todo el fármaco biodisponible se ha absorbido pronto durante la infusión de GAAhr. Las concentraciones de AT2220 en músculo a partir de las biopsias del día 3 o día 7 estuvieron o por debajo o cerca del límite inferior de cuantificación de 8 ng/g (Tabla 18B).
- 30 La proteína GAAhr en plasma total por transferencia Western siguió una tendencia similar a la actividad de GAAhr en plasma en términos de aumentos relacionados con la dosis de AT2220 (Fig. 6, Tabla 10C).

Conclusiones

1-DNJ-HCl fue seguro y bien tolerado en los niveles de dosis de tanto 50 mg como 100 mg evaluados hasta la fecha.

La actividad de GAAhr en plasma aumentó 20 % a 40 % y 50 % a 90 % después de la dosis única de 50 mg y 100 mg de 1-DNJ-HCl, respectivamente.

- 35 Al nivel de dosis de 50 mg, 1 de cada 4 pacientes tuvieron un aumento de la actividad de GAAhr en músculo; sin embargo, a 100 mg de 1-DNJ-HCl, 4 de cada 6 pacientes tuvieron hasta un aumento del 60 % en la actividad de GAAhr en músculo.

1-DNJ-HCl en plasma demostró FC aproximadamente lineal para las 2 dosis evaluadas hasta la fecha.

- 40 Las concentraciones de 1-DNJ-HCl en músculo estuvieron o por debajo o por encima del límite inferior de cuantificación de las biopsias del día 3 o 7, que sugiere que 1-DNJ-HCl no se puede acumular después de la administración múltiple cada 14 días.

La FC de la proteína GAAhr total en plasma siguió una tendencia similar a la FC de la actividad de GAAhr.

Acontecimientos adversos

- 45 Se ha informado de 20 acontecimientos adversos (AA), uno de los cuales fue grave. Los acontecimientos adversos representativos se muestran en las Tablas 19 y 20. El AA grave, intervalo de QTc prolongado desde 473 hasta 493 ms, que ocurrió después de la visita de selección, pero antes de la administración, fue de intensidad moderada, y el investigador lo consideró no relacionado con el fármaco del estudio. Todos los AA fueron de intensidad leve, todos se consideraron no relacionados con el fármaco del estudio, y se resolvieron sin tratamiento. Se presentan los niveles del tetrasacárido A de hexosa en orina (Hex 4 en orina) y los niveles de CPK en suero para cada paciente en las Figuras 50 7 y 8.

Tabla 19. Cohorte 1: Acontecimientos adversos

Investigador N.º Paciente N.º	Acontecimiento adverso	Fecha de inicio	Fecha de parada	Resultado	¿Se requirió algun tratamiento?	¿Relación con el fármaco del estudio?	¿Fue grave el acontecimiento?	Intensidad
203101	SEÑO BLOQUEADO CON PINORREA	31/EN/2012	04/FEB/2012	Recuperado/ resuelto	Ninguno	No relacionado	No	Leve
	CANSADO, MÁS DE LO NORMAL	31/EN/2012	04/FEB/2012	Recuperado/ resuelto	Ninguno	No relacionado	No	Leve
203102	DOLOR DEL MUSLO BILATERAL	06/EN/2012	31/EN/2012	Recuperado/ resuelto	Ninguno	No relacionado	No	Leve
	AUMENTO DE LA FRECUENCIA DE MIGRACIÓN A APROXIMADAMENTE CADA HORA	06/EN/2012	09/EN/2012	Recuperado/ resuelto	Ninguno	No relacionado	No	Leve
	SUENO MÁS LARGO AUMENTO DE LA FRECUENCIA DE LA SIESTA	06/EN/2012	09/EN/2012	Recuperado/ resuelto	Ninguno	No relacionado	No	Leve
	DOLOR EN LA PIerna DERECHA "DOLOR FULGURANTE" CUANDO SE APlica PRESIÓN AL SITIO	10/EN/2012		Recuperándose/ resolviéndose	Medicaciones concomitantes	No relacionado	No	Leve
	SE SIENTE EL LADO INTERIOR DERECHO DE LA BOCA COMO SI EL TEJIDO SE HUBIERA MORDIDO	05/EN/2012	09/EN/2012	Recuperado/ resuelto	Ninguno	No relacionado	No	Leve
	SÍNTOMAS RESPIRATORIOS SUPERIORES/DE TIPO GRIPE	06/EN/2012	09/EN/2012	Recuperado/ resuelto	Ninguno	No relacionado	No	Leve
203103	DOLOR EN EL MUSLO DERECHO	05/EN/2012	20/EN/2012	Recuperado/ resuelto	Medicaciones concomitantes	No relacionado	No	Leve
60030101	PIES DOLORIDOS	25/NOV/2011	25/NOV/2011	Recuperado/ resuelto	Medicaciones concomitantes	No relacionado	No	Leve

- Se revisaron los datos de seguridad para 4 sujetos
 - Sin AAG o AA relacionados con el fármaco
 - Hex4 en orina: sin elevaciones relacionadas con el fármaco
 - ALT/AST: sin elevaciones relacionadas con el fármaco
- 5 · CPK: sin elevaciones relacionadas con el fármaco más allá del intervalo de valores basales del sujeto - cambios no clínicamente significativos
- Fuerza muscular: sin cambio entre los periodos 1 y 2
 - El seguimiento ocurre 24 - 30 días después del periodo 2, visita 4
 - 3 sujetos mostraron elevación en los niveles de Hex4 y CPK
 - El seguimiento adicional mostró que los 3 sujetos tuvieron niveles de Hex4 y CPK dentro del intervalo basal
 - Los cambios estuvieron de acuerdo con el ruido de fondo
- 10

Tabla 20. Cohorte 2: Acontecimientos adversos

Investigador N.º/ paciente N.º	Acontecimiento adverso	Fecha de inicio	Fecha de parada	Resultado	¿Se requirió algun tratamiento?	¿Relación con el farmaco del estudio?	¿Fue grave el acontecimiento?	Intensidad
60030202	Ninguno	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	No	N/A
20280201	DOLOR DE LA PIERN DERECHA DESPUÉS DE LA BIOPSIA DE MÚSCULO	21/MAR/2012	22/MAR/2012	Recuperado/ resuelto	Ninguno	relacionado	No	Leve
20290202	Ninguno	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	No	N/A
20290203	ERITEMA EN EL LUGAR DEL PUERTO QUE SE EXTIENDE HASTA LA MITAD DEL CUELLO Y HASTA LA MITAD DEL PECHO DEBIDO A UNA REACCIÓN ALÉRGICA AL ESPARADRAPO	05/ABR/2012	07/ABR/2012	Recuperado/ resuelto	Ninguno	relacionado	No	Leve
	DOLOR CON LA PALPACIÓN EN EL SITIO DE BIOPSIA DE MÚSCULO DE LA PIERNA DERECHA	06/ABR/2012	19/ABR/2012	Recuperado/ resuelto	Ninguno	relacionado	No	Leve
	HEMATOMA EN EL LUGAR DE LA BIOPSIA DE MÚSCULO DE LA PIERNA DERECHA	06/ABR/2012	17/ABR/2012	Recuperado/ resuelto	Ninguno	relacionado	No	Leve
	ERITEMA EN LA ZONA DEL PUERTO DEBIDO A UNA REACCIÓN ALÉRGICA AL ESPARADRAPO	19/ABR/2012	21/ABR/2012	Recuperado/ resuelto	Ninguno	relacionado	No	Leve
60030203	Ninguno	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

- Se revisaron los datos de seguridad para 5 sujetos
- Sin AAG o AA relacionados con el fármaco
- Hex4: sin elevaciones relacionadas con el fármaco
- ALT/AST: sin elevaciones relacionadas con el fármaco
- 5 · CPK: sin elevaciones relacionadas con el fármaco más allá del intervalo de niveles basales del sujeto
- Fuerza muscular: sin cambio entre los periodos 1 y 2

EJEMPLO 3: Pauta posológica para el tratamiento de enfermedad de Pompe usando clorhidrato de 1-desoxinojirimicina y alglucosidasa alfa -- Cohortes 3 y 4

10 Era objetivo del estudio evaluar la seguridad, eficacia y farmacodinámica de pautas posológicas que comprenden administrar conjuntamente clorhidrato de 1-desoxinojirimicina y alglucosidasa alfa en pacientes con enfermedad de Pompe.

15 Era otro objetivo del estudio evaluar los efectos de diversas dosis de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina sobre la actividad de GAA. Esto se evaluó midiendo la actividad enzimática de GAA y los niveles de proteína en músculo esquelético en el día 3 y/o día 7 después de una única infusión intravenosa con alglucosidasa alfa sola y después de la administración previa de una única dosis oral ascendente de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina.

Métodos. El estudio se realizó esencialmente según los métodos descritos en el Ejemplo 1. La cohorte 3 comprendió 6 sujetos. La cohorte 4 comprendió 7 sujetos. Cada sujeto recibió alglucosidasa alfa sola como una infusión intravenosa en el periodo 1 y una única dosis de 250 mg (cohorte 3) o 600 mg (cohorte 4) de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina una hora antes del inicio de una infusión intravenosa de alglucosidasa alfa en el periodo 2.

20 **Resultados: Cohorte 3**

La actividad de GAAhr en plasma y músculo aumenta con la administración conjunta de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina y α -glucosidasa ácida con respecto a la α -glucosidasa ácida sola

25 Para la administración conjunta de α -glucosidasa ácida con 250 mg de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina (periodo 2) con respecto a TES sola (periodo 1), se observó un aumento medio de 2,0 veces en la actividad de GAAhr en plasma, como se muestra en la Tabla 21.

Tabla 21. Resumen de FC para actividad de GAAhr en plasma para las cohortes 1, 2 y 3.

Periodo/tratamiento	Cohorte	Período	C_{max}^a (nmol/h/mL)	T_{max}^b (h)	$ABC_{0-\infty}^a$ (h ² nmol/h/mL)	$ABC_{0-\infty}^a$ (h ² nmol/h/mL)	Relación de ABC ^c	$t_{1/2}^c$ (h)
GAAhr sola (N=4)	1	1	16441 (31,6)	5,0 (4,5)	106834 (30,7)	107707 (31,1)	-	3,9 (0,6)
GAAhr + 50 mg de AT2220 (N=4)	1	2	19922 (24,4)	5,0 (4,6)	152207 (21,3)	157162 (22,4)	1,5 (13,2)	4,2 (0,8)
GAAhr sola (N=6)	2	1	22785 (18,0)	4,0 (3,5)	142415 (30,4)	144953 (31,5)	-	3,8 (0,6)
GAAhr + 100 mg de AT2220 (N=6)	2	2	28607 (13,9)	4,0 (3,6)	229434 (25,3)	241203 (27,5)	1,7 (10,1)	4,9 (0,8)
GAAhr sola (N=6)	3	1	18986 (18,7)	4,0 (4,4)	107774 (19,7)	109165 (20,0)	-	3,6 (0,5)
GAAhr + 250 mg de AT2220 (N=6)	3	2	22851 (9,0)	4,0 (4,4)	201224 (8,8)	214751 (8,5)	2,0 (19,7)	5,3 (1,1)

^aMedia geométrica (% de CV)^bMediana (intervalo)^cMedia aritmética (DE)

Para la administración conjunta de α -glucosidasa ácida con 250 mg de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina (periodo 2) con respecto a TES sola (periodo 1), se muestran los aumentos en la actividad de GAAhr en plasma de los sujetos de la cohorte 3 en las Tablas 22-35. Estas tablas también muestran el aumento en GAAhr en tejido muscular después de la administración conjunta de α -glucosidasa ácida con 250 mg de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina (periodo 2) con respecto a TES sola (periodo 1).

5

Tabla 22. Actividad de GAAhr en plasma para el sujeto 2027-0301.

Tratamiento (dosis total [mg], duración de la infusión [h:min])	Sujeto ID	C _{máx} (nmol/h/mL)	T _{máx} (h)	ABC _{0-T} (h*nmol/h/mL)	ABC _{0-∞} (h*nmol/h/mL)	Relación de ABC _{0-∞} ~ para P2/P1	t _{1/2} (h)
20,0 mg/kg de GAAhr sola (1540, 3:41)	2027-0301	22352	4,0	112800	113502	-	3,2
20,0 mg/kg de GAAhr + 250 mg de AT2220 (1540, 3:55)	2027-0301	23309	4,0	187370	192337	1,7	4,0
Peso corporal = 77,0 kg							

Tabla 23. Actividad de GAAhr en plasma para el sujeto 2029-0304.

Tratamiento (dosis total [mg], duración de la infusión [h:min])	Sujeto ID	C _{máx} (nmol/h/mL)	T _{máx} (h)	ABC _{0-T} (h*nmol/h/mL)	ABC _{0-∞} (h*nmol/h/mL)	Relación de ABC _{0-∞} ~ para P2/P1	t _{1/2} (h)
19,9 mg/kg de GAAhr sola (1900, 3:44)	2029-0304	23813	4,0	134941	136708	-	3,7
19,9 mg/kg de GAAhr + 250 mg de AT2220 (1900, 4:02)	2029-0304	23628	4,0	209939	225285	1,6	5,7
Peso corporal = 95,6 kg							

10

Tabla 24. Actividad de GAAhr en plasma para el sujeto 2029-0305.

Tratamiento (dosis total [mg], duración de la infusión [h:min])	Sujeto ID	C _{máx} (nmol/h/mL)	T _{máx} (h)	ABC _{0-T} (h*nmol/h/mL)	ABC _{0-∞} (h*nmol/h/mL)	Relación de ABC _{0-∞} ~ para P2/P1	t _{1/2} (h)
20,5 mg/kg de GAAhr sola (1400, 3:44)	2029-0305	19996	4,0	115349	117667	-	4,3

Tratamiento (dosis total [mg], duración de la infusión [h:min])	Sujeto ID	C _{máx} (nmol/h/mL)	T _{máx} (h)	ABC _{0-T} (h [*] nmol/h/mL)	ABC _{0-∞} (h [*] nmol/h/mL)	Relación de ABC ₀₋ ∞ para P2/P1	t _{1/2} (h)
20,5 mg/kg de GAAhr + 250 mg de AT2220 (1400, 3:49)	2029-0305	25898	4,0	233726	248494	2,1	5,3
Peso corporal = 68,3 kg							

Tabla 25. Actividad de GAAhr en plasma para el sujeto 2029-0306.

Tratamiento (dosis total [mg], duración de la infusión [h:min])	Sujeto ID	C _{máx} (nmol/h/mL)	T _{máx} (h)	ABC _{0-T} (h [*] nmol/h/mL)	ABC _{0-∞} (h [*] nmol/h/mL)	Relación de ABC ₀₋ ∞ para P2/P1	t _{1/2} (h)
20,4 mg/kg de GAAhr sola (1300, 3:43)	2029-0306	14548	4,0	97198	98713	-	3,7
20,4 mg/kg de GAAhr + 250 mg de AT2220 (1300, 3:59)	2029-0306	21631	4,0	189711	215411	2,2	7,2
Peso corporal = 63,8 kg							

Tabla 26. Actividad de GAAhr en plasma para el sujeto 2029-0307.

Tratamiento (dosis total [mg], duración de la infusión [h:min])	Sujeto ID	C _{máx} (nmol/h/mL)	T _{máx} (h)	ABC _{0-T} (h [*] nmol/h/mL)	ABC _{0-∞} (h [*] nmol/h/mL)	Relación de ABC ₀₋ ∞ para P2/P1	t _{1/2} (h)
19,9 mg/kg de GAAhr sola (1200, 3:43)	2029-0307	15758	4,0	73754	74024	-	2,9
19,9 mg/kg de GAAhr + 250 mg de AT2220 (1200, 3:43)	2029-0307	21983	4,0	189648	196051	2,6	4,3
Peso corporal = 60,4 kg							

Tabla 27. Actividad de GAAhr en plasma para el sujeto 6003-0304.

Tratamiento (dosis total [mg], duración de la infusión [h:min])	Sujeto ID	C _{máx} (nmol/h/mL)	T _{máx} (h)	ABC _{0-T} (h*nmol/h/mL)	ABC _{0-∞} (h*nmol/h/mL)	Relación de ABC _{0- ∞} para P2/P1	t _{1/2} (h)
20,2 mg/kg de GAAhr sola (1200,4:00)	6003-0304	19195	4,0	124504	126855	-	3,8
20,2 mg/kg de GAAhr + 250 mg de AT2220 (1200, 3:50)	6003-0304	19912	4,0	200698	215705	1,7	5,5
Peso corporal = 59,5 kg							

Tabla 2B. Tabla de FG: Sujetos individuales y resumen estadístico para la cohorte 3.

Cohorte	Período	Tratamiento	Sujeto ID	C _{max} (nmol/L)	T _{max} (h)	ABC _{0,T} (nmol/ml)	ABC _{0,e} (nmol/ml)	Relación de ABC _{0,e} para P2/P1	t _{1/2} (h)
Cohorte 3	1	GA4hr sola	2027-0303	22352	4,0	112800	113502	-	3,2
			2029-0304	23813	4,0	134941	136703	-	3,7
			2029-0305	19396	4,0	115349	117657	-	4,3
			2029-0306	14548	4,0	97198	98713	-	3,7
			2029-0307	15758	4,0	73764	74024	-	2,9
			6203-0304	19195	4,0	124504	126855	-	3,8
			N	6	6	6	6	-	6
		Media	19277	4,0	109758	111245	-	-	3,6
		D.E	3614	0,0	21662	22275	-	-	0,5
		Mín	14548	4,0	73754	74024	-	-	2,9
		Mediana	19596	4,0	114075	115585	-	-	3,7
		Máx	23813	4,0	134941	136708	-	-	4,3
		% de CV	18,7	0,0	19,7	20,0	-	-	13,6
		Media geométrica	18986	4,0	107774	109165	-	-	3,6
Cohorte 3	Período	Tratamiento	Sujeto ID	C _{max} (nmol/L)	T _{max} (h)	ABC _{0,T} (nmol/ml)	ABC _{0,e} (nmol/ml)	Relación de ABC _{0,e} para P2/P1	t _{1/2} (h)
	2	GA4hr + 250 mg de AT2220	2027-0303	23389	4,0	187370	192337	-	4,0
			2029-0304	23628	4,0	209939	225285	1,6	5,7
			2029-0305	25898	4,0	233726	248494	2,1	5,3
			2029-0306	21631	4,0	189711	215411	2,2	7,2
			2029-0307	21983	4,0	189648	196054	2,6	4,3
			6203-0304	19912	4,0	200698	215703	1,7	5,5
			N	6	6	6	6	6	6
		Media	22727	4,0	201649	215547	-	-	5,3

Cohorte	Período	Tratamiento	Sujeto ID	C_{max} (nmol/L)	T_{max} (h)	ABC_{0-T} (h·nmol/L)	$ABC_{0-\infty}$ (h·nmol/L)	Relación de $ABC_{0-\infty}$ para P2/P1	$t_{1/2}$ (h)
		DE	2044	0,0	17826	20490		0,39	1,1
		Min	19912	4,0	187370	192337		1,6	4,0
		Mediana	22646	4,0	196205	216558		1,9	5,4
		Máx	25898	4,0	233726	248494		2,6	7,2
		% de CV	9,0	0,0	8,8	9,5	19,7	21,4	
		Media geométrica	22651	4,0	201224	214751	2,0	5,2	

Tabla 29. ABC para de actividad de GAAhr en plasma acumulada para la cohorte 3.

Tiempo (h)	2027-0301		2029-0304		2029-0305		2029-0306		2029-0307		6003-0304	
	Periodo 1	Periodo 2										
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	1298	1133	1267	1143	1220	1393	792	1010	1062	1215	909	1301
2	7879	7326	8113	7960	7497	8969	5424	5326	5868	8077	5949	6683
3	21394	21155	22525	22418	21222	26305	15301	15140	16684	23310	16839	18309
4	40802	41579	43265	43017	39887	50408	28612	32464	31637	43887	33196	36732
5	59642	64183	63849	64625	56727	74955	41909	51551	44153	63736	50697	55908
6	72995	84032	79311	84019	68144	95856	53007	67542	52334	80847	64811	72918
7	-	100016	91047	100716	77913	114242	62208	81827	58134	96913	75545	88421
8	89787	113607	100193	115598	85835	130563	69700	94724	62129	111305	84044	102543
9	95144	124902	107586	129048	91696	144498	75249	106837	64856	122982	91391	115053
10	99116	134855	113075	140347	96015	156950	79526	117553	66898	133094	97158	126666
12	104289	151892	120450	158424	102185	177830	85692	134802	69635	150378	105787	146551
24	112800	187370	134941	209939	115349	233726	97198	169711	73754	189648	124504	200698

Tabla 30. ABCG-1 mRNA y Tmáx y Tmáx-12h para actividad de GAAhr en plasma acumulada para las cohortes 1-3.

Cohorte 2: Período 1 GAAHr soia, período 2 GAAHr + 100 mg de AT2220

Tiempo (t)	2028-2031			2029-2032			2030-2033			2031-2034			2032-2035			2033-2036			2034-2037		
	Periodo	Periodo	Diferencia																		
1	2	% variable																			
1	4.0	4.0	0.0	4.0	4.0	0.0	4.0	4.0	0.0	4.0	4.0	0.0	4.0	4.0	0.0	4.0	4.0	0.0	4.0	4.0	0.0
ABC_Geo	422592	438890	3.9%	8521	8571	5.8%	401288	402065	0.2%	53600	5312	9.3%	385680	383260	0.4%	738	738	0.0%	532	44425	32.5%
ABC_Geo_S	1332693	1386512	3.9%	285483	28180	23.7	4341263	433887	0.3%	511584	50844	5.8%	835593	833817	2.2%	4332	4329	0.7%	138862	138367	0.3%

Cohorte 3: Período 1 GAAhr soia, período 2 GAAhr + 150 mg de AT2220

Tabla 31. Perfil de AT2220 en plasma medio (DE) para la cohortes 1 N=4, 2 (N=6) y 3 (N=6).

Tabla resumen FC de AT2220						
Dosis de AT2220	C _{máx} ^a (ng/mL)	T _{máx} ^b (h)	ABC _{0-T} ^a (ng·h/mL)	ABC _{0-∞} ^a (ng·h/mL)	Relación de ABC _{0-∞}	t _{1/2} ^c (h)
50 mg (N=4)	1035 (25,0)	2,0 (1 - 3)	6972 (28,1)	7008 (28,2)	-	3,1 (0,2)
100 mg (N=6)	1863 (13,1)	3,0 (1 - 4)	13003 (18,9)	13137 (19,2)	1,9	3,4 (0,3)
250 mg (N=6)	3150 (32,5)	2,0 (2 - 3)	21760 (19,8)	22083 (19,2)	3,2	3,7 (0,6)

^aMedia geométrica (% de CV)

^bMediana (intervalo)

^cMedia aritmética (SD)

Tabla 32. Tabla resumen de FC de AT2220 en plasma para la cohorte 3.

Parámetros FC de AT2220 en plasma de AT2220-010 para la cohorte 3							
Cohorte	Dosis de AT2220	Sujeto ID	C _{máx} (ng/mL)	T _{máx} (h)	ABC _{0-T} (ng·h/mL)	ABC _{0-∞} (ng·h/mL)	
Cohorte 3	250 mg	2027-0301	3620	2,0	22230	22345	
		2029-0304	2350	2,0	18321	18711	
		2029-0305	4220	2,0	24278	24558	
		2029-0306	2090	3,0	18707	19329	
		2029-0307	2740	2,0	19344	19534	
		6003-0304	4750	3,0	29670	29916	
		N	6	6	6	6	
		Media	3295	2,3	22092	22399	
		DE	1071	0,5	4369	4299	
		Min	2090	2,0	18321	18711	
		Mediana	3180	2,0	20787	20940	
		Máx	4750	3,0	29670	29916	
		% de CV	32,5	22,1	19,8	19,2	
		Media geométrica	3150	2,3	21760	22083	
						3,7	
<ul style="list-style-type: none"> • Cmáx media y ABC aumentaron de un modo aproximadamente proporcional a la dosis (1,8 y 1,9 veces, respectivamente) desde 50 mg hasta 100 mg. • Sin embargo, Cmáx y ABC aumentaron de un modo inferior a proporcional a la dosis hasta 250 mg (3,0 y 3,2 veces, respectivamente). 							

Tabla 33. Resumen de actividad de GAAhr en músculo de las cohortes 1-3.

