

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 993 833**

51 Int. Cl.:

A61K 31/445 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.01.2019 PCT/US2019/013761**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.02.2020 WO20040806**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.01.2019 E 19703514 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.07.2024 EP 3840753**

54 Título: **Migalastat para su uso en métodos de tratamiento de la enfermedad de Fabry en pacientes que tienen una mutación en el gen GLA**

30 Prioridad:

20.08.2018 US 201862719962 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

10.01.2025

73 Titular/es:

**AMICUS THERAPEUTICS, INC. (100.00%)
3675 Market Street
Philadelphia, PA 19104, US**

72 Inventor/es:

BENJAMIN, ELFRIDA

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 993 833 T3

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

DESCRIPCIÓN

Migalastat para su uso en métodos de tratamiento de la enfermedad de Fabry en pacientes que tienen una mutación en el gen GLA

5

CAMPO TÉCNICO

Principios y realizaciones de la presente invención se refieren, en general, a migalastat o una sal del mismo para uso en el tratamiento de la enfermedad de Fabry en pacientes con mutaciones en el gen de la α -galactosidasa (GLA) como se define en las reivindicaciones adjuntas.

10

ANTECEDENTES

Muchas enfermedades humanas son consecuencia de mutaciones que provocan cambios en la secuencia de aminoácidos de una proteína, lo que reduce su estabilidad y puede impedir que se pliegue correctamente. Las proteínas generalmente se pliegan en una región específica de la célula conocida como retículo endoplasmático o ER (por sus siglas en inglés). La célula tiene mecanismos de control de calidad que garantizan que las proteínas se plieguen en su forma tridimensional correcta antes de que puedan pasar del ER al destino apropiado en la célula, un proceso que generalmente se conoce como tráfico de proteínas. Las proteínas mal plegadas se eliminan a menudo mediante los mecanismos de control de calidad después de haber sido retenidas inicialmente en el ER. En determinados casos, las proteínas mal plegadas pueden acumularse en el ER antes de ser eliminadas. La retención de proteínas mal plegadas en el ER interrumpe su correcto tráfico, y la actividad biológica reducida resultante puede conducir a una función celular deteriorada y, en última instancia, a la enfermedad. Además, la acumulación de proteínas mal plegadas en el ER puede conducir a diversos tipos de estrés en las células, lo que también puede contribuir a la disfunción celular y a la enfermedad.

15

20

25

Mutaciones de este tipo pueden dar lugar a trastornos de almacenamiento lisosomal (LSD, por sus siglas en inglés), que se caracterizan por deficiencias de enzimas lisosomales debido a mutaciones en los genes que codifican las enzimas lisosomales. La enfermedad resultante provoca la acumulación patológica de sustratos de esas enzimas, que incluyen lípidos, hidratos de carbono y polisacáridos. Aunque hay muchos genotipos mutantes diferentes asociados con cada LSD, muchas de las mutaciones son mutaciones sin sentido que pueden conducir a la producción de una enzima menos estable. Estas enzimas menos estables a veces se degradan prematuramente por la vía de degradación asociada al ER. Esto da lugar a la deficiencia de enzima en el lisosoma y a la acumulación patológica de sustrato. En la técnica pertinente, a estas enzimas mutantes a veces se las denomina "mutantes de plegamiento" o "mutantes conformacionales".

30

35

La enfermedad de Fabry es un LSD provocado por una mutación en el gen GLA, que codifica la enzima α -galactosidasa A (α -Gal A). La α -Gal A es necesaria para el metabolismo de los glicoesfingolípidos. La mutación provoca que el sustrato globotriaosilceramida (GL-3) se acumule en diversos tejidos y órganos. Los varones con enfermedad de Fabry son hemocigotos porque los genes de la enfermedad están codificados en el cromosoma X. Se estima que la enfermedad de Fabry afecta a 1 de cada 40.000 y 60.000 varones, y se presenta con menos frecuencia en mujeres.

