

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **045263**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.11.09

(21) Номер заявки
202090564

(22) Дата подачи заявки
2018.08.28

(51) Int. Cl. **A61K 31/445** (2006.01)
A61P 9/04 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

(54) СПОСОБЫ УСИЛЕНИЯ И/ИЛИ СТАБИЛИЗАЦИИ СЕРДЕЧНОЙ ФУНКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ФАБРИ

(31) **62/550,984**

(32) **2017.08.28**

(33) **US**

(43) **2020.06.15**

(86) **PCT/US2018/048257**

(87) **WO 2019/046244 2019.03.07**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
АМИКУС ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.
(US)

(72) Изобретатель:
Кастелли Джефф, Барт Джей, Скубан
Нина (US)

(74) Представитель:
Абильманова К.С. (KZ)

(56) **US-A1-2016324839**

DOMINIQUE P. GERMAIN ET AL.:
"Treatment of Fabry's Disease with the Pharmacologic Chaperone Migalastat", THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE, - NEJM -, vol. 375, no. 6, 11 August 2016 (2016-08-11), pages 545-555, XP055527557, US, ISSN: 0028-4793, DOI: 10.1056/NEJMoa1510198, whole document, particularly p. 550-551, chapter "Echocardiographic variables"; Table 2

MEHTA A. ET AL.: ON BEHALF OF THE FABRY OUTCOME SURVEY INVESTIGATORS:
"Enzyme replacement therapy with agalsidase alfa in patients with Fabry's disease: an analysis of registry data", LANCET, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 374, no. 9706, 12 December 2009 (2009-12-12), pages 1986-1996, XP027527330, ISSN: 0140-6736, DOI: 10.1016/S0140-6736(09)61493-8 [retrieved on 2009-12-12], abstract

Germain Dp Schiffmann: "Cardiac Outcomes With Long-term Migalastat Treatment in Patients With Fabry Disease: Results From Phase 3 Trials", 14th Annual WORLDSymposium, San Diego, CA, 5 February 2018 (2018-02-05), pages LB-18, XP055527467, Retrieved from the Internet: URL: <https://www.amicusrx.com/app/uploads/World2018/World2018-Amicus-Cardiac-Outcomes-migalastat.pdf> [retrieved on 2018-11-27], the whole document

(57) В изобретении предоставлены способы лечения болезни Фабри у пациента. Определенные способы относятся к лечению ФЗТ(ферментная заместительная терапия)-леченных или ФЗТ-наивных пациентов с болезнью Фабри. Определенные способы включают введение пациенту от около 100 до около 150 мг эквивалента свободного основания мигаластата для усиления и/или стабилизации сердечной функции.

B1**045263****045263****B1**

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Данная заявка заявляет приоритет по предварительной заявке США № 62/550984, поданной 28 августа 2017 года, которая полностью включена в данный документ посредством ссылки.

Область техники

Принципы и варианты осуществления данного изобретения в целом относятся к применению фармакологических шаперонов для лечения лизосомных болезней накопления, в частности к применению мигаластата для лечения болезни Фабри.

Уровень техники

Болезнь Фабри представляет собой прогрессирующую X-сцепленную врожденную ошибку метаболизма гликофинголипидов, вызванную дефицитом лизосомального фермента α -галактозидазы А (α -Gal A) в результате мутаций в гене α -Gal A (GLA). Несмотря на то, что это заболевание связанное с X хромосомой, женщины могут демонстрировать различные степени клинических проявлений. Болезнь Фабри - это редкое заболевание, заболеваемость которым оценивается от 1 на 40 000 мужчин до 1 на 117 000 в общей популяции. Кроме того, существуют варианты фенотипа болезни Фабри с более поздним началом, которые могут быть недодиагностированы, поскольку они не имеют классических признаков и симптомов. Этот факт и скрининг новорожденных на болезнь Фабри предполагает, что фактическая заболеваемость болезнью Фабри может быть выше, чем в настоящее время оценивается.

При отсутствии лечения продолжительность жизни у пациентов с болезнью Фабри снижается, а смерть обычно наступает в четвертой или пятой декаде из-за сосудистых заболеваний, поражающих почки, сердце и/или центральную нервную систему. Дефицит фермента приводит к внутриклеточному накоплению субстрата глоботриаозилцерамида (GL-3) в эндотелии сосудов и висцеральных тканях по всему организму. Постепенное ухудшение почечной функции и развитие азотемии, обусловленные отложением гликофинголипидов, обычно происходят в течение третьей-пятой декады жизни, но могут происходить уже во второй декаде. Почечные поражения обнаруживаются как у гемизиготных (у мужчин), так и у гетерозиготных (у женщин) пациентов.

Болезнь сердца в результате болезни Фабри встречается у большинства мужчин и многих женщин. Ранние сердечные признаки включают расширение левого желудочка, поражение клапанов и нарушения проводимости. Митральная недостаточность является наиболее частым поражением клапанов, обычно присутствующим в детском или подростковом возрасте. Цереброваскулярные проявления возникают главным образом из-за многоочагового поражения мелких сосудов и могут включать тромбозы, преходящие ишемические атаки, ишемию и аневризму основной артерии, судороги, гемиплегию, гемианестезию, афазию, нарушения лабиринта или кровоизлияния в мозг. Средний возраст возникновения цереброваскулярных проявлений составляет 33,8 года. Изменения личности и психотическое поведение могут проявляться с возрастом.

Одной из утвержденных терапий для лечения болезни Фабри является ферментная заместительная терапия (ФЗТ - ERT - enzyme replacement therapy), которая обычно включает внутривенную инфузию очищенной формы соответствующего белка дикого типа. В настоящее время для лечения болезни Фабри доступны два продукта α -Gal A: агалзидаза альфа (Replagal®, Shire Human Genetic Therapies) и агалзидаза бета (Fabrazyme®; Sanofi Genzyme Corporation). Хотя ФЗТ эффективна в большом количестве условий, лечение также имеет ограничения. Не было продемонстрировано, что ФЗТ снижает риск инсульта, сердечная мышца реагирует медленно, а выведение GL-3 из некоторых типов клеток почек ограничено. У некоторых пациентов также развиваются иммунные реакции на ФЗТ.

Соответственно, остается необходимость в терапии для лечения болезни Фабри, особенно для усиления сердечной функции.

Краткое изложение сущности изобретения

Различные аспекты данного изобретения относятся к лечению болезни Фабри у ФЗТ-наивных и ФЗТ-леченных пациентов с использованием мигаластата. Такое лечение может включать усиление и/или стабилизацию сердечной функции, такую как увеличение и/или стабилизация средне-стеночного фракционного укорочения (ССФУ - MWFS - midwall fractional shortening).

Один из аспектов данного изобретения относится к способу улучшения сердечной функции у пациента, страдающего болезнью Фабри, причем способ включает введение пациенту препарата, содержащего эффективное количество мигаластата или его соли раз в два дня для улучшения сердечной функции пациента, при этом указанное эффективное количество составляет от около 100 до около 150 мг эквивалента свободного основания (ЭСО - FBE - free base equivalent).

В одном или большем количестве вариантов осуществления усиление сердечной функции включает усиление систолической функции левого желудочка.

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент имеет нарушение ССФУ перед началом введения мигаластата или его соли.

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент имеет гипертрофию левого желудочка (ГЛЖ) до начала введения мигаластата или его соли.

В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль усиливают активность α -Gal A.

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту вводят около 123 мг ЭСО мигаластата или его соли раз в два дня.

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту вводят около 123 мг свободного основания мигаластата раз в два дня.

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту вводят около 150 мг гидрохлорида мигаластата раз в два дня.

В одном или большем количестве вариантов осуществления указанный препарат содержит пероральную лекарственную форму. В одном или большем количестве вариантов осуществления пероральная лекарственная форма содержит таблетку, капсулу или раствор.

В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.

В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 24 месяцев.

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент является ФЗТ-наивным пациентом.

В одном или большем количестве вариантов осуществления введение мигаластата или его соли обеспечивает среднее увеличение ССФУ в группе ФЗТ-наивных пациентов с нарушенным ССФУ, по меньшей мере, на около 1% после 24 месяцев введения мигаластата или его соли.

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент является ФЗТ-леченным пациентом.

Другой аспект данного изобретения относится к способу увеличения ССФУ у пациента, страдающего болезнью Фабри, причем указанный способ включает введение пациенту препарата, содержащего эффективное количество мигаластата или его соли, раз в два дня для увеличения ССФУ пациента, при этом эффективное количество составляет от около 100 до около 150 мг ЭСО.

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент имел нарушение ССФУ перед началом введения мигаластата или его соли.

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент имеет ГЛЖ перед началом введения мигаластата или его соли.

В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль усиливает активность α -Gal A.

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту вводят около 123 мг ЭСО мигаластата или его соли раз в два дня.

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту вводят около 123 мг свободного основания мигаластата раз в два дня.

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту вводят около 150 мг гидрохлорида мигаластата раз в два дня.

В одном или большем количестве вариантов осуществления указанный препарат содержит пероральную лекарственную форму. В одном или большем количестве вариантов осуществления пероральная лекарственная форма содержит таблетку, капсулу или раствор.

В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.

В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 24 месяцев.

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент является ФЗТ-наивным пациентом.

В одном или большем количестве вариантов осуществления введение мигаластата или его соли обеспечивает среднее увеличение ССФУ в группе ФЗТ-наивных пациентов с нарушенным ССФУ по меньшей мере на около 1% после 24 месяцев введения мигаластата или его соли.

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент является ФЗТ-леченным пациентом.

Другой аспект данного изобретения относится к способу нормализации ССФУ у пациента с болезнью Фабри и нарушенным ССФУ, причем указанный способ включает введение пациенту препарата, содержащего эффективное количество мигаластата или его соли, раз в два дня для нормализации ССФУ пациента, при этом эффективное количество составляет от около 100 до около 150 мг ЭСО.

В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль усиливает активность α -Gal A.

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту вводят около 123 мг ЭСО мигаластата или его соли раз в два дня.

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту вводят около 123 мг свобод-

ного основания мигаластата раз в два дня.

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту вводят около 150 мг гидрохлорида мигаластата раз в два дня.

В одном или большем количестве вариантов осуществления указанный препарат содержит пероральную лекарственную форму. В одном или большем количестве вариантов осуществления пероральная лекарственная форма содержит таблетку, капсулу или раствор.

В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.

В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 24 месяцев.

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент является ФЗТ-наивным пациентом.

В одном или большем количестве вариантов осуществления введение мигаластата или его соли обеспечивает среднее увеличение ССФУ в группе ФЗТ-наивных пациентов с нарушенным ССФУ по меньшей мере на около 1% после 24 месяцев введения мигаластата или его соли.

Другой аспект данного изобретения относится к способу стабилизации ССФУ у пациента, страдающего болезнью Фабри, причем способ включает введение пациенту препарата, содержащего эффективное количество мигаластата или его соли, раз в два дня для стабилизации ССФУ пациента, при этом эффективное количество составляет от около 100 до около 150 мг ЭСО.

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент имел нарушение ССФУ перед началом введения мигаластата или его соли.

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент имеет ГЛЖ перед началом введения мигаластата или его соли.

В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль усиливает активность α -Gal A.

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту вводят около 123 мг ЭСО мигаластата или его соли раз в два дня.

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту вводят около 123 мг свободного основания мигаластата раз в два дня.

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту вводят около 150 мг гидрохлорида мигаластата раз в два дня.

В одном или большем количестве вариантов осуществления указанный препарат содержит пероральную лекарственную форму. В одном или большем количестве вариантов осуществления пероральная лекарственная форма содержит таблетку, капсулу или раствор.

В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.

В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 30 месяцев.

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент является ФЗТ-леченным пациентом.

В одном или большем количестве вариантов осуществления введение мигаластата или его соли обеспечивает среднее изменение ССФУ в группе ФЗТ-леченных пациентов с нарушенным ССФУ более чем на около -0,5% после 30 месяцев введения мигаластата или его соли.

Краткое описание чертежей

Дополнительные признаки данного изобретения станут очевидными из следующего письменного описания и прилагаемых фигур, на которых:

на фиг. 1A-E продемонстрирована полная последовательность ДНК гена GLA дикого типа человека (SEQ ID NO: 1);

фиг. 2 демонстрирует белок α -Gal A дикого типа (SEQ ID NO: 2) и

фиг. 3 демонстрирует последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая белок α -Gal A дикого типа (SEQ ID NO: 3).

Подробное описание сущности изобретения

Прежде чем описывать несколько иллюстративных вариантов осуществления изобретения, следует понимать, что данное изобретение не ограничено деталями конструкции или этапами процесса, изложенными в последующем описании. Данное изобретение допускает другие варианты осуществления и может быть применено на практике или осуществлено различными способами.

Различные аспекты данного изобретения относятся к режимам дозирования для введения фармакологических шаперонов, таких как мигаластат, для лечения болезни Фабри. В одном или большем количестве вариантов осуществления схемы дозирования мигаластата улучшают один или несколько параметров сердца пациента.

Определения

Термины, используемые в данном описании, в целом имеют свои обычные значения в данной области техники, в контексте данного изобретения и в конкретном контексте, в котором используется каждый термин. Некоторые термины обсуждаются ниже или в других местах в описании, чтобы предоставить практикующим специалистам дополнительное руководство для описания препаратов и способов по данному изобретению, а также их изготовления и использования.

Термин "болезнь Фабри" относится к X-связанной врожденной ошибке катаболизма гликофинголипидов из-за дефицита лизосомальной активности α -Gal A. Этот дефект вызывает накопление субстрата глоботриаозилцерамида (GL-3, также известного как Gb3 или тригексозид церамида) и связанных с ним гликофинголипидов в лизосомах эндотелия сосудов сердца, почек, кожи и других тканей. Другим субстратом фермента является глоботриаозилсфингозин плазмы ("лизо-Gb³ плазмы").

Термин "атипичная болезнь Фабри" относится к пациентам с преимущественно сердечными проявлениями дефицита α -Gal A, а именно с прогрессирующим накоплением GL-3 в клетках миокарда, что приводит к значительному увеличению сердца, особенно левого желудочка.

"Носителем" является женщина, у которой одна X-хромосома с дефектным геном α -Gal A и одна X-хромосома с нормальным геном и у которой инактивация X-хромосомы нормального аллеля присутствует в одном или нескольких типах клеток. У носителя часто диагностируется болезнь Фабри.

"Пациент" относится к субъекту, которому поставили диагноз или подозревают на наличие определенного заболевания. Пациент может быть человеком или животным.

"Пациент Фабри" относится к индивидууму, у которого диагностировано или подозревается наличие болезни Фабри и который имеет мутантный α -Gal A, как определено ниже. Характерные маркеры болезни Фабри могут встречаться у мужчин-гемизигот и женщин-носителей с одинаковой распространенностью, хотя женщины, как правило, поражены меньше.