Actividad de GAAhr en músculo de AT2220-010 para todas las cohortes								
Sujeto ID	Cohorte	Periodo	Tratamiento	Biopsia Día	Actividad de GAAhr en músculo (pmol/mg/h)	Relación P2/P1	% de cambio desde el periodo 1	% de cambio desde el nivel basal
2031-0101	Cohorte 1	Periodo 1	GAAhr sola	7	1352,8			
2031-0101	Cohorte 1	Periodo 2	GAAhr + 50 mg de AT2220	7	1398,5	1,0	3,4	
2031-0102	Cohorte 1	Periodo 1	GAAhr sola	7	1010,5			
2031-0102	Cohorte 1	Periodo 2	GAAhr + 50 mg de AT2220	7	956,3	0,95	-5,4	
2031-0103	Cohorte 1	Periodo 1	GAAhr sola	7	988,4			
2031-0103	Cohorte 1	Periodo 2	GAAhr + 50 mg de AT2220	7	1383,1	1,4	39,9	
6003-0101	Cohorte 1	Periodo 1	GAAhr sola	7	1620,4			
6003-0101	Cohorte 1	Periodo 2	GAAhr + 50 mg de AT2220	7	1109,0	0,68	-31,6	
2028-0201	Cohorte 2	Periodo 1	GAAhr sola	7	756,4			13,6
2028-0201	Cohorte 2	Periodo 2	GAAhr + 100 mg de AT2220	7	794,1	1,0	5,0	19,2
2028-0201	Cohorte 2	Seguimiento	Nivel basal	28	666,0			
2029-0202	Cohorte 2	Periodo 1	GAAhr sola	7	1019,9			178
2029-0202	Cohorte 2	Periodo 2	GAAhr + 100 mg de AT2220	7	1608,9	1,6	57,8	339
2029-0202	Cohorte 2	Seguimiento	Nivel basal	28	366,8			
2029-0203	Cohorte 2	Periodo 1	GAAhr sola	3	1347,7			54,8
2029-0203	Cohorte 2	Periodo 2	GAAhr + 100 mg de AT2220	3	1103,2	0,82	-18,1	26,7
2029-0203	Cohorte 2	Seguimiento	Nivel basal	28	870,7			
6003-0202	Cohorte 2	Periodo 1	GAAhr sola	7	844,7			
6003-0202	Cohorte 2	Periodo 2	GAAhr + 100 mg de AT2220	7	942,0	1,1	11,5	

Actividad de GAAhr en músculo de AT2220-010 para todas las cohortes

Sujeto ID	Cohorte	Periodo	Tratamiento	Biopsia Día	Actividad de GAAhr en músculo (pmol/mg/h)	Relación P2/P1	% de cambio desde el periodo 1	% de cambio desde el nivel basal
6003-0203	Cohorte 2	Periodo 1	GAAhr sola	3	3908,7			
6003-0203	Cohorte 2	Periodo 2	GAAhr + 100 mg de AT2220	3	5296,6	1,4	35,5	
2001-0201	Cohorte 2	Periodo 1	GAAhr sola	3	1355,4			
2001-0201	Cohorte 2	Periodo 2	GAAhr + 100 mg de AT2220	3	2138,5	1,6	57,8	
2027-0301	Cohorte 3	Periodo 1	GAAhr sola	7	BLQ			
2027-0301	Cohorte 3	Periodo 2	GAAhr + 250 mg de AT2220	7	2090,7	∞	∞	
2029-0304	Cohorte 3	Periodo 1	GAAhr sola	7	1350,2			
2029-0304	Cohorte 3	Periodo 2	GAAhr + 250 mg de AT2220	7	1322,0	1,0	-2,1	
2029-0305	Cohorte 3	Periodo 1	GAAhr sola	7	937,9			
2029-0305	Cohorte 3	Periodo 2	GAAhr + 250 mg de AT2220	7	1746,6	1,9	86,2	
2029-0306	Cohorte 3	Periodo 1	GAAhr sola	3	2934,9			1100
2029-0306	Cohorte 3	Periodo 2	GAAhr + 250 mg de AT2220	3	2819	1,0	-3,9	1053
2029-0306	Cohorte 3	Seguimiento	Nivel basal	28	244,5			
2029-0307	Cohorte 3	Periodo 1	GAAhr sola	3	2228,9			
2029-0307	Cohorte 3	Periodo 2	GAAhr + 250 mg de AT2220	3	1883,9	0,85	-15,5	
6003-0304	Cohorte 3	Periodo 1	GAAhr sola	3	2755			
6003-0304	Cohorte 3	Periodo 2	GAAhr + 250 mg de AT2220	3	3896,9	1,4	41,4	
Media	Cohorte 1			Día 7	N=4	1,0	1,6	
Media	Cohorte 2			Día 3	N=3	1,3	25,0	
Media	Cohorte 2			Día 7	N=3	1,2	24,8	

Actividad de GAAhr en músculo de AT2220-010 para todas las cohortes								
Sujeto ID	Cohorte	Periodo	Tratamiento	Biopsia Día	Actividad de GAAhr en músculo (pmol/mg/h)	Relación P2/P1	% de cambio desde el periodo 1	% de cambio desde el nivel basal
Media	Cohorte 3			Día 3	N=3	1,1	7,3	
Media	Cohorte 3			Día 7	N=2	1,4	42,1	

Tabla 34. Concentraciones de AT2220 en músculo de biopsias tomadas 3 o 7 días después de la dosis en las cohortes 1-3.

Conc. de AT2220 en músculo de AT2220-010 para las cohortes 1, 2 y 3					
Sujeto ID	Cohorte	Dosis (mg)	Periodo	Día del estudio	Conc. de AT2220 en músculo (ng/g) ^a
2031-0101	1	50 mg	Periodo 2	Día 7	11,8
2031-0102	1	50 mg	Periodo 2	Día 7	10,0
2031-0103	1	50 mg	Periodo 2	Día 7	13,1
6003-0101	1	50 mg	Periodo 2	Día 7	BLQ ^b
2001-0201	2	100 mg	Periodo 2	Día 3	17,8
2028-0201	2	100 mg	Periodo 2	Día 7	BLQ ^b
2028-0201	2	0 mg	Seguimiento	Nivel basal	BLQ
2029-0202	2	100 mg	Periodo 2	Día 7	BLQ
2029-0202	2	0 mg	Seguimiento	Nivel basal	BLQ
2029-0203	2	100 mg	Periodo 2	Día 3	BLQ ^c
2029-0203	2	0 mg	Seguimiento	Nivel basal	BLQ
6003-0202	2	100 mg	Periodo 2	Día 7	BLQ ^b
6003-0203	2	100 mg	Periodo 2	Día 3	BLQ ^c
2027-0301	3	250 mg	Periodo 2	Día 7	ISV ^d
2029-0304	3	250 mg	Periodo 2	Día 7	✓ 28,1
2029-0305	3	250 mg	Periodo 2	Día 7	✓ 27,9
2029-0306	3	250 mg	Periodo 2	Día 3	BLQ
2029-0306	3	0 mg	Seguimiento	Nivel basal ^e	BLQ ^c
2029-0307	3	250 mg	Periodo 2	Día 3	✓ 54,4
6003-0304	3	250 mg	Periodo 2	Día 3	✓ 61,9

Conc. de AT2220 en músculo de AT2220-010 para las cohortes 1, 2 y 3					
Sujeto ID	Cohorte	Dosis (mg)	Periodo	Día del estudio	Conc. de AT2220 en músculo (ng/g) ^a
^a LLOQ = 8,0 ng/g					
^b Debido al pequeño volumen de músculo, la muestra se diluyó 2 veces, por tanto LLOQ = 16,0 ng/g					
^c Debido al pequeño volumen de músculo, la muestra se diluyó 3 veces, por tanto LLOQ = 32,0 ng/g					
^d Ningún resultado debido a muestra insuficiente para el ensayo					
^e 29 días desde la administración de AT2220					
<ul style="list-style-type: none"> • Están disponibles concentraciones de AT2220 en músculo preliminares de biopsias tomadas 3 o 7 días después de la dosis y en el seguimiento para nivel basal 					
<ul style="list-style-type: none"> • 4 de cada 6 sujetos de la cohorte 3 tuvieron una concentración cuantificable de AT2220 en músculo. 					
<ul style="list-style-type: none"> • Se observan aumentos relacionados con la dosis en AT2220 en músculo de la cohorte 3. 					
<ul style="list-style-type: none"> • Los aumentos de concentraciones de AT2220 en músculo de la cohorte 3 también están relacionados con el día del estudio. 					

Tabla 35. Actividad de GAAhr en CMSP: Resumen de las cohortes 1-3.

Media aritmética					
Cohorte	N	Tiempo	Relación periodo 2 / periodo 1	% de cambio desde el periodo 1	
Cohorte 1	4	0	2,6	157	
Cohorte 1	4	4 h	0,8	-17,5	
Cohorte 1	4	Día 2	0,9	-13,9	
Cohorte 1	4	Día 7	1,0	4,1	
Cohorte 2	6	0	0,9	-12,4	
Cohorte 2	6	4 h	0,9	-8,4	
Cohorte 2	6	Día 2	1,8	81,0	
Cohorte 2	3	Día 3	0,6	-36,7	
Cohorte 2	3	Día 7	0,9	-5,9	
Cohorte 3	6	0	2,1	107	
Cohorte 3	6	4 h	11,3	1028	
Cohorte 3	6	Día 2	1,5	47,5	
Cohorte 3	3	Día 3	3,4	240	
Cohorte 3	3	Día 7	1,5	49,0	

Resultados: Cohorte 4

- 5 La actividad de GAAhr en plasma y músculo aumenta con la administración conjunta de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina y α -glucosidasa ácida con respecto a α -glucosidasa ácida sola

Para la administración conjunta de α -glucosidasa ácida con 600 mg de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina (periodo 2) con respecto a TES sola (periodo 1), se muestran aumentos en la actividad de GAAhr en plasma de los sujetos de la

cohorte 4 en las Tablas 36-38. Estas tablas también muestran el aumento en GAAhr en tejido muscular después de la administración conjunta de α -glucosidasa ácida con 600 mg de clorhidrato de 1-desoxinojirimicina (periodo 2) con respecto a TES sola (periodo 1).

Tabla 36. Tabla de FC: Sujetos individuales y resumen estadístico de la actividad de GAAhr en plasma en la cohorte 4.

Tratamiento	Período	Sujeto ID	Cohorte	C_{\max} (nmol/L)	T_{\max} (h)	ABC_{0-7} (h·nmol/L)	ABC_{0-6} (h·nmol/L)	Relación de ABC_{0-6} en P2/P1	$V_{1/2}$ (h)
GAAhr sola	Período 1	2033-0402	Cohorte 4	29604	4,0	196222	203729		4,7
		2304-0401	Cohorte 4	23192	4,0	157216	155700		3,9
		2304-0402	Cohorte 4	11314	3,0	59064	59320		3,1
		2008-0101	Cohorte 4	15780	4,0	105231	106938		3,6
		2030-0401	Cohorte 4	25506	4,0	169773	175606		4,7
		2304-0403	Cohorte 4	18693	4,0	103637	103890		2,6
		6003-0405	Cohorte 4	13337	6,0	91510	93071		3,5
		N		7	7	7	7	7	7
		Media		19629	4,1	126198	126893		3,7
		DE		6724	0,9	49022	51579		0,8
		Min		11314	3,0	59064	59320		2,6
		Médiana		18693	4,0	105231	106938		3,6
		Max		29604	6,0	196222	203729		4,7
		% de CV		34,3	21,7	38,9	40,0		20,9
		Media geométrica		18628	4,1	117489	119620		3,7
GAAhr + 600 mg de AT2220	Período 2	2033-0402	Cohorte 4	C_{\max} (nmol/L)	T_{\max} (h)	ABC_{0-7} (h·nmol/L)	ABC_{0-6} (h·nmol/L)	P2/P1 ABC ₀₋₆	$t_{1/2}$ (h)
		2304-0401	Cohorte 4	31820	4,0	359201	427452	2,7	8,5
		2304-0402	Cohorte 4	15145	4,0	152737	167209	2,8	6,3
		2008-0101	Cohorte 4	17421	5,0	190273	215315	2,0	6,7
		2030-0401	Cohorte 4	34585	4,0	345038	390285	2,2	7,0
		2304-0403	Cohorte 4	24031	3,0	203866	2038703	2,0	4,0
		6003-0405	Cohorte 4	13704	6,0	141283	157166	1,7	6,2

Tratamiento	Período	Sujeto ID	Cohorte	C _{max} (nmol/h/mL)	T _{max} (h)	ABC ₀₋₇ (h ⁻¹ nmol/h/mL)	ABC ₀₋₇ (h ⁻¹ nmol/h/mL)	Relación de	
								ABC ₀₋₇ en p2P1 (h)	t ^{1/2} (h)
		N		7	7	7	7	7	7
Media		23305	4,4		241429		272550		2,2
DE		8643	1,0		30392		111358		6,6
Mín		13704	3,0		141283		157166		0,4
Mediana		24031	4,0		203896		215315		1,4
Máx		34985	6,0		359201		427452		4,0
% de CV		36,2	22,0		37,7		40,9		6,7
Media geométrica		22505	4,3		226809		253526		8,5
								2,1	6,4

Tabla 37. Tabla resumen de FC: Todas las cohortes (1-4).

periodo/Tratamiento	Cohorte	periodo	C_{max}^a (nmol/h/mL)	T_{max}^b (h)	ABC_{0-t^c} (h*nmol/h/mL)	$ABC_{0-\infty}^d$ (h*nmol/h/mL)	Relación de ABC^e	$t^{1/2}^e$ (h)
GAAhr sola (N=4)	1	1	16449 (31,6)	5,0 (4-5)	105334 (38,7)	107787 (31,1)	-	3,9 (0,6)
GAAhr + 50 mg de AT2220 (N=4)	1	2	19922 (24,4)	5,0 (4-6)	152207 (21,3)	157162 (22,4)	1,5 (13,2)	4,2 (0,8)
GAAhr sola (N=6)	2	1	22785 (18,0)	4,0 (3-5)	142415 (30,4)	144953 (31,5)	-	3,8 (0,6)
GAAhr + 100 mg de AT2220 (N=6)	2	2	28697 (13,9)	4,0 (3-6)	229434 (25,3)	241203 (27,5)	1,7 (10,1)	4,9 (0,8)
GAAhr sola (N=6)	3	1	163886 (18,7)	4,0 (4-4)	107774 (19,7)	109165 (20,0)	-	3,6 (0,5)
GAAhr + 250 mg de AT2220 (N=6)	3	2	226551 (9,0)	4,0 (4-4)	201224 (8,8)	214751 (9,5)	2,0 (9,7)	5,3 (1,1)
GAAhr sola (N=7)	4	1	186228 (34,3)	4,0 (3-6)	117489 (38,9)	119620 (40,0)	-	3,7 (0,8)
GAAhr + 600 mg de AT2220 (N=7)	4	2	22505 (36,2)	4,0 (3-6)	226809 (37,7)	253626 (40,9)	2,1 (20,8)	6,6 (1,4)

^aMedia geométrica (% de CV)^bMediana (intervalo)^cMedia aritmética (DE)

Tabla 38. Resumen de actividad de GAAhr en músculo de AT2220-010 de los sujetos de la cohorte 4.

Sujeto ID	Cohorte	Periodo	Tratamiento	Día de la biopsia	Actividad de GAAhr en músculo (pmol/mg/h)	Relación P2/P1	Relación Tx/BSL
2033-0402	Cohorte 4	Periodo 1	GAAhr sola	3	1020,0		2,2
2033-0402	Cohorte 4	Periodo 2	GAAhr + 600 mg de AT2220	3	3052,7	3,0	6,7
2033-0402	Cohorte 4	Seguimiento	Nivel basal	28	454,8		
2304-0401	Cohorte 4	Periodo 1	GAAhr sola	7	1179,6		
2304-0401	Cohorte 4	Periodo 2	GAAhr + 600 mg de AT2220	7	1261,2	1,1	
2304-0402	Cohorte 4	Periodo 1	GAAhr sola	7	901,6		1,2
2304-0402	Cohorte 4	Periodo 2	GAAhr + 600 mg de AT2220	7	991,1	1,1	1,3
2304-0402	Cohorte 4	Seguimiento	Nivel basal	28	765,1		
2008-0101	Cohorte 4	Periodo 1	GAAhr sola	3	2262,2		2,2
2008-0101	Cohorte 4	Periodo 2	GAAhr + 600 mg de AT2220	3	3785,9	1,7	3,6
2008-0101	Cohorte 4	Seguimiento	Nivel basal	Seguimiento	1047,3		
2030-0401	Cohorte 4	Periodo 1	GAAhr sola	3	a		
2030-0401	Cohorte 4	Periodo 2	GAAhr + 600 mg de AT2220	3	1722,3	N/A	
2304-0403	Cohorte 4	Periodo 1	GAAhr sola	3	b		N/A
2304-0403	Cohorte 4	Periodo 2	GAAhr + 600 mg de AT2220	3	b	N/A	N/A
2304-0403	Cohorte 4	Seguimiento	Nivel basal	Seguimiento	b		
6003-0405	Cohorte 4	Periodo 1	GAAhr sola	7	723,6		
6003-0405	Cohorte 4	Periodo 2	GAAhr + 600 mg de AT2220	7	1021,3	1,4	

^a No se pudo determinar con exactitud la actividad en músculo debido a bajos niveles de proteína de una supuesta muestra de tejido graso

^b Las muestras de biopsia se etiquetaron erróneamente en el sitio; no se pudo confirmar

Resumen de resultados

Para personas con enfermedad de Pompe, la deficiencia de enzima GAA conduce a la acumulación de glucógeno en tejidos afectados por enfermedad (principalmente músculo). Los datos preclínicos (Khanna et al. PLoS ONE (2012) 7(7): e40776. doi:10.1371/journal.pone.0040776) demostraron que AT2220 en combinación con TES potencia la actividad de GAAhr enzimática, reduce la acumulación de glucógeno y posiblemente mitiga la inmunogenicidad

relacionada con TES en un modelo de ratón de enfermedad de Pompe. En el presente estudio descrito por los Ejemplos 1-3, la administración conjunta de AT2220 a pacientes con Pompe aumentó la actividad de GAAhr enzimática y potenció la captación de enzima GAAhr en tejido muscular en comparación con TES sola.

5 El estudio descrito por los Ejemplos 1-3 es un estudio de fase 2, multicéntrico, de etiqueta abierta para evaluar la seguridad y los efectos FC de cuatro dosis orales crecientes de AT2220 (50 mg (cohorte 1), 100 mg (cohorte 2), 10 250 mg (cohorte 3) o 600 mg (cohorte 4)) administradas conjuntamente con TES (Myozyme®/Lumizyme®) frente a TES sola en hombres y mujeres con enfermedad de Pompe. El estudio reclutó pacientes masculinos y femeninos que estaban con una dosis y pauta estable de TES durante al menos tres meses. Se administró a todos los pacientes una infusión de TES regularmente programada. Una hora antes del inicio de la siguiente infusión de TES, los pacientes recibieron una dosis oral única de AT2220. Se evaluaron la actividad de GAAhr en plasma y los niveles de proteína durante cada infusión. Se hicieron biopsias de músculo en cada paciente tres o siete días después de cada infusión para medir la actividad de GAA enzimática en tejido con y sin la chaperona, así como para medir el nivel de AT2220 en el músculo.

15 Seguridad: Dosis únicas de AT2220 administrado conjuntamente con TES fueron bien toleradas, no se informaron 20 acontecimientos adversos relacionados con el fármaco. Además, AT2220 se eliminó del músculo hasta niveles casi indetectables en el día 7 en las cuatro cohortes.

20 Actividad enzimática de GAA humana recombinante (GAAhr) en plasma: Se midió la farmacocinética (FC) en plasma a las 24 horas y después de cada infusión. La actividad de GAAhr en plasma aumentó en 23 de los 23 pacientes (100 %) después de la administración conjunta y los aumentos estuvieron relacionados con la dosis. Estos datos sugieren que la administración conjunta aumenta la cantidad de enzima GAAhr estabilizada, apropiadamente plegada y activa disponible para captación en el tejido. La Tabla 39 y la Figura 21 muestran un resumen de la actividad enzimática de GAAhr en el área bajo curva (ABC) en plasma para las cohortes 1-4 descritas por los Ejemplos 1-3.

Tabla 39. Actividad enzimática de GAAhr en el área bajo la curva (ABC) en plasma para las cohortes 1-4.

Actividad enzimática de GAAhr en el área bajo la curva (ABC) en plasma de TES + AT2220 frente a TES sola

Cohorte	% de aumento frente a TES sola
1 (n=4)	50 %
2 (n=6)	70 %
3 (n=6)	100 %
4 (n=7)	110 %

25 **Actividad enzimática en músculo:** Se hicieron biopsias de músculo para medir la captación de la enzima GAA en tejido muscular, con y sin AT2220. En la cohorte 1, los 4 pacientes se sometieron a biopsias de músculo en el día 7. En las cohortes 2-4, se hicieron biopsias de músculo en el día 3 para la mitad de los pacientes, y en el día 7 para la otra mitad de los pacientes.

30 En la cohorte 1, no se observó cambio coherente en la actividad enzimática de GAA en el día 7. En las cohortes 2, 3 y 4 los resultados muestran que se recoge más enzima en tejido muscular después de la administración conjunta de AT2220 en comparación con TES sola. El efecto fue más marcado a la dosis más alta (600 mg) de AT2220. La Tabla 40 y la Figura 22 muestran un resumen de actividad enzimática de GAA en músculo en el día 3 para las cohortes 2-4 descritas por los Ejemplos 1-3.

Tabla 40. Actividad enzimática de GAA en músculo en el día 3 para las cohortes 2-4.

Actividad enzimática de GAA en músculo en el día 3	
TES + AT2220 frente a TES sola	
Cohorte	% de aumento frente a TES sola
2 (n=3)	25 %
3 (n=3)	7 %
4 (n=2)	133 %

En el día 3, la actividad enzimática de GAA en músculo después de la administración conjunta en comparación con TES sola en pacientes con biopsias evaluables aumentó en lo siguiente: 25 % en la cohorte 2 (n=3), 7 % en la cohorte 3 (n=3) y 133 % en la cohorte 4 (n=2). En el día 7, la actividad enzimática de GAA en músculo fue más baja con respecto al día 3, como era de esperar basándose en la semivida celular de la enzima. Sin embargo, después de la administración conjunta en comparación con TES sola en pacientes con biopsias evaluables, se mantuvieron los siguientes aumentos: 20 % en la cohorte 2 (n=3), 40 % en la cohorte 3 (n=2) y 20 % en la cohorte 4 (n=3).

Efecto de AT2220 sobre la inmunogenicidad relacionada con TES medida *ex vivo*: Por estabilización de la forma plegada y activa de la enzima GAAhr, AT2220 puede mitigar la inmunogenicidad inducida por TES puesto que las proteínas sin plegar y agregadas son, en general, más antigenicas que las proteínas apropiadamente plegadas.

Estudios publicados recientes muestran que aproximadamente 40 % de TES administrado puede ser capturado por anticuerpos circulantes y las reacciones asociadas a la infusión ocurren en aproximadamente 50 % de los pacientes con Pompe que reciben infusiones de TES (Banati et al., Muscle Nerve. 2011 Nov;44(5):720-6). Estudios *in vivo* iniciales usando linfocitos T derivados de sangre de 50 donantes sanos demostraron que la adición de AT2220 puede reducir significativamente la inmunogenicidad de Myozyme® y Lumizyme®. Los estudios utilizaron el ensayo EpiScreen™ de Antitope Ltd. y están siendo repetidos en muestras de pacientes con Pompe en el estudio descrito para los Ejemplos 1-3.

EJEMPLO 4: La distribución y la semivida en músculo esquelético de N-butil-DNJ (AT2221) es similar a 1-DNJ (AT2220)

Se administraron ratones C57BL/6 naturales de ocho semanas con una dosis oral de 100 mg/kg de 1-DNJ o N-butil-DNJ. Se recogieron muestras de plasma y de tejido a las 0,5, 2, 4, 24, 48, 72, 96, 120, 144 y 168 horas después de la administración y se analizó la presencia de fármaco. La concentración de fármaco en plasma se expresa como ng/mL. La concentración de fármaco en muestras de tejido se expresa como ng/g.

Como se muestra en la Figura 23, la distribución y la semivida en músculo esquelético de N-butil-DNJ (AT2221) es similar a 1-DNJ (AT2220). La Cmáx de AT2220 fue 120 μM. La Cmáx de AT2221 fue 140 μM.

EJEMPLO 5: N-butil-DNJ (AT2221) y 1-DNJ (AT2220) tienen un efecto similar sobre la farmacocinética de GAAhr.

Se administraron ratones inactivados en el gen GAA de ocho semanas con GAAhr (10 mg/kg IV). Se administró AT2220 o AT2221 oral (100 mg/kg) 30 min antes de GAA (Myozyme); se recogieron muestras de plasma antes de la dosis, 0,08, 0,25, 0,50, 0,75, 1, 2, 4, 8 y 24 horas después de la administración de GAA y se determinó la actividad enzimática.

Como se muestra en la Figura 24, AT2220 y AT2221 aumentaron la semivida en circulación de GAAhr en al menos ~2 veces. N-butil-DNJ (AT2221) y 1-DNJ (AT2220) tienen un efecto similar sobre la farmacocinética de GAAhr.

Una transferencia Western de GAA recombinante en plasma a las 2, 8 y 24 horas después de la administración i.v. de GAA se muestra en la Figura 25 para ratones administrados con GAAhr con o sin AT2220 o AT2221.

EJEMPLO 6: La administración conjunta de DNJ o NB-DNJ con GAAhr tiene un efecto similar sobre la reducción de glucógeno

Se administraron ratones inactivados en el gen GAA de doce semanas con 20 mg/kg i.v. de GAA humana recombinante (Myozyme) cada dos semanas durante 8 semanas. Se administró una dosis oral de AT2220 o AT2221 (30 mg/kg) 30 minutos antes de GAAhr (Myozyme). Los tejidos se recogieron 21 días después de la última dosis de GAAhr y se midió el nivel de glucógeno (sustrato de GAA).