40

Existen varios enfoques para el tratamiento de la enfermedad de Fabry. Una terapia aprobada para tratar la enfermedad de Fabry es la terapia de reemplazo enzimático (ERT, por sus siglas en inglés), que típicamente implica la infusión intravenosa de una forma purificada de la proteína de tipo salvaje correspondiente. Actualmente hay dos productos α -Gal A disponibles para el tratamiento de la enfermedad de Fabry: agalsidasa alfa (Replagal[®], Shire Human Genetic Therapies) y agalsidasa beta (Fabrazyme[®], Sanofi Genzyme Corporation). Sin embargo, la ERT tiene varios inconvenientes. Una de las principales complicaciones con la ERT es la rápida degradación de la proteína infundida, lo que conduce a la necesidad de numerosas infusiones costosas de dosis altas. La ERT tiene varias advertencias adicionales, tales como dificultades con la generación, purificación y almacenamiento a gran escala de proteína correctamente plegada; obtención de proteína nativa glicosilada; generación de una respuesta inmune anti-proteína; e incapacidad de la proteína de cruzar la barrera hematoencefálica para mitigar las patologías del sistema nervioso central (es decir, baja biodisponibilidad). Además, la enzima de reemplazo no puede penetrar en el corazón o el riñón en cantidades suficientes para reducir la acumulación de sustrato en los podocitos renales o los miocitos cardíacos, que ocupan un lugar destacado en la patología de Fabry.

45

50

55

Otro enfoque para tratar algunas deficiencias enzimáticas implica el uso de inhibidores de moléculas pequeñas para reducir la producción del sustrato natural de las proteínas enzimáticas deficientes, mejorando con ello la patología. Este enfoque de "reducción del sustrato" se ha descrito específicamente para una clase de aproximadamente 40 LSD que incluyen trastornos de almacenamiento de glicoesfingolípidos. Los inhibidores de moléculas pequeñas propuestos para su uso como terapia son específicos para inhibir las enzimas implicadas en la síntesis de glicolípidos, reduciendo la cantidad de glicolípidos celulares que necesita ser degradado por la enzima deficiente.

60

Un tercer enfoque para tratar la enfermedad de Fabry ha sido el tratamiento con lo que se denomina chaperonas farmacológicas (PC, por sus siglas en inglés). PC de este tipo incluyen inhibidores de moléculas pequeñas de α -Gal A, que pueden unirse a la α -Gal A para aumentar la estabilidad tanto de la enzima mutante como del tipo salvaje

65

correspondiente. Sin embargo, los pacientes que reciben terapia con PC deberían tener una mutación o variante susceptible que dé como resultado la producción de una enzima que tenga el potencial de estabilizarse y plegarse en una conformación que permita su tráfico fuera del ER. La información de prescripción para Galafold se describe en la URL: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/208623lbl.pdf. Además, Benjamin et al. describen la validación de la farmacogenética para la identificación de pacientes con Fabry que serán tratados con migalastat (Genet Med 19(4): 430-438, 2017).

No obstante, incluso cuando la enfermedad de Fabry se diagnostica detectando una actividad deficiente de α -Gal A en el plasma o en los leucocitos periféricos (WBC, por sus siglas en inglés), es muy difícil, si no imposible, predecir si un paciente de Fabry en particular responderá al tratamiento con una PC. Por lo tanto, sigue siendo necesario identificar nuevas mutaciones o variantes de GLA que respondan a una PC y poner a disposición nuevos métodos de tratamiento para los pacientes de Fabry con estas mutaciones o variantes.