" α -галактозидаза A (α -Gal A) человека" относится к ферменту, кодируемому геном GLA человека. Полная последовательность ДНК α -Gal A, включая интроны и экзоны, доступна в GenBank по номеру доступа X14448.1 и продемонстрирована на фиг. 1A-E (SEQ ID NO: 1). Фермент α -Gal A человека состоит из 429 аминокислот и доступен по номерам доступа GenBank X14448.1 и U78027.1 и продемонстрирован на фиг. 2 (SEQ ID NO: 2). Последовательность нуклеиновой кислоты, которая включает в себя только кодирующие области (то есть экзоны) SEQ ID NO: 1, продемонстрирована на фиг. 3 (SEQ ID NO: 3).

Термин "мутантный белок" включает белок, который имеет мутацию в гене, кодирующем белок, что приводит к неспособности белка достичь стабильной конформации в условиях, обычно присутствующих в эндоплазматическом ретикулеуме (ЭР). Неспособность достичь стабильной конформации приводит к тому, что значительное количество фермента разрушается, а не транспортируется в лизосому. Такая мутация иногда называется "конформационным мутантом". Такие мутации включают, но не ограничиваются ими, миссенс мутации и небольшие делеции и вставки в рамке считывания.

Используемый в данном документе в одном варианте осуществления термин "мутантный α -Gal A" включает α -Gal A, который имеет мутацию в гене, кодирующем α -Gal A, что приводит к неспособности фермента достичь стабильной конформации в условиях, обычно присутствующих в ЭР. Неспособность достичь стабильной конформации приводит к тому, что значительное количество фермента разрушается, а не транспортируется в лизосому.

Используемый в данном документе термин "фармакологический шаперон" (ФШ - PC - pharmacological chaperone) относится к любой молекуле, включая малую молекулу, белок, пептид, нуклеиновую кислоту, углевод и т.д., которая специфически связывается с белком и имеет один или несколько из следующих эффектов: (i) усиливает образование стабильной молекулярной конформации белка; (ii) индуцирует доставку белка из ЭР в другое клеточное местоположение, предпочтительно в нативное клеточное местоположение, т.е., предотвращает связанную с ЭР деградацию белка; (iii) предотвращает агрегацию неправильно свернутых белков; и/или (iv) восстанавливает или усиливает по меньшей мере частичную функцию и/или активность дикого типа белка. Соединение, которое специфически связывается с, например, α -Gal A, означает, что оно связывается и оказывает эффект шаперона на фермент, а не на общую группу связанных или несвязанных ферментов. Более конкретно, этот термин не относится к эндогенным шаперонам, таким как BiP, или к неспецифическим агентам, которые продемонстрировали неспецифическую активность шаперона против различных белков, таким как глицерин, ДМСО или дейтерированная вода, т.е., химические шапероны. В одном или большем количестве вариантов осуществления данного изобретения ФШ может быть обратимым конкурентным ингибитором. В одном варианте осуществления ФШ представляет собой мигаластат или его соль. В другом варианте осуществления изобретения ФШ представляет собой свободное основание мигаластата (например, 123 мг свободного основания мигаластата). В еще одном варианте осуществления ФШ представляет собой соль мигаластата (например, 150 мг мигаластата HCl).

"Конкурентный ингибитор фермента" может относиться к соединению, которое структурно напоминает химическую структуру и молекулярную геометрию субстрата фермента для связывания фермента около в том же месте, что и субстрат. Таким образом, ингибитор конкурирует за тот же активный центр,

что и молекула субстрата, тем самым увеличивая K_m . Конкурентное ингибирование обычно обратимо, если имеется достаточное количество субстратных молекул для вытеснения ингибитора, т.е., конкурентные ингибиторы могут связываться обратимо. Следовательно, степень ингибирования фермента зависит от концентрации ингибитора, концентрации субстрата и относительного сродства ингибитора и субстрата к активному сайту.

Используемый в данном документе термин "специфически связывает" относится к взаимодействию фармакологического шаперона с белком, таким как α -Gal A, в частности к взаимодействию с аминокислотными остатками белка, которые непосредственно участвуют в контакте с фармакологическим шапероном. Фармакологический шаперон специфически связывает белок-мишень, например α -Gal A, чтобы оказывать влияние шаперона на белок, а не на общую группу родственных или неродственных белков. Аминокислотные остатки белка, которые взаимодействуют с любым фармакологическим шапероном, могут находиться или не находиться в активном сайте белка. Специфическое связывание можно оценить с помощью рутинных анализов связывания или структурных исследований, например, совместной кристаллизации, ЯМР и тому подобного. Активный сайт для α -Gal A является сайтом связывания субстрата.

"Дефицит активности α -Gal A" относится к активности α -Gal A в клетках пациента, которая ниже нормального диапазона по сравнению (с использованием тех же способов) с активностью у нормальных людей, не имеющих или не находящихся под подозрением в наличии болезни Фабри или любого другого заболевания (особенно заболевания крови).

Используемые в данном документе термины "усиливать активность α -Gal A" или "увеличивать активность α -Gal A", относятся к увеличению количества α -Gal A, которое принимает стабильную конформацию в клетке, приведенной в контакт с фармакологическим шапероном, специфичным для α -Gal A, относительно количества в клетке (предпочтительно клетке того же типа или той же клетке, например, в более раннее время), не приведенной в контакт с фармакологическим шапероном, специфичным для α -Gal A. Этот термин также относится к увеличению переноса α -Gal A в лизосому в клетке, приведенной в контакт с фармакологическим шапероном, специфичным для α -Gal A, относительно переноса α -Gal A, не приведенного в контакт с фармакологическим шапероном, специфичным для указанного белка. Эти термины относятся как к дикому типу, так и к мутанту α -Gal A. В одном варианте осуществления увеличение количества α -Gal A в клетке измеряется путем измерения гидролиза искусственного субстрата в лизатах из клеток, которые были обработаны ФШ. Увеличение гидролиза свидетельствует о повышении активности α -Gal A.

Термин "активность α -Gal A" относится к нормальной к физиологической функции α -Gal A дикого типа в клетке. Например, активность α -Gal A включает гидролиз GL-3.

"Респондер" - это человек, у которого диагностировано или имеется подозрение на наличие лизосомной болезни накопления (ЛБН - LSD - lysosomal storage disease), например, болезни Фабри, клетки которого проявляют достаточно повышенную активность α -Gal A соответственно, и/или ослабление симптомов или улучшения суррогатных маркеров, в ответ на контакт с ФШ.

Неограничивающими примерами улучшений суррогатных маркеров для болезни Фабри являются лизо-GB3 и те, которые раскрыты в публикации заявки на патент США № 2010/0113517, которая настоящим включена в качестве ссылки во всей своей полноте.

Неограничивающие примеры улучшений суррогатных маркеров для болезни Фабри, раскрытых в патенте США 2010/0113517, включают повышение уровней α -Gal A или активности в клетках (например, фибробластах) и ткани; уменьшение накопления GL-3; снижение концентрации в плазме гомоцистеина и молекулы адгезии клеток сосудов -1 (VCAM-1 - vascular cell adhesion molecule-1); снижение накопления GL-3 в клетках миокарда и фиброцитах клапанов; снижение в плазме лизо-GB³; снижение гипертрофии сердца (особенно левого желудочка), улучшение клапанной недостаточности и аритмии; улучшение протеинурии; сниженные концентрации в моче липидов, таких как СТН, лактозилцерамид, церамид, и повышенные концентрации глюкозилцерамида и сфингомиелина в моче; отсутствие слоистых телец включения (тельца зебры (Zebra bodies)) в гломерулярных эпителиальных клетках; улучшение почечной функции; смягчение гипогидроза; отсутствие ангиокератомы; и улучшения нарушений слуха, таких как высокочастотная нейросенсорная потеря слуха, прогрессирующая потеря слуха, внезапная глухота или шум в ушах. Улучшения неврологических симптомов включают предотвращение транзиторной ишемической атаки (ТИА - TIA - transient ischemic attack) или инсульта; и уменьшение невропатической боли, проявляющейся как акропарестезия (жжение или покалывание в конечностях). Другим типом клинического маркера, который можно оценить для болезни Фабри, является распространенность вредных сердечно-сосудистых проявлений.

"Средне-стеночное фракционное укорочение" или "ССФУ" (MWFS - Midwall fractional shortening) является мерой систолической функции, которая идентифицирует пациентов с артериальной гипертензией, у которых есть признаки повреждения органа-мишени, нарушения сократительного резерва и повышенной смертности.

Термин "сердечная функция" относится к работе сердца пациента.

Например, одной из оценок сердечной функции является систолическая функция левого желудочка,

которая относится к характеристикам опорожнения левого желудочка сердца. Систолическая функция левого желудочка может быть оценена несколькими способами, включая, но не ограничиваясь этим, фракцию выброса левого желудочка (ФВЛЖ - LVEF - left ventricular ejection fraction), эндокардиальное фракционное укорочение эндокарда (ЭФУ - EFS - endocardial fractional shortening) и ССФУ.

Как используется в данном документе, фраза, "стабилизация сердечной функции" и подобные термины относятся к уменьшению или прекращению снижения сердечной функции и/или восстановлению сердечной функции. Поскольку ожидается, что у не леченных пациентов с болезнью Фабри значительное снижение сердечной функции будет происходить с течением времени, увеличение скорости ухудшения сердечной функции и/или улучшение сердечной функции демонстрируют преимущества терапии мигаластатом, как описано в данном документе. В различных вариантах осуществления стабилизация функции сердца включает в себя стабилизацию ССФУ. Стабилизация ССФУ также относится к снижению или остановке снижения ССФУ.

Термин "усиление сердечной функции" относится к благоприятному изменению по меньшей мере одного параметра, используемого для оценки сердечной функции. Если параметр пациента находится в нижней части нормального диапазона или ниже нормального диапазона для этого параметра, то выгодным изменением этого параметра является увеличение этого параметра. Например, увеличение ССФУ для пациента с низким ССФУ является улучшением этого параметра. Точно так же, если параметр пациента находится на верхней границе нормального диапазона или выше нормального диапазона для этого параметра, то выгодное изменение этого параметра - уменьшение этого параметра. В одном аспекте улучшение сердечной функции включает одно или несколько из (i) улучшения функции левого желудочка, (ii) улучшения фракционного укорочения, (iii) улучшения фракции выброса, (iv) уменьшения конечного диастолического объема и (v) нормализации геометрии сердца.

Используемый в данном документе термин "нарушенное ССФУ" относится к пациенту с ССФУ ниже нормального диапазона. Нормальный диапазон ССФУ для женщины составляет не менее 15%, а нормальный диапазон ССФУ для мужчины составляет не менее 14%. Таким образом, нарушенное ССФУ для пациента женского пола составляет <15%, а нарушение ССФУ для пациента мужского пола составляет <14%.

Используемый в данном документе термин "нормализация ССФУ" относится к увеличению ССФУ пациента от нарушенным ССФУ до нормально

го диапазона. Таким образом, нормализация ССФУ для пациента женского пола увеличивает ССФУ от <15% по меньшей мере до 15%, а нормализация ССФУ для пациента мужского пола увеличивает ССФУ от <14% по меньшей мере до 14%.

Используемый в данном документе термин "гипертрофия левого желудочка" или "ГЛЖ" относится к пациенту с индексом массы левого желудочка (LVMI - left ventricular mass index) выше нормального диапазона 43-95 г/м² для женщин и 49-115 г/м² для мужчин. Таким образом, ГЛЖ относится к LVMI > 95 г/м² для женщин или > 115 г/м² для мужчин.

Доза, которая достигает одного или нескольких из вышеупомянутых ответов, является "терапевтически эффективной дозой".

Фраза "фармацевтически приемлемый" относится к молекулярным веществам и препаратам, которые являются физиологически переносимыми и обычно не вызывают неблагоприятных реакций при введении человеку. В некоторых вариантах осуществления используемый в данном документе термин "фармацевтически приемлемый" означает одобренный регулирующим органом федерального правительства или правительства штата или перечисленный в Фармакопее США или другой общепризнанной фармакопее для применения на животных и, в частности, на людях. Термин "носитель" по отношению к фармацевтическому носителю относится к разбавителю, адъюванту, эксципиенту или носителю, с которым вводят соединение. Такими фармацевтическими носителями могут быть стерильные жидкости, такие как вода и масла. Вода или водные физиологические растворы и водные растворы декстрозы и глицерина предпочтительно используют в качестве носителей, особенно для инъекционных растворов. Подходящие фармацевтические носители описаны в Remington's Pharmaceutical Sciences EW Martin, 18th Edition или других изданиях.

Используемый в данном документе термин "изолированный/выделенный" означает, что указанный материал удаляется из среды, в которой он обычно находится. Таким образом, изолированный биологический материал может не содержать клеточных компонентов, т.е., компонентов клеток, в которых материал обнаружен или произведен. В случае молекул нуклеиновой кислоты выделенная нуклеиновая кислота включает продукт ПЦР, полосу мРНК на геле, кДНК или фрагмент рестрикции. В другом варианте осуществления выделенная нуклеиновая кислота предпочтительно вырезается из хромосомы, в которой она может быть обнаружена, и более предпочтительно больше не присоединяется к нерегулирующим, некодирующим областям или к другим генам, расположенным выше или ниже гена, который содержится в изолированной молекуле нуклеиновой кислоты при обнаружении в хромосоме. В еще одном варианте осуществления выделенная нуклеиновая кислота лишена одного или нескольких интронов. Выделенные нуклеиновые кислоты включают последовательности, вставленные в плазмиды, космиды, искусственные

хромосомы и тому подобное. Таким образом, в конкретном варианте осуществления рекомбинантная нуклеиновая кислота представляет собой выделенную нуклеиновую кислоту. Изолированный белок может быть связан с другими белками или нуклеиновыми кислотами или с обоими, с которыми он ассоциируется в клетке, или с клеточными мембранами, если он является мембраносвязанным белком. Изолированная органелла, клетка или ткань удаляются из анатомического участка, в котором они находятся в организме. Изолированный материал может быть очищен, но не обязательно.

Термин "ферментная заместительная терапия" или "ФЗТ" относится к введению ненативного очищенного фермента индивидууму, имеющему дефицит такого фермента. Вводимый белок может быть получен из природных источников или путем рекомбинантной экспрессии (как описано более подробно ниже). Указанный термин также относится к введению очищенного фермента индивидууму, которому требуется или полезно введение очищенного фермента, например, индивидууму страдающему недостаточностью фермента. Введенный фермент может представлять собой очищенный рекомбинантный фермент, продуцируемый *in vitro*, или белок, очищенный из изолированной ткани или жидкости, такой как, например, плацента или молоко животного происхождения, или из растений.