Como se muestra en la Figura 26, la administración conjunta de DNJ o NB-DNJ con GAAhr tiene un efecto similar sobre la reducción de glucógeno. n=5-ratones/grupo; *p<0,05 frente a la prueba de la *t* para no tratados; #p<0,05 frente a la prueba de la *t* para Myozyme sola; la línea de puntos indica los niveles de glucógeno natural. Cmáx ~40 μM tras la administración de 30 mg/kg de AT2220 o AT2221; equivalente a aproximadamente 600 mg en seres humanos.

REIVINDICACIONES

1. 1-Desoxinojirimicina (1-DNJ), n-butil desoxinojirimicina (NB-DNJ), o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, y terapia enzimática sustitutiva con α -glucosidasa ácida humana recombinante para su uso en un método para el tratamiento de enfermedad de Pompe en un sujeto humano; en donde la terapia enzimática sustitutiva con α -glucosidasa ácida humana recombinante se administra por infusión intravenosa en dosis de 20 mg/kg, y en donde la 1-DNJ, la NB-DNJ, o la sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, se administra en una cantidad de 250 mg o 600 mg y se administra inmediatamente antes o durante un periodo de cuatro horas antes de la administración de la terapia enzimática sustitutiva con α -glucosidasa ácida humana recombinante.
2. 1-DNJ, NB-DNJ, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, y terapia enzimática sustitutiva con α -glucosidasa ácida humana recombinante para su uso según la reivindicación 1, en donde el sujeto humano ayuna durante un periodo de tiempo que empieza 0,5 a 4 horas antes y que termina 0,5 a 4 horas después de la administración de 1-DNJ, NB-DNJ, o sal farmacéuticamente aceptable de las mismas.
3. 1-DNJ, NB-DNJ, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, y terapia enzimática sustitutiva con α -glucosidasa ácida humana recombinante para su uso según la reivindicación 2, en donde el sujeto humano ayuna durante al menos 2 horas antes y al menos 2 horas después de la administración de 1-DNJ, NB-DNJ, o sal farmacéuticamente aceptable de las mismas.
4. 1-DNJ, NB-DNJ, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, y terapia enzimática sustitutiva con α -glucosidasa ácida humana recombinante para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la 1-DNJ, NB-DNJ, o sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, se administra aproximadamente 2 horas antes de administración de la terapia enzimática sustitutiva con α -glucosidasa ácida humana recombinante.
5. 1-DNJ, NB-DNJ, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, y terapia enzimática sustitutiva con α -glucosidasa ácida humana recombinante para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la 1-DNJ, NB-DNJ, o sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, se administra aproximadamente 1 hora antes de la administración de la terapia enzimática sustitutiva con α -glucosidasa ácida humana recombinante.
6. 1-DNJ, NB-DNJ, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, y terapia enzimática sustitutiva con α -glucosidasa ácida humana recombinante para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde la terapia enzimática sustitutiva con α -glucosidasa ácida humana recombinante es alglucosidasa alfa.
7. 1-DNJ, NB-DNJ, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, y terapia enzimática sustitutiva con α -glucosidasa ácida humana recombinante para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde al sujeto humano se le administra una segunda dosis de 1-DNJ, NB-DNJ, o sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, entre la administración de la terapia enzimática sustitutiva con α -glucosidasa ácida humana recombinante y aproximadamente 4 horas a partir de entonces.
8. 1-DNJ, NB-DNJ, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, y terapia enzimática sustitutiva con α -glucosidasa ácida humana recombinante para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde la 1-DNJ, NB-DNJ o sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, y la terapia enzimática sustitutiva con α -glucosidasa ácida humana recombinante se administran cada 1 a 4 semanas.
9. 1-DNJ, NB-DNJ, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, y terapia enzimática sustitutiva con α -glucosidasa ácida humana recombinante para su uso según la reivindicación 8, en donde la 1-DNJ, NB-DNJ, o sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, y la terapia enzimática sustitutiva con α -glucosidasa ácida humana recombinante se administran cada 2 semanas.
10. Un kit para su uso en el tratamiento de enfermedad de Pompe en un sujeto humano, comprendiendo el kit 250 mg o 600 mg de 1-desoxinojirimicina (1-DNJ), n-butil-desoxinojirimicina (NB-DNJ), o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas; y terapia enzimática sustitutiva con α -glucosidasa ácida humana recombinante; en donde la terapia enzimática sustitutiva con α -glucosidasa ácida humana recombinante se administra por infusión intravenosa en dosis de 20 mg/kg, y la 1-DNJ, NB-DNJ, o la sal farmacéuticamente aceptable de las mismas se administra inmediatamente antes o durante un periodo de cuatro horas antes de la administración de la terapia enzimática sustitutiva con α -glucosidasa ácida humana recombinante.
11. El kit para su uso según la reivindicación 10, en donde la 1-DNJ, NB-DNJ, o sal farmacéuticamente aceptable de las mismas, se administra aproximadamente 1 hora antes de la administración de la terapia enzimática sustitutiva con α -glucosidasa ácida humana recombinante.

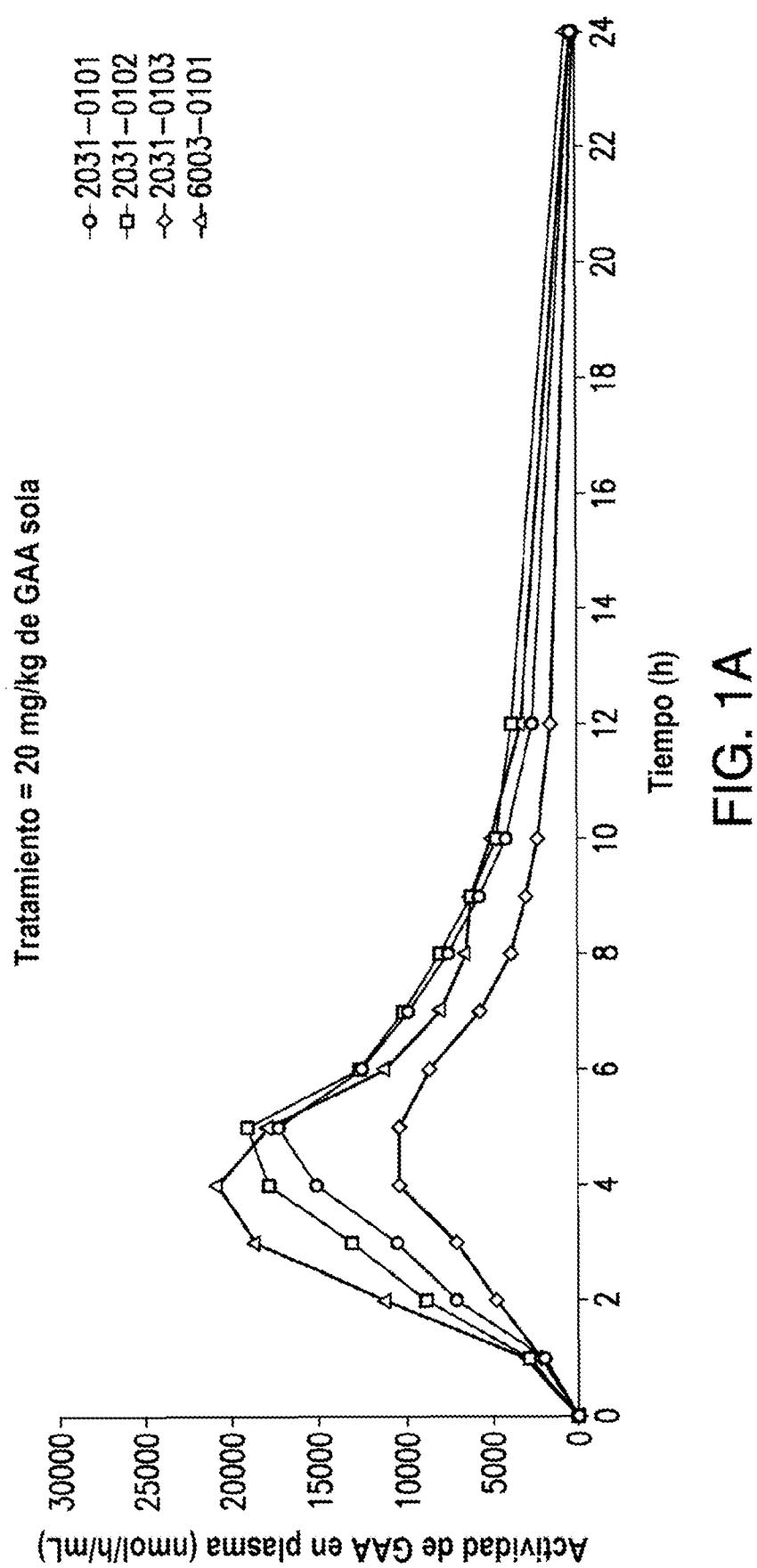


FIG. 1A

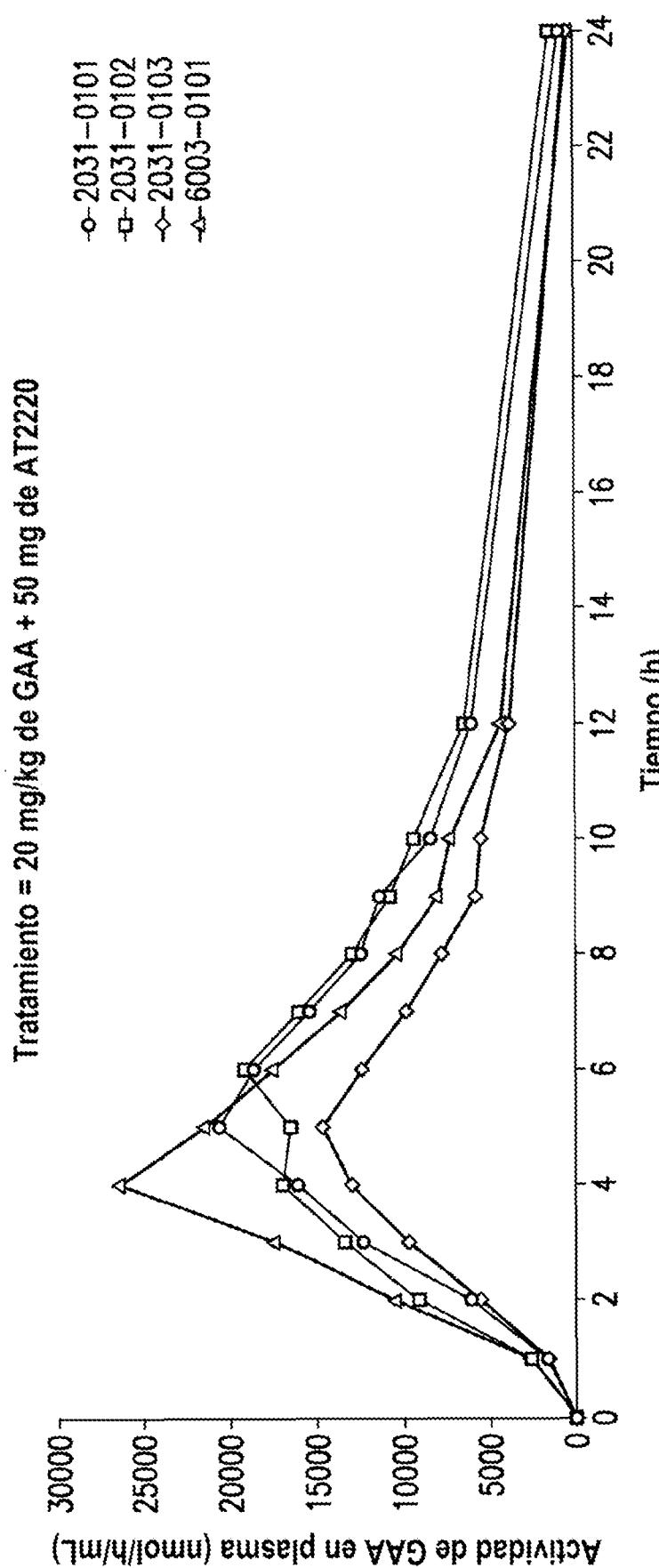


FIG. 1B

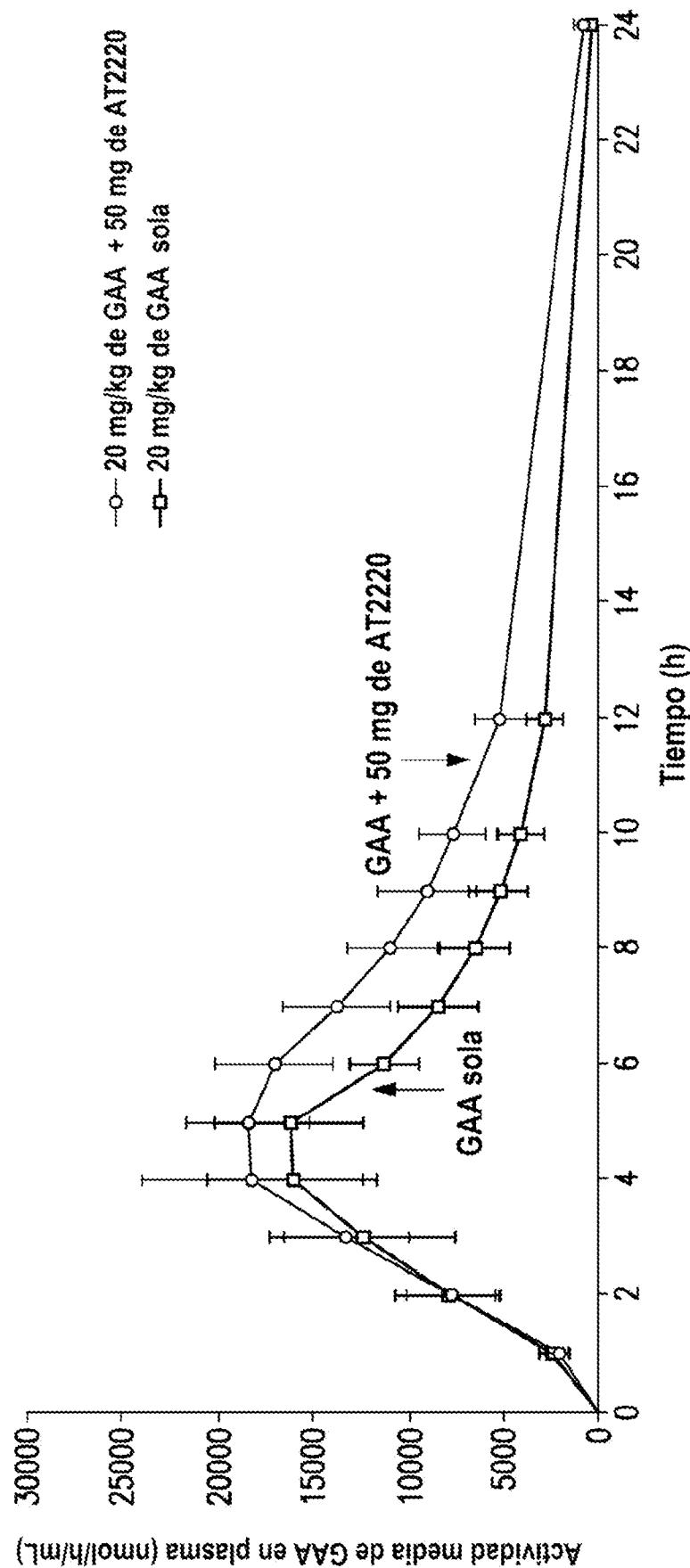


FIG. 2A

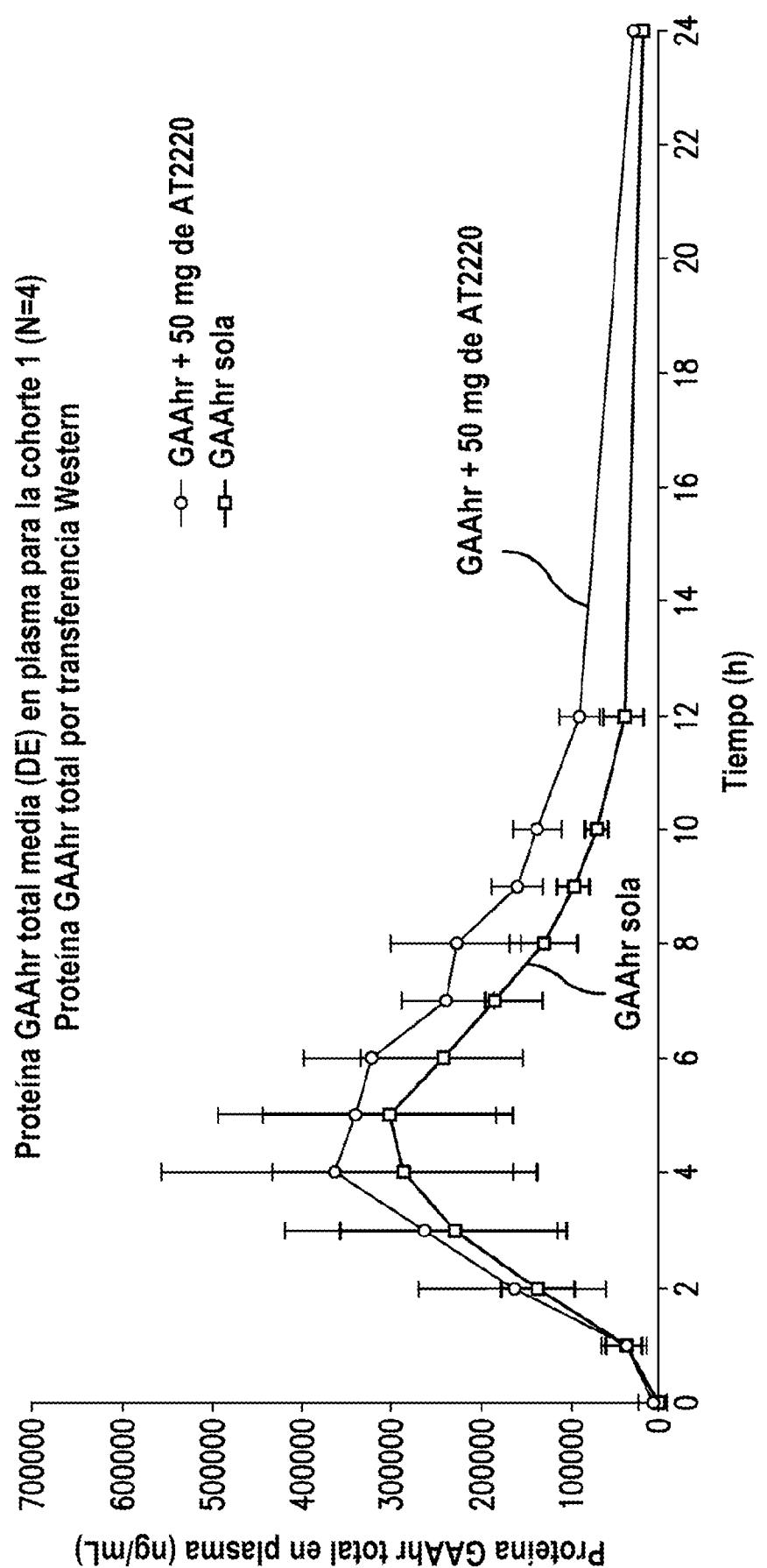


FIG. 2B

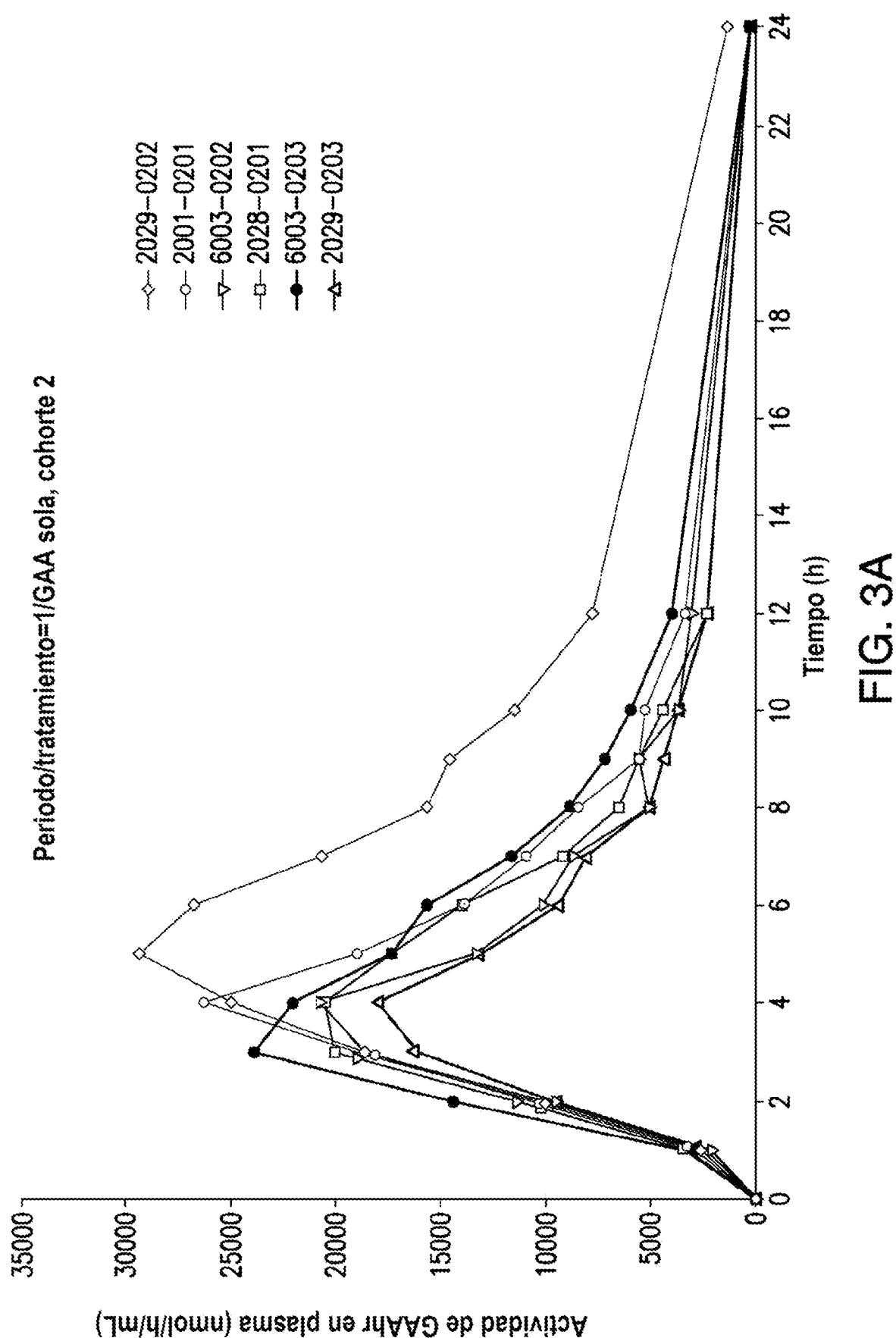
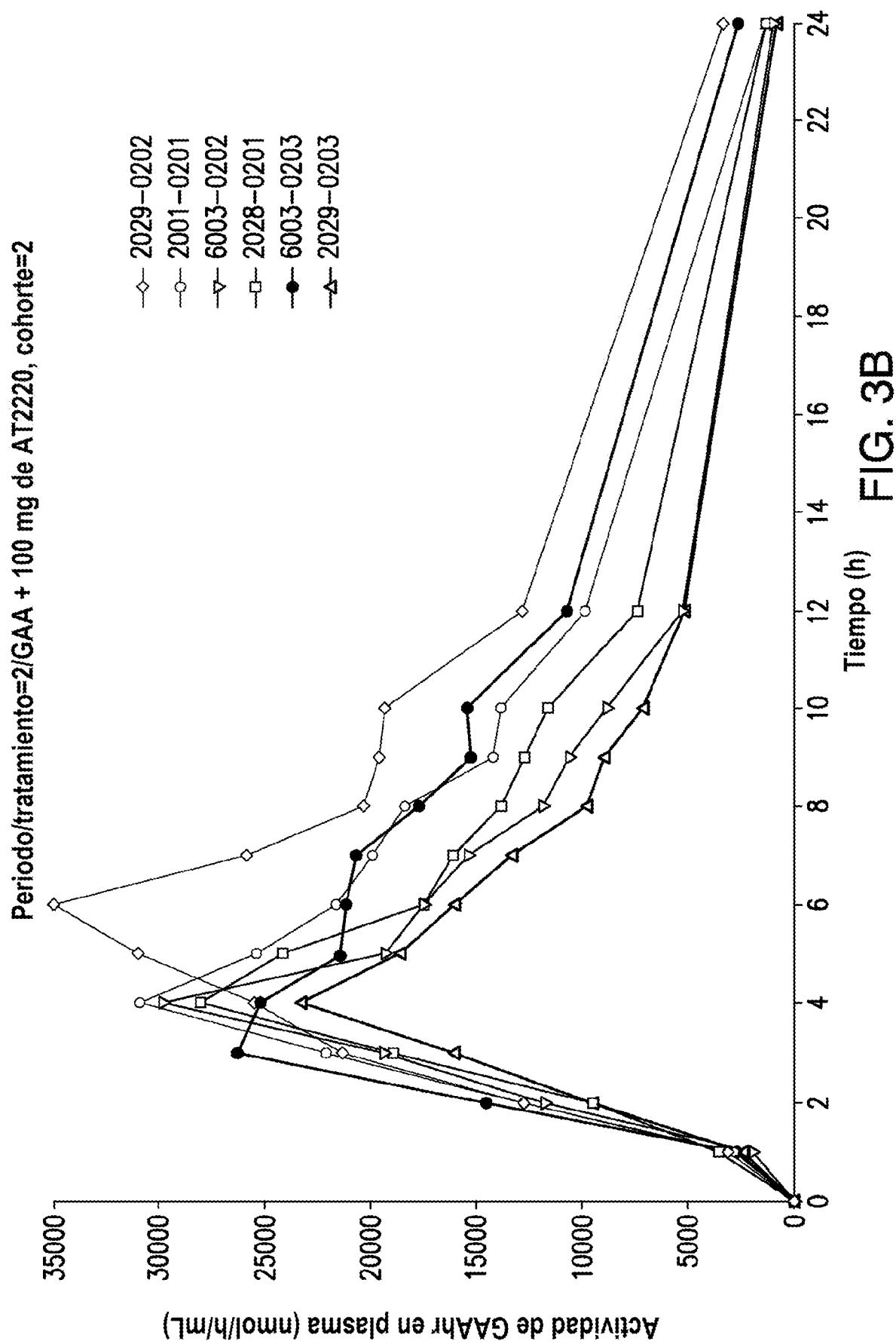