SUMARIO

La invención pertenece a migalastat o una sal del mismo para su uso en un método para el tratamiento de la enfermedad de Fabry en un paciente humano que lo necesita, tal como se define en las reivindicaciones adjuntas. El método comprende administrar al paciente una dosis terapéuticamente eficaz de migalastat o una sal del mismo, en donde el paciente tiene una mutación sin sentido de la secuencia de ácido nucleico que codifica α -Gal A. La mutación es Y88S o R392T. En diversas realizaciones, estas mutaciones se refieren a SEQ ID NO: 2. En una o más realizaciones, la mutación es Y88S relativa a SEQ ID NO: 2. En una o más realizaciones, la mutación es R392T relativa a SEQ ID NO: 2. En una o más realizaciones, la dosis de migalastat o una sal del mismo es de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 150 mg de equivalente de base libre (FBE, por sus siglas en inglés). En algunas realizaciones, la sal de migalastat es hidrocloreto de migalastat. En una o más realizaciones, la dosis es de aproximadamente 150 mg cada dos días de hidrocloreto de migalastat o una dosis equivalente de migalastat o una sal del mismo distinta de la sal de hidrocloreto. En algunas realizaciones, el migalastat o la sal del mismo se administran por vía oral o por inyección. Estas realizaciones se pueden combinar entre sí o con otras realizaciones de la invención.

A continuación se enumeran diversas realizaciones. Se entenderá que las realizaciones enumeradas a continuación pueden combinarse no solo como se enumera a continuación, sino también en otras combinaciones adecuadas de acuerdo con el alcance de la invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Las FIGS. 1A-E muestran la secuencia de ADN completa del gen GLA de tipo salvaje humano (SEQ ID NO: 1); la FIG. 2 muestra la proteína α -Gal A de tipo salvaje (SEQ ID NO: 2); y la FIG. 3 muestra la secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína α -Gal A de tipo salvaje (SEQ ID NO: 3).

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Antes de describir varias realizaciones ejemplares de la invención, se debe entender que la invención no se limita a los detalles de construcción o etapas de procedimiento recogidos en la siguiente descripción. La invención es susceptible de otras realizaciones y de ser puesta en práctica o llevada a cabo de diversas maneras.

Diversos aspectos de la invención pertenecen a la identificación de nuevas mutaciones de GLA en pacientes con Fabry que responderán al tratamiento con chaperonas farmacológicas. Otros aspectos de la invención pertenecen también al tratamiento de estos pacientes con Fabry. Por ejemplo, se ha descubierto, inesperadamente, que la baja actividad de α -Gal A resultante de las mutaciones sin sentido D33H, G35A, Y88S, T194A, W204G, Y216S, Q250K, R392T, N53K, Q57R, S62delinsLA, M96V, R112L, D155E, N228D, Q330P, V339A, K391E, N408Y, V22G, N34H, G80V, Q107R, Y152D, A156S, L189F, W204L, S238G, I239M, A257V, P259Q, N320H, P323T, E338V, P380L o T412P en α -Gal A se puede aumentar cuando se expone a chaperonas farmacológicas. Por extensión, los pacientes con estas mutaciones responderán al tratamiento con chaperonas farmacológicas.

Definiciones

Los términos y las expresiones utilizados en esta memoria descriptiva tienen generalmente sus significados habituales en la técnica, dentro del contexto de esta invención y en el contexto específico en el que se utiliza cada uno de los términos y expresiones. A continuación o en otras partes de la memoria descriptiva se comentan determinados términos y expresiones para proporcionar una orientación adicional al profesional en la descripción de las composiciones y los métodos de la invención y cómo prepararlos y utilizarlos.

La expresión "enfermedad de Fabry" se refiere a un error congénito ligado al cromosoma X del catabolismo de los glicoesfingolípidos debido a una actividad deficiente de la α -Gal A lisosomal. Este defecto provoca la acumulación del sustrato globotriaosilceramida ("GL-3", también conocida como Gb₃ o ceramida trihexósido) y glicoesfingolípidos

relacionados en los lisosomas endoteliales vasculares del corazón, los riñones, la piel y otros tejidos. Otro sustrato de la enzima es la globotriaosilesfingosina plasmática ("liso-Gbs plasmática").