Термин "ФЗТ-наивный пациент" относится к пациенту Фабри, который никогда не получал ФЗТ или не получал ФЗТ в течение по меньшей мере 6 месяцев до начала терапии мигаластатом.

Термин "ФЗТ-леченный пациент" относится к пациенту Фабри, который получал ФЗТ непосредственно перед началом терапии мигаластатом. В некоторых вариантах осуществления пациент с ФЗТ получил по меньшей мере 12 месяцев ФЗТ непосредственно перед началом терапии мигаластатом.

Используемый в данном документе термин "эквивалент свободного основания" или "ЭСО" относится к количеству мигаластата, присутствующего в мигаластате или его соли. Другими словами, термин ЭСО означает либо количество свободного основания мигаластата, либо эквивалентное количество свободного основания мигаластата, которое обеспечивается солью мигаластата. Например, из-за веса гидрохлоридной соли 150 мг мигаластата гидрохлорида обеспечивает столько же мигаластата, сколько 123 мг формы свободного основания мигаластата. Ожидается, что другие соли будут иметь различные коэффициенты преобразования в зависимости от молекулярной массы соли.

Термин "мигаластат" охватывает свободное основание мигаластата или его фармацевтически приемлемую соль (например, мигаластат HCl), если не указано иное.

Термины "мутация" и "вариант" (например, как в случае "поддающийся мутации или варианту") относятся к изменению нуклеотидной последовательности гена или хромосомы. Указанные два упомянутых в данном документе термина обычно используются вместе - например, как в случае "мутации или варианта" - в отношении изменения нуклеотидной последовательности, указанной в предыдущем предложении. Если по какой-либо причине приводится только один из двух терминов, пропущенный термин должен был быть включен, и его следует понимать как таковой. Кроме того, термины "чувствительная мутация" и "чувствительный вариант" относятся к мутации или варианту, которые поддаются лечению с помощью ФШ терапии, например, мутация, которая поддается лечению мигаластатом. Конкретный тип чувствительной мутации или варианта представляет собой "чувствительную по анализу НЕК мутацию" или "вариант, чувствительный по анализу НЕК", которые представляют собой мутацию или вариант, которые определены как пригодные для терапии мигаластатом в соответствии с критериями в анализе НЕК *in vitro*, описанном в данном документе и в патенте США № 8592362, который полностью включен в данное описание посредством ссылки.

Термины "около" и "приблизительно" обычно означают приемлемую степень ошибки для измеряемой величины с учетом характера или точности измерений. Типичные иллюстративные степени погрешности находятся в пределах 20 процентов (%), предпочтительно в пределах 10% и более предпочтительно в пределах 5% от заданного значения или диапазона значений. Альтернативно, и особенно в биологических системах, термины "около" и "приблизительно" могут означать значения, которые находятся в пределах порядка величины, предпочтительно в 10 или 5 раз и более предпочтительно в 2 раза от заданного значения. Числовые величины, приведенные в данном документе, являются приблизительными, если не указано иное, что означает, что термин "около" или "приблизительно" может быть выведен, если не указано иное.

Болезнь Фабри

Болезнь Фабри - это редкая, прогрессирующая и разрушительная ЛБН, связанная с X-хромосомой. Мутации в гене GLA приводят к дефициту лизосомального фермента α -Gal A, который необходим для метаболизма гликофинголипидов. В начале жизни снижение активности α -Gal A приводит к накоплению гликофинголипидов, включая GL-3 и лизо-Gb3 в плазме, и приводит к симптомам и ограничивающим жизнь последствиям болезни Фабри, включая боль, желудочно-кишечные симптомы, почечную недостаточность, кардиомиопатию, цереброваскулярные явления и раннюю смертность. Раннее начало терапии и пожизненное лечение дают возможность замедлить прогрессировать заболевания и увеличить продолжительность жизни.

Болезнь Фабри включает в себя спектр тяжести заболевания и возраст начала заболевания, хотя она традиционно делится на 2 основных фенотипа: классический и поздний. Классический фенотип был

приписан главным образом мужчинам с необнаружимой низкой активностью α -Gal A и более ранним началом почечных, сердечных и/или цереброваскулярных проявлений. Фенотип с поздним началом был приписан главным образом мужчинам с более высокой остаточной активностью α -Gal A и более поздним проявлением этих признаков заболевания. Гетерозиготные носители женского пола обычно экспрессируют фенотип с поздним началом, но в зависимости от характера инактивации X-хромосомы может также проявляться классический фенотип.

Было выявлено более 1000 мутаций GLA, вызывающих болезнь Фабри. Приблизительно 60% являются миссенс-мутациями, приводящими к одиночным аминокислотным заменам в ферменте α -Gal A. Миссенс-мутации GLA часто приводят к образованию ненормально свернутых и нестабильных форм α -Gal A, и большинство из них связаны с классическим фенотипом.

Нормальные механизмы контроля качества клеток в ЭР блокируют транзит этих аномальных белков в лизосомы и направляют их на преждевременную деградацию и элиминацию. Многие миссенс-мутантные формы являются мишенями для мигаластата, α -Gal A-специфического фармакологического шаперона.

Клинические проявления болезни Фабри охватывают широкий спектр тяжести и приблизительно коррелируют с остаточными уровнями α -Gal A у пациента. Большинство пациентов, которых лечат в настоящее время, называют классическими пациентами Фабри, большинство из которых мужчины. Эти пациенты испытывают заболевания различных органов, в том числе почек, сердца и головного мозга, причем симптомы заболевания впервые появляются в подростковом возрасте и, как правило, прогрессируют по степени тяжести вплоть до смерти в четвертой или пятой декаде жизни. Ряд недавних исследований показывают, что существует большое количество недиагностированных мужчин и женщин, у которых имеется ряд симптомов болезни Фабри, таких как нарушение функции сердца или почек и инсульты, которые обычно впервые появляются в зрелом возрасте. Люди с этим типом болезни Фабри, называемой болезнью Фабри с более поздним началом, имеют тенденцию иметь более высокие остаточные уровни α -Gal A, чем классические пациенты Фабри. Люди с поздним началом болезни Фабри обычно впервые испытывают симптомы заболевания в зрелом возрасте и часто имеют симптомы заболевания, сосредоточенные на одном органе, такие как увеличение левого желудочка или прогрессирующая почечная недостаточность. Кроме того, болезнь Фабри с более поздним началом может также проявляться в виде инсультов неизвестной причины.

Пациенты с болезнью Фабри имеют прогрессирующую почечную недостаточность, а у нелеченных пациентов наблюдается терминальная почечная недостаточность к пятому десятилетию жизни. Дефицит активности α -Gal A приводит к накоплению GL-3 и родственных гликофинголипидов во многих типах клеток, включая клетки почки. GL-3 накапливается в подоцитах, эпителиальных клетках и канальцевых клетках дистального канальца и петли Генле. Нарушение функции почек может проявляться протеинурией и снижением скорости клубочковой фильтрации.

Поскольку болезнь Фабри редка, поражает несколько органов, имеет широкий возрастной диапазон и неоднородна, правильная диагностика является проблемой. Уровень осведомленности среди медицинских работников низок, и часто возникают ошибочные диагнозы. Диагноз болезни Фабри чаще всего подтверждается на основании снижения активности α -Gal A в плазме или периферических лейкоцитах (БКК - белые кровяные клетки - WBC - white blood cells), когда у пациента имеется симптоматика в сочетании с мутационным анализом. У женщин диагностика является еще более сложной, поскольку ферментативная идентификация женщин-носителей менее надежна из-за случайной инактивации X-хромосомы в некоторых клетках-носителях. Например, некоторые обязательные носители (дочери классически пораженных мужчин) имеют активность фермента α -Gal A в диапазоне от нормальной до очень низкой активности. Поскольку носители могут иметь нормальную активность фермента α -Gal A в лейкоцитах, только идентификация мутации α -Gal A путем генетического тестирования обеспечивает точную идентификацию и/или диагноз носителя.

В одном или большем количестве вариантов осуществления мутантные формы α -Gal A рассматриваемые как поддающиеся лечению мигаластатом, определяются как демонстрирующие относительное увеличение (+ 10 мкМ мигаластат) в $\geq 1,2$ раза и абсолютное увеличение (+ 10 мкМ мигаластат) $\geq 3,0\%$ дикого типа (ДТ), когда мутантная форма α -Gal A экспрессируется в клетках НЕК-293 (что называется "НЕК-анализом") в соответствии с подтвержденным по правилам Надлежащих Лабораторных Практик (GLP - Good Lab Practice) *in vitro* анализом (GLP НЕК или анализ чувствительности к мигаластату). Такие мутации также упоминаются в данном документе как "чувствительные по НЕК анализу" мутации.

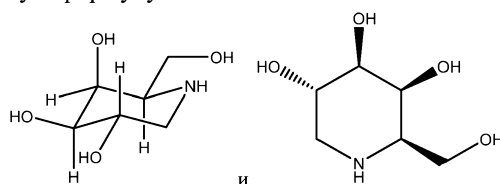
Предыдущие способы скрининга были предоставлены, чтобы оценить усиление фермента до начала лечения. Например, анализ с использованием клеток НЕК-293 использовался в клинических испытаниях, чтобы предсказать, будет ли данная мутация реагировать на фармакологический шаперон (например, мигаластат). В этом анализе создаются кДНК-конструкции. Соответствующие мутантные формы α -Gal A временно экспрессируются в клетках НЕК-293. Затем клетки инкубируют $\pm$ мигаластат (от 17 нМ до 1 мМ) в течение 4-5 дней. После этого уровни α -Gal A измеряются в клеточных лизатах с использованием

синтетического флуорогенного субстрата (4-MU- α -Gal) или вестерн-блоттингом. Это было сделано для известных миссенс-мутаций, вызывающих заболевание, или небольших вставок/делеций в рамке считывания. Мутации, которые ранее были идентифицированы как чувствительные к ФШ (например, мигаластату) с использованием этих способов, перечислены в патенте США № 8592362.

Фармакологические шапероны

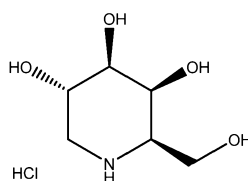
Связывание низкомолекулярных ингибиторов ферментов, связанных с ЛБН, может повысить стабильность как мутантного фермента, так и соответствующего фермента дикого типа (см. патенты США № 6274597; 6583158; 6589964; 6599919; 6916829 и 7141582, все они включены в данный документ посредством ссылки). В частности, введение низкомолекулярных производных глюкозы и галактозы, которые являются специфическими селективными конкурентными ингибиторами для нескольких целевых лизосомальных ферментов, эффективно увеличивало стабильность ферментов в клетках *in vitro* и, таким образом, увеличивало доставку ферментов в лизосомы. Таким образом, ожидается, что при увеличении количества фермента в лизосоме гидролиз ферментных субстратов увеличится. Первоначальная теория, лежащая в основе этой стратегии, заключалась в следующем: поскольку мутантный ферментный белок нестабилен в ЭР (Ishii et al., *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1996; 220: 812-815), ферментный белок задерживается в нормальном транспортном пути (ЭР → аппарат Гольджи → эндосомы → лизосома) и преждевременно деградирует. Следовательно, соединение, которое связывается и увеличивает стабильность мутантного фермента, может служить в качестве шаперона для фермента и увеличивать количество, которое может выходить из ЭР и перемещаться в лизосомы. Кроме того, поскольку сворачивание и транспортировка некоторых белков дикого типа является неполной, поскольку до 70% некоторых белков дикого типа в некоторых случаях деградируют до достижения своего окончательного клеточного расположения, шапероны можно использовать для стабилизации ферментов дикого типа и увеличения количества фермента, который может покинуть ЭР и попасть в лизосомы.

В одном или большем количестве вариантов осуществления фармакологический шаперон включает мигаластат или его соль. Соединение мигаластат, также известное как 1-дезоксигалактоноджиримицин (1-DGJ) или (2R,3S,4R,5S)-2-(гидроксиметил)пипердин-3,4,5-триол, представляет собой соединение, имеющее следующую химическую формулу:



Свободное основание мигаластата

Как обсуждается в данном документе, фармацевтически приемлемые соли мигаластата также могут быть использованы в данном изобретении. Когда используется соль мигаластата, дозировка соли будет скорректирована таким образом, чтобы доза мигаластата, полученная пациентом, была эквивалентна количеству, которое было бы получено, если бы использовалось свободное основание мигаластата. Одним примером фармацевтически приемлемой соли мигаластата является мигаластат HCl:



Мигаластат HCl

Мигаластат представляет собой низкомолекулярный иминосахар и является аналогом терминальной галактозы GL-3. *In vitro* и *in vivo* фармакологические исследования продемонстрировали, что мигаластат действует как фармакологический шаперон, селективно и обратимо связывая, с высокой аффинностью, с активным сайтом α -Gal A дикого типа и специфическими мутантными формами α -Gal A, генотипы которых называют чувствительными по НЕК анализу мутациями. Связывание мигаластата стабилизирует эти мутантные формы α -Gal A в эндоплазматическом ретикулуме, облегчая их правильный перенос в лизосомы, при этом диссоциация мигаластата позволяет α -Gal A снижать уровень GL-3 и других субстратов. Приблизительно 30-50% пациентов с болезнью Фабри имеют чувствительные по НЕК-анализу мутации; большинство из которых связаны с классическим фенотипом заболевания.

Подходящие для анализа НЕК мутации включают, по меньшей мере, те мутации, которые перечислены в фармакологической справочной Таблице (например, те, которые указаны в ярлыках на продуктах в США или международных продуктах для продукта мигаластата, такого как GALAFOLD®). Как используется в данном документе, "фармакологическая справочная Таблица" относится к любой общедоступной письменной или электронной записи, включенной либо в этикетку продукта в упаковке продукта

мигаластат (например, GALAFOLD®), либо на веб-сайте, доступном для поставщиков медицинских услуг, она демонстрирует, реагирует ли конкретная мутация или вариант на ФШ терапию мигаластатом (например, GALAFOLD®), и не обязательно ограничивается письменными записями, представленными в табличной форме. Таким образом, в одном варианте осуществления данного изобретения справочная фармакологическая Таблица относится к любому хранилищу информации, которое включает одну или несколько чувствительных мутаций или вариантов. Иллюстративную фармакологическую справочную Таблицу для чувствительных по анализу НЕК мутаций можно найти в сводке характеристик продукта и/или информации о назначении для GALAFOLD® в различных странах, в которых GALAFOLD® одобрен для применения, или на веб-сайте, таком как www.galafoldamenabilitytable.com или www.fabrygenevariantsearch.com, каждый из которых настоящим включен в качестве ссылки в полном объеме.