FIG. 3A



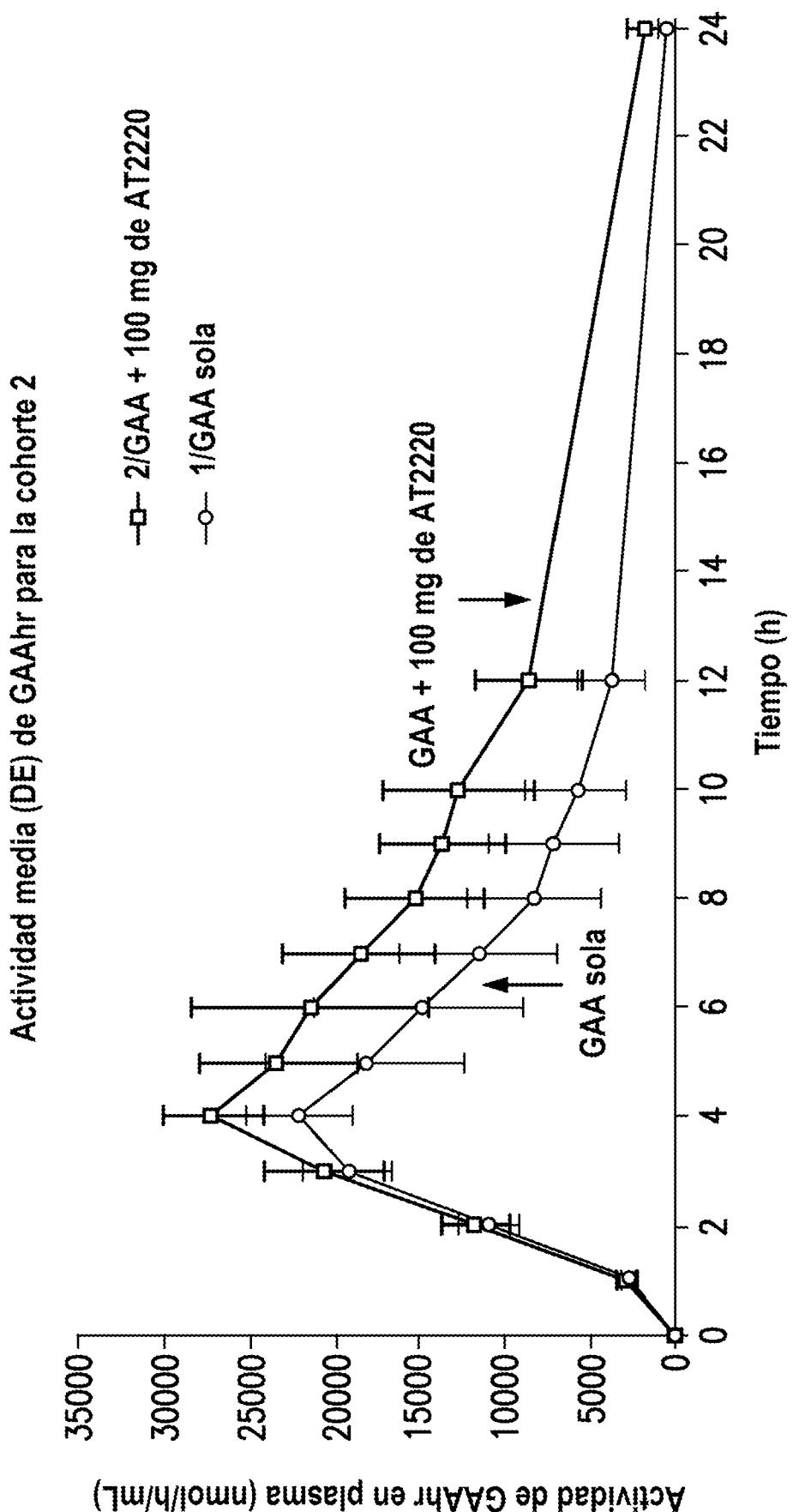


FIG. 4

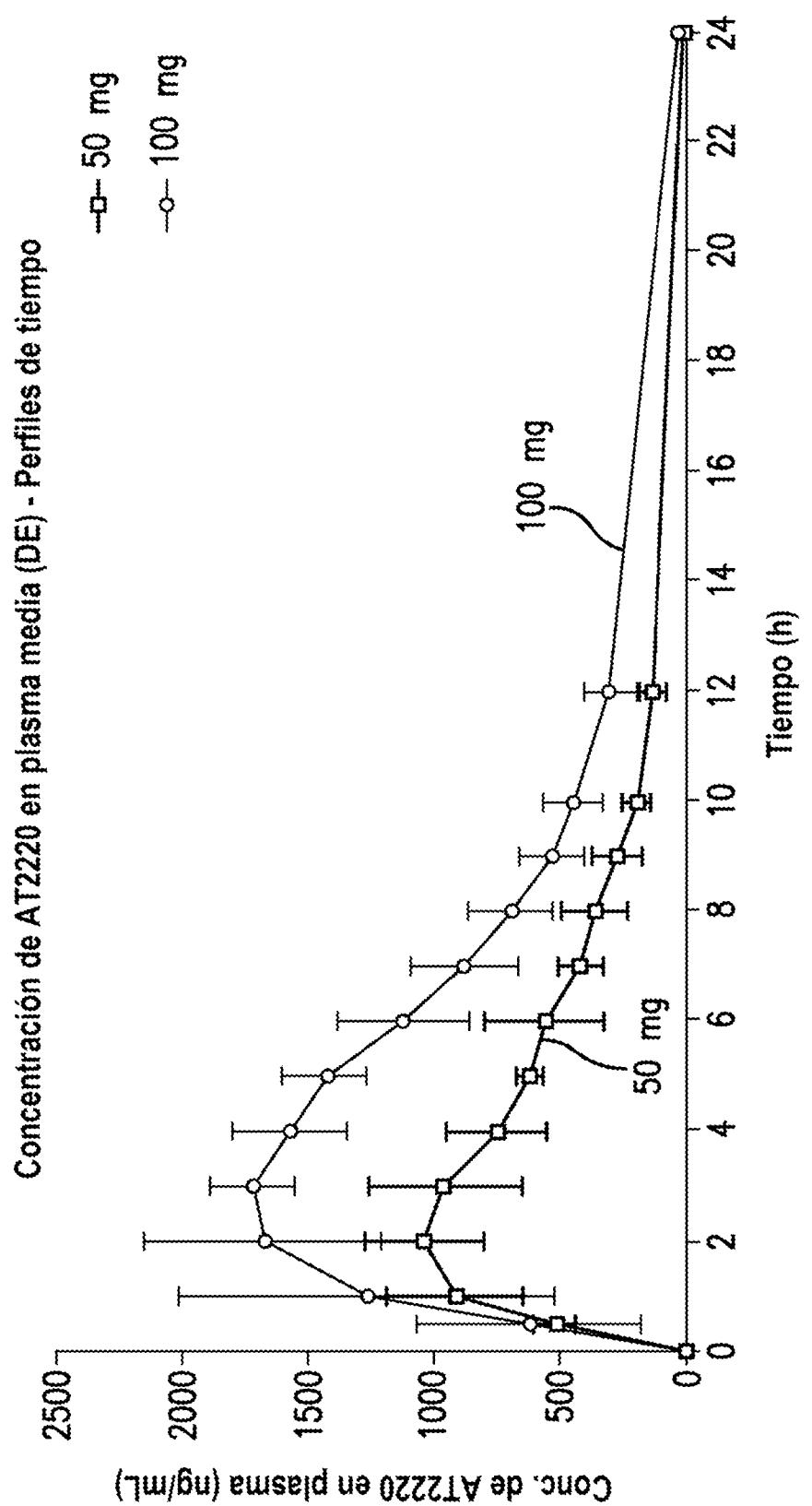


FIG. 5

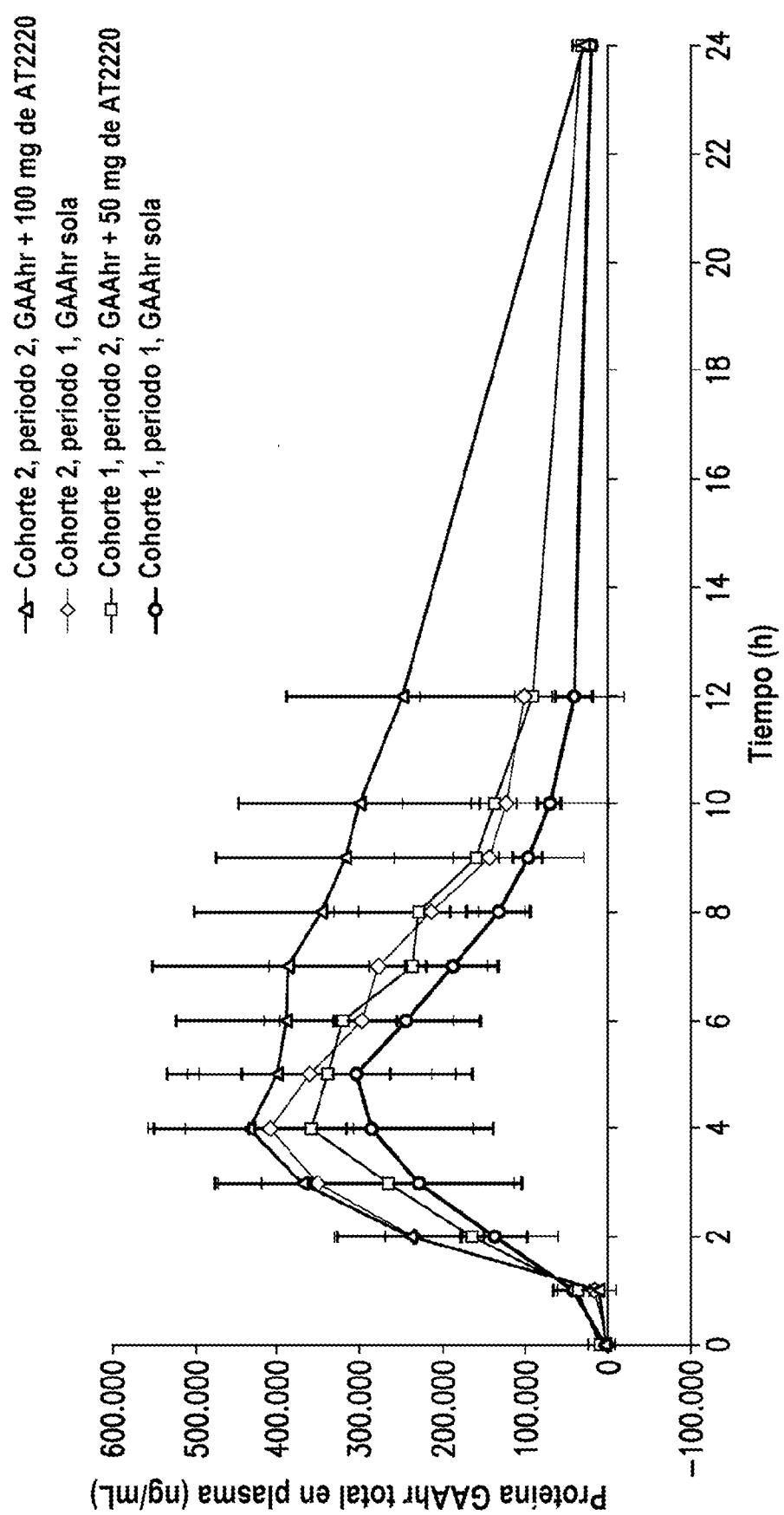


FIG. 6

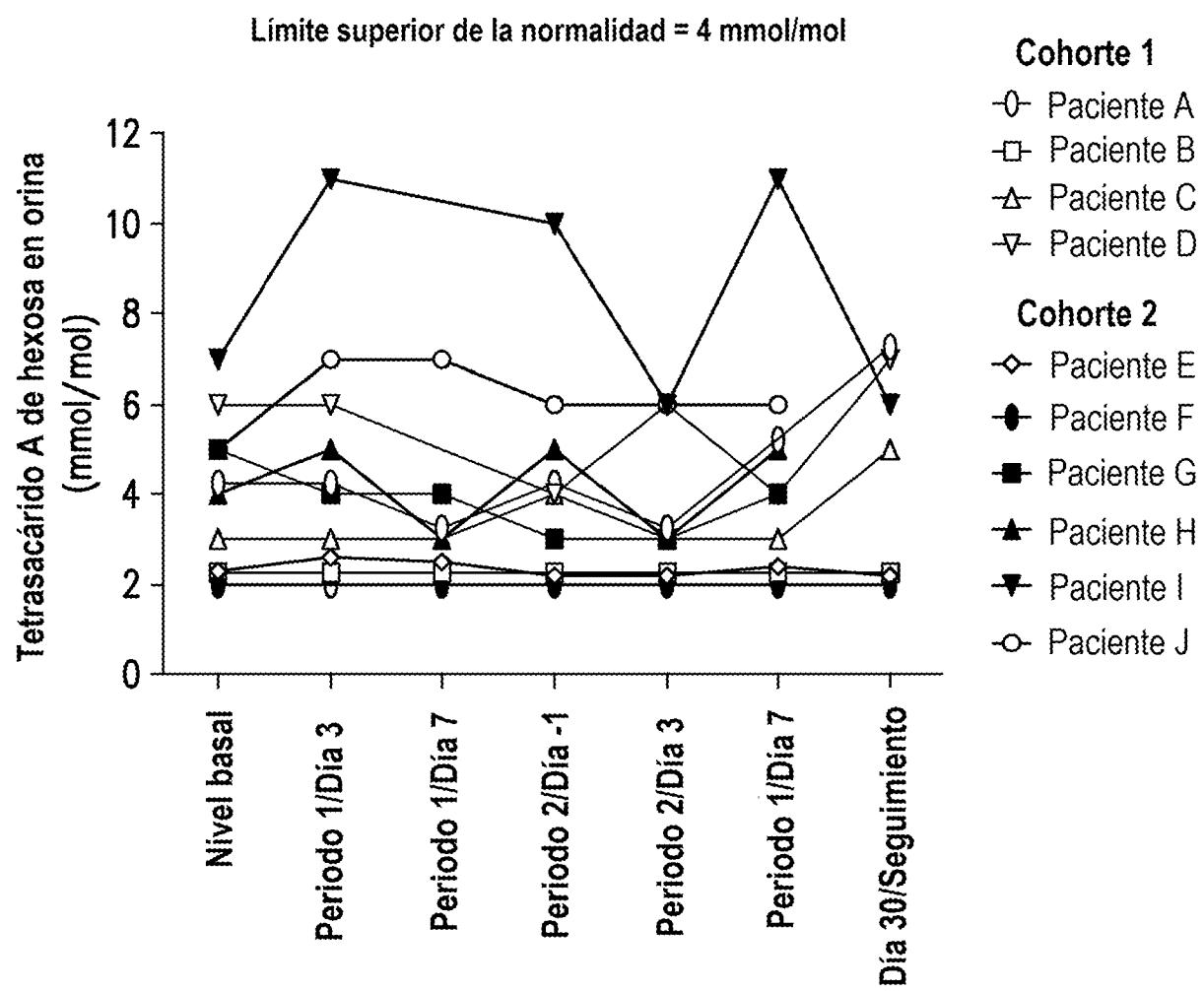


FIG. 7

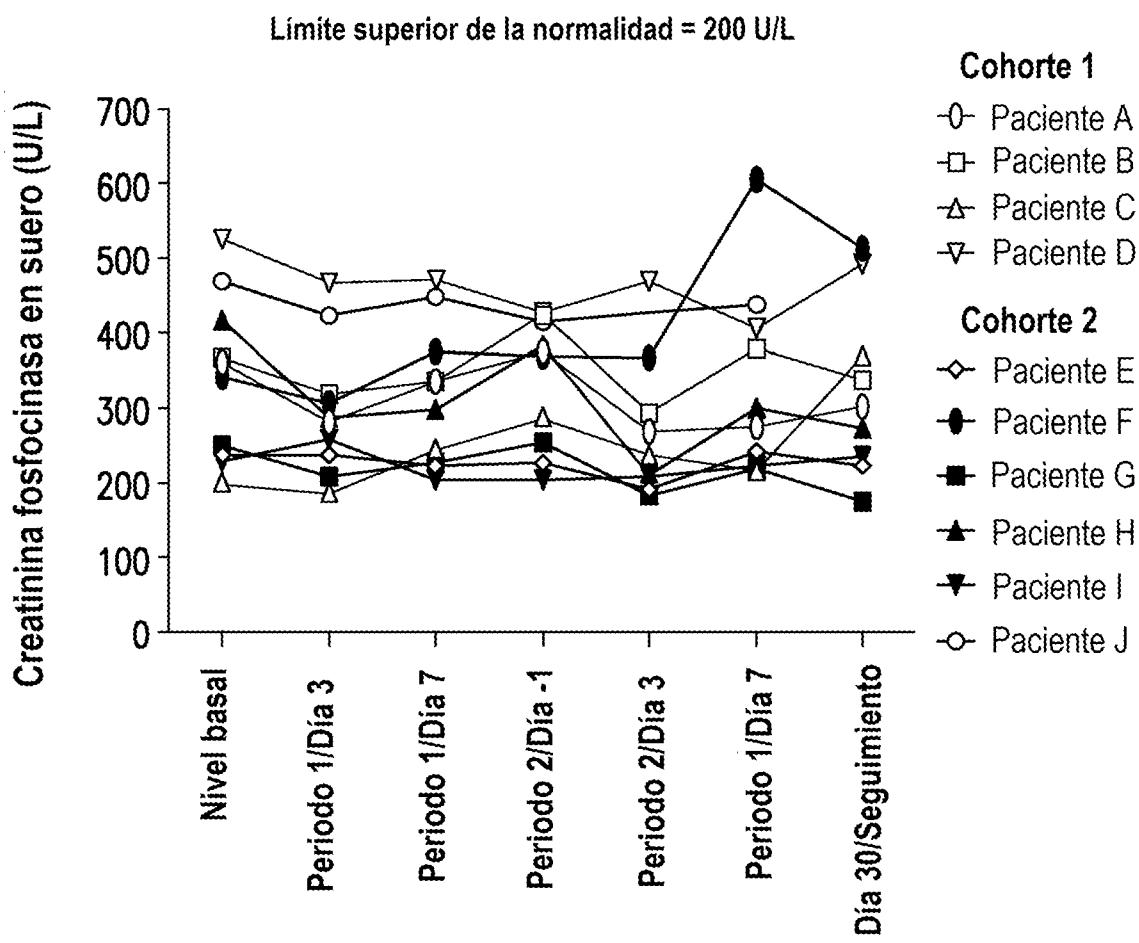


FIG. 8

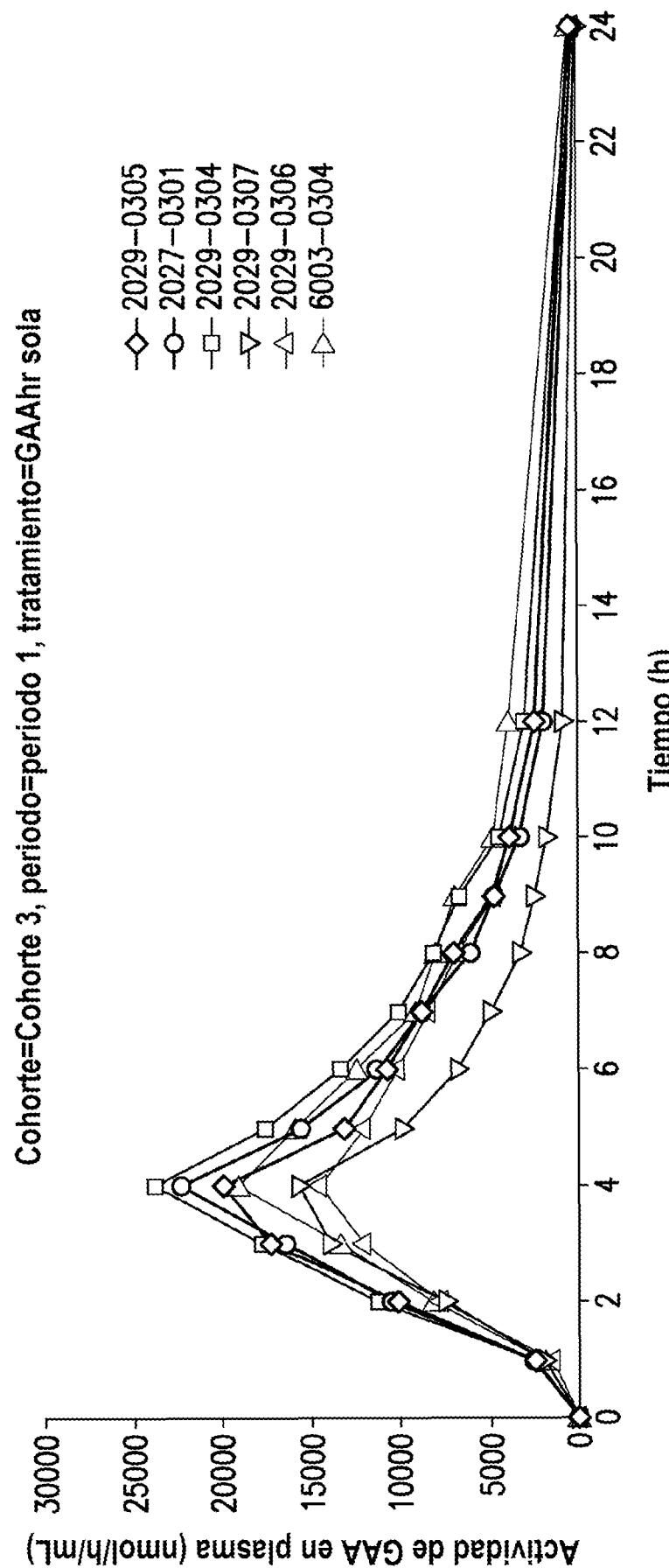


FIG. 9A

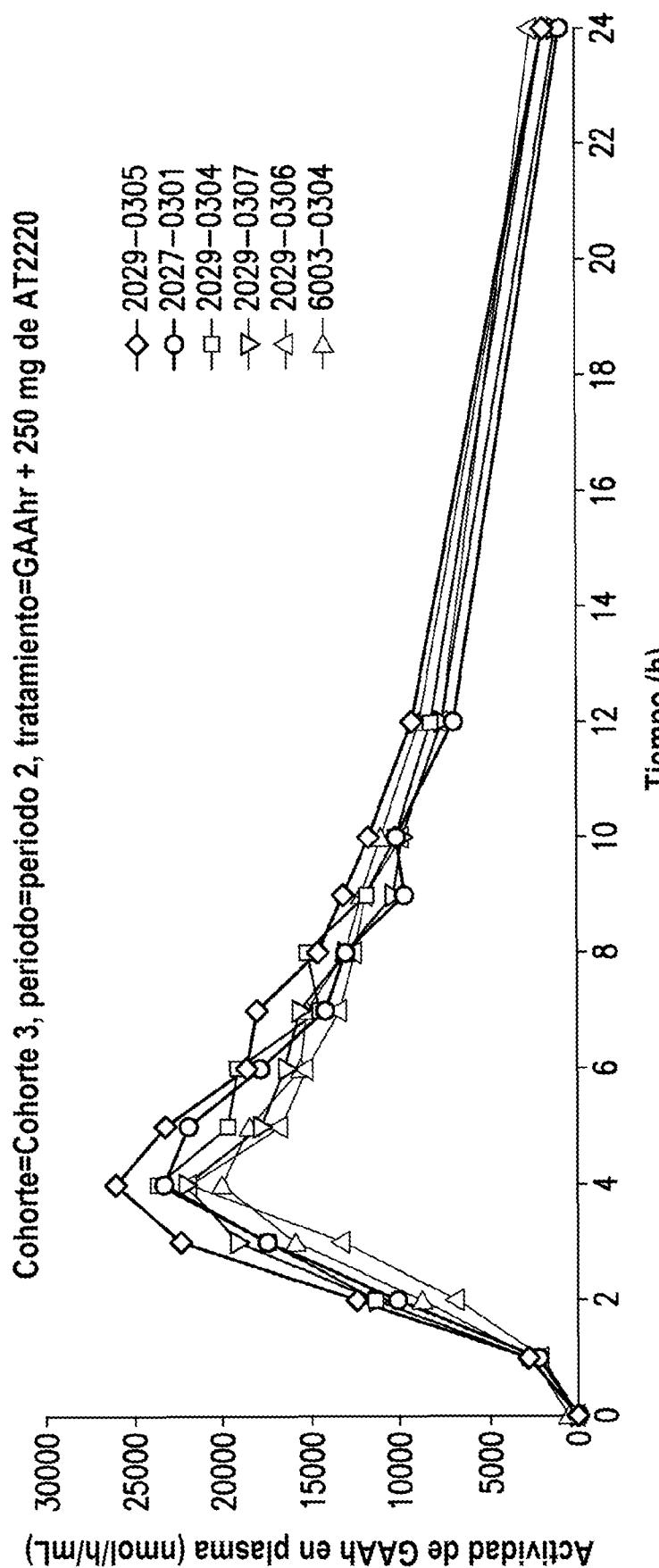