Una "portadora" es una mujer que tiene un cromosoma X con un gen α -Gal A defectuoso y un cromosoma X con el gen normal y en quien la inactivación del alelo normal del cromosoma X está presente en uno o más tipos de células. A menudo, a una portadora se le diagnostica la enfermedad de Fabry.

Un "paciente" se refiere a un sujeto al que se le ha diagnosticado o se sospecha que padece una enfermedad en particular. El paciente puede ser un ser humano o un animal.

Un "paciente de Fabry" se refiere a una persona a la que se le ha diagnosticado o se sospecha que padece la enfermedad de Fabry y que tiene una α -Gal A mutada, como se define más adelante. Marcadores característicos de la enfermedad de Fabry pueden presentarse en hombres hemocigotos y mujeres portadoras con la misma prevalencia, aunque las mujeres se ven típicamente menos seriamente afectadas.

La α -galactosidasa A humana (α -Gal A) se refiere a una enzima codificada por el gen GLA humano. La secuencia de ADN completa de α -Gal A, incluyendo los intrones y exones, está disponible en GenBank con número de acceso X14448.1 y se muestra en las FIGS. 1A-E (SEQ ID NO: 1). La enzima α -Gal A humana consiste en 429 aminoácidos y está disponible en GenBank con números de acceso X14448.1 y U78027 y se muestra en la FIG. 2 (SEQ ID NO: 2). La secuencia de ácido nucleico que solo incluye las regiones codificantes (es decir, los exones) de SEQ ID NO: 1 se muestra en la FIG. 3 (SEQ ID NO: 3).

La expresión "proteína mutante" incluye una proteína que tiene una mutación en el gen que codifica la proteína, lo que da como resultado la incapacidad de la proteína de lograr una conformación estable en las condiciones normalmente presentes en el ER. La incapacidad de lograr una conformación estable da como resultado que una cantidad sustancial de la enzima se degrade, en lugar de ser transportada al lisosoma. A veces, una mutación de este tipo se denomina "mutante conformacional". Mutaciones de este tipo incluyen, pero no se limitan a mutaciones sin sentido y pequeñas deleciones e inserciones dentro del marco de lectura. Tal como se utiliza en esta memoria, las deleciones se indican con la abreviatura "del" y las inserciones con la abreviatura "ins". Por lo tanto, el cambio de nucleótido "c.184_185insTAG" se refiere a una inserción de la secuencia de nucleótidos TAG entre los nucleótidos 184 y 185 y el cambio de secuencia de proteína "S62delinsLA" se refiere a una deleción del aminoácido S (serina) en la posición 62 y una inserción de la secuencia de aminoácidos LA (leucina y alanina).

Tal como se utiliza en esta memoria en una realización, el término " α -Gal A mutante" incluye una α -Gal A que tiene una mutación en el gen que codifica la α -Gal A, lo que da como resultado la incapacidad de la enzima de lograr una conformación estable en las condiciones normalmente presentes en el ER. La incapacidad de lograr una conformación estable da como resultado que una cantidad sustancial de la enzima se degrade, en lugar de ser transportada al lisosoma.

Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "chaperona farmacológica específica" ("SPC", por sus siglas en inglés) o "chaperona farmacológica" ("PC") se refiere a cualquier molécula, incluida una molécula pequeña, proteína, péptido, ácido nucleico, hidrato de carbono, etc., que se une específicamente a una proteína y tiene uno o más de los siguientes efectos: (i) potencia la formación de una conformación molecular estable de la proteína; (ii) induce el tráfico de la proteína desde el ER a otra ubicación celular, preferiblemente una ubicación celular nativa, es decir, evita la degradación asociada al ER de la proteína; (iii) evita la agregación de proteínas mal plegadas; y/o (iv) restaura o potencia al menos parcialmente la función y/o actividad de tipo salvaje de la proteína. Un compuesto que se une específicamente a, p. ej., α -Gal A, significa que se une a la enzima y ejerce un efecto de chaperona sobre ella y no sobre un grupo genérico de enzimas relacionadas o no relacionadas. Más específicamente, esta expresión no se refiere a chaperonas endógenas tales como BiP, ni a agentes no específicos que han demostrado una actividad de chaperona no específica contra diversas proteínas, tales como glicerol, DMSO o agua deuterada, es decir, chaperonas químicas. En una o más realizaciones de la presente invención, la PC puede ser un inhibidor competitivo reversible. En la presente invención, la PC es migalastat o una sal del mismo. En una realización, la PC es la base libre de migalastat (p. ej., 123 mg de base libre de migalastat). En otra realización, la PC es una sal de migalastat (p. ej., 150 mg de HCl de migalastat).