Иллюстративная фармакологическая справочная таблица для поддающихся анализу НЕК мутаций представлена в табл. 1 ниже. В одном или большем количестве вариантов осуществления, если двойная мутация присутствует в одной и той же хромосоме (мужчины и женщины), этот пациент считается пригодным для анализа НЕК, если двойная мутация присутствует в одной записи в табл. 1 (например, D55V/Q57L). В некоторых вариантах осуществления, если двойная мутация присутствует в разных хромосомах (только у женщин), такой пациент считается пригодным для анализа НЕК, если в табл. 1 присутствует одна из отдельных мутаций.

Таблица 1

Нуклеотидная замена	Нуклеотидная замена	Изменение последовательности и белка
c.7C>G	c.C7G	L3V
c.8T>C	c.T8C	L3P
c.[11G>T; 620A>C]	c.G11T/A620C	R4M/Y207S
c.37G>A	c.G37A	A13T
c.37G>C	c.G37C	A13P
c.43G>A	c.G43A	A15T
c.44C>G	c.C44G	A15G
c.53T>G	c.T53G	F18C
c.58G>C	c.G58C	A20P
c.59C>A	c.C59A	A20D
c.70T>C или c.70T>A	c.T70C или c.T70A	W24R
c.70T>G	c.T70G	W24G
c.72G>C или c.72G>T	c.G72C или c.G72T	W24C
c.95T>C	c.T95C	L32P
c.97G>C	c.G97C	D33H
c.97G>T	c.G97T	D33Y
c.98A>G	c.A98G	D33G
c.100A>G	c.A100G	N34D
c.101A>C	c.A101C	N34T
c.101A>G	c.A101G	N34S
c.102T>G или c.102T>A	c.T102G или c.T102A	N34K
c.103G>C или c.103G>A	c.G103C или c.G103A	G35R
c.104G>A	c.G104A	G35E
c.104G>C	c.G104C	G35A
c.104G>T	c.G104T	G35V
c.107T>C	c.T107C	L36S
c.107T>G	c.T107G	L36W
c.108G>C или c.108G>T	c.G108C или c.G108T	L36F
c.109G>A	c.G109A	A37T
c.110C>T	c.C110T	A37V
c.122C>T	c.C122T	T41I
c.124A>C или c.124A>T	c.A124C или c.A124T	M42L
c.124A>G	c.A124G	M42V
c.125T>A	c.T125A	M42K
c.125T>C	c.T125C	M42T
c.125T>G	c.T125G	M42R
c.126G>A или c.126G>C или c.126G>T	c.G126A или c.G126C или c.G126T	M42I
c.137A>C	c.A137C	H46P
c.142G>C	c.G142C	E48Q
c.152T>A	c.T152A	M51K
c.153G>A или c.153G>T или c.153G>C	c.G153A или c.G153T или c.G153C	M51I
c.157A>G	c.A157G	N53D
c.[157A>C; 158A>T]	c.A157C/A158T	N53L
c.160C>T	c.C160T	L54F
c.161T>C	c.T161C	L54P
c.164A>G	c.A164G	D55G
c.164A>T	c.A164T	D55V
c.[164A>T; 170A>T]	c.A164T/A170T	D55V/Q57L

c.167G>T	c.G167T	C56F
c.167G>A	c.G167A	C56Y
c.170A>T	c.A170T	Q57L
c.175G>A	c.G175A	E59K
c.178C>A	c.C178A	P60T
c.178C>T	c.C178T	P60S
c.179C>T	c.C179T	P60L
c.196G>A	c.G196A	E66K
c.197A>G	c.A197G	E66G
c.207C>A или c.207C>G	c.C207A или c.C207G	F69L
c.214A>G	c.A214G	M72V
c.216G>A или c.216G>T или c.216G>C	c.G216A или c.G216T или c.G216C	M72I
c.218C>T	c.C218T	A73V
c.227T>C	c.T227C	M76T
c.239G>A	c.G239A	G80D
c.247G>A	c.G247A	D83N
c.253G>A	c.G253A	G85S
c.254G>A	c.G254A	G85D
c.[253G>A; 254G>A]	c.G253A/G254A	G85N
c.[253G>A; 254G>T; 255T>G]	c.G253A/G254T/T255G	G85M
c.261G>C или c.261G>T	c.G261C или c.G261T	E87D
c.263A>C	c.A263C	Y88S
c.265C>T	c.C265T	L89F
c.272T>C	c.T272C	I91T
c.288G>A или c.288G>T или c.288G>C	c.G288A или c.G288T или c.G288C	M96I
c.289G>C	c.G289C	A97P
c.290C>T	c.C290T	A97V
c.305C>T	c.C305T	S102L
c.311G>T	c.G311T	G104V
c.316C>T	c.C316T	L106F
c.322G>A	c.G322A	A108T
c.326A>G	c.A326G	D109G
c.334C>G	c.C334G	R112G
c.335G>A	c.G335A	R112H
c.337T>A	c.T337A	F113I
c.337T>C или c.339T>A или c.339T>G	c.T337C или c.T339A или c.T339G	F113L
c.352C>T	c.C352T	R118C
c.361G>A	c.G361A	A121T
c.368A>G	c.A368G	Y123C
c.373C>T	c.C373T	H125Y
c.374A>T	c.A374T	H125L
c.376A>G	c.A376G	S126G
c.383G>A	c.G383A	G128E
c.399T>G	c.T399G	I133M
c.404C>T	c.C404T	A135V
c.408T>A или c.408T>G	c.T408A или c.T408G	D136E
c.416A>G	c.A416G	N139S
c.419A>C	c.A419C	K140T
c.427G>A	c.G427A	A143T
c.431G>A	c.G431A	G144D
c.431G>T	c.G431T	G144V
c.434T>C	c.T434C	F145S
c.436C>T	c.C436T	P146S
c.437C>G	c.C437G	P146R
c.454T>C	c.T454C	Y152H
c.455A>G	c.A455G	Y152C
c.466G>A	c.G466A	A156T
c.467C>T	c.C467T	A156V
c.471G>C или c.471G>T	c.G471C или c.G471T	Q157H
c.484T>G	c.T484G	W162G
c.493G>C	c.G493C	D165H
c.494A>G	c.A494G	D165G
c.[496C>G; 497T>G]	c.C496G/T497G	L166G
c.496C>G	c.C496G	L166V
c.496 497delinsTC	c.496 497delinsTC	L166S
c.499C>G	c.C499G	L167V
c.506T>C	c.T506C	F169S
c.511G>A	c.G511A	G171S
c.520T>C	c.T520C	C174R
c.520T>G	c.T520G	C174G
c.525C>G или c.525C>A	c.C525G или c.C525A	D175E
c.539T>G	c.T539G	L180W
c.540G>C	c.G540C	L180F
c.548G>C	c.G548C	G183A
c.548G>A	c.G548A	G183D
c.550T>A	c.T550A	Y184N

c.551A>G	c.A551G	Y184C
c.553A>G	c.A553G	K185E
c.559A>G	c.A559G	M187V
c.559_564dup	c.559_564dup	p.M187_S188dup
c.560T>C	c.T560C	M187T
c.561G>T или c.561G>A или c.561G>C	c.G561T или c.G561A или c.G561C	M187I
c.572T>A	c.T572A	L191Q
c.580A>G	c.A580G	T194A
c.581C>T	c.C581T	T194I
c.584G>T	c.G584T	G195V
c.586A>G	c.A586G	R196G
c.593T>C	c.T593C	I198T
c.595G>A	c.G595A	V199M
c.596T>C	c.T596C	V199A
c.596T>G	c.T596G	V199G
c.599A>G	c.A599G	Y200C
c.602C>T	c.C602T	S201F
c.602C>A	c.C602A	S201Y
c.608A>T	c.A608T	E203V
c.609G>C или c.609G>T	c.G609C или c.G609T	E203D
c.610T>G	c.T610G	W204G
c.613C>A	c.C613A	P205T
c.613C>T	c.C613T	P205S
c.614C>T	c.C614T	P205L
c.619T>C	c.T619C	Y207H
c.620A>C	c.A620C	Y207S
c.623T>G	c.T623G	M208R
c.628C>T	c.C628T	P210S
c.629C>T	c.C629T	P210L
c.638A>G	c.A638G	K213R
c.638A>T	c.A638T	K213M
c.640C>T	c.C640T	P214S
c.641C>T	c.C641T	P214L
c.643A>G	c.A643G	N215D
c.644A>G	c.A644G	N215S
c.644A>T	c.A644T	N215I
c.[644A>G; 937G>T]	c.A644G/G937T	N215S/D313Y
c.646T>G	c.T646G	Y216D
c.647A>C	c.A647C	Y216S

c.647A>G	c.A647G	Y216C
c.655A>C	c.A655C	I219L
c.656T>A	c.T656A	I219N
c.656T>C	c.T656C	I219T
c.659G>A	c.G659A	R220Q
c.659G>C	c.G659C	R220P
c.662A>C	c.A662C	Q221P
c.671A>C	c.A671C	N224T
c.671A>G	c.A671G	N224S
c.673C>G	c.C673G	H225D
c.683A>G	c.A683G	N228S
c.687T>A или c.687T>G	c.T687A или c.T687G	F229L
c.695T>C	c.T695C	I232T
c.713G>A	c.G713A	S238N
c.716T>C	c.T716C	I239T
c.720G>C или c.720G>T	c.G720C или c.G720T	K240N
c.724A>G	c.A724G	I242V
c.724A>T	c.A724T	I242F
c.725T>A	c.T725A	I242N
c.725T>C	c.T725C	I242T
c.728T>G	c.T728G	L243W
c.729G>C или c.729G>T	c.G729C или c.G729T	L243F
c.730G>A	c.G730A	D244N
c.730G>C	c.G730C	D244H
c.733T>G	c.T733G	W245G
c.740C>G	c.C740G	S247C
c.747C>G или c.747C>A	c.C747G или c.C747A	N249K
c.748C>A	c.C748A	Q250K
c.749A>C	c.A749C	Q250P
c.749A>G	c.A749G	Q250R
c.750G>C	c.G750C	Q250H
c.758T>C	c.T758C	I253T
c.758T>G	c.T758G	I253S
c.760-762delGTT	c.760 762delGTT	p.V254del
c.769G>C	c.G769C	A257P
c.770C>G	c.C770G	A257G
c.772G>C или c.772G>A	c.G772C или c.G772A	G258R
c.773G>T	c.G773T	G258V
c.776C>G	c.C776G	P259R
c.776C>T	c.C776T	P259L

c.779G>A	c.G779A	G260E
c.779G>C	c.G779C	G260A
c.781G>A	c.G781A	G261S
c.781G>C	c.G781C	G261R
c.781G>T	c.G781T	G261C
c.788A>G	c.A788G	N263S
c.790G>T	c.G790T	D264Y
c.794C>T	c.C794T	P265L
c.800T>C	c.T800C	M267T
c.805G>A	c.G805A	V269M
c.806T>C	c.T806C	V269A
c.809T>C	c.T809C	I270T
c.810T>G	c.T810G	I270M
c.811G>A	c.G811A	G271S
c.[811G>A; 937G>T]	c.G811A/G937T	G271S/D313Y
c.812G>A	c.G812A	G271D
c.823C>G	c.C823G	L275V
c.827G>A	c.G827A	S276N
c.829T>G	c.T829G	W277G
c.831G>T или c.831G>C	c.G831T или c.G831C	W277C
c.832A>T	c.A832T	N278Y
c.835C>G	c.C835G	Q279E
c.838C>A	c.C838A	Q280K
c.840A>T или c.840A>C	c.A840T или c.A840C	Q280H
c.844A>G	c.A844G	T282A
c.845C>T	c.C845T	T282I
c.850A>G	c.A850G	M284V
c.851T>C	c.T851C	M284T
c.860G>T	c.G860T	W287L
c.862G>C	c.G862C	A288P
c.866T>G	c.T866G	I289S
c.868A>C или c.868A>T	c.A868C или c.A868T	M290L
c.869T>C	c.T869C	M290T
c.870G>A или c.870G>C или c.870G>T	c.G870A или c.G870C или c.G870T	M290I
c.871G>A	c.G871A	A291T
c.877C>A	c.C877A	P293T
c.881T>C	c.T881C	L294S
c.884T>G	c.T884G	F295C
c.886A>G	c.A886G	M296V

с.886А>Т или с.886А>С	с.А886Т или с.А886С	М296L
с.887Т>С	с.Т887С	М296Т
с.888G>А или с.888G>Т или с.888G>С	с.Г888А или с.Г888Т или с.Г888С	М296I
с.893А>G	с.А893G	Н298S
с.897C>G или с.897C>А	с.С897G или с.С897А	Д299E
с.898C>Т	с.С898Т	L300F
с.899Т>С	с.Т899С	L300P
с.901C>G	с.С901G	R301G
с.902G>С	с.Г902С	R301P
с.902G>А	с.Г902А	R301Q
с.902G>Т	с.Г902Т	R301L
с.907А>Т	с.А907Т	I303F
с.908Т>А	с.Т908А	I303N
с.911G>А	с.Г911А	S304N
с.911G>С	с.Г911С	S304Т
с.919G>А	с.Г919А	A307Т
с.922А>G	с.А922G	K308E
с.924А>Т или с.924А>С	с.А924Т или с.А924С	K308N
с.925G>С	с.Г925С	A309P
с.926C>Т	с.С926Т	A309V
с.928C>Т	с.С928Т	L310F
с.931C>G	с.С931G	L311V
с.935А>G	с.А935G	Q312R
с.936G>Т или с.936G>С	с.Г936Т или с.Г936С	Q312H
с.937G>Т	с.Г937Т	D313Y
с.[937G>Т; 1232G>А]	с.Г937Т/Г1232А	D313Y/Г411D
с.938А>G	с.А938G	D313G
с.946G>А	с.Г946А	V316I
с.947Т>G	с.Т947G	V316G
с.950Т>С	с.Т950С	I317Т
с.955А>Т	с.А955Т	I319F
с.956Т>С	с.Т956С	I319Т
с.959А>Т	с.А959Т	N320I
с.962А>G	с.А962G	Q321R
с.962А>Т	с.А962Т	Q321L
с.963G>С или с.963G>Т	с.Г963С или с.Г963Т	Q321H
с.964G>А	с.Г964А	D322N
с.964G>С	с.Г964С	D322H
с.966C>А или с.966C>G	с.С966А или с.С966G	D322E

c.968C>G	c.C968G	P323R
c.973G>A	c.G973A	G325S
c.973G>C	c.G973C	G325R
c.978G>C или c.978G>T	c.G978C или c.G978T	K326N
c.979C>G	c.C979G	Q327E
c.980A>T	c.A980T	Q327L
c.983G>C	c.G983C	G328A
c.989A>G	c.A989G	Q330R
c.1001G>A	c.G1001A	G334E
c.1010T>C	c.T1010C	F337S
c.1012G>A	c.G1012A	E338K
c.1016T>A	c.T1016A	V339E
c.1027C>A	c.C1027A	P343T
c.1028C>T	c.C1028T	P343L
c.1033T>C	c.T1033C	S345P
c.1046G>C	c.G1046C	W349S
c.1055C>G	c.C1055G	A352G
c.1055C>T	c.C1055T	A352V
c.1061T>A	c.T1061A	I354K
c.1066C>G	c.C1066G	R356G
c.1066C>T	c.C1066T	R356W
c.1067G>A	c.G1067A	R356Q
c.1067G>C	c.G1067C	R356P
c.1072G>C	c.G1072C	E358Q
c.1073A>C	c.A1073C	E358A
c.1073A>G	c.A1073G	E358G
c.1074G>T или c.1074G>C	c.G1074T или c.G1074C	E358D
c.1076T>C	c.T1076C	I359T
c.1078G>A	c.G1078A	G360S
c.1078G>T	c.G1078T	G360C
c.1079G>A	c.G1079A	G360D
c.1082G>A	c.G1082A	G361E
c.1082G>C	c.G1082C	G361A
c.1084C>A	c.C1084A	P362T
c.1085C>T	c.C1085T	P362L
c.1087C>T	c.C1087T	R363C
c.1088G>A	c.G1088A	R363H
c.1102G>A	c.G1102A	A368T
c.1117G>A	c.G1117A	G373S
c.1124G>A	c.G1124A	G375E
c.1153A>G	c.A1153G	T385A
c.1168G>A	c.G1168A	V390M
c.1172A>C	c.A1172C	K391T
c.1175G>C	c.G1175C	R392T
c.1184G>A	c.G1184A	G395E
c.1184G>C	c.G1184C	G395A
c.1192G>A	c.G1192A	E398K
c.1202 1203insGACTTC	c.1202 1203insGACTTC	p.T400 S401dup
c.1208T>C	c.T1208C	L403S
c.1225C>G	c.C1225G	P409A
c.1225C>T	c.C1225T	P409S
c.1225C>A	c.C1225A	P409T
c.1228A>G	c.A1228G	T410A
c.1229C>T	c.C1229T	T410I
c.1232G>A	c.G1232A	G411D
c.1235C>A	c.C1235A	T412N
c.1253A>G	c.A1253G	E418G
c.1261A>G	c.A1261G	M421V