FIG. 9B

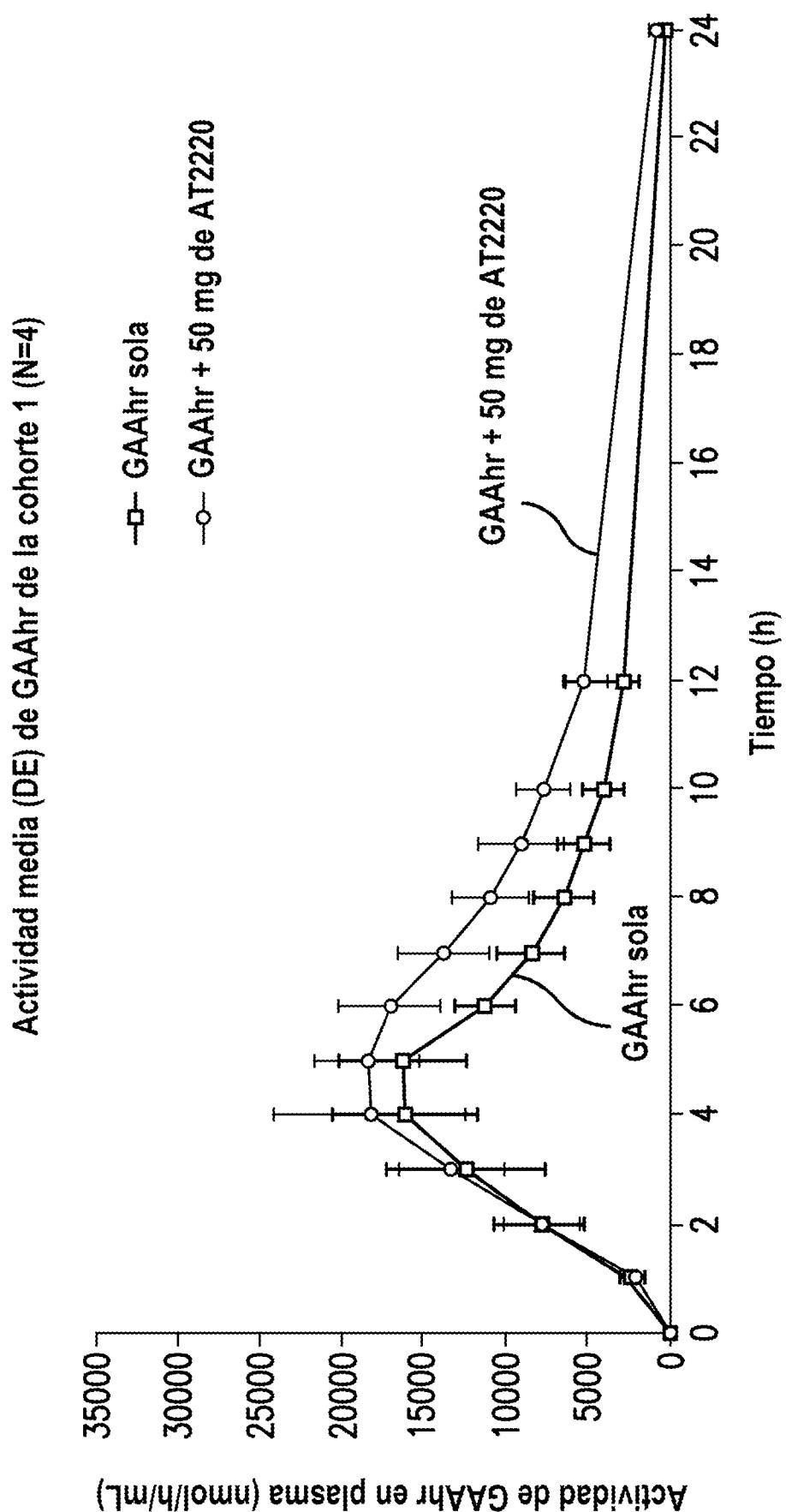


FIG. 10A

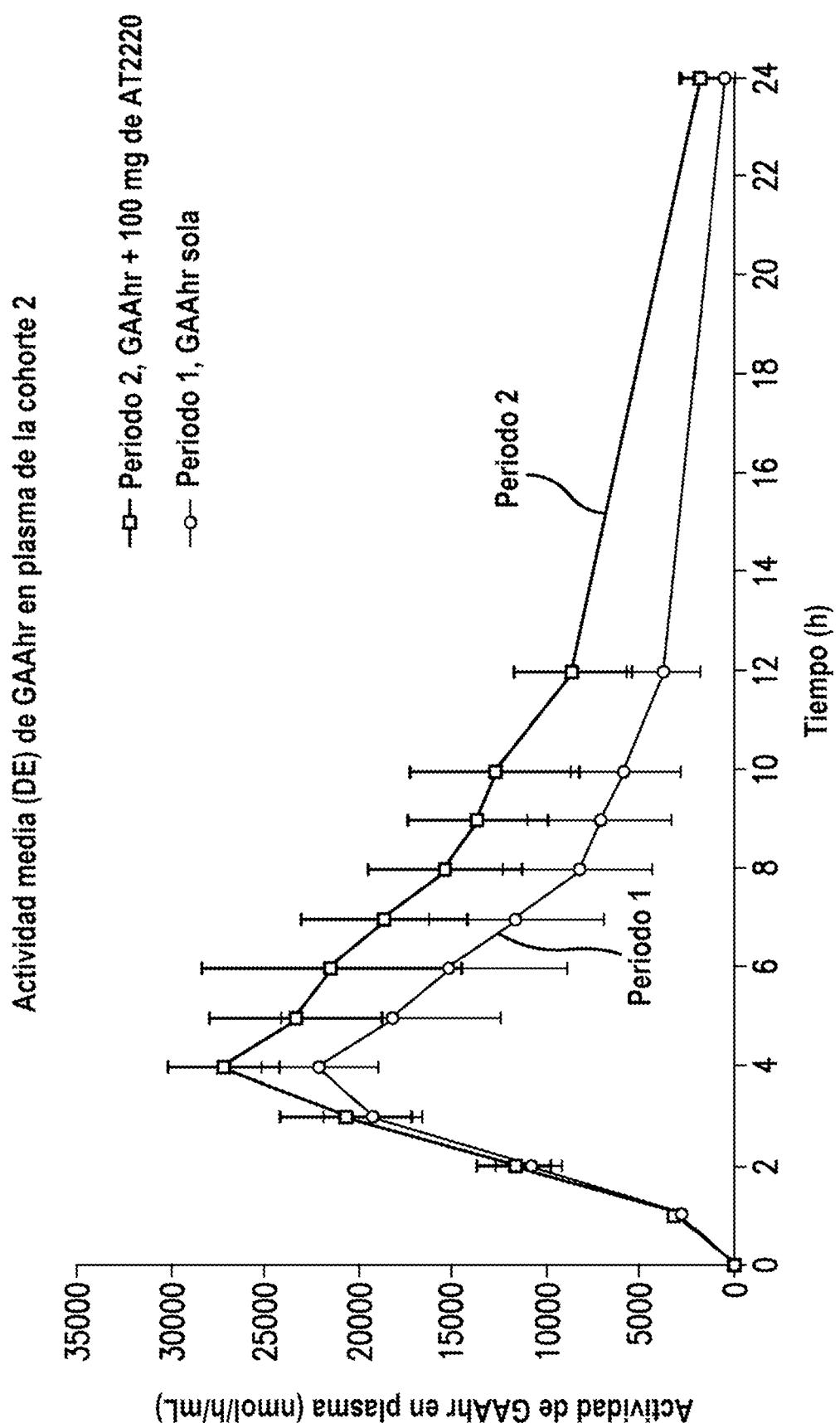


FIG. 10B

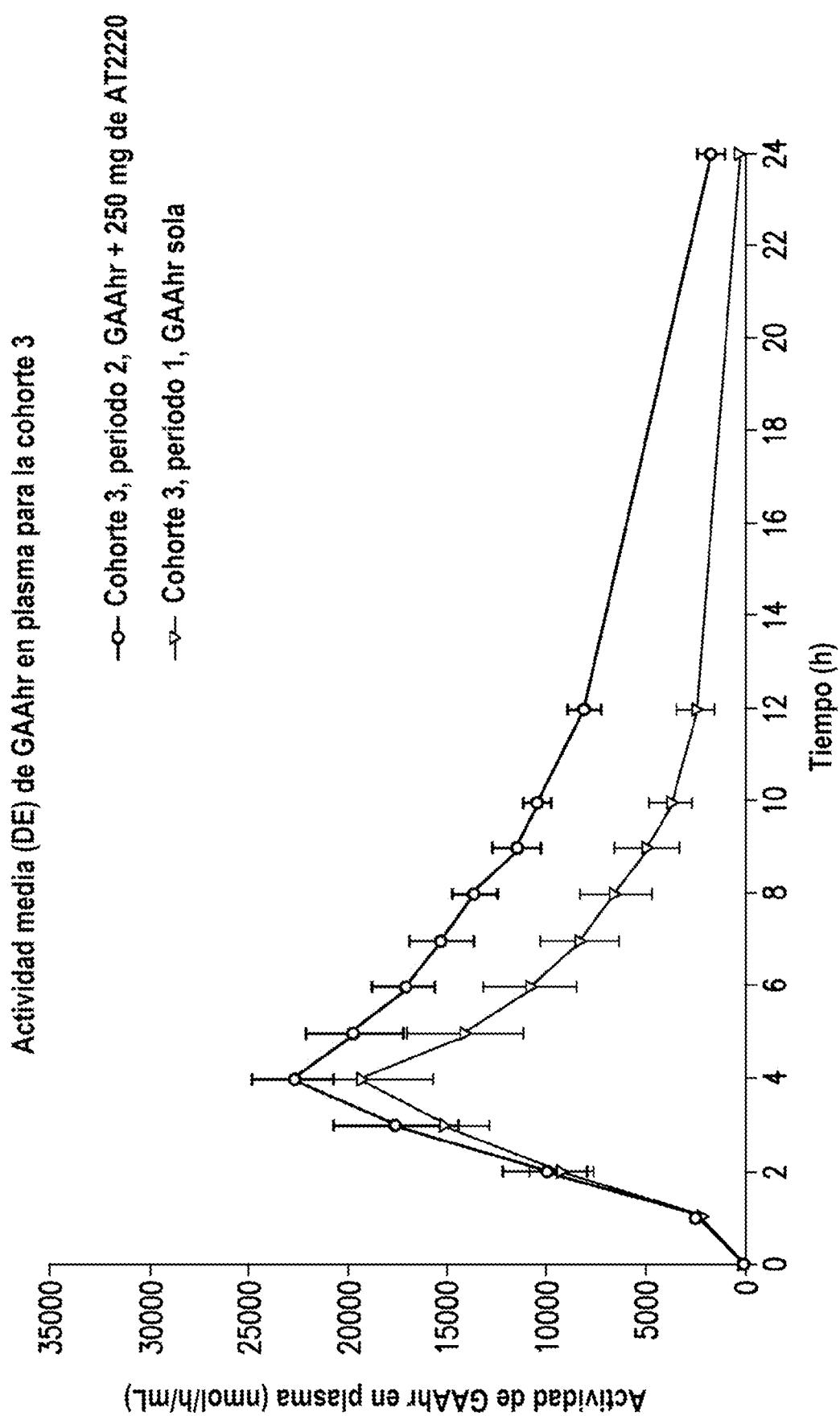


FIG. 10C

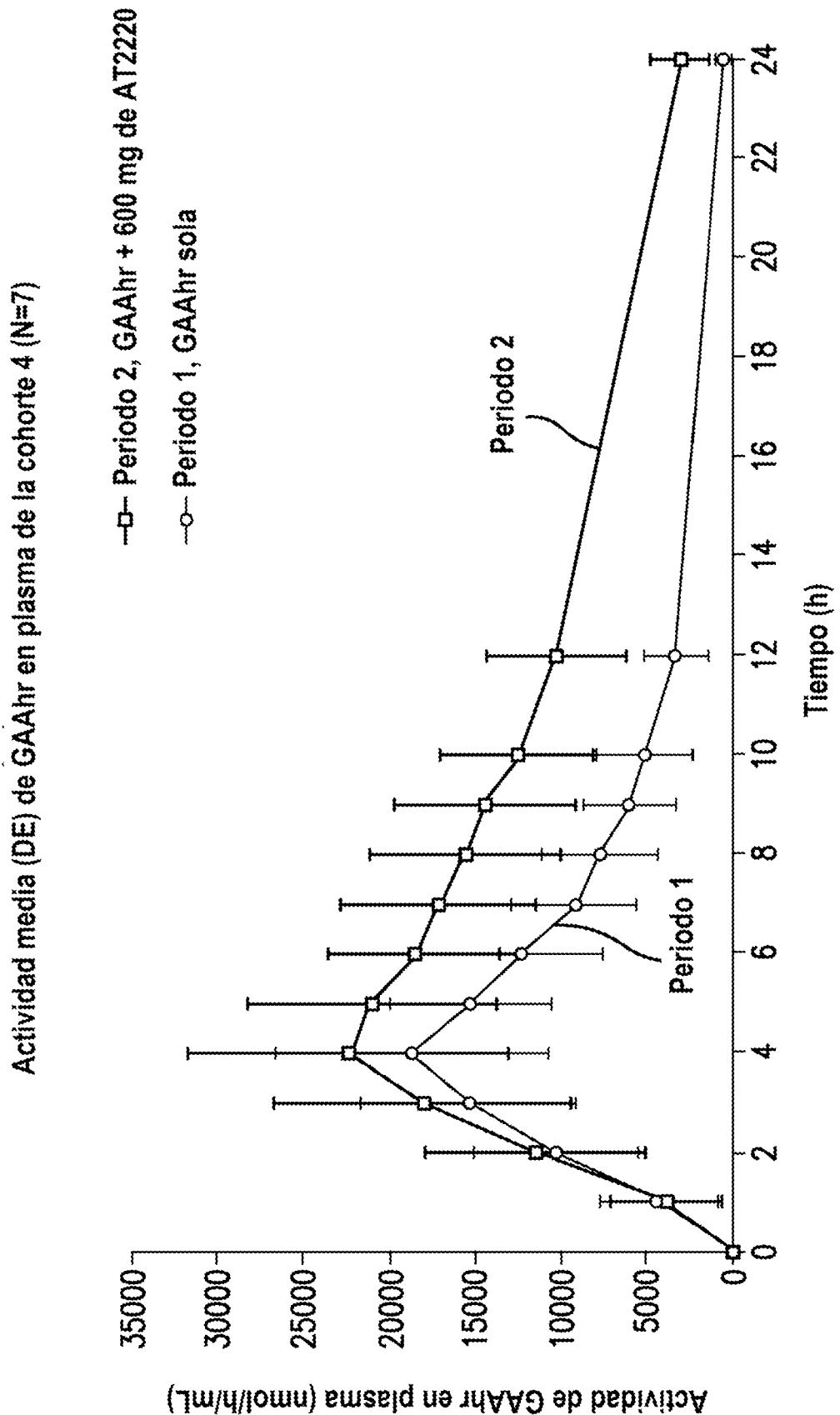


FIG. 10D

ATT2220-010 Diagrama de flechas de ABC para la actividad de GAAhr en plasma de la cohorte 3 (N=6)