Un "inhibidor competitivo" de una enzima puede referirse a un compuesto que se asemeja estructuralmente a la estructura química y la geometría molecular del sustrato enzimático para unirse a la enzima en aproximadamente la misma ubicación que el sustrato. Por lo tanto, el inhibidor compite por el mismo sitio activo que la molécula de sustrato, aumentando así el Km. La inhibición competitiva es habitualmente reversible si están disponibles suficientes moléculas de sustrato para desplazar al inhibidor, es decir, los inhibidores competitivos pueden unirse de forma reversible. Por lo tanto, la cantidad de inhibición enzimática depende de la concentración del inhibidor, la concentración del sustrato y las afinidades relativas del inhibidor y el sustrato por el sitio activo.

Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "se une específicamente" se refiere a la interacción de una chaperona farmacológica con una proteína tal como α -Gal A, específicamente, una interacción con residuos de aminoácidos de la proteína que participan directamente en el contacto con la chaperona farmacológica. Una chaperona

farmacológica se une específicamente a una proteína diana, por ejemplo, α -Gal A, para ejercer un efecto de chaperona sobre la proteína y no sobre un grupo genérico de proteínas relacionadas o no relacionadas. Los residuos de aminoácidos de una proteína que interactúan con cualquier chaperona farmacológica dada pueden estar o no dentro del "sitio activo" de la proteína. La unión específica se puede evaluar a través de ensayos de unión rutinarios o a través de estudios estructurales, p. ej., co-cristalización, RMN y similares. El sitio activo para α -Gal A es el sitio de unión del sustrato.

"Actividad deficiente de α -Gal A" se refiere a una actividad de α -Gal A en células de un paciente que está por debajo del intervalo normal en comparación (utilizando los mismos métodos) con la actividad en individuos normales que no tienen o no se sospecha que tienen Fabry o cualquier otra enfermedad (especialmente una enfermedad de la sangre).

Tal como se utiliza en esta memoria, las expresiones "potenciar la actividad de α -Gal A" o "aumentar la actividad de α -Gal A" se refieren a aumentar la cantidad de α -Gal A que adopta una conformación estable en una célula en contacto con una chaperona farmacológica específica para la α -Gal A, en relación con la cantidad en una célula (preferiblemente del mismo tipo celular o la misma célula, p. ej., en un momento anterior) que no ha entrado en contacto con la chaperona farmacológica específica para la α -Gal A. Esta expresión también se refiere a aumentar el tráfico de α -Gal A al lisosoma en una célula en contacto con una chaperona farmacológica específica para la α -Gal A, en relación con el tráfico de α -Gal A que no ha entrado en contacto con la chaperona farmacológica específica para la proteína. Estos términos se refieren tanto a la α -Gal A de tipo salvaje como a la mutante. En una realización, el aumento en la cantidad de α -Gal A en la célula se mide midiendo la hidrólisis de un sustrato artificial en lisados de células que han sido tratadas con la PC. Un aumento en la hidrólisis es indicativo de una mayor actividad de α -Gal A.

La expresión "actividad de α -Gal A" se refiere a la función fisiológica normal de una α -Gal A de tipo salvaje en una célula. Por ejemplo, la actividad de α -Gal A incluye la hidrólisis de GL-3.