Дозирование., препарат и введение

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту Фабри вводят мигаластат или его соль с частотой один раз в день (также называемой QOD). В различных вариантах осуществления описанные в данном документе дозы относятся к гидрохлориду мигаластата или эквивалентной дозе мигаластата или его соли, отличной от соли гидрохлорида. В некоторых вариантах осуществления эти дозы относятся к свободному основанию мигаластата. В альтернативных вариантах осуществления эти дозы относятся к соли мигаластата. В других вариантах осуществления соль мигаластата представляет собой гидрохлорид мигаластата. Введение мигаластата или соли мигаластата в данном описании называется терапией мигаластатом.

Эффективное количество мигаластата или его соли может находиться в диапазоне от около 100 мг ЭСО до около 150 мг ЭСО.

Иллюстративные дозы включают около 100 мг ЭСО, около 105 мг ЭСО, около 110 мг ЭСО, около 115 мг ЭСО, около 120 мг ЭСО, около 123 мг ЭСО, около 125 мг ЭСО, около 130 мг ЭСО, около 135 мг ЭСО, около 140 мг ЭСО, около 145 мг ЭСО или около 150 мг ЭСО.

Опять же, отмечается, что 150 мг гидрохлорида мигаластата эквивалентны 123 мг формы мигаластата в форме свободного основания. Таким образом, в одном или большем количестве вариантов осуществления доза составляет 150 мг гидрохлорида мигаластата или эквивалентной дозы мигаластата или

его соли, отличной от соли гидрохлорида, вводимой с частотой один раз в день. Как указано выше, эту дозу называют 123 мг ЭСО мигаластата. В других вариантах осуществления доза составляет 150 мг гидрохлорида мигаластата, вводимого с частотой один раз в день. В других вариантах осуществления доза составляет 123 мг свободного основания мигаластата, вводимого с частотой один раз в день.

В различных вариантах осуществления эффективное количество составляет около 122 мг, около 128 мг, около 134 мг, около 140 мг, около 146 мг, около 150 мг, около 152 мг, около 159 мг, около 165 мг, около 171 мг, около 177 мг или около 183 мг мигаластата гидрохлорида.

Соответственно, в различных вариантах осуществления терапия мигаластатом включает введение 123 мг ЭСО с частотой один раз в день, например 150 мг гидрохлорида мигаластата, раз в два дня.

Введение мигаластата или его соли может происходить в течение определенного периода времени. В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 28 дней, например по меньшей мере 30, 60 или 90 дней или по меньшей мере 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 20, 24, 30 или 36 месяцев или по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 лет. В различных вариантах осуществления терапия мигаластатом представляет собой длительную терапию мигаластатом, по меньшей мере, 6 месяцев, например, по меньшей мере 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 20, 24, 30 или 36 месяцев или по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 лет.

Введение мигаластата или его соли в соответствии с данным изобретением может быть в составе, подходящем для любого пути введения, но предпочтительно его вводят в пероральной лекарственной форме, такой как таблетка, капсула или раствор. В качестве одного примера, пациенту вводят перорально капсулы, каждая из которых содержит 150 мг мигаластата гидрохлорида или эквивалентную дозу мигаластата или его соли, отличную от гидрохлоридной соли.

В некоторых вариантах осуществления ФШ (например, мигаластат или его соль) вводят перорально. В одном или большем количестве вариантов осуществления ФШ (например, мигаластат или его соль) вводят инъекцией. ФШ может сопровождаться фармацевтически приемлемым носителем, который может зависеть от способа введения.

В одном или большем количестве вариантов осуществления ФШ (например, мигаластат или его соль) вводят в виде монотерапии и могут быть в форме, подходящей для любого пути введения, включая, например, перорально в форме таблеток или капсул или жидкости или в стерильном водном растворе для инъекций. В других вариантах осуществления ФШ предоставляется в виде сухого лиофилизированного порошка для добавления в препарат замещающего фермента во время или сразу после восстановления для предотвращения агрегации фермента *in vitro* до введения.

Когда ФШ (например, мигаластат или его соль) составлен для перорального введения, таблетки или капсулы могут быть приготовлены обычными способами с фармацевтически приемлемыми наполнителями, такими как связующие агенты (например, предварительно желатинизированный кукурузный крахмал, поливинилпирролидон или гидроксипропилметилцеллюлоза); наполнители (например, лактоза, микрокристаллическая целлюлоза или гидрофосфат кальция); смазывающие вещества (например, стеарат магния, тальк или диоксид кремния); дезинтеграторы (например, крахмал картофельный или натрий крахмал гликолат); или смачивающие агенты (например, лаурилсульфат натрия). Таблетки могут быть покрыты оболочкой способами, хорошо известными в данной области. Жидкие препараты для перорального введения могут принимать форму, например, растворов, сиропов или суспензий, или они могут быть представлены в виде сухого продукта для разведения водой или другим подходящим носителем перед использованием. Такие жидкие препараты могут быть приготовлены обычными способами с фармацевтически приемлемыми добавками, такими как суспендирующие агенты (например, сироп сорбита, производные целлюлозы или гидрогенизированные пищевые жиры); эмульгирующие агенты (например, лецитин или акация); неводные носители (например, миндальное масло, масляные сложные эфиры, этиловый спирт или фракционированные растительные масла); и консерванты (например, метил или пропил-п-гидроксibenзоаты или сорбиновая кислота). Препараты могут также содержать буферные соли, ароматизаторы, красители и подсластители, в зависимости от ситуации. Препараты для перорального введения могут быть составлены соответствующим образом, чтобы обеспечить контролируемое высвобождение активного соединения-шаперона.

Фармацевтические препараты ФШ (например, мигаластата или его соли), подходящие для парентерального/инъекционного применения, обычно включают стерильные водные растворы (при этом растворимы в воде) или дисперсии и стерильные порошки для немедленного приготовления стерильных инъекционных растворов или дисперсий. Во всех случаях форма должна быть стерильной и должна быть жидкой до такой степени, чтобы ее можно было легко вводить шприцем. Она должна быть стабильной в условиях производства и хранения и должна быть защищена от загрязняющего действия микроорганизмов, таких как бактерии и грибы. Носителем может быть растворитель или дисперсионная среда, содержащая, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль и полиэтиленгликоль и тому подобное), их подходящие смеси и растительные масла. Подходящая текучесть может поддерживаться, например, путем использования покрытия, такого как лецитин, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсии и путем использования поверхностно-активных веществ. Предотвращение действия микроорганизмов может осуществляться различными антибактериальными и противогрибко-

выми агентами, например, парабенами, хлорбутанолом, фенолом, бензиновым спиртом, сорбиновой кислотой и тому подобным. Во многих случаях целесообразно включать изотонические агенты, например сахара или хлорид натрия. Пролонгированная абсорбция инъектируемых препаратов может быть достигнута путем использования в препаратах агентов, замедляющих абсорбцию, например моностерата алюминия и желатина.

Стерильные растворы для инъекций готовят путем включения очищенного фермента (если он есть) и ФШ (например, мигаластата или его соли) в необходимом количестве в соответствующем растворителе с различными другими ингредиентами, перечисленными выше, по мере необходимости, с последующим фильтрованием или терминальной стерилизацией. Обычно дисперсии готовят путем включения различных стерилизованных активных ингредиентов в стерильный носитель, который содержит основную дисперсионную среду и необходимые другие ингредиенты из перечисленных выше. В случае стерильных порошков для приготовления стерильных растворов для инъекций предпочтительными способами приготовления являются вакуумная сушка и метод сублимационной сушки, которые дают порошок активного ингредиента плюс любой дополнительный желаемый ингредиент из его предварительно стерильно отфильтрованного раствора.

Препарат может содержать наполнитель. Фармацевтически приемлемые наполнители, которые могут быть включены в состав, представляют собой буферы, такие как нитратный буфер, фосфатный буфер, ацетатный буфер, бикарбонатный буфер, аминокислоты, мочевины, спирты, аскорбиновую кислоту и фосфолипиды; белки, такие как сывороточный альбумин, коллаген и желатин; соли, такие как EDTA или EGTA, и хлорид натрия; липосомы; поливинилпирролидон; сахара, такие как декстран, маннит, сорбит и глицерин; пропиленгликоль и полиэтиленгликоль (например, PEG-4000, PEG-6000); глицерин; глицин или другие аминокислоты; и липиды. Буферные системы для использования с препаратами включают цитрат; ацетат; бикарбонат; и фосфатные буферы. Фосфатный буфер является предпочтительным вариантом осуществления.

Способ введения соединения-шаперона может быть пероральным или парентеральным, включая внутривенный, подкожный, внутриартериальный, внутрибрюшинный, офтальмологический, внутримышечный, буккальный, ректальный, вагинальный, интраорбитальный, интрацеребральный, внутрикожный, внутричерепной, внутриспинальный, внутрижелудочковый, интратекальный, интрацестеральный, интракапсулярный, внутрилегочный, интраназальный, трансмукозальный, транскермальный или через ингаляцию.

Введение вышеописанных парентеральных составов соединения-шаперона может быть периодическим введением болюса препарата или может быть введено внутривенным или внутрибрюшинным введением из резервуара, который является внешним (например, пакет для внутривенного (в/в) введения) или внутренним (например, биоразрушаемый имплантат).

Варианты осуществления, относящиеся к фармацевтическим составам и введению, могут быть объединены с любым из других вариантов осуществления изобретения, например, вариантами осуществления, относящимися к способам лечения пациентов с болезнью Фабри, способам лечения ФЗТ-наивных Фабри пациентов, способам лечения ФЗТ-леченных Фабри пациентов, способы улучшения сердечной функции (например, систолической функции левого желудочка), способам стабилизации сердечной функции (например, систолической функции левого желудочка), способам увеличения ССФУ, способам стабилизации ССФУ, способам нормализации ССФУ, способам усиления α -Gal A у пациента с диагнозом или подозрением на болезнь Фабри, использованию фармакологического шаперона для α -Gal A для производства лекарственного средства для лечения пациента с диагнозом болезни Фабри или фармакологического шаперона для α -Gal A для применения при лечении пациента с диагнозом болезни Фабри, а также в вариантах осуществления, относящихся к чувствительным мутациям, ФШ и их подходящим дозам.

В одном или большем количестве вариантов осуществления ФШ (например, мигаластат или его соль) вводят в комбинации с ФЗТ. ФЗТ увеличивает количество белка путем экзогенного введения фермента дикого типа или биологически функционального фермента путем инфузии. Эта терапия была разработана для многих генетических расстройств, включая ЛБН, такие как болезнь Фабри, как указано выше. Ожидается, что после инфузии экзогенный фермент будет поглощаться тканями посредством неспецифического или специфического рецепторного механизма. В общем, эффективность поглощения не высока, а время циркуляции экзогенного белка короткое. Кроме того, экзогенный белок является нестабильным и подвержен быстрой внутриклеточной деградации, а также имеет потенциал для неблагоприятных иммунологических реакций с последующим лечением. В одном или большем количестве вариантов осуществления шаперон вводят одновременно с замещающим ферментом (например, замещающим α -Gal A). В некоторых вариантах осуществления шаперон совместно вводят с замещающим ферментом (например, замещающим α -Gal A).

В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент переключается с ФЗТ на терапию мигаластатом. В некоторых вариантах осуществления изобретения пациент на ФЗТ идентифицирован, ФЗТ пациента прекращена, и пациент начинает получать терапию мигаластатом. Терапия мигала-

стата может проводиться в соответствии с любым из способов, описанных в данном документе.

Сердечная функция

Описанные в данном документе режимы дозирования могут стабилизировать и/или усиливать сердечную функцию (например, систолическую функцию левого желудочка) у пациентов с болезнью Фабри. Поскольку у нелеченных пациентов с болезнью Фабри обычно наблюдается ухудшение сердечной функции с течением времени, как улучшение, так и поддержание сердечной функции свидетельствуют о преимуществах терапии мигаластатом. Как более подробно описано в Примерах ниже, исследования фазы 3 продемонстрировали, что терапия мигаластатом увеличивает и/или стабилизирует ССФУ как у пациентов с ФЗТ, так и у ФЗТ-наивных пациентов. Эти исследования фазы 3 также продемонстрировали, что терапия мигаластатом нормализует ССФУ у некоторых пациентов с нарушениями ССФУ. Соответственно, терапия мигаластатом может быть использована для лечения Фабри пациентов путем стабилизации ССФУ, увеличения ССФУ и/или нормализации ССФУ у ФЗТ-наивных и/или ФЗТ-леченных Фабри пациентов, включая пациентов с нарушениями ССФУ.