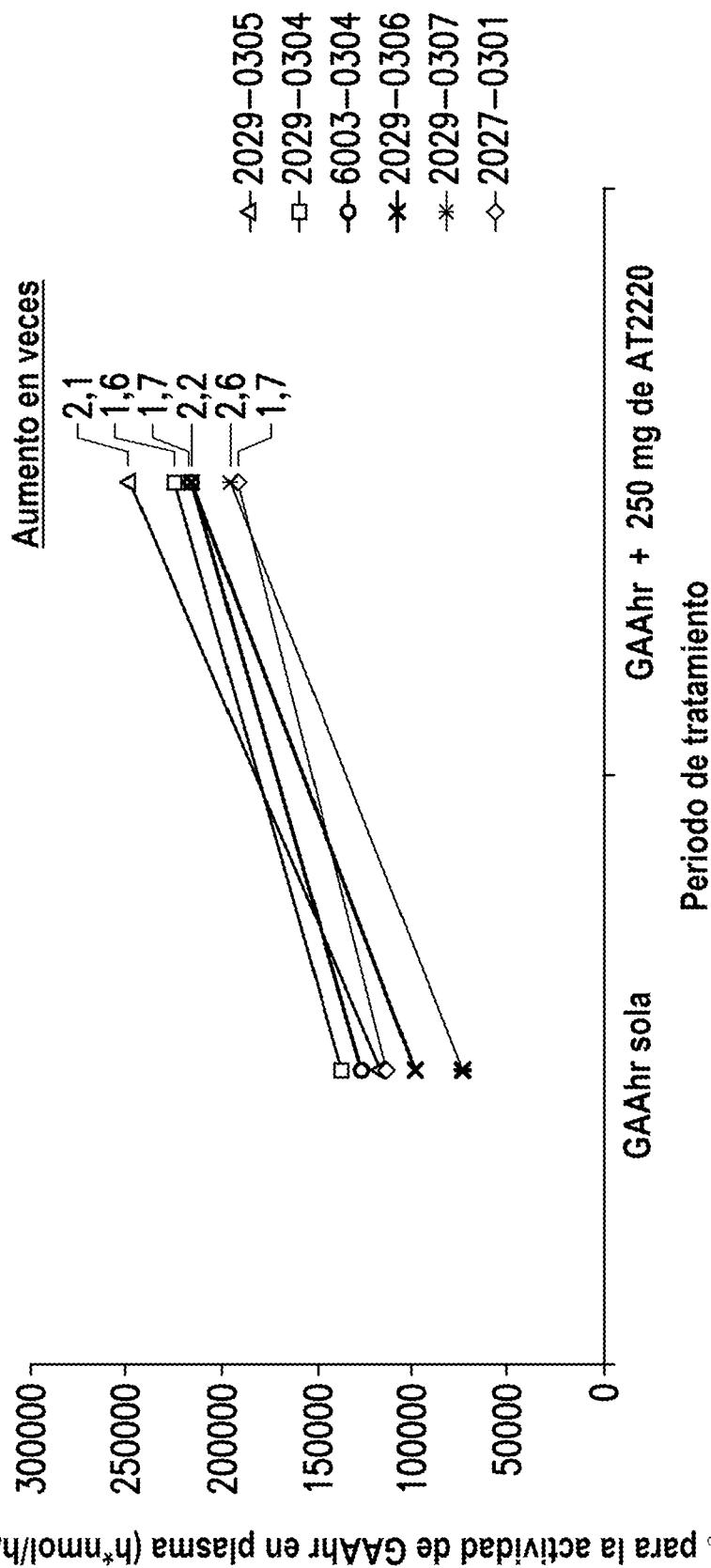


FIG. 11

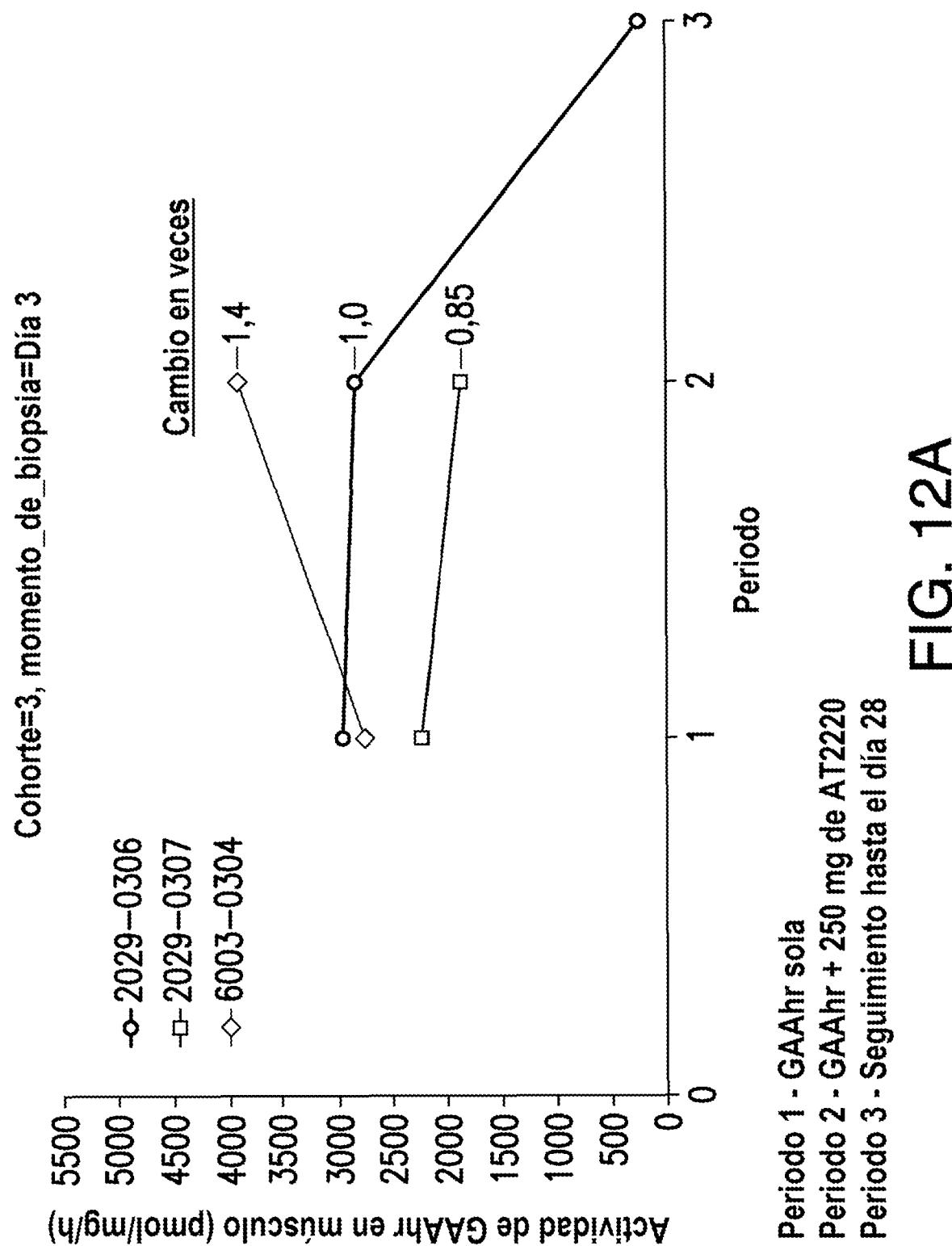


FIG. 12A

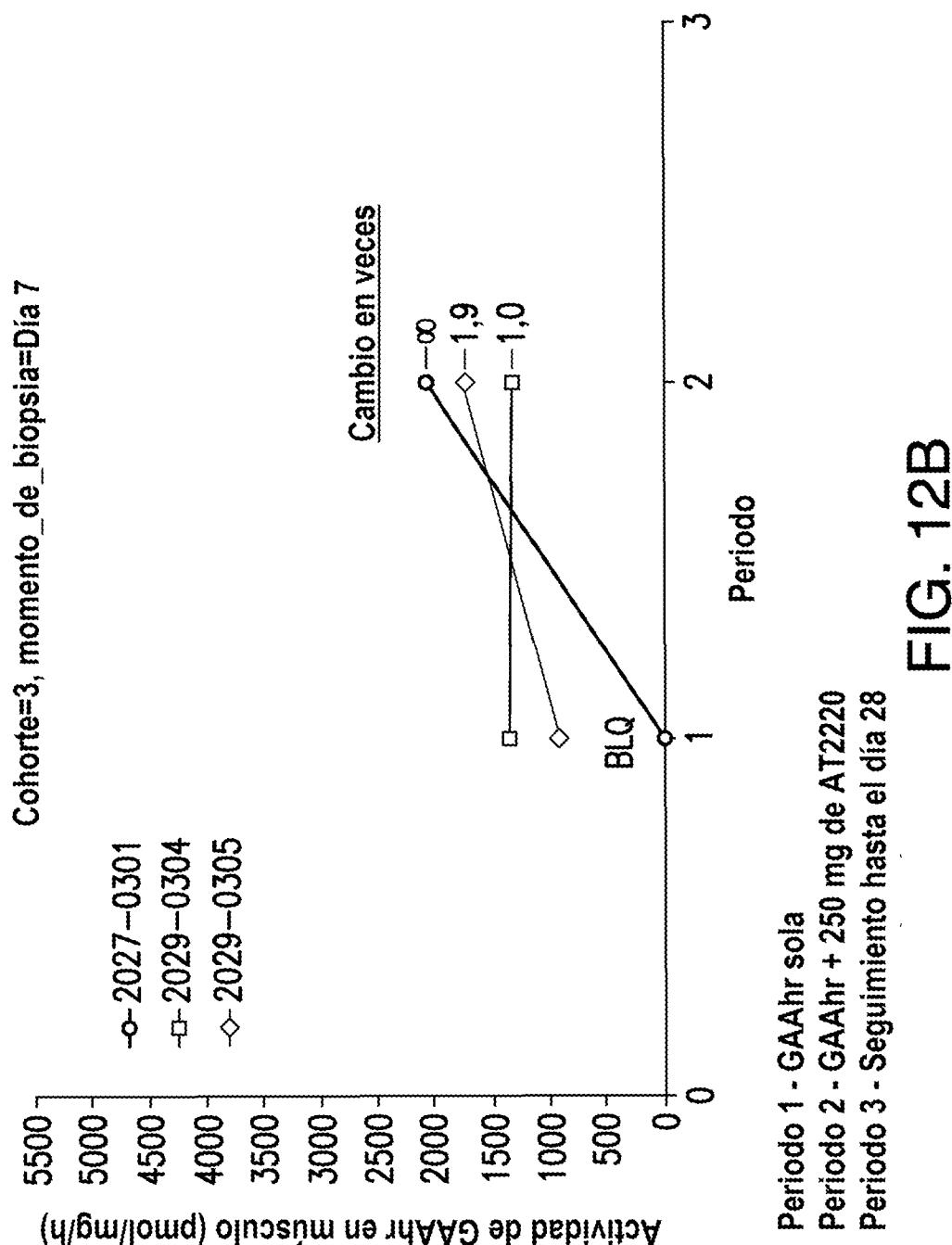


FIG. 12B

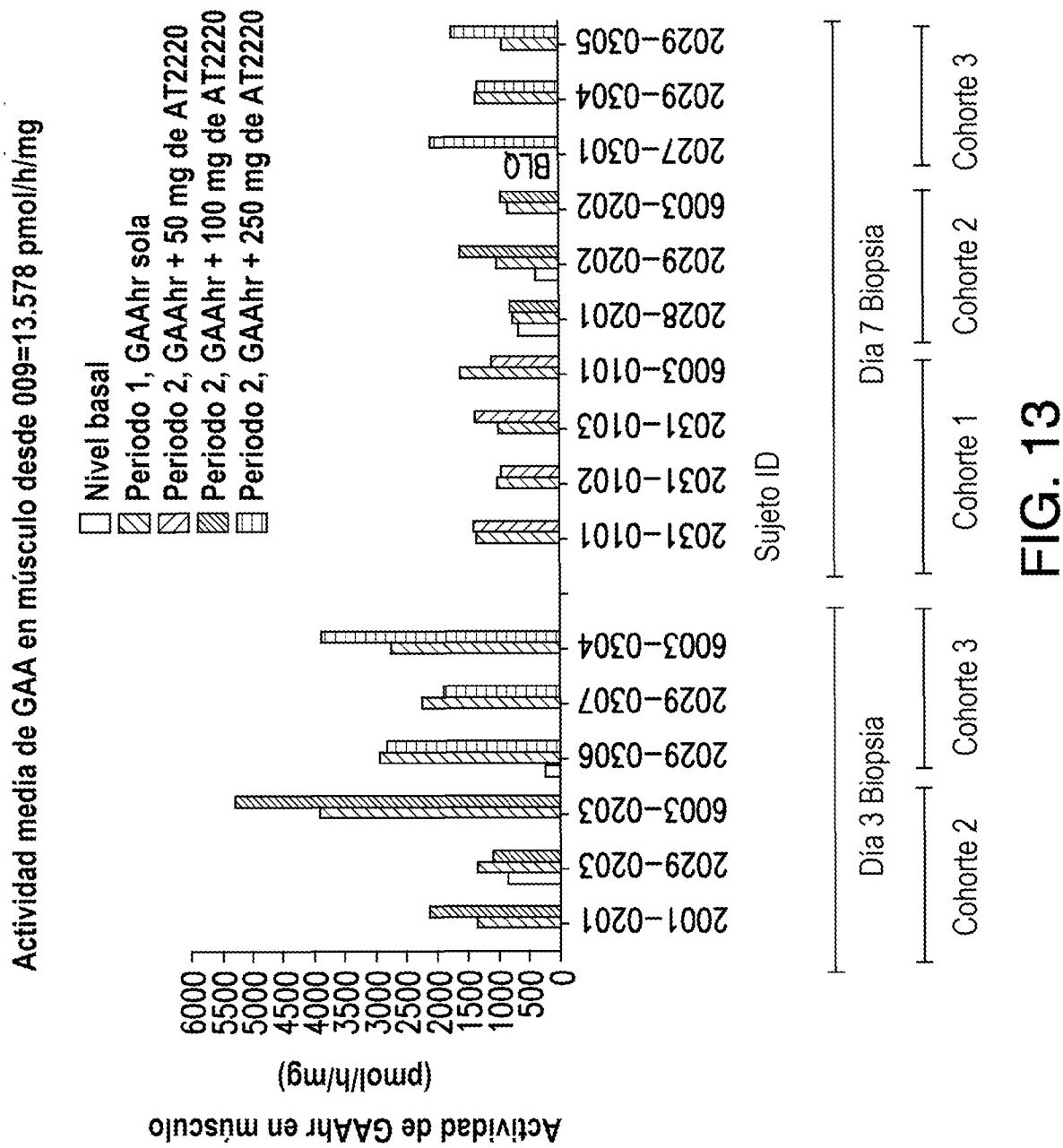


FIG. 13

Cohorte=cohorte 3, día_biopsia=día 3, periodo=periodo 1, tratamiento=GAAhR sola

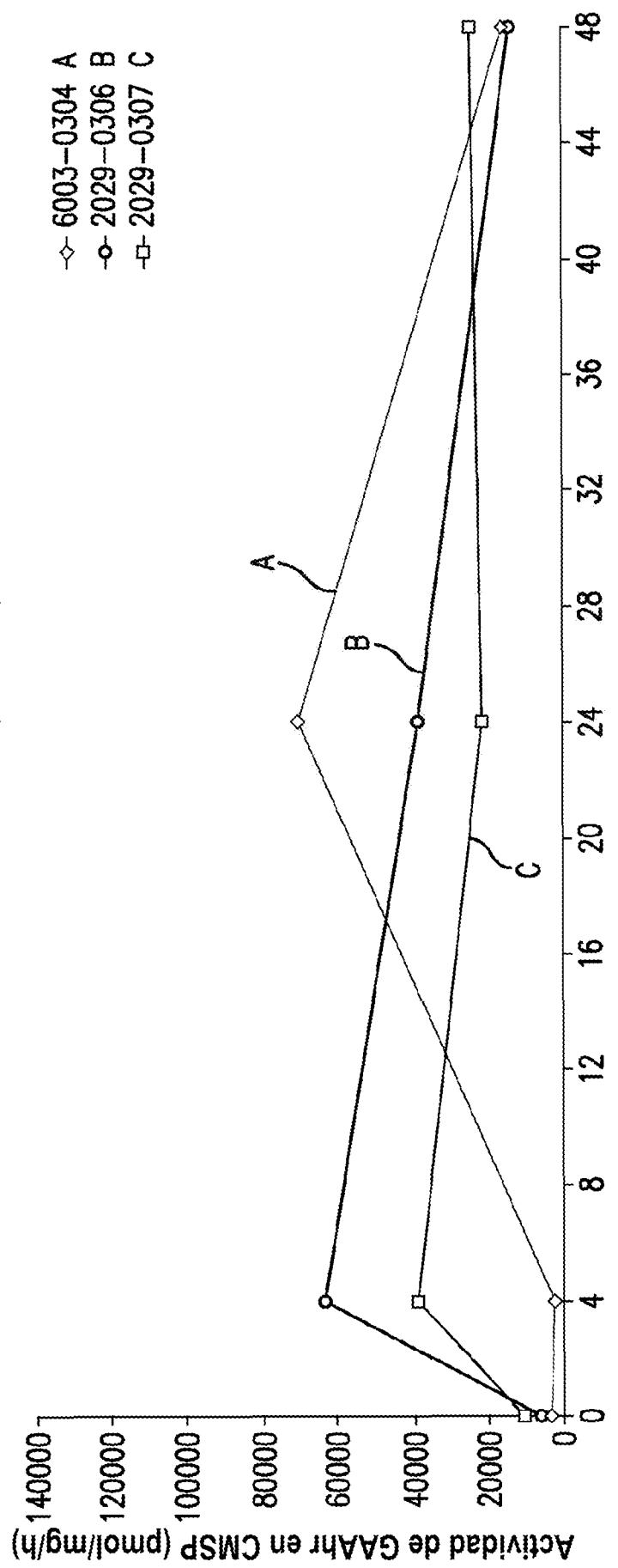


FIG. 14A

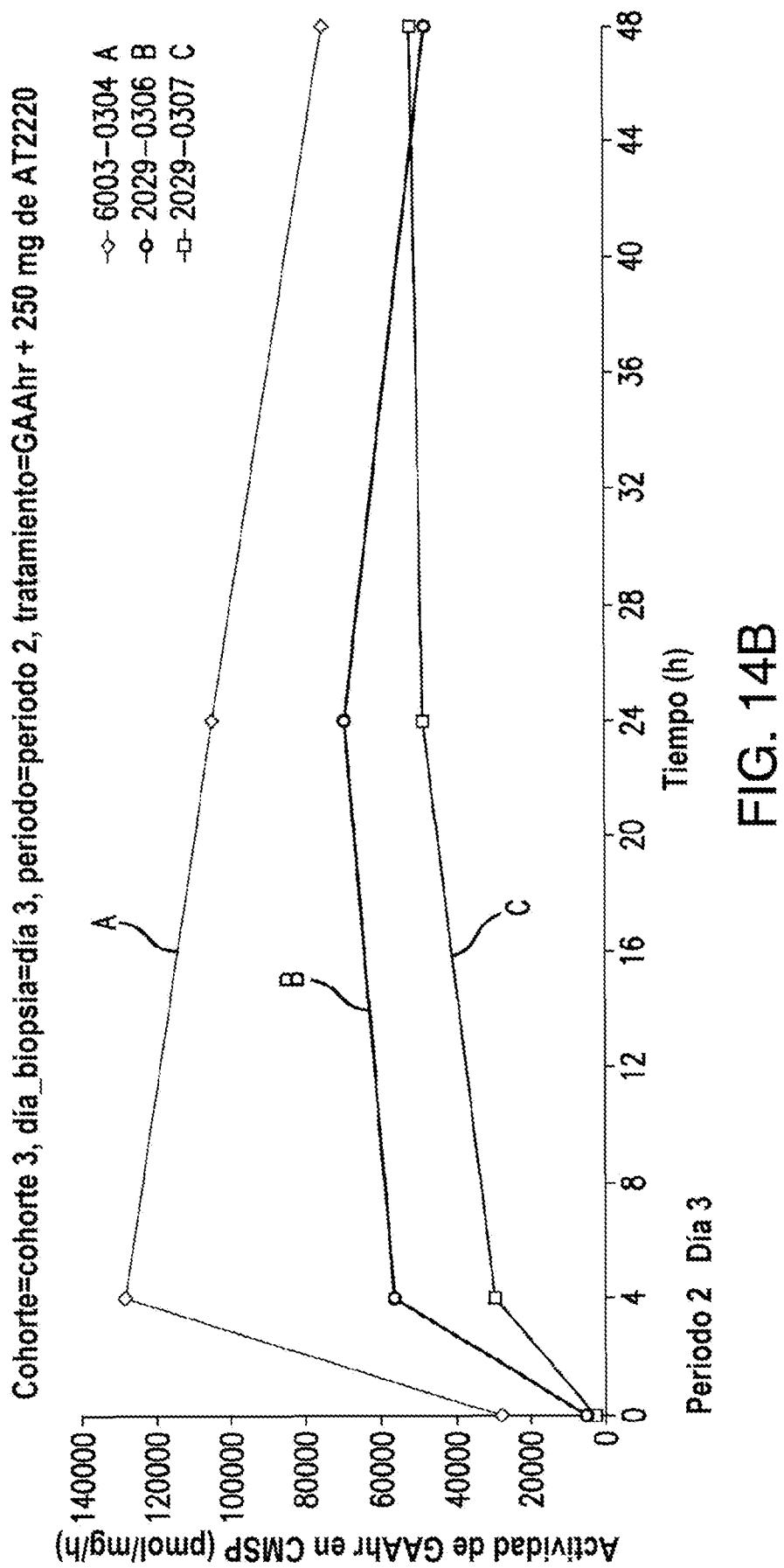


FIG. 14B

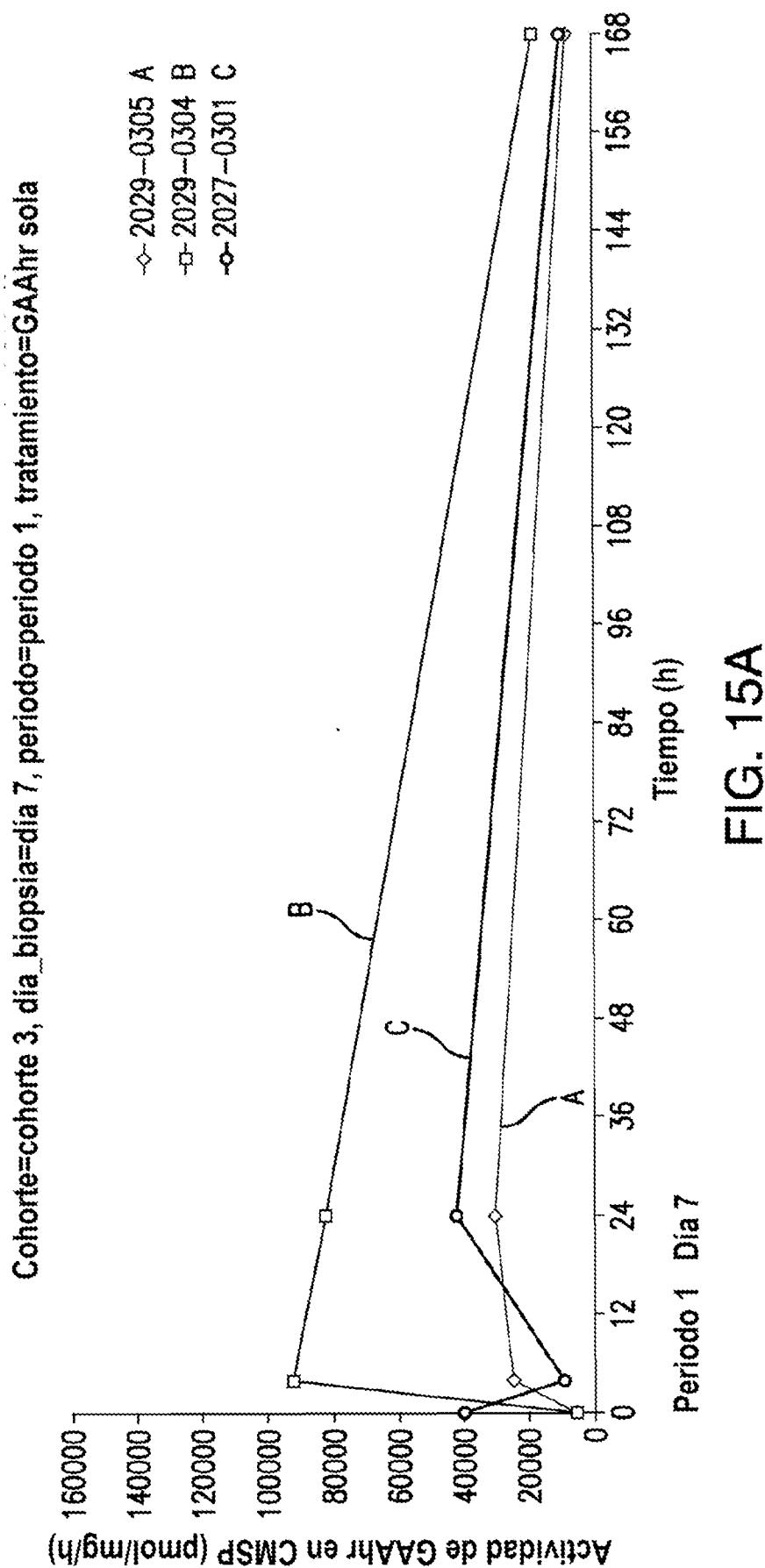


FIG. 15A

Cohorte=cohorte 3, dia_biopsia=dia 7, periodo=periodo 2, tratamiento=GAAhr + 250 mg de AT2220