Un "respondedor" es un individuo al quien se ha diagnosticado o es sospechoso de tener un trastorno de almacenamiento lisosomal tal como, por ejemplo, la enfermedad de Fabry, cuyas células muestran una actividad de α -Gal A suficientemente aumentada, respectivamente, y/o una mejora de los síntomas o un potenciamiento en los marcadores sustitutos, en respuesta al contacto con una PC. Ejemplos no limitativos de mejoras en los potenciamientos sustitutos para Fabry son los liso-GB y los descritos en la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. Nº US 2010-0113517.

Ejemplos no limitantes de mejoras en los marcadores sustitutos para la enfermedad de Fabry descritos en el documento US 2010/0113517 incluyen aumentos en los niveles o la actividad de α -Gal A en células (p. ej., fibroblastos) y tejido; reducciones en la acumulación de GL-3; concentraciones plasmáticas reducidas de homocisteína y molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM-1); acumulación reducida de GL-3 dentro de las células miocárdicas y fibrocitos valvulares; reducción de liso-Gbs plasmáticos; reducción de la hipertrofia cardíaca (especialmente del ventrículo izquierdo), mejora de la insuficiencia valvular y arritmias; mejora de la proteinuria; concentraciones urinarias reducidas de lípidos tales como CTH, lactosilceramida, ceramida y concentraciones urinarias aumentadas de glucosilceramida y esfingomielina; la ausencia de cuerpos de inclusión laminados (cuerpos cebra) en células epiteliales glomerulares; mejoras en la función renal; mitigación de la hipohidrosis; la ausencia de angioqueratomas; y mejoras en las anomalías auditivas tales como la pérdida auditiva neurosensorial de alta frecuencia, pérdida auditiva progresiva, sordera súbita o tinnitus. Las mejoras en los síntomas neurológicos incluyen la prevención del ataque isquémico transitorio (TIA, por sus siglas en inglés) o accidente cerebrovascular; y la mejora del dolor neuropático que se manifiesta como acroparestesia (ardor u hormigueo en las extremidades). Otro tipo de marcador clínico que se puede evaluar para la enfermedad de Fabry es la prevalencia de manifestaciones cardiovasculares deletéreas. Los signos y síntomas comunes relacionados con el corazón de la enfermedad de Fabry incluyen hipertrofia ventricular izquierda, enfermedad valvular (especialmente prolapso y/o regurgitación de la válvula mitral), enfermedad coronaria prematura, angina, infarto de miocardio, anomalías de la conducción, arritmias, insuficiencia cardíaca congestiva.

La dosis que logra una o más de las respuestas mencionadas anteriormente es una "dosis terapéuticamente eficaz".

La expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a entidades moleculares y composiciones que son fisiológicamente tolerables y que típicamente no producen reacciones adversas cuando se administran a un ser humano. En algunas realizaciones, como se utiliza en esta memoria, la expresión "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora del Gobierno Federal o Estatal de EE.UU. o incluido en la Farmacopea de EE.UU. u otra farmacopea generalmente reconocida para su uso en animales y, más particularmente, en seres humanos. El término "portador" en referencia a un portador farmacéutico se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el que se administra el compuesto. Portadores farmacéuticos de este tipo pueden ser líquidos estériles tales como agua y aceites. Se emplean preferiblemente soluciones acuosas o soluciones salinas acuosas y soluciones acuosas de dextrosa y glicerol como portadores, particularmente para soluciones inyectables. Portadores farmacéuticos adecuados se describen en "Remington's Pharmaceutical Sciences" de E.W. Martin, 18ª edición, u otras ediciones.