Терапия мигаластатом может остановить или уменьшить уменьшение ССФУ и/или увеличить ССФУ для пациента с болезнью Фабри по сравнению с тем же пациентом без лечения терапией мигаластатом. В одном или большем количестве вариантов осуществления терапия мигаластатом обеспечивает изменение ССФУ для пациента, которое больше чем (то есть более положительно чем) -2%, такое как больше или равно около -1,5%, -1,4%, -1,3%, -1,2%, -1,1%, -1%, -0,9%, -0,8%, -0,7%, -0,6%, -0,5%, -0,4%, -0,3%, -0,2%, -0,1%, 0%, 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9%, 1%, 1,1%, 1,2%, 1,3%, 1,4%, 1,5%, 1,6%, 1,7%, 1,8%, 1,9%, 2%, 2,1%, 2,2%, 2,3%, 2,4% или 2,5%. В одном или большем количестве вариантов осуществления Фабри пациент представляет собой ФЗТ-леченного пациента. В одном или большем количестве вариантов осуществления Фабри пациент представляет собой пациента, не получающего ФЗТ. В одном или большем количестве вариантов осуществления Фабри пациент имел нарушение ССФУ до начала терапии мигаластатом.

В одном или большем количестве вариантов осуществления терапия мигаластатом обеспечивает среднее изменение ССФУ в группе ФЗТ-наивных пациентов, по меньшей мере, около 0% после 12 месяцев введения мигаластата или его соли. В различных вариантах осуществления среднее увеличение в группе ФЗТ-наивных пациентов, после 12 месяцев введения мигаластата или его соли составляет, по меньшей мере, около 0,05%, около 0,1%, около 0,15% или около 0,2%. В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенты, не получавшие ФЗТ, имели нарушение ССФУ до начала терапии мигаластатом.

В одном или большем количестве вариантов осуществления терапия мигаластатом обеспечивает среднее изменение ССФУ в группе ФЗТ-наивных пациентов, по меньшей мере, около 0% после 24 месяцев введения мигаластата или его соли. В различных вариантах осуществления среднее увеличение в группе ФЗТ-наивных пациентов, после 12 месяцев введения мигаластата или его соли составляет, по меньшей мере, около 0,05%, около 0,1%, около 0,15%, около 0,2%, около 0,3%, около 0,4%, около 0,5%, около 0,6%, около 0,7%, около 0,8%, около 0,9%, около 1%, около 1,1%, около 1,2%, около 1,3%, около 1,4% или около 1,5%. В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенты, не получавшие ФЗТ, имели нарушение ССФУ до начала терапии мигаластатом.

В одном или большем количестве вариантов осуществления терапия мигаластатом обеспечивает среднее изменение ССФУ в группе ФЗТ-наивных пациентов, по меньшей мере, около 0% после 36 месяцев введения мигаластата или его соли. В различных вариантах осуществления среднее увеличение в группе ФЗТ-наивных пациентов, после 12 месяцев введения мигаластата или его соли составляет, по меньшей мере, около 0,05%, около 0,1%, около 0,15%, около 0,2%, около 0,3%, около 0,4%, около 0,5%, около 0,6%, около 0,7%, около 0,8%, около 0,9%, около 1%, около 1,1%, около 1,2%, около 1,3%, около 1,4% или около 1,5%. В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенты, не получавшие ФЗТ, имели нарушение ССФУ до начала терапии мигаластатом.

В одном или большем количестве вариантов осуществления терапия мигаластатом обеспечивает среднее изменение ССФУ в группе ФЗТ-наивных пациентов, по меньшей мере, около 0% после 48 месяцев введения мигаластата или его соли. В различных вариантах осуществления среднее увеличение в группе ФЗТ-наивных пациентов, после 12 месяцев введения мигаластата или его соли составляет, по меньшей мере, около 0,05%, около 0,1%, около 0,15%, около 0,2%, около 0,3%, около 0,4%, около 0,5%, около 0,6%, около 0,7%, около 0,8%, около 0,9%, около 1%, около 1,1%, около 1,2%, около 1,3%, около 1,4%, около 1,5%, около 1,6%, около 1,7%, около 1,8%, около 1,9%, около 2%, около 2,1%, около 2,2%, около 2,3%, около 2,4% или около 2,5%. В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенты, не получавшие ФЗТ, имели нарушение ССФУ до начала терапии мигаластатом.

В одном или большем количестве вариантов осуществления терапия мигаластатом обеспечивает среднее изменение ССФУ в группе ФЗТ-наивных пациентов, более чем на около -1,5% после 30 месяцев введения мигаластата или его соли. В различных вариантах осуществления среднее увеличение в группе ФЗТ-наивных пациентов, после 12 месяцев введения мигаластата или его соли превышает -1,5%, -1,4%, -1,3%, -1,2%, -1,1%, -1%, -0,9%, -0,8%, -0,7%, -0,6%, -0,5%, -0,4%, -0,3%, -0,2%, -0,1% или 0%. В одном или большем количестве вариантов осуществления ФЗТ-леченные пациенты имели нарушение ССФУ до

начала терапии мигаластатом.

Примеры

Пример 1. Режимы дозирования для лечения ФЗТ-наивных Фабри пациентов с использованием гидрохлорида мигаластата

В данном примере описывается фаза 3 исследования терапии мигаластатом у ФЗТ-наивных Фабри пациентов.

Набор пациентов

Подходящие пациенты были в возрасте 16-74 лет и имели генетически подтвержденную болезнь Фабри; никогда не получали или не получали ФЗТ в течение ≥ 6 месяцев; имели мутацию GLA, которая приводила к мутантному белку, который был бы чувствителен к мигаластату, на основе анализа с клетками эмбриональной почки человека -293 (HEK), который применялся при наборе; имел рСКФ (eGFR) > 30 мл/мин/1,73 м² и имел GL-3 в моче в ≥ 4 раза выше верхнего предела нормы.

Дизайн исследования

После базовых оценок приемлемости (2 месяца) пациенты были рандомизированы на стадию 1-6 месяцев двойного неинформированного введения 150 мг мигаластата гидрохлорида или плацебо раз в два дня. Все пациенты, закончившие стадию 1, имели право на получение открытого введения мигаластата на стадии 2 (месяцы 6-12) и в течение дополнительного года (месяцы 13-24) после этого. Основная цель состояла в том, чтобы сравнить влияние мигаластата и плацебо на уровень GL-3 в почках по гистологической оценке количества включений в интерстициальных капиллярах после 6 месяцев лечения. Второстепенными целями стадии 1 было сравнение влияния мигаластата на плацебо на уровни GL-3 в моче, функцию почек, суточный (24 ч) белок мочи, а также на безопасность и переносимость. Третичными целями были сердечная функция, результаты, сообщаемые пациентами, предварительный анализ почек и активность α -Gal A лейкоцитов. Завершившие исследование имели право участвовать в расширенном исследовании с открытым введением на срок до 5 лет.

Оценка гистологии почек

Каждый пациент прошел начальную биопсию почки, а также повторную биопсию почки через 6 и 12 месяцев. Количество включений GL-3 на почечный интерстициальный капилляр на пациента в начале исследования, а также через 6 и 12 месяцев количественно оценивали в 300 капиллярах 3 независимыми патологами, не осведомленными по поводу лечения и посещения. Все значения для каждой отдельной биопсии в данное время были усреднены до статистического анализа.

Изменения GL-3 в подоцитах, эндотелиальных клетках и мезангиальных клетках и гломерулярный склероз были качественно оценены теми же тремя патологами, которые были не осведомлены по поводу лечения/посещения.

Глоботриаозилцерамид и глоботриаозилсфингозин

Лизо-Gb3 плазмы и 24-часовой анализ GL-3 мочи анализировали методом жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии с использованием нового стабильного изотопно-меченного внутреннего стандарта 13C6-лизо-Gb3 (нижний предел количественного определения: 0,200 нг/мл, 0,254 нмоль/л).

Оценка почечной функции

Нормализованные для года (annualized) скорости изменения (мл/мин/1,73 м²/год) рассчитывали с использованием критериев Сотрудничества в области Эпидемиологии хронической болезни почек (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) - рСКФ_{ХБП-эпи} (GFR_{CKD-EPI}) и измеренного клиренса иогекокса - иСКФ_{иогекокс} (mGFR_{iohexol}).

Эхокардиография

LVMi, толщину левой задней стенки, диастолическую, толщину межжелудочковой перегородки, диастолические и другие параметры оценивали посредством неинформированной, централизованной оценки.

Результаты, о которых сообщали пациенты

Результаты, о которых сообщали пациенты, оценивали с использованием шкалы оценки желудочно-кишечных симптомов (GSRS - Gastrointestinal-Symptoms-Rating-Scale), короткой формы 36v2TM (Short Form-36v2TM) и краткого-учета-боли-компонента-тяжести-боли (Brief-Pain-Inventory-Pain-Severity-Component).

Анализ безопасности и неблагоприятные события

Рандомизированные пациенты, получавшие ≥ 1 дозу, были включены в анализ безопасности, который включал в себя показатели жизненно важных функций, физические осмотры, электрокардиограммы, клинические лабораторные исследования и побочные эффекты.

Статистический анализ почечного интерстициального капиллярного субстрата GL-3

Первичным существенным параметром (endpoint) Стадии 1 (6 месяцев) (популяция ИТТ с начальными биопсиями, n=64) была доля пациентов в группах мигаластата и плацебо с уменьшением $\geq 50\%$ включений GL-3 на интерстициальный капилляр. Были оценены два других измеряемых параметра Стадии 1 (популяция с модифицированным ИТТ: рандомизированные пациенты с парным начальным измерением и биопсией через 6 месяцев; n=60): процентное изменение включений GL-3 на интерстициальный

капилляр и процент интерстициальных капилляров с отсутствием включений GL-3.

Анализ эффективности по включениям GL-3 на интерстициальный капилляр и по другим предварительно определенным существенным параметрам на Стадии 2 (месяцы 6-12) и продление с информированным введением (месяцы 12-24) были основаны на популяции для модифицированного намерения лечить (мНЛ - mITT - modified intention to treat), состоящей из рандомизированных пациентов с мутантным ферментом α -Gal A, для которого была продемонстрирована чувствительность к лечению мигаластатом с помощью подтвержденного анализа; n=50.

Результаты

Начальные/исходные характеристики.

Шестьдесят семь пациентов (16-74 года; 64% женщины) с потенциально чувствительным мутантным α -Gal A были рандомизированы (популяция НЛ). В табл. 2 представлены исходные характеристики для 50 пациентов в популяции НЛ с подходящим мутантом α -Gal A. Не было статистически значимых различий в исходных параметрах.

Таблица 2. Исходные характеристики

Параметр	Группа лечения		Всего (N = 50)
	Мигаластат HCl (N = 28)	Плацебо для мигаластат HCl (N = 22)	
Возраст (лет) (n)	28	22	50
Среднее $\pm$ CO	41,5 $\pm$ 13	45,1 $\pm$ 8,0	43,1 $\pm$ 11
Медианное	37,0	45,5	45,0
Вес (кг) (n)	28	22	50
Среднее $\pm$ CO	72,6 $\pm$ 15,35	76,1 $\pm$ 16,52	74,1 $\pm$ 15,81
Медианное	72,3	74,0	72,8
Количество лет после диагностики болезни Фабри	28	21	49
Среднее $\pm$ CO	5,6 $\pm$ 6,89	7,3 $\pm$ 8,80	6,3 $\pm$ 7,73
Медианное	4,1	4,1	4,1
Число пациентов, ранее получавших ФЗТ (> 6 месяцев до исходного измерения) (%)	4 (14,3%)	7 (31,8%)	11 (22,0%)
Использование ACEi/ARB/Ri при исходном измерении			
Да (%)	9 (32,1%)	12 (54,5%)	21 (42,0%)
Нет (%)	19 (67,9%)	10 (45,5%)	29 (58,0%)
Протеинурия > 150 мг/24ч (%)	17 (60,7%)	18 (81,8%)	35 (70,0%)
Протеинурия > 300 мг/24ч (%)	8 (28,6%)	11 (50,0%)	19 (38,0%)
Протеинурия > 1000 мг/24ч (%)	3 (10,7%)	3 (13,6%)	6 (12,0%)
рСКФ_{мюгексол} (мл/мин/1,73м²)	27	21	48
Среднее $\pm$ CO	79,95 $\pm$ 30,9	83,12 $\pm$ 22,8	81,34 $\pm$ 27,5
Медианное	84,90	82,20	83,40
рСКФ_{ХБП-ЭП} (мл/мин/1,73 м²)	28	22	50
Среднее $\pm$ CO	94,4 $\pm$ 27,0	90,6 $\pm$ 17,1	92,7 $\pm$ 23,0
Медианное	96,6	93,5	94,0
Лизо-Gb₃ (n)	18	13	31
Среднее (нмоль/л) $\pm$ CO	47,3 $\pm$ 62	41,9 $\pm$ 39	45,0 $\pm$ 53

Опубликованные отчеты о клиническом фенотипе(ах), связанных с генотипами пациентов с подходящими мутациями (n=50), указывают на то, что 30 (60%) имели мутации, связанные с классическим фенотипом болезни Фабри, один (2%) с неклассическим фенотипом, три (6%) с обоими фенотипами и 16 (32%) еще не классифицированных. Остаточная активность α -Gal A в БКК (WBC) < 3% была обнаружена у 14 из 16 (87%) мужчин; 29 из 31 (94%) мужчин и женщин имели повышенный уровень лизо-Gb₃ в плазме, а 47 из 50 (94%) мужчин и женщин страдали полиорганной системной болезнью (multi-organ system disease).

Исходное ССФУ. В начале исследования у 9 пациентов отмечалось нарушение ССФУ (<15% для женщин и < 14% для мужчин).

Мигаластат и сердечная функция. Данное исследование ФЗТ-наивных пациентов продемонстрировало, что терапия мигаластатом увеличивала ССФУ у пациентов с присутствующими в начале исследования нарушениями ССФУ. Табл. 3 ниже демонстрирует изменение ССФУ от исходного уровня после терапии мигаластатом.

Таблица 3. Процентные изменения от исходного уровня в ССФУ с течением времени при терапии мигаластатом у пациентов с присутствующими в начале исследования нарушениями ССФУ (пациенты с чувствительными мутациями)

	Среднее значение ССФУ исходного уровня = 11,3%				
	Время измерения				
	Месяц 12	Месяц 24	Месяц 36	Месяц 48	ПРПН
n	7	8	4	3	8
Среднее изменение от исходного уровня	0,1%	1,4%	1,4%	2,4%	1,9%
95% ДИ	-1,2%, 1,4%	-1,3%, 4,0%	-1,5%, 4,3%	-2,1%, 6,9%	-0,8%, 4,5%
Любое увеличение	2/7 (29%)	5/8 (63%)	3/4 (75%)	3/3 (100%)	6/8 (75%)
Нормализация	0	2/8 (25%)	2/4 (50%)	2/3 (67%)	3/8 (38%)

Анализ перенесенных результатов последнего наблюдения (ПРПН - LOCF - last observation carried forward) основан на оценке последнего исследования, включая любые незапланированные или ранние визиты прекращения; Аномальное ССФУ составляет <15% для женщин и <14% для мужчин.