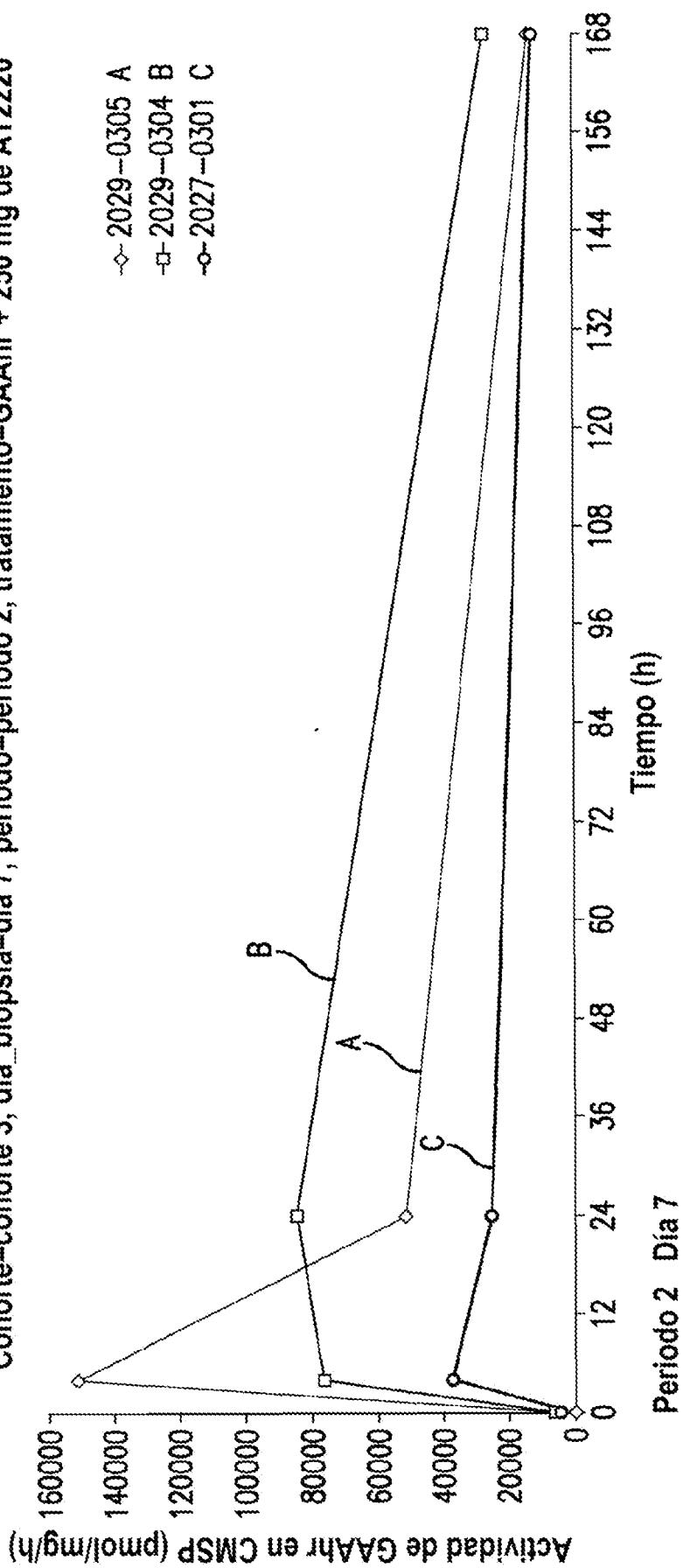


FIG. 15B

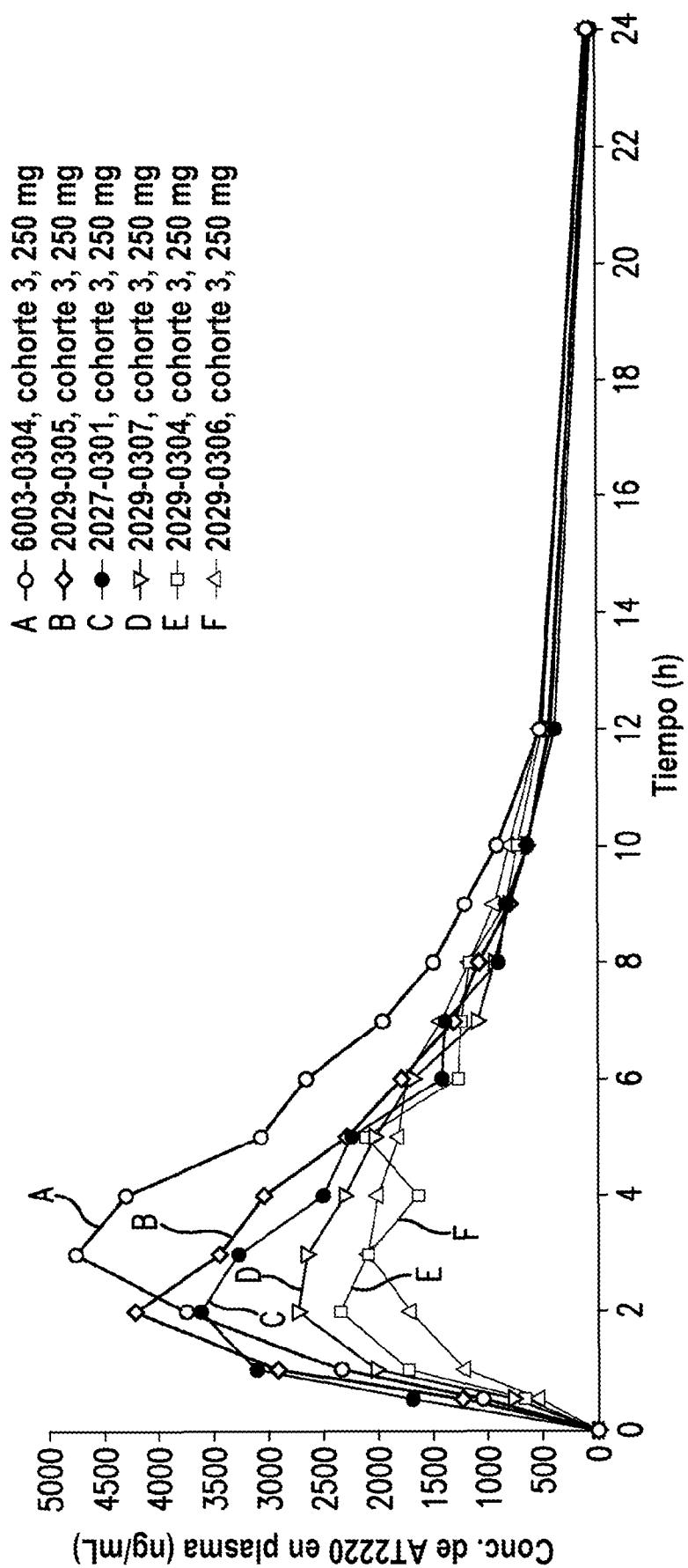


FIG. 16A

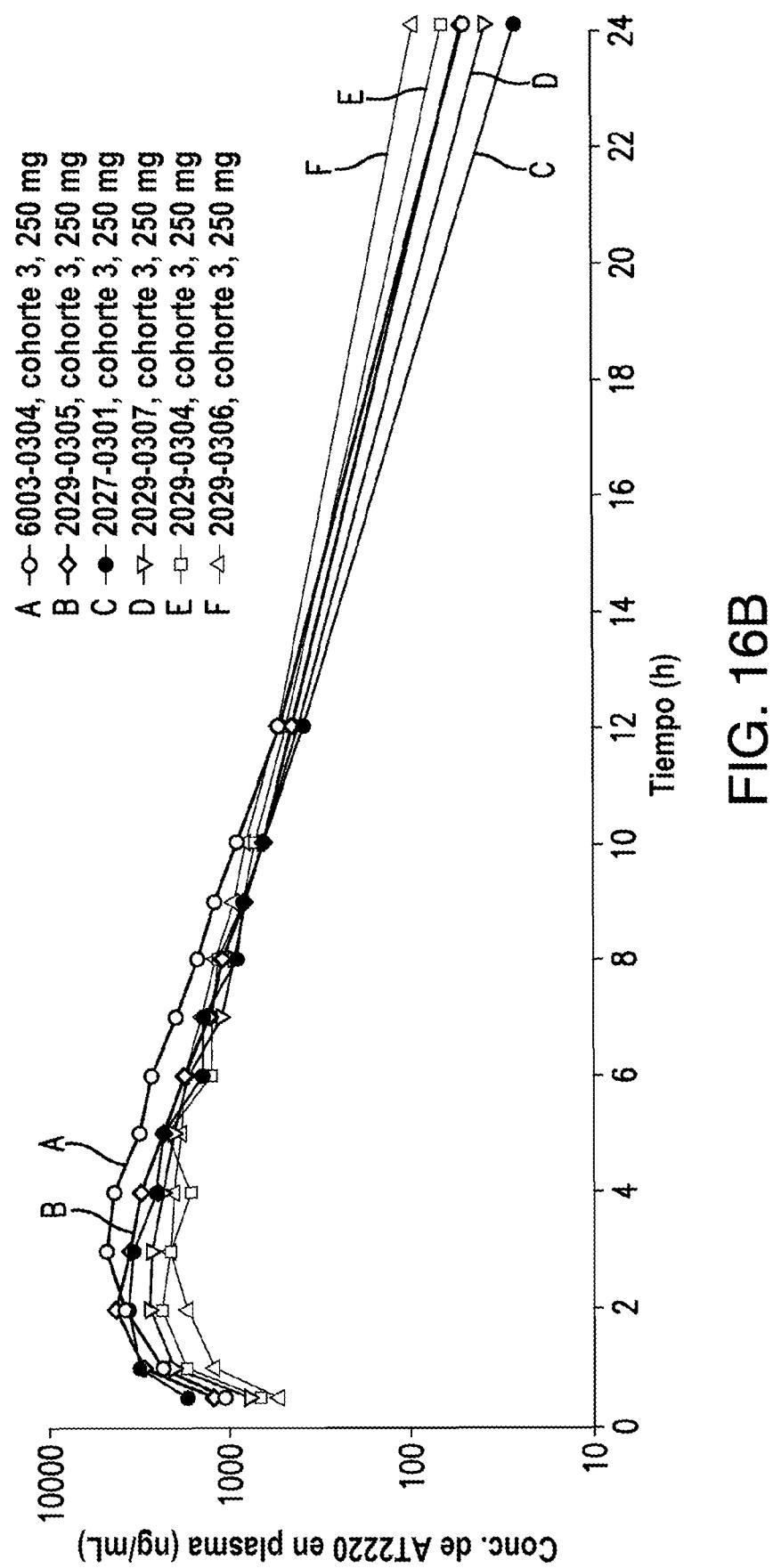


FIG. 16B

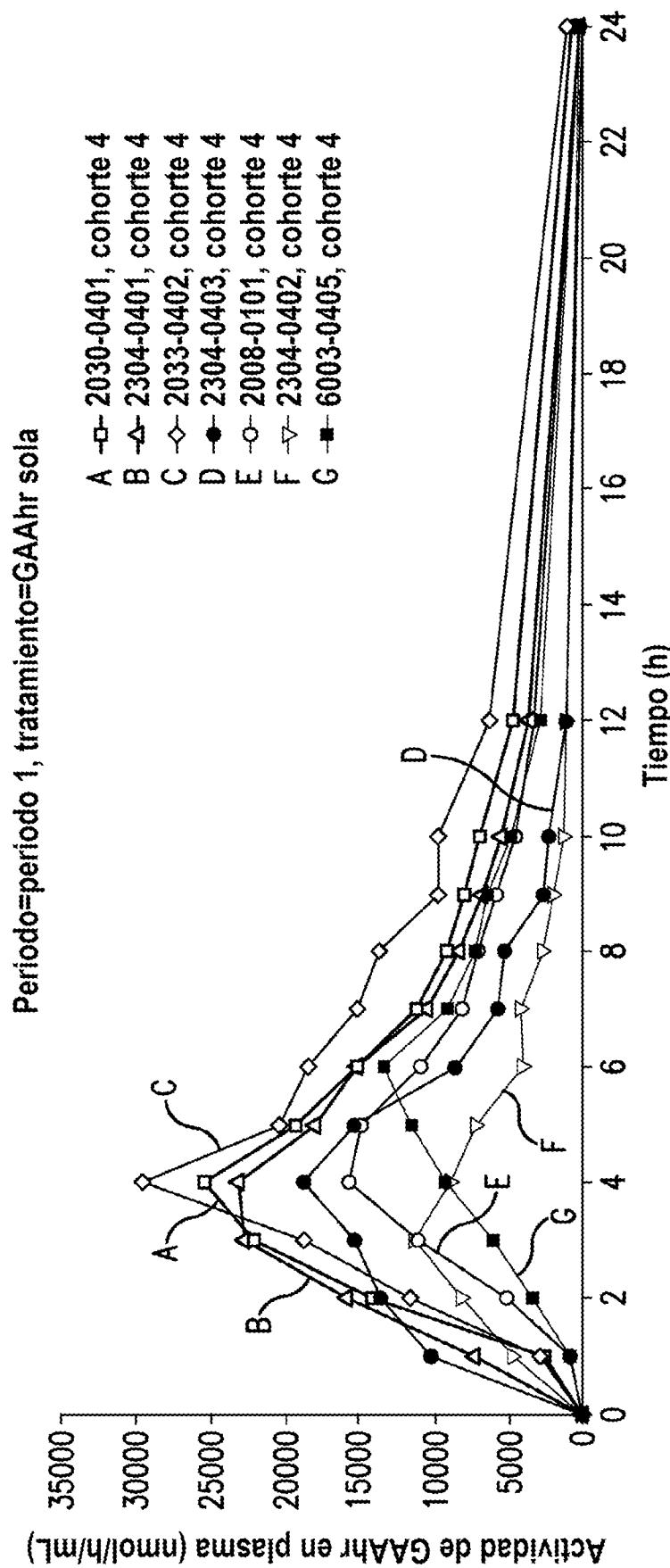


FIG. 17A

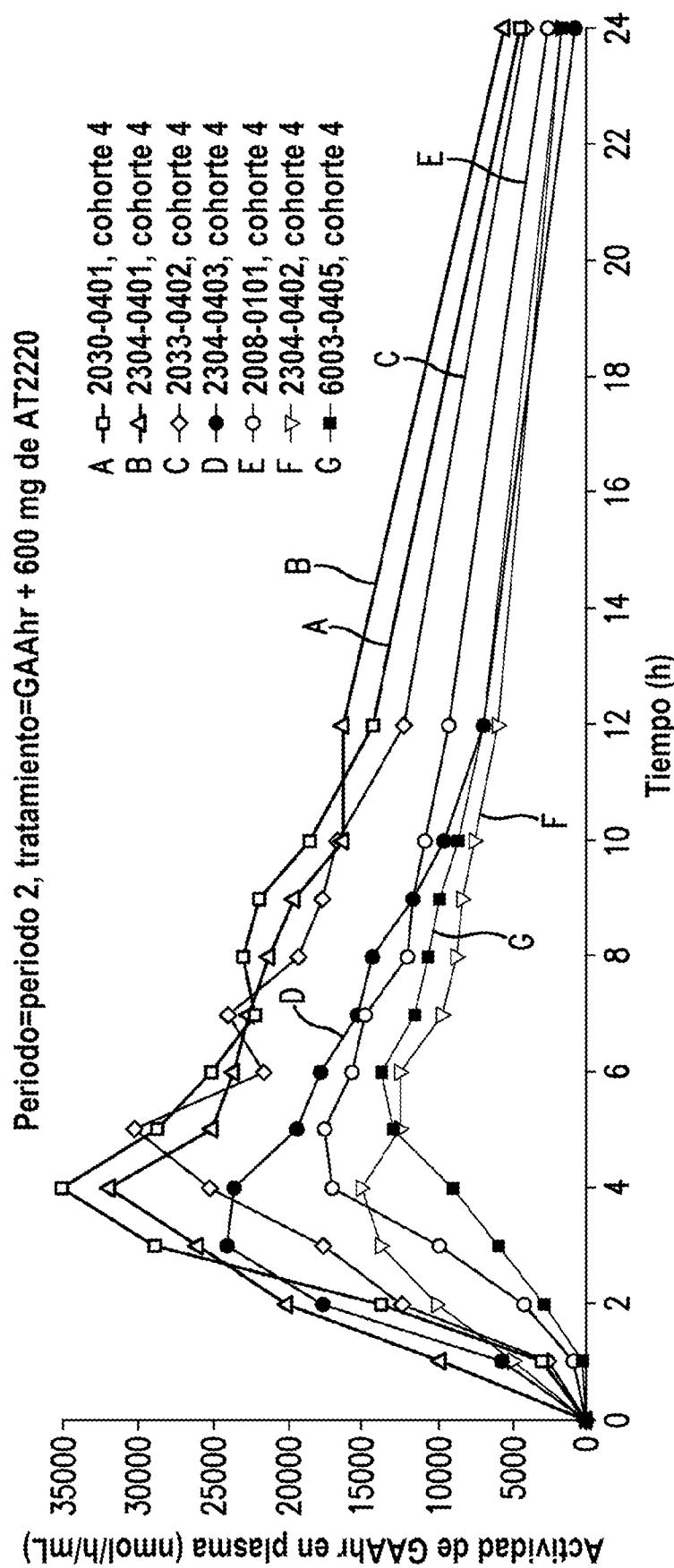


FIG. 17B

ATT2220-010 Diagrama de flechas de ABC para la actividad de GAAhr en plasma de la cohorte 4 (N=7)

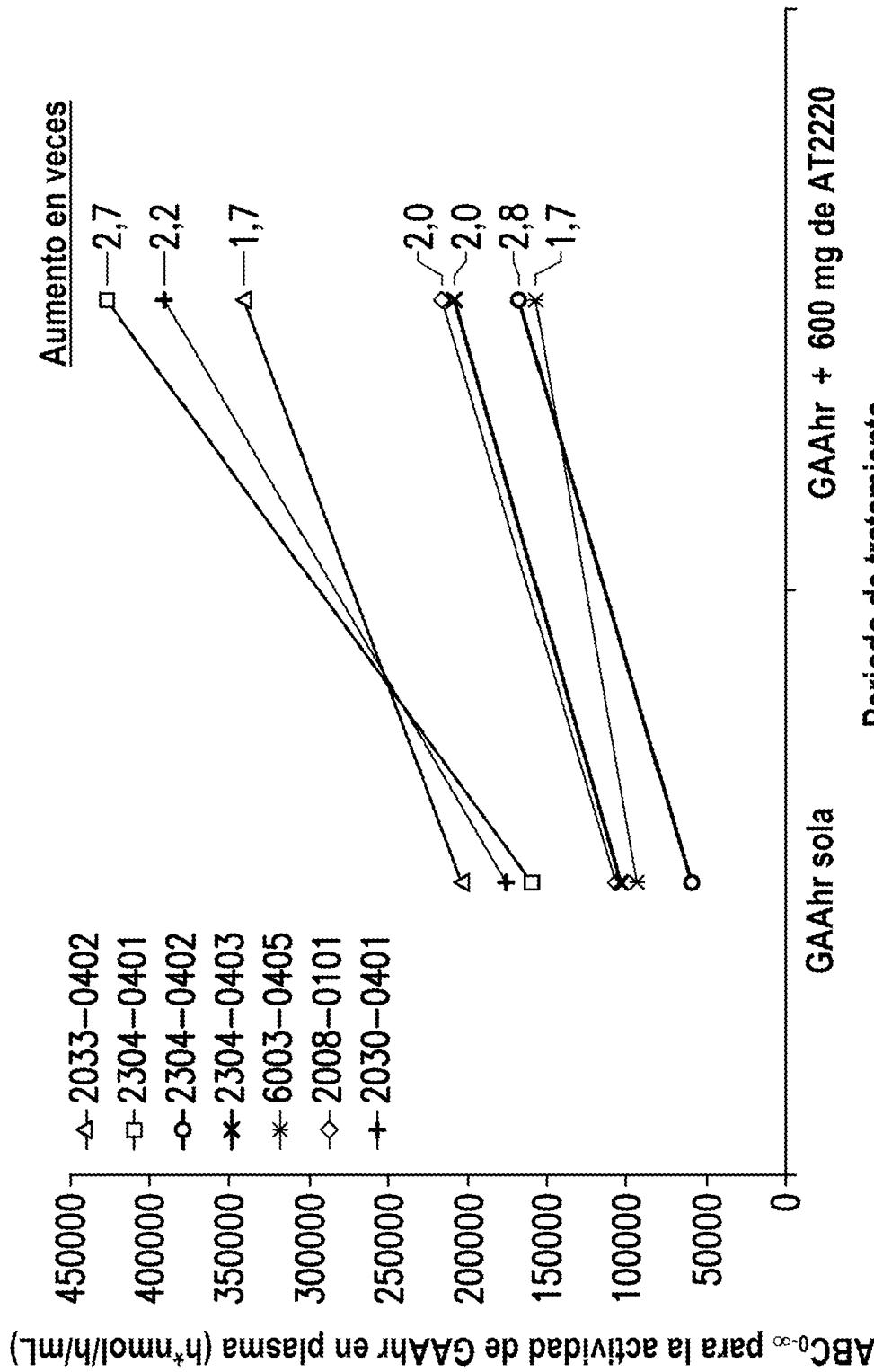
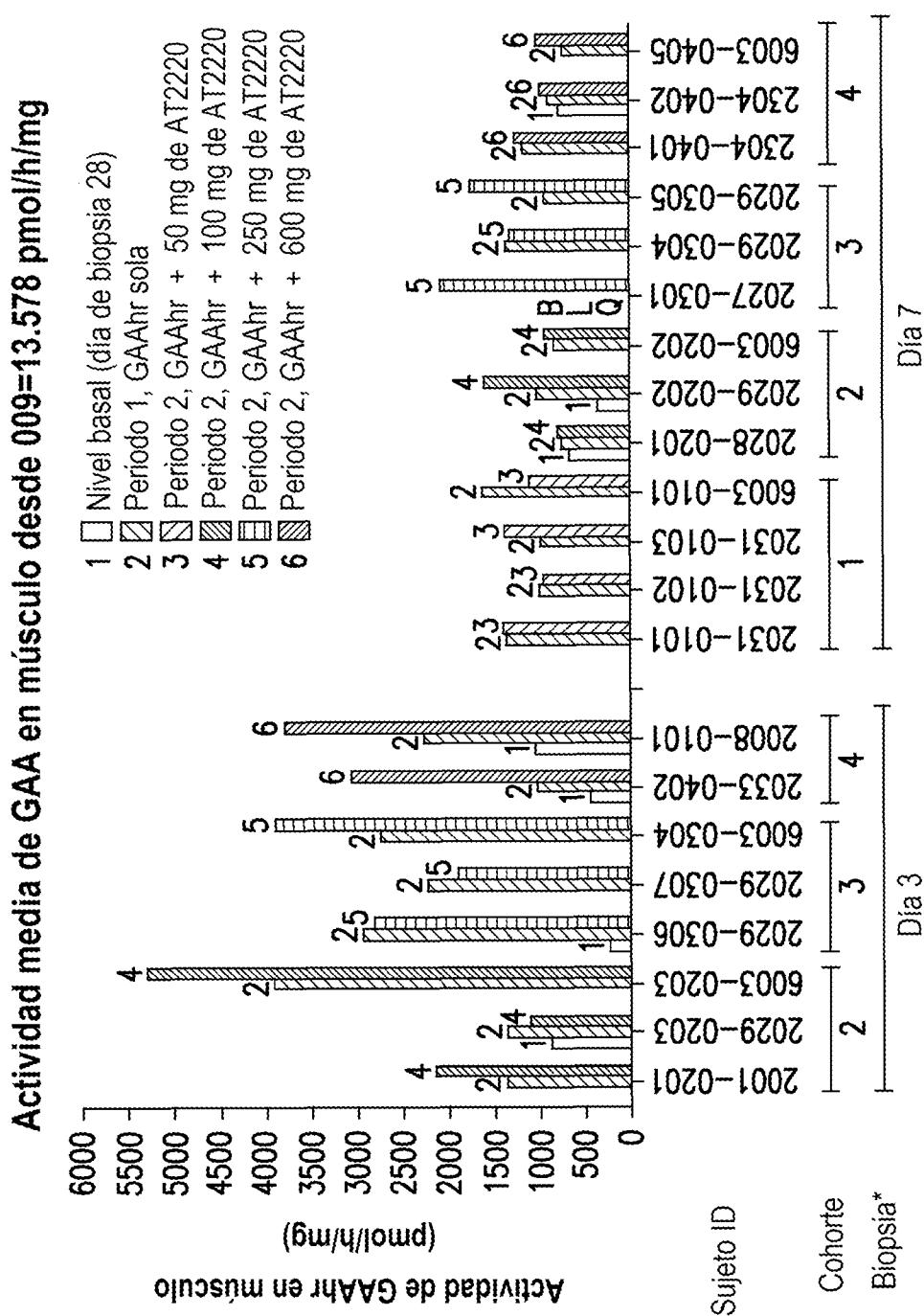


FIG. 18



*En el día 3 o 7, nivel inicial en el día 28

FIG. 19

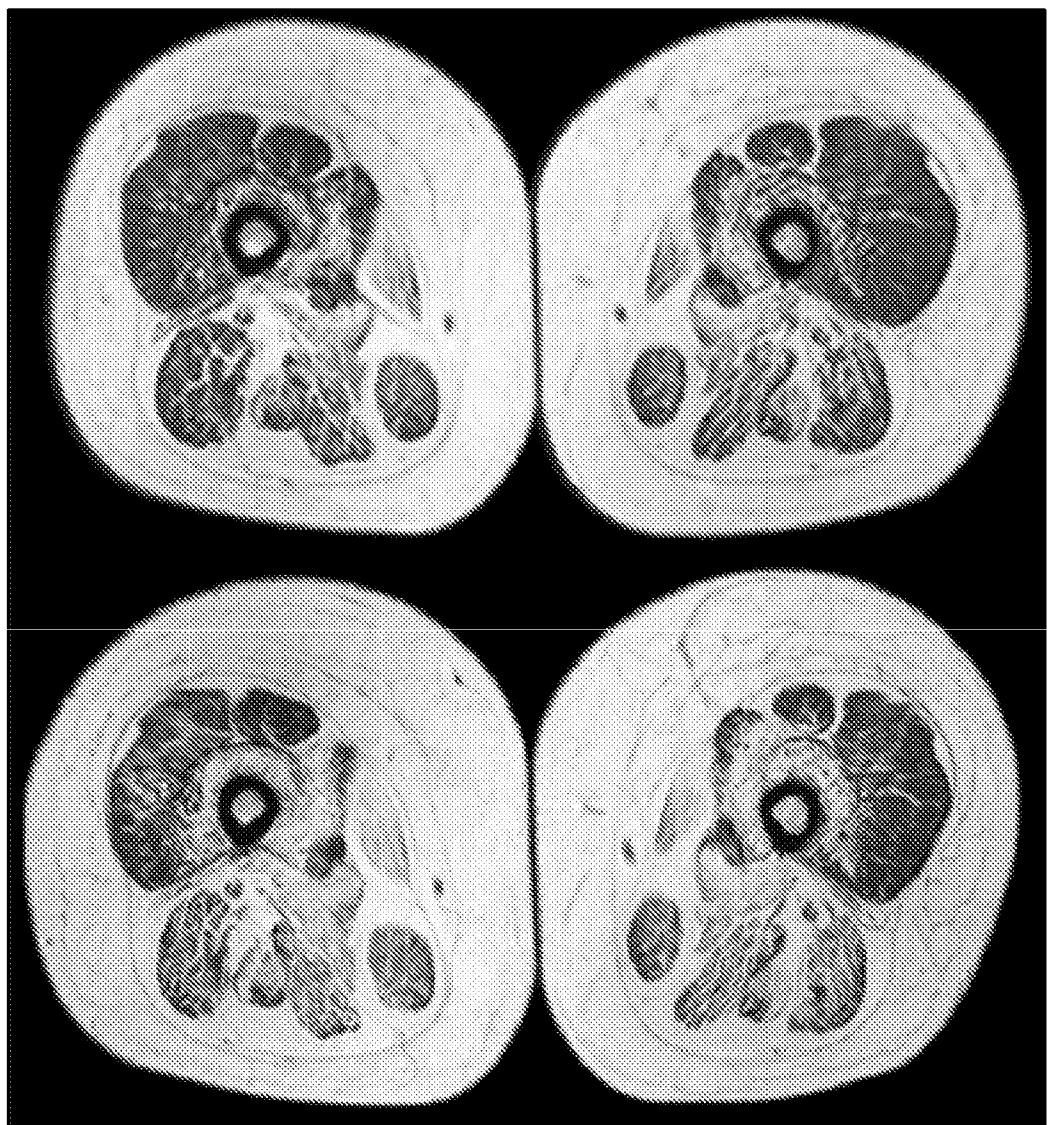


FIG. 20

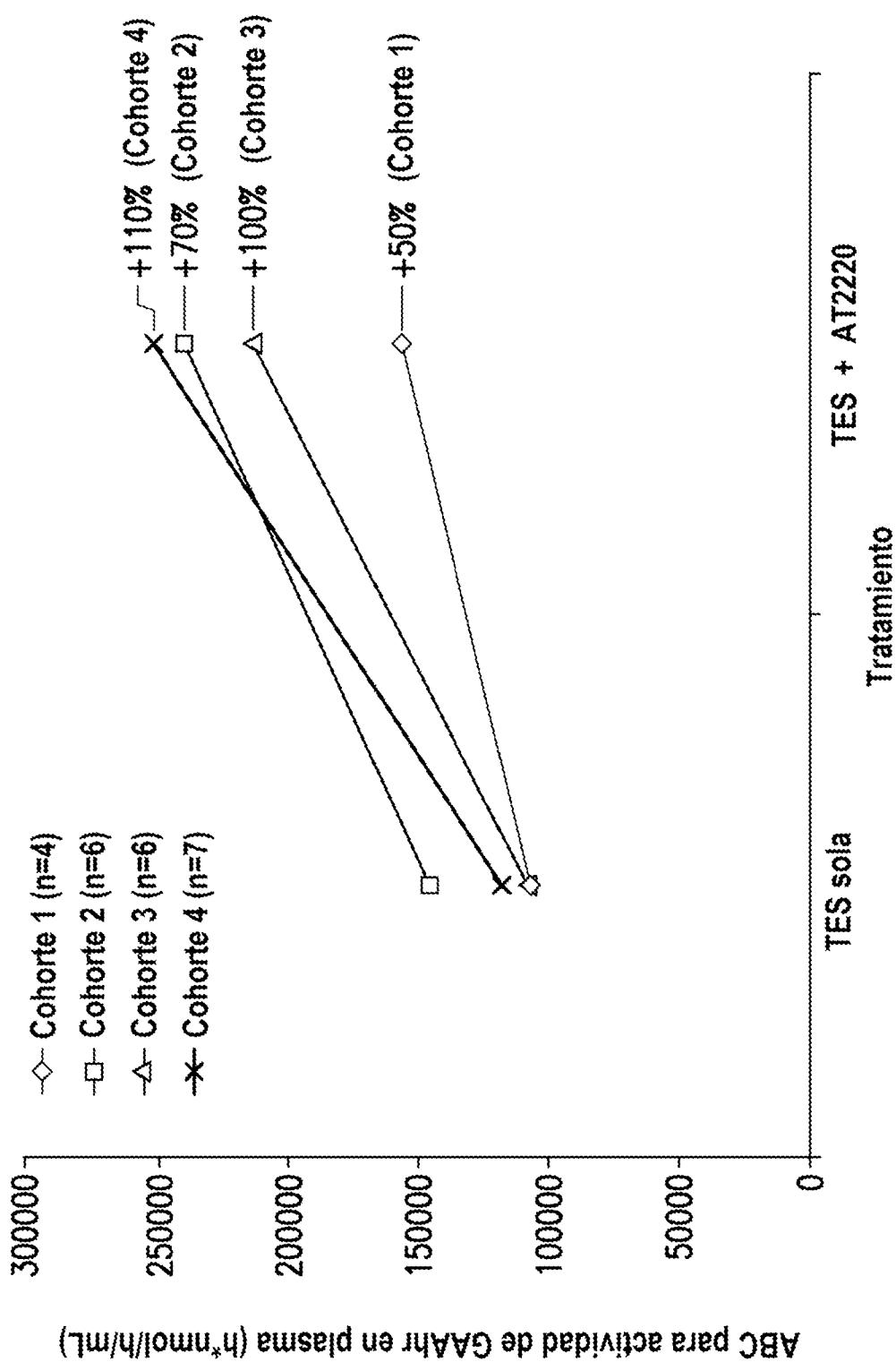


FIG. 21

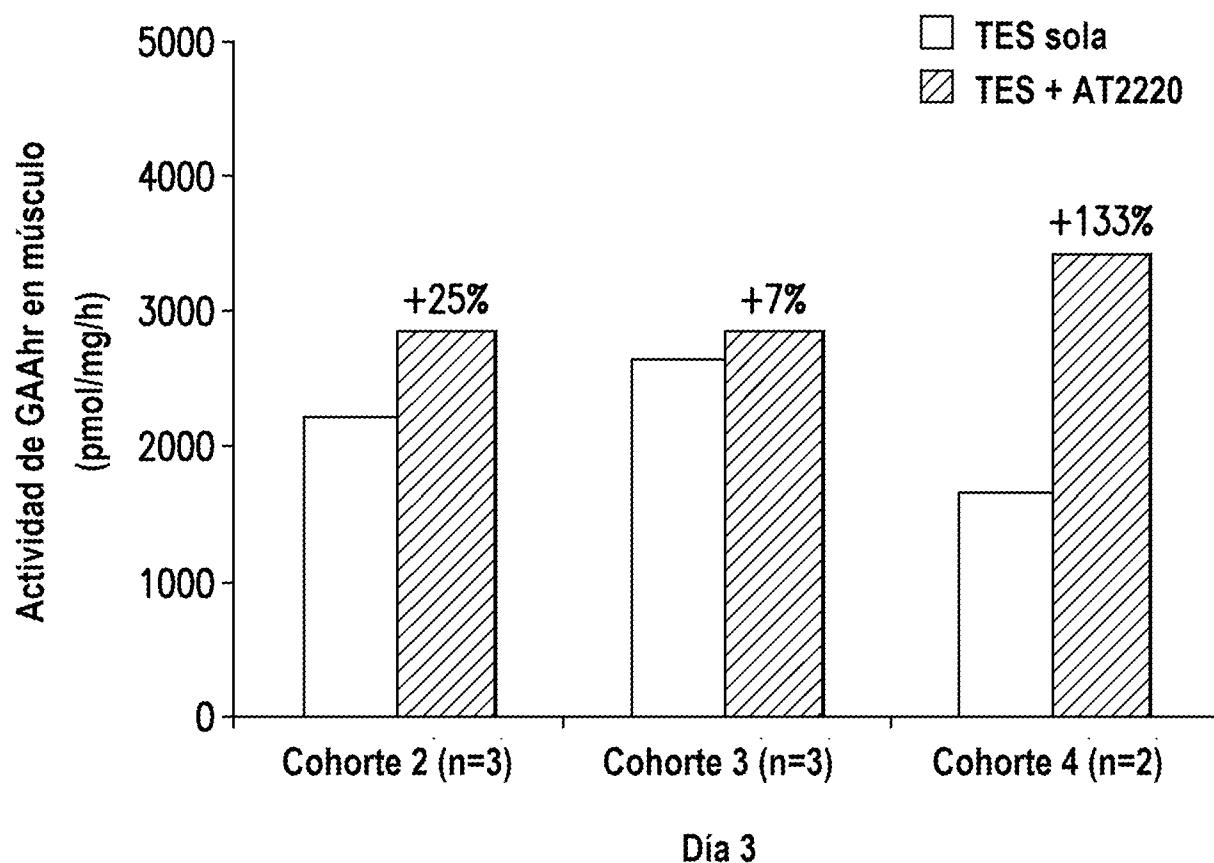


FIG. 22

Farmacocinética tisular para DNJ (AT2220) y N-butil-DNJ (AT2221)