Tal como se utiliza en esta memoria, el término "aislado" significa que el material al que se hace referencia se elimina del entorno en el que se encuentra normalmente. Por tanto, un material biológico aislado puede estar libre de

componentes celulares, es decir, componentes de las células en las que se encuentra o se produce el material. En el caso de moléculas de ácido nucleico, un ácido nucleico aislado incluye un producto de PCR, una banda de ARNm en un gel, un ADNc o un fragmento de restricción. En otra realización, un ácido nucleico aislado se escinde preferiblemente del cromosoma en el que se puede encontrar, y más preferiblemente ya no está unido a regiones no reguladoras, no codificantes, o a otros genes, ubicados aguas arriba o aguas abajo del gen contenido por la molécula de ácido nucleico aislada cuando se encuentra en el cromosoma. En aún otra realización, el ácido nucleico aislado carece de uno o más intrones. Ácidos nucleicos aislados incluyen secuencias insertadas en plásmidos, cósmidos, cromosomas artificiales y similares. Por tanto, en una realización específica, un ácido nucleico recombinante es un ácido nucleico aislado. Una proteína aislada puede estar asociada con otras proteínas o ácidos nucleicos, o ambos, con los que se asocia en la célula, o con membranas celulares si es una proteína asociada a la membrana. Un orgánulo, célula o tejido aislado se elimina del sitio anatómico en el que se encuentra en un organismo. Un material aislado puede purificarse, pero no es necesario.

El término "aproximadamente" significará generalmente un grado aceptable de error para la cantidad medida dada la naturaleza o precisión de las mediciones. Grados de error típicos y ejemplares están dentro del 20 por ciento (%), preferiblemente dentro del 10 %, y más preferiblemente dentro del 5 % de un valor o intervalo de valores dado. Alternativamente, y particularmente en sistemas biológicos, el término "aproximadamente" puede significar valores que están dentro de un orden de magnitud, preferiblemente dentro de 10 o 5 veces, y más preferiblemente dentro de 2 veces de un valor dado. Las cantidades numéricas dadas en esta memoria son aproximadas, a menos que se indique lo contrario, lo que significa que el término "aproximadamente" se puede inferir cuando no se indica expresamente.

La expresión "terapia de reemplazo enzimático" o "ERT" se refiere a la introducción de una enzima no nativa y purificada en un individuo que tiene una deficiencia de una enzima de este tipo. La proteína administrada puede obtenerse de fuentes naturales o por expresión recombinante (como se describe con mayor detalle más adelante). La expresión también se refiere a la introducción de una enzima purificada en un individuo que de otro modo requiere o se beneficia de la administración de una enzima purificada, p. ej., que padece insuficiencia enzimática. La enzima introducida puede ser una enzima recombinante purificada producida *in vitro*, o una proteína purificada a partir de tejido o fluido aislado tal como, p. ej., placenta o leche animal, o de plantas.

Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "equivalente de base libre" o "FBE" se refiere a la cantidad de migalastat presente en el migalastat o en una sal del mismo. En otras palabras, el término "FBE" significa una cantidad de base libre de migalastat o la cantidad equivalente de base libre de migalastat que proporciona una sal de migalastat. Por ejemplo, debido al peso de la sal de hidrocloreto, 150 mg de hidrocloreto de migalastat solo proporcionan tanto migalastat como 123 mg de la forma de base libre de migalastat. Se espera que otras sales tengan diferentes factores de conversión, dependiendo del peso molecular de la sal.

El término "migalastat" abarca la base libre de migalastat o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (p. ej., migalastat HCl), a menos que se indique específicamente lo contrario.

Los términos "mutación" y "variante" (p. ej., como en "mutación o variante susceptible") se refieren a un cambio en la secuencia de nucleótidos de un gen o un cromosoma. Los dos términos a los que se hace referencia en esta memoria se utilizan típicamente juntos – p. ej., como en "mutación o variante" -, haciendo referencia al cambio en la secuencia de nucleótidos indicado en la frase anterior. Si por alguna razón solo se menciona uno de los dos términos, se pretendía incluir el término que faltaba y se debe entender como tal. Además, las expresiones "mutación susceptible" y "variante susceptible" se refieren a una mutación o variante susceptible a la terapia con PC, p. ej., una mutación susceptible a la terapia con migalastat. Un tipo particular de mutación o variante susceptible es una "mutación o variante susceptible al ensayo HEK", que es una mutación o variante que se determina que es susceptible a la terapia con migalastat según los criterios del ensayo HEK *in vitro* descrito en esta memoria.