Как видно из табл. 3, анализ ПРПН у ФЗТ-наивных пациентов, с нарушениями ССФУ на исходном уровне продемонстрировал средние изменения ССФУ на 1,9% (95% ДИ - 0,8%, 4,5%; n=8) в течение 48 месяцев терапии мигаластатом. У 6/8 (75%) пациентов наблюдалось увеличение ССФУ после терапии мигаластатом, причем у 3/8 (38%) наблюдалось нормализация ССФУ.

ССФУ также было проанализировано у пациентов с ГЛЖ в начале исследования. Изменение от исходного уровня у ССФУ у пациентов с ГЛЖ на исходном уровне представлено в табл. 4 ниже:

Таблица 4. Изменение от исходного уровня в ССФУ с мигаластатом у пациентов с ГЛЖ на в начале исследования (пациенты с чувствительными мутациями)

	Начало исследования	Изменить от базового уровня				
		Месяц 12	Месяц 24	Месяц 36	Месяц 48	ПРПН
Кол-во (n)	10	9	9	5	4	10
%, среднее (СО) или (95% ДИ)	12,2 (2,6)	0,2 (-0,8, 1,1)	0,9 (-1,6, 3,4)	0,7 (-2,1, 3,4)	0,6 (-5,7, 6,9)	1,0 (-1,5, 3,5)
Любое увеличение	-	4/9 (44%)	5/9 (56%)	3/5 (60%)	3/4 (75%)	7/10 (70%)
Нормализация	-	2/9 (22%)	2/9 (22%)	1/5 (20%)	0	2/10 (20%)

Анализ ПРПН основан на последней оценке исследования, включая любые незапланированные или досрочные визиты; ГЛЖ подгруппа: LVMI > 95 г/м² (женщины) или > 115 г/м² (мужчины).

Как видно из табл. 4, ПРПН-анализ ФЗТ-наивных пациентов, с ГЛЖ на исходном уровне продемонстрировал средние изменения ССФУ на 1,0% (95% ДИ -1,5%, 3,5%; n=10) в течение 48 месяцев терапии мигаластатом. 7/10 (70%) пациентов имели увеличение ССФУ после терапии мигаластатом, при этом 2/10 (20%) демонстрировали нормализацию ССФУ.

Безопасность и неблагоприятные события

Во время Стадии 1 побочные эффекты, возникающие от лечения, были сходными между группами. Неблагоприятными явлениями с более высокой частотой у пациентов, получавших мигаластат, по сравнению с плацебо, были головная боль (12/34 пациентов - 35% против 7/33 пациентов - 21%) и назофарингит (6/34 пациентов -18% против 2/34-6%), Наиболее частыми побочными эффектами для Стадии 2 были головная боль (9/63 пациентов - 14%) и процедурная боль (7/63 пациентов -11% - связанная с биопсией почек), а для открытой пробы - протеинурия (9/57 пациентов - 16%), головная боль (6/57 пациентов - 11%) и бронхит (6/57 пациентов - 11%). Большинство неблагоприятных явлений были легкой или средней степени тяжести. Никакие нежелательные явления не привели к прекращению применения мигаластата.

Шесть пациентов испытывали серьезные нежелательные явления на Стадии 1 (2: мигаластат; 4: плацебо), 5 на Стадии 2 и 11 продления с информированным введением. Исследователем были оценены два серьезных нежелательных явления, которые, возможно, были связаны с мигаластатом: усталость и парестезия. Оба произошли у одного и того же пациента между 12-24 месяцами и прекратились. Не было сообщений об отдельных серьезных нежелательных явлениях от >1 пациента. Два пациента прекратили прием мигаластата из-за серьезных нежелательных явлений; оба были признаны не связанными с мигаластатом. О смертельных случаях не сообщалось.

Возникающая при лечении протеинурия была отмечена у 9 пациентов (16%) в период с 12 до 24 месяцев, и в одном случае была оценена как связанная с мигаластатом. У 5 пациентов 24-месячные значения были в том же диапазоне, что и исходный уровень. У трех пациентов с подходящими мутациями бы-

ла выраженная исходная протеинурия (>1 г/24 ч), которая увеличилась в течение 24 месяцев. У 23/28 пациентов с исходной протеинурией <300 мг/24ч 24-часовой белок мочи оставался стабильным во время лечения мигаластатом.

Не было прогрессирования до терминальной стадии почечной недостаточности, смерти по причине проблем с сердцем и инсульта, как было продемонстрировано в Vanikazemi et al. Был только один случай преходящей ишемической атаки, не связанный с мигаластатом.

Анализ показателей жизненно важных функций, физических данных, лабораторных параметров и параметров ЭКГ не выявил какого-либо клинически значимого эффекта мигаластата.

Пример 2. Режимы дозирования для лечения ФЗТ-леченных Фабри пациентов с использованием гидрохлорида мигаластата

В данном примере описывается фаза 3 исследования терапии мигаластатом у ФЗТ-леченных Фабри пациентов.

Набор пациентов

Приемлемые пациенты были в возрасте 16-74 лет и имели генетически подтвержденную болезнь Фабри; получили ФЗТ в течение ≥ 12 месяцев; имели мутацию GLA, которая приводила к мутантному белку, который был чувствителен к мигаластату, на основе анализа с клетками эмбриональной почки человека-293 (НЕК), который использовался во время набора; имели рСКФ ≥ 30 мл/мин/1,73м² и имели уровень дозы ФЗТ и режим, который был стабильным в течение по меньшей мере 3 месяцев.

Дизайн исследования

После начальных оценок приемлемости 57 пациентов были рандомизированы на 18 месяцев терапии мигаластатом или ФЗТ, после чего следовали 12 месяцев терапии мигаластатом. Режим дозирования мигаластата составлял 150 мг гидрохлорида мигаластата раз в два дня. Основная цель состояла в том, чтобы сравнить влияние мигаластата с ФЗТ на функцию почек, оцененную по иСКФ_{иогексол} после 18 месяцев лечения. Вторичными задачами было сравнение влияния мигаластата с ФЗТ на: функцию почек (оценивалась по рСКФ и 24-часовому белку мочи); совокупный клинический исход (оценивается по времени до появления почечных, сердечных, цереброваскулярных событий или смерти); сердечную функцию (оцениваемая с помощью эхокардиографии) и результаты, сообщаемые пациентом (боль и качество жизни).

Исходное ССФУ

На начальном этапе нарушения ССФУ ($<15\%$ для женщин и $<14\%$ для мужчин) были зарегистрированы у 19 (14 мигаластат, 5 ФЗТ) пациентов.

Результаты

Мигаластат и сердечная функция.

Данное исследование ФЗТ-леченных пациентов продемонстрировало, что терапия мигаластатом стабилизировала ССФУ у пациентов с нарушениями ССФУ в начале исследования. Анализ ПРПН у пациентов с нарушениями ССФУ на исходном уровне продемонстрировал средние изменения исходного уровня $-0,2\%$ (95% ДИ $-1,3\%$, $1,0\%$; $n=14$) за 30 месяцев терапии мигаластатом. Анализ ПРПН пациентов с нарушениями ССФУ на исходном уровне продемонстрировал среднее изменение ССФУ на $-0,6\%$ (95% ДИ $-2,6\%$, $1,4\%$; $n=5$) в течение 18 месяцев лечения с помощью ФЗТ.

Описанные в данном документе варианты осуществления предназначены для иллюстрации данных препаратов и способов и не предназначены для ограничения объема данного изобретения. Предполагается включение в него различных модификаций и изменений, согласующихся с описанием в целом и которые очевидны для специалиста в данной области техники. Прилагаемая формула изобретения не должна ограничиваться конкретными вариантами осуществления, изложенными в примерах, но должна иметь самую широкую интерпретацию, согласующуюся с описанием в целом.

Патенты, заявки на патенты, публикации, описания продуктов, номера доступа GenBank и протоколы цитируются в данной заявке, раскрытия которых включены в данный документ посредством ссылки во всей их полноте для всех целей.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение препарата, содержащего эффективное количество мигаластата или его соли, для увеличения средне-стеночного фракционного укорочения (ССФУ) у пациента с болезнью Фабри, при этом эффективное количество составляет от 100 до 150 мг эквивалента свободного основания (ЭСО), и препарат вводится пациенту раз в два дня.

2. Применение препарата по п.1, в котором пациент имел нарушение ССФУ до начала введения мигаластата или его соли.

3. Применение препарата по п.1 или 2, в котором мигаластат или его соль усиливает активность α -галактозидазы А.

4. Применение препарата по любому из пп.1-3, в котором эффективное количество составляет 123 мг ЭСО.

5. Применение препарата по любому из пп.1-4, в котором эффективное количество составляет 123

мг свободного основания мигаластата.

6. Применение препарата по любому из пп.1-4, в котором эффективное количество составляет 150 мг гидрохлорида мигаластата.

7. Применение препарата по любому из пп.1-6, в котором указанный препарат содержит пероральную форму дозирования.

8. Применение препарата по п.7, в котором указанная пероральная форма дозирования содержит таблетку, капсулу или раствор.

9. Применение препарата по любому из пп.1-8, в котором мигаластат или его соль вводятся в течение по меньшей мере 12 месяцев.

10. Применение препарата по любому из пп.1-9, в котором мигаластат или его соль вводятся в течение по меньшей мере 24 месяцев.

11. Применение препарата по любому из пп.1-10, в котором пациент является наивным пациентом в отношении ферментной заместительной терапии (ФЗТ-наивным).

12. Применение препарата по любому из пп.1-8, в котором введение мигаластата или его соли обеспечивает среднее увеличение ССФУ в группе ФЗТ-наивных пациентов с нарушенным ССФУ по меньшей мере на около 1% после 24 месяцев введения мигаластата или его соли.

13. Применение препарата по любому из пп.1-10, в котором пациент является ФЗТ-леченным пациентом.

14. Применение препарата по любому из пп.1-13, в котором пациент имеет чувствительную (amenable) по НЕК анализу мутацию в α -галактозидазе А.

15. Применение препарата по любому из пп.2-14, в котором введение мигаластата или его соли нормализует ССФУ пациента.

```

cccttctgtaggggcagagaggttctacttcattactgcgtctcctgggaaggccatcag      60
gactgctggctaaagtgggaaccaggactcttctgtgagttagaatttctgtatttatat      120
gtgtgttatcacattttttaaaaaactgtaacgacatcaggttgagcagtcgtctccgg      180
gtggtgaattatgtgtatttttaaatttatactatattgttatttttcaaatgttcgaa      240
attgaatatgtagattgttgttatcagcagaaaaataaacattattcaaatactctattc      300
agtaaaagtaatttattgggcgcttctgtcaagcagcatttgcctagatgtgactctaca      360
gataaaattcacttggggcctcccttacagacaatcaggcagtgagagactgagtgccctg      420
aatggatagaccagcactcagaccactattttcaglatctgttttttctaactcagggcc      480
gtggttttcaaacgtttttcgcttaacggtcaccttagggtcccccgagaccggccag      540
acagacagatatcaaaaaacacatcacagtcagtgagcgtccaccatttccccaccaggc      600
gcagcacaggcgcttcccgccactgagatgggggggaggaggaggagagcgcgaggggg      660
gaggggaaagcagagaaacgaagaggcgaggcgcccccgaaccccgctctggtcttca      720
tcataccaccocctgggtccccagttccccaccacacaccaacctctaacgataccgggt      780
aattttctctcttcttccctcaaacggctatagcgagacggtagacgacgaccagaacta      840
cttctgctcacgtaagcgagtaatacagtgagcgctacgctcatgtgagatctcggtcac      900
gtgagcaactctcggttaaacctcggtacactaagggtgcgcgacttctctctggtatgg      960
aaataggcggggtcaatatcaagaaggaagagggtgattggttagcggaacgtcttaag      1020
tgactgattattggtctacctctggggataaacgtcccagttgccagagaaacaataacg      1080
tcattatttaataagtcaggtgattggtccgcccctgaggttaactcttaaaagccag      1140
gtaccccgcggaattttatgctgtcgggtcacccgtgacaatgcagctgaggaaccagaa      1200
ctacatctgggctgcgcgcttgcgttctgcttcttggccctcgttctctgggacatccct      1260
ggggctagagcactggacaattggattggcaaggacgcctaccatgggctgggtgcaactgg      1320
gagcgctcatgtgcaaccttgactgccaggaagagccagattctctgcatcaggtatcag      1380
atattgggtactcccttcccttcttcttccatgtgtttgggtgtgtttggggaactgga      1440
gagtcctcaacgggaacagttgagcccgaggagagctccccaccgcactctgctgctgc      1500
ttttttatccccagcaaacgtgtccgaatcaggactagccctaaactttctctgtgtgac      1560
ctttctctgggagtgaggatccggccagcgccctgtttcttctctctctctctctctct      1620
cgttctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctct      1680
ttctcttttttcaactgctccttgacagcaggggccaccccalaggcagtggtgccaaaagt      1740
agccctgcgggttctatcagaccctctgtgaaactctgctcttctctgcccgggtg      1800
ctaaccgttagaacatctagggtgggtaggaggaatggggaactaagattcgtgccattt      1860
tttctcttttggggtcgtggatttctcggcagtatctcgaggagggttagagagaccata      1920
aggctcgatgatctctccacctcgcccatgagcgtggcatcaggctggaaggttgaca      1980
tggaggaactttatcacatttacaccttgcgtgaggggtgaggctggattagataggat      2040
tgaacatatctgacctcaccaatccttatctgtaaatgggattacaaccttttaatttc      2100
agggagctgacaaaaaaatctgaaaaatagtcttatctcacacaggtgagtttcaag      2160
gagataacctatttaaagtacatagcacagcgcttgaccattcaactgcgcttacagagc      2220
aaatgttcaatgggaaaatgaatgtaaatctacaaatctgaatgaatatgtgtattttc      2280
tggagagaggatattaccttcttcaaatctcaagggtctctgtgattaaaaaagggt      2340
taggaatcactgatagatgttggtlaaaagggtggcagtcacagtaatttctgtgtccata      2400
agttattctcatgaatatctttatagataaaagtcaggatgttggtcagacatcacagaag      2460
aaattggccttgtaagtttcatgtgacctgtggtacagatgtgtggcaattttgcccac      2520
tcacggattttttttatttggtatttgcatctgattataaaactaatgcacatgattgc      2580
aaaaaaatgtagataaagaagagcaaaatgaaataaaagatttccccccaccgttccacca      2640
cccgagaaataatcatgggtttaaattgtaatatcaaccttacaattgtttctatataaaa      2700
tgaaaaacatagatttcttattttcattattttccataaaaaatggatcatgtttatgtca      2760
tggttggtcaatggcagacctggcaccagctctgggctcaaatctgcctcattgtta      2820
cttagccctgtgacattgggtaaattacacttttttttttttttttttttttgagacggg      2880