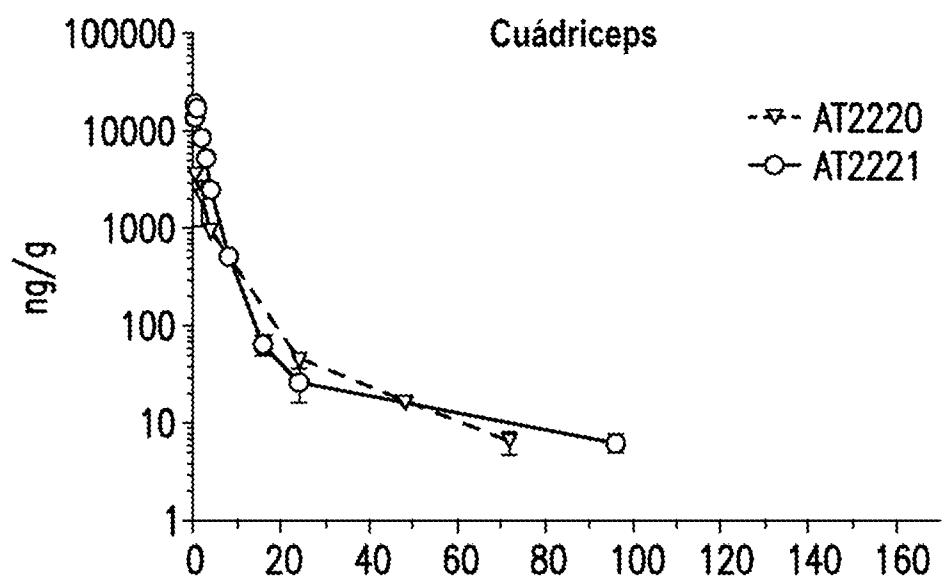
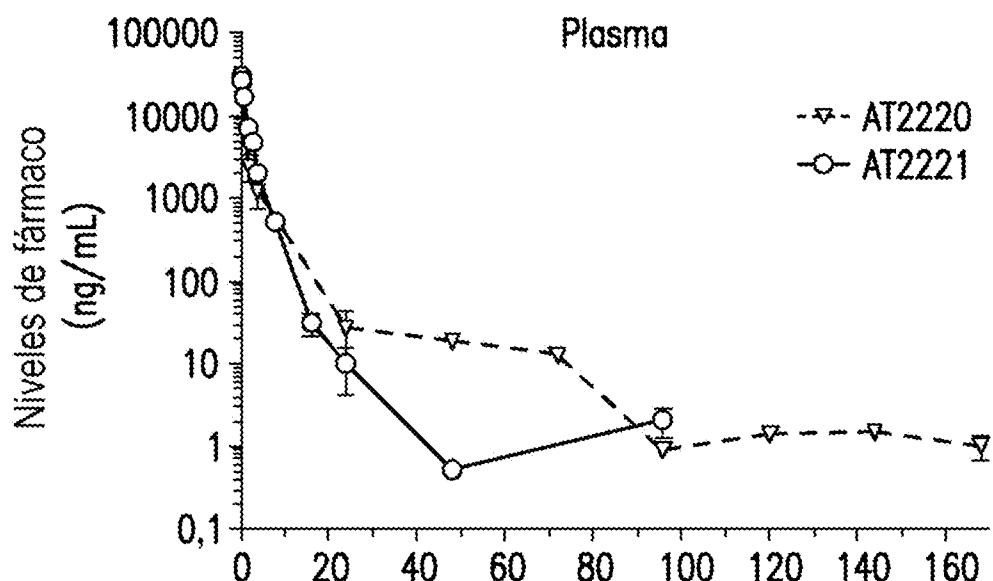


FIG. 23

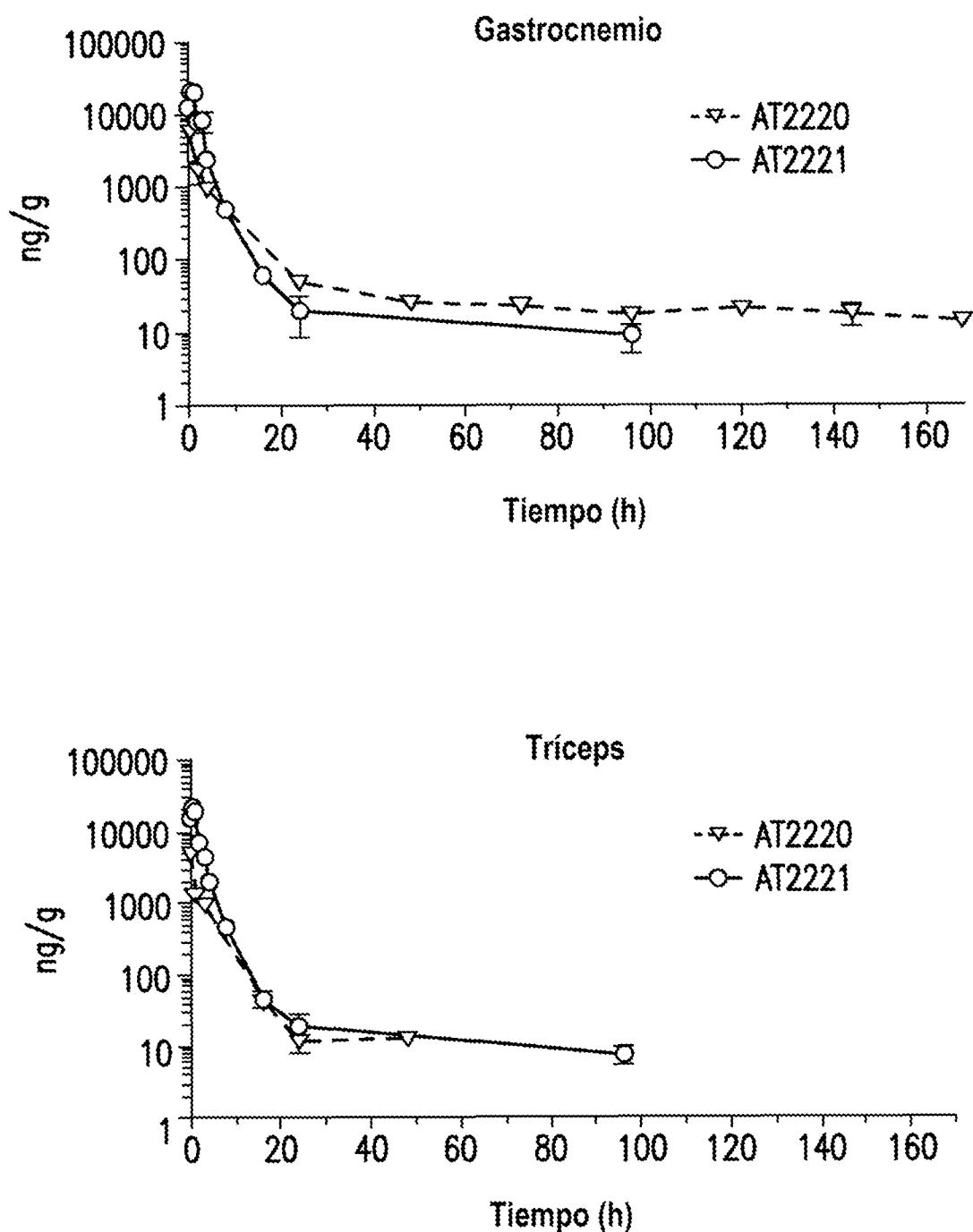


FIG. 23 continuación

Efecto de DNJ y NB-DNJ sobre la farmacocinética de Myozyme. Se administró una dosis oral de AT2220/DNJ o AT2221/NB-DNJ (100 mg/kg) 30 minutos antes de la administración i.v. de GAA recombinante (Myozyme a 10 mg/kg).

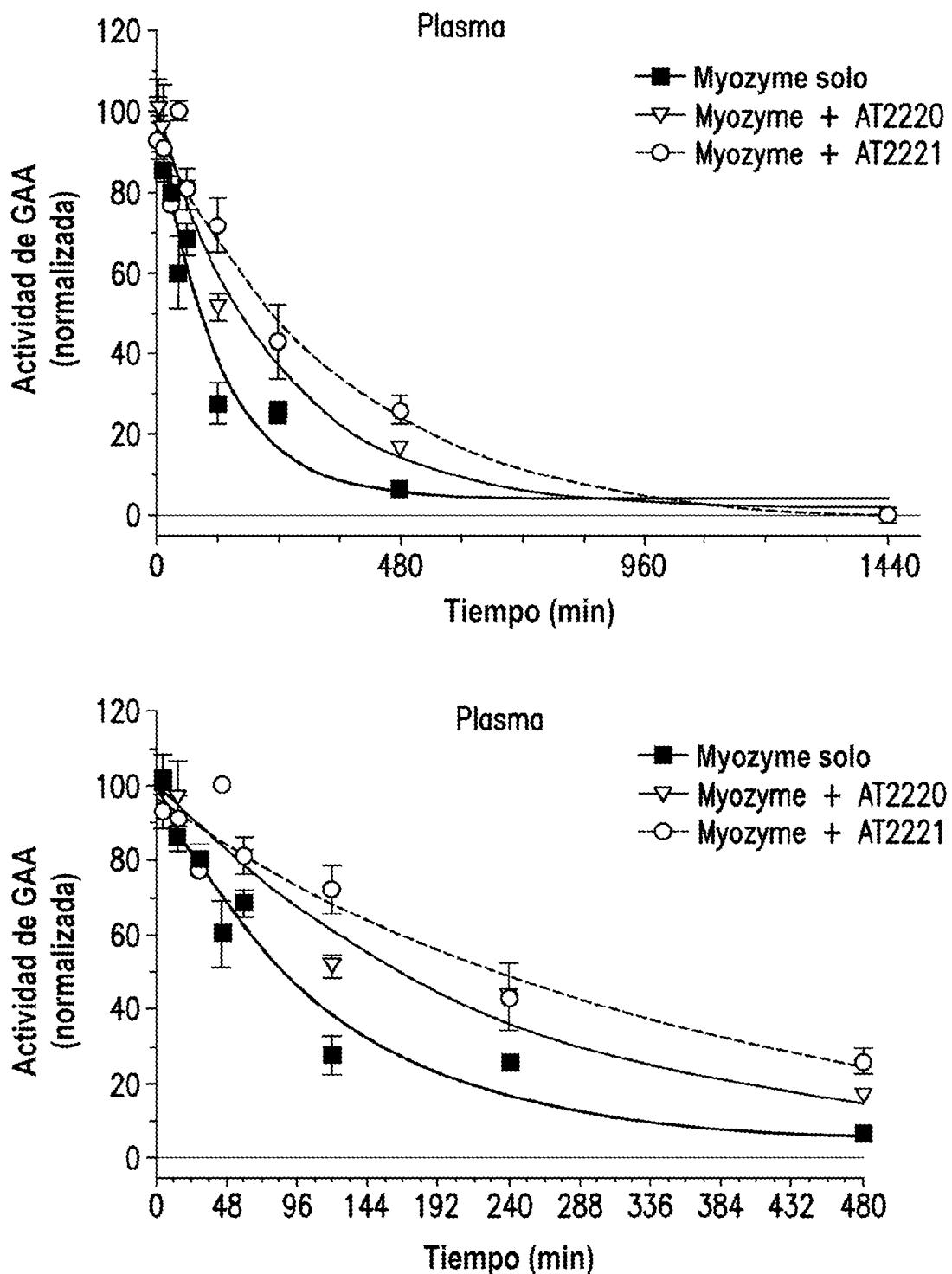


FIG. 24

Transferencia Western de GAA recombinante en plasma a las 2, 8 y 24 horas después de la administración i.v. de GAA.

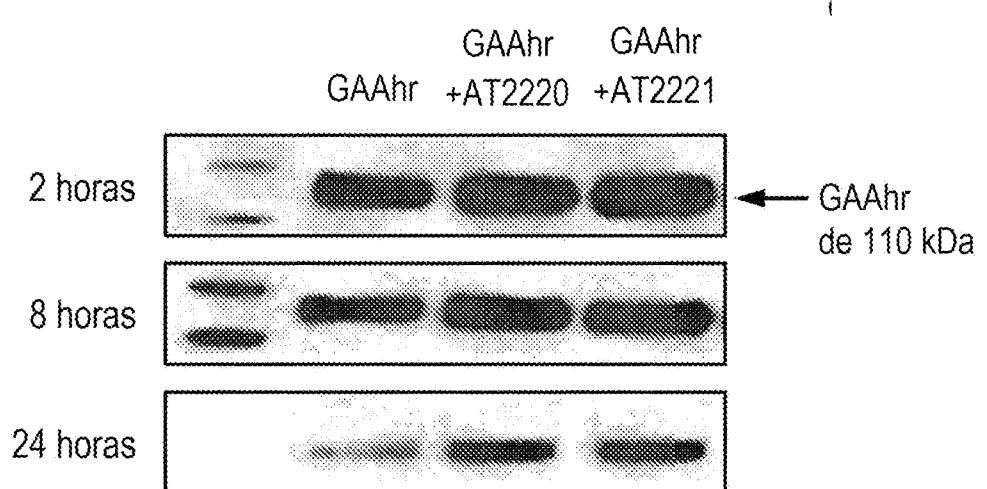


FIG. 25

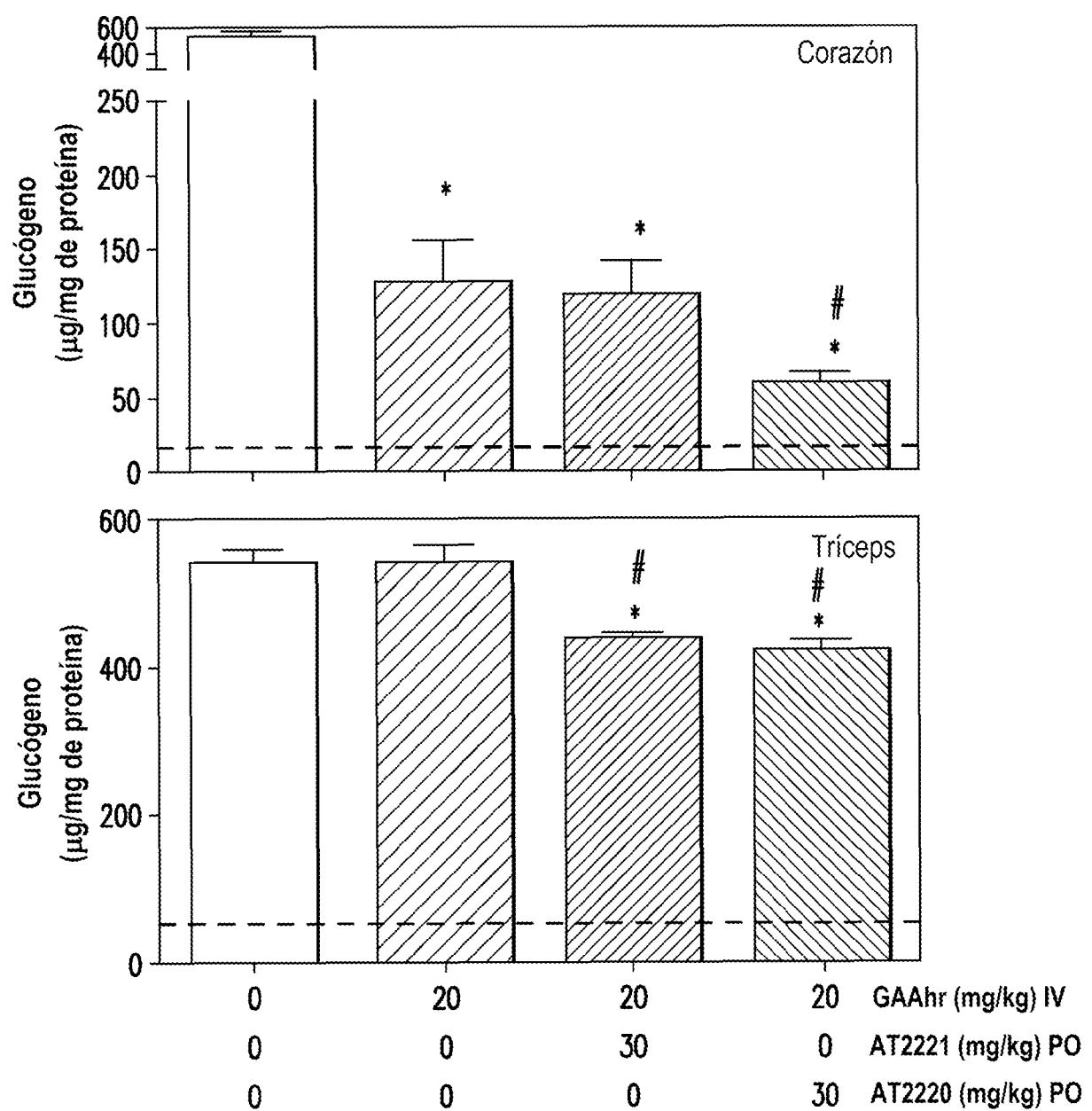


FIG. 26

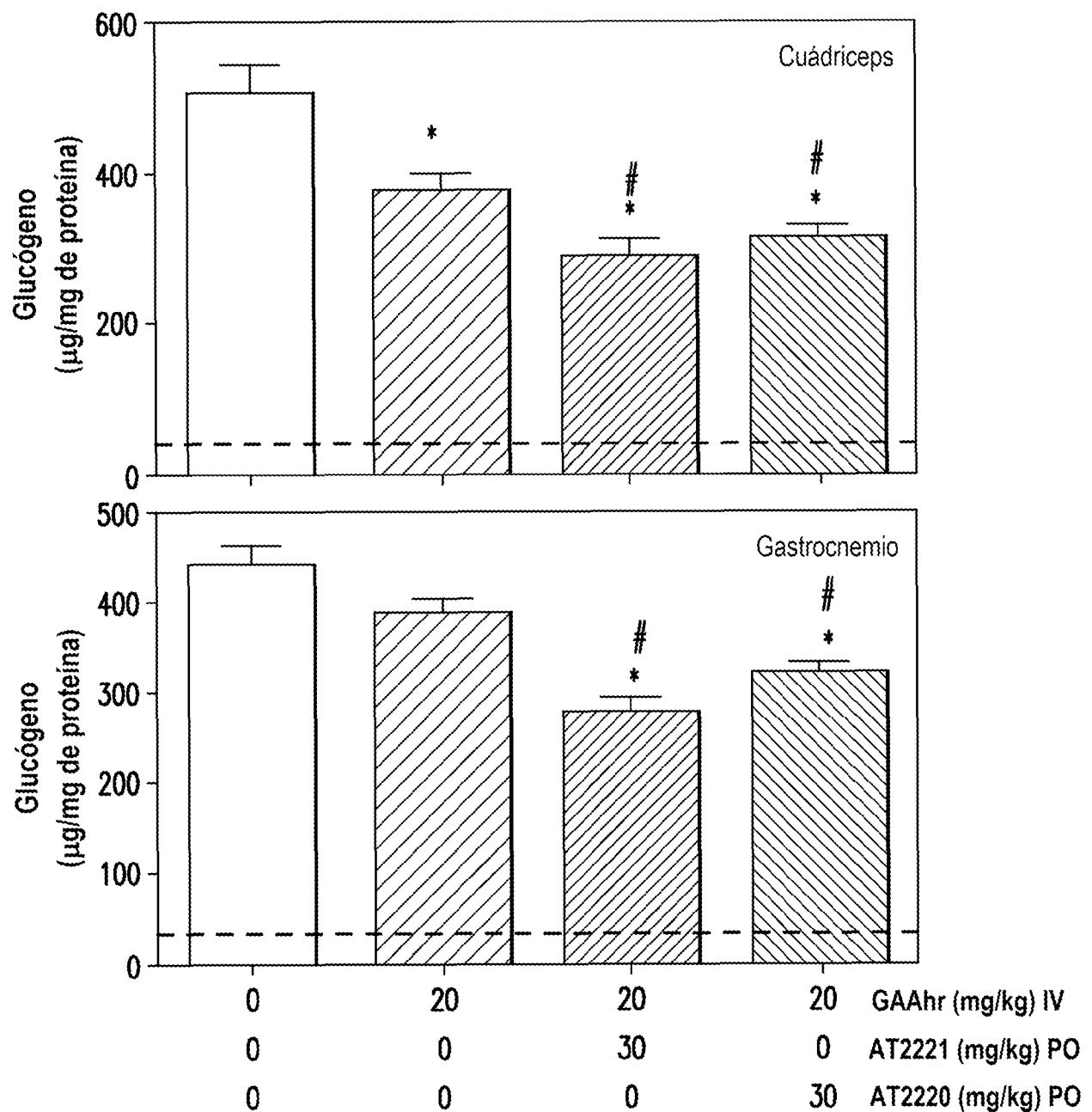


FIG. 26 continuación

Tabla 4f - Porcentaje de reducción en el sustrato después del tratamiento con GAAhr con o sin administración conjunta de DNJ y NB-DNJ. Los números representan % de reducción [100 % = niveles de glucógeno WT, 0 % = niveles de glucógeno inactivado]

Tejidos recogidos 21 días después de la 4 ^a inyección de GAAhr	GAAhr (20 mg/kg)	GAAhr + NB-DNJ (30 mg/kg)	GAAhr + DNJ (30 mg/kg)
Corazón	82	83	95
Cuádriceps	14	40	36
Gastrocnemio	11	40	37
Tríceps	0	26	28

FIG. 26 continuación