```

Фиг. 1А

tctcgctctgtcgccagctggagtgagtgccagcatctcgctcaactgcaagtcgc	2940
ctcctgggttcacgccattctctgctcagcctcccgagtagctgggactacagggcc	3000
tgccaccaagcctggctcttttttttttttttttttttttagtacagacgggttcac	3060
catgttagccaggggtgtctcaatctcctgacctcgtgattcgcccgctcagcctcca	3120
aagtgtcgtgtgtgagccacgtgccagccttacttttttttttgagaggggtctcact	3180
ctgtcaccaggttgagtgagtgccgcgcatctcgtcagtgcaaacctccacctcccg	3240
gggttaagcagttctcctgtcgtagtcctcgtgagtagctgggattacaggcacaccacca	3300
cgccacagctaatttttgattttcagtagagacgggttcccatgttgcccaagctggt	3360
ctcgaaactcctggcctcaagtgatctgcccgcttgccctcccagagtgctgggattaca	3420
gggtgtgagccacgcaccgcgctcttttttttttttttagtctatcatccttgcaata	3480
cagtggttcttctatgtgttggttttgatattatgtaatacaaacacatcagttttcc	3540
tttctgatttctgaactttgggtcatgctgagaaagtcctttctacactgaagataaac	3600
agtataacggttcttactagttttttgtggatttttaaaatatttaaatctttagtc	3660
atctgaactgttcttctatcagaaatgccacatttaataaataaagtcctatgggtat	3720
cagatggctggaaggacctctttcgaaactttgtttaattccatttaactctgtgtattct	3780
attctaatgctaatagttccacactagcttcttcttcttttttttttttttttttt	3840
ttttgagctggagttctcgtctgttgccaggtggagtagcaatgtcacgattctcggt	3900
caccgcaacctcgccctcccaggttcaagcaattctcctgcctcatcctcgcgagtagct	3960
ggaattacaggcatgcgccaccacgcttagctattttgtatttttagtagagatgggtt	4020
tctccatgttggtcaggtggtctcaaacctccagcctcaggtgatctgcctgcctcggc	4080
ctcccaaaatgctgtttatcacaggcgtgagccaccaagccagccttcatctttaatga	4140
atgtacatgtatgtaacttttttagtgaaactttttgtaattgtgtgccaagttccttaa	4200
aaagcccttttggaagctggcgaggtggccacgctgtaatccagcattttgggagctcg	4260
aggcaggtggatcacttgaggccaggagttcaagactagcctagccaaaatgcaaaacc	4320
tgtctctactaaagatacaaaaattagccggtatgcgatggcacatgcctgtaactctcagc	4380
tactcgggaggtgaggtagagaatcgttgaaacggggagggagaggttgcaagtgcgc	4440
aagatggcgccactgcactccagcctgggtgacagaggagactccatctcaaaaaaaa	4500
aaaaaaaaaaaaagataaaaaggaaaacctaaagtactcttgggctttgttaaggattttgt	4560
aaatatacaaaaggattgcagggaataaacttatttttaatataggtatgcttatcca	4620
agagcaaaaataatatttctccatttattcaaatcatttaggagcatcatagttttaacat	4680
atgggccttgcaagtatcttaaatttatctctaggcatttttaggttgttcagttgttct	4740
gtgaatgggattcttttctccaaataggattattgttgatattctgttgattatgttaact	4800
ttgtagttcttgactttactgaactgtctctcttagatctaatactctttcaatttcac	4860
atataatttctcatttctattttgtttgggttttttagggcgggaatatlaacgggataag	4920
agagacaaaaaagaaatctggaaaaaaattcattttaccttacattgcttggtgattacta	4980
ccacactattactgggttggaaaaaattgtgaaatcccaaggtgcctaataaatgggagg	5040
tacctaaagtgttcatttaattgaattgtaattatttggaatttctcttccagtgcgaag	5100
ctcttcattggagatggcagagctcatggtctcagaaggctggaaggatgcaggttatgag	5160
tacctctgattgatgactgttggtggctcccaagagattcagaaggcagacttcag	5220
gcagacctcagcgttcttctcatgggattcgccagctagctaatatgtgagtttatag	5280
ataatgttcttctgttcattcagaggactgtaagcactctctgtacagaagcttgtttagaaa	5340
cagccctcatggcgggctggtggctcagcgtgtaatcccaacactttgggagggcgag	5400
gcgggtggatcacctgaggtcaagagttcaagaccagcctggccaacatggtgaaacccc	5460
aaactctattaaaagtacaaaaaattagctgggcattggtggtgaaacgctgtaaccccagc	5520
tactttgggaggtgagggcaggagaatcgttgaaacccagggaggtggaagtttcagtgagc	5580
tgagatcacgccattgcactctagcctgggcaacaaaagagaaactccatctcaaaaaaa	5640
aaaaaaggaaaaaaagaaacagccctcatgacacttagaaaagtagaatagctggctgtt	5700
atctgaacattgaattgtaaggcttatcaggtggactttgcattccatcagcagacaatt	5760

Фиг. 1В

- 26 -

tctatcaacagtccttccaccaglatctctaaaaatctcctgaatcagccacttccct	8700
ccacttctcaatgacagcctggcctccaagctactatcggtctccaaccagactgct	8760
gggaccacctgatctctctgcttccactctgtctccaacccccctctattttccaagcagc	8820
actagagtatcatattaaaatgtaaatatcagttttttttaagaaaaaacctga	8880
gacttaacagagttataaaaaatataaatgcatcagtlccctgcttaaaacccctta	8940
actcgcttccaattgcacttggaaatgaaccaaactgcactgatccagcccttgctgccc	9000
tcccaaaagccaaggggtcatggctcttccctggctacactggttttctctgctccc	9060
tcaacactgcaagcctattgctgcccagggtcttacacttgctttttctgcttaga	9120
acagttcttcccaaaagatttttaaaggccgggtccttaacattgaagtcgcagacca	9180
aacgccacatatgcagacagtttctcttaactactttaaaatagccctctgtccattca	9240
ttcttcatcacattaacctgtttaattttctctcagagctccacactatttgggaagtat	9300
ttgttgacttgttaccatgtctcccactagagtgttaagtttcatgagggcagggacctt	9360
gtctgactttgactgtatctctcgcatatggttaagtgtaaatagttatttggaaatg	9420
aatccctattattccctcattatctctgcaaaatagttctttttctcaacatcttaaac	9480
tgatatccacactgctctatctacaaaacttttttttgcgacagagttctcaactgtc	9540
ggctagagtgcaagtggcgccatctcggtcactgcaacctccgctcccggttttaagcg	9600
attctcttgctcagcctcccagtagctgggattataggcgtgcgtaccacatctggct	9660
aatttttgtatttttagtagagatggtttccacatgttggccagggtgtctcgaactcc	9720
tgacctcagatgatccacctgctcgccctcccaagtgctgggattacaggcacatgacc	9780
accgtgcccagcctctacaaaactttttattccattacaaaactatctgctgggatttaag	9840
ttttcttaactttgatggagtcttatgtaattttcgagcttttaattttactaagacca	9900
ttttagttctgattatagaagtaaattaactttaagggatttcaagttatatggcctact	9960
tctgaagcaaacctcttacagtgaataatctattataagggtttagacctccttatggaga	10020
cgttcaalctgtaaaclcaagagaaggctacaagtgccctctttaaactgtttcatctc	10080
acagaggtatgtatgagaagtaaacagaagagtcattatctgttttccagccccaattata	10140
cagaatcccgacagtagtccaatcactggcgaaattttgctgacattgatgattcctgga	10200
aaagtataaagagtatcttggactggacatcttttaaccaggagagaattgttgatgtg	10260
ctgggaccaggggttggaatgaccagataggttaaaaacttgagccctccttgttcaag	10320
accctcggttaggcttgtttcctattttgacattcaaggttaaatacaggttaagttcctg	10380
ggagggaggtcttatgtgagagtagtagagcaggtgctgtggaagtggtttctccata	10440
tgggtcatctaggtaactttlaagaatgtttccctctctgtgttgtaattatttcatctc	10500
ttttctcagttagtgattggcaactttggcctcagctggaatcagcaagtaactcagatg	10560
gccctctgggtatcatggctgctcctttattcatgtctaatgacctccgacacatcagc	10620
cctcaagccaaagctcctccaggaataaggacgtaattgccatcaalcaggaccccttg	10680
ggcaagcaaggttagcagcttagacaggttaataagagttatatatttaagatggcttta	10740
tatacccaataccaaactttgtcttgggctaaactctattttttccctgctcttgatgt	10800
tactatcagtaataaagcttctgtctagaacattactttatttccaaaataatgctaca	10860
ggatcatctttaatttttctacaaagtgttgatagttctgacattaaagaatgaatgccaa	10920
actaacaggccacttatcactagttgctaaagcaaccacactttcttggttttcaggga	10980
gacaactttgaagtgtgggaacgacctctctcaggttagcctgggctgtagctatgata	11040
aaacggcaggagatttggtggacctcgctcttataccatcgagttgcttccctgggtaaa	11100
ggagtgccctgtaatcctgctgcttcatcacacagctcctccctgtgaaaagggaagcta	11160
gggtcttatgaatggacttcaaggttaagaagtcacataaatccacaggcactgttttg	11220
cttcagctagaaaaacaaatgcagatgtcattaaaagacttactttaaaatgtttatttt	11280
attgccaaactacttctctgtccacctttttctccattcactttaaaagctcaaggcta	11340
gggtgctcatgctgtaatcccagcaactttgggaggtgagggggcagatcacctgagg	11400
tcgggactttgagacccgctgggacaacatggtgaaacccacttctataaaaaataaa	11460
aaattagccaggtgtggtggcgacactgtggtcccagctactctgggggtgagggcatga	11520

Фиг. 1D

gaatcgcttgaacccgggagtgagggttgacattgagctgagatcatgccacctcactcca	11580
gcctgggcaacaaagattccactctcaaaaaaaaaaaaaagccaggcagctggctcatg	11640
ctlggaatcccagcacttttggaagctgagggcaggcagatcactlgaggttaggatttca	11700
agaccagcctggctaacatagtaaagccctgtctctactaaaaatacaaaaaattagccag	11760
gtatggtggcgagcttctgtagccccagctactcagggaactgagggcaggagaatcactt	11820
gaacccgggaagtgggggggtgcagtgaccacaagatcacgccactgcattccagcctggg	11880
caacagagcaagactccactctcaaaaaaaaaaagttctatttcccttgaataaaatttccg	11940
aagtttaaaactttaggaataaaaactatttaaccggtatttactcatccagataccacccc	12000
cccttgttgagattctctcccaattatcaaaatgtgtagcatatttaactaccaagagct	12060
aaacatcattaaagactgaaatgtattaaagaagatgtataggccaggcacggtgtctcac	12120
gcctgtaatcccaacactttggggaggccaagtggggcgatcacgggtcaggagatgga	12180
gaccatcctggccaacatggtgaaacccctctctactaaaaatacaaaaaattagccagg	12240
caggtggcaggcacctgtaatcccagctactccagaggtgagggcaggacaatcacttga	12300
acctgggagggcagaggtgcagtgagctgaggttgtaccaattgcactccagcctaggta	12360
acgagcaacactccatctcaaaaaaagaaaaaaaagatgtataatttggaaactgtta	12420
agaggcattttaaga	12436

Фиг. 1E

MQLRNPHEL GCALALRFLA LVSWDIPGAR ALDNLARLP TMGWLHWERF MCNLDCQEEP	60
DSICISEKLFM EMAELMVSEG WKDAGYEYLC IDDCWMAPQR DSEGRLLQADP QRFPHGIRQL	120
ANYVHSKGLK LGIYADVGNK TCAGFFGSFG YYDIDAQTFA DWGVLLKFD GCYCDLENL	180
ADGYKHMSLA LNRTGRSIVY SCEWPLYMWP FQKPNYTEIR QYCNHWRNFA DIDDSWKSIK	240
SILDWTSFNQ ERIVDVAGPG GWNDPDLVI GNFGLSWNQQ VTQMALWAIM AAPLFMSNDL	300
RHISPQAKAL LQDKDVIAIN QDPLGKQYQ LRQGDNEFVW ERPLSGLAWA VAMINRQEI	360
GPRSYTIAVA SLGKGVACNP ACFITQLLPV KRKLGFYEWY SRLRSHINPT GTVLLQLENT	420
MQMSLKDLL	429

Фиг. 2

Atgcagctgaggaatcccgagctccacctgggctgtgctctggctctgcggttcctggcc	60
Ctcgtgtcctgggacatccctggcgctagggccctcgataacggactggccggaccccc	120
Acaatgggatggctccactgggaaagggttcattgtgcaatctggactgtcaggaggaacc	180
Gactcctgcatcagcgaaaagctcttcattggagatggccgagctgatggtgagcgagggc	240
Tggaaggacgcccgtacgagtatctgtgcatcgatgactgctggatggccctcaaagg	300
Gactccgaaggcaggctgcaggctgatcccaaagggttccccacggaatccggcagctc	360
Gccaaactcgtgcattccaaagggtcctcaagctcggcattctacgccgaagtgggcaacaaa	420
Acatggccgggattccccggcagcttcggctactacgacatcgacgccagacattcgct	480
Gattggggagtggaacctgctgaagttcgacggctgttactgcatccctggaaaacctg	540
Gccgacggctacaaacacatgtccctcgccctgaaccggacaggcaggtccatcgtgtac	600
Agctgcgagtggccctgtacatgtggcctttccagaagcccaactacacagagatcagg	660
Cagtactgcaaccactggaggaacttcgctgacatcgacgactcctggaagagcatcaag	720
Agcatcctggactggaccagcttcaaccaggagaggatcgtggaactggctggacccgga	780
Ggctggaacgaccccgatatgctggtgattggcaacttcggactgagctggaaccagcag	840
Gtgaccagatggccctgtggccattatggccgctccctgttcattgtccaacgacctg	900
Aggcacatcagcccccaggccaaggctctgctgcaggacaaggatgtgatcgccatcaac	960
Caggacccccgggcaagcagggtaccagctgaggcaaggagataacttcgaggtgtgg	1020
Gagaggccctgtccggactggcttggccgtggccatgatcaatcggcaggagatcggc	1080
Ggaccccggtcctacaccattgctgtggccagctgggaaaaggagtcgctgcaacccc	1140
Gcctgcttcattaccagctgctcccggtgaagcggaagctgggcttctatgagtggacc	1200
Agcaggctgaggtcccatatcaatcctacgggcacgctcctcctccagctcgagaatacc	1260
Atgcagatgagcctcaaggatctgctgtga	1290

Фиг. 3