50 Enfermedad de Fabry

La enfermedad de Fabry es un trastorno de almacenamiento lisosomal raro, progresivo y devastador ligado al cromosoma X. Las mutaciones en el gen GLA dan lugar a una deficiencia de la enzima lisosomal α -Gal A, necesaria para el metabolismo de los glicosfingolípidos. La reducción de la actividad de α -Gal A, que comienza en las primeras etapas de la vida, da lugar a una acumulación de glicosfingolípidos, incluyendo GL-3 y liso-Gb plasmáticos, y conduce a los síntomas y las secuelas que limitan la vida de la enfermedad de Fabry, incluyendo dolor, síntomas gastrointestinales, insuficiencia renal, miocardiopatía, eventos cerebrovasculares y mortalidad temprana. El inicio temprano de la terapia y el tratamiento de por vida proporcionan una oportunidad de retrasar la progresión de la enfermedad y prolongar la esperanza de vida.

La enfermedad de Fabry abarca un espectro de gravedad de la enfermedad y edad de aparición, aunque tradicionalmente se ha dividido en 2 fenotipos principales, "clásico" y "de aparición tardía". El fenotipo clásico se ha atribuido principalmente a varones con actividad de α -Gal A indetectable o baja y aparición más temprana de manifestaciones renales, cardíacas y/o cerebrovasculares. El fenotipo de aparición tardía se ha atribuido principalmente a varones con mayor actividad residual de α -Gal A y aparición más tardía de estas manifestaciones de

la enfermedad. Las mujeres portadoras heterocigotas expresan típicamente el fenotipo de aparición tardía, pero dependiendo del patrón de inactivación del cromosoma X también pueden mostrar el fenotipo clásico.

Se han identificado más de 1000 mutaciones de GLA que provocan la enfermedad de Fabry. Aproximadamente el 60 % son mutaciones sin sentido, que resultan en sustituciones de un solo aminoácido en la enzima α -Gal A. Las mutaciones sin sentido de GLA resultan a menudo en la producción de formas anormalmente plegadas e inestables de α -Gal A y la mayoría están asociadas al fenotipo clásico. Los mecanismos normales de control de calidad celular en el retículo endoplasmático bloquean el tránsito de estas proteínas anormales a los lisosomas y las dirigen hacia una degradación y eliminación prematuras. Muchas formas mutantes sin sentido son dianas del migalastat, una chaperona farmacológica específica para α -Gal A.

Las manifestaciones clínicas de la enfermedad de Fabry abarcan un amplio espectro de gravedad y se correlacionan aproximadamente con los niveles residuales de α -GAL del paciente. La mayoría de los pacientes tratados actualmente se denominan pacientes con enfermedad de Fabry clásica, la mayoría de los cuales son varones. Estos pacientes padecen enfermedades de diversos órganos, incluyendo los riñones, el corazón y el cerebro, con síntomas de la enfermedad que aparecen por primera vez en la adolescencia y que progresan típicamente en gravedad hasta la muerte en la cuarta o quinta década de la vida. Un cierto número de estudios recientes sugieren que hay un gran número de varones y mujeres no diagnosticados que presentan una variedad de síntomas de la enfermedad de Fabry, tales como deterioro de la función cardíaca o renal y apoplejías, que habitualmente aparecen por primera vez en la edad adulta. Las personas con este tipo de enfermedad de Fabry, denominada enfermedad de Fabry de inicio tardío, tienden a tener niveles residuales de α -GAL más altos que los pacientes con enfermedad de Fabry clásica. Las personas con enfermedad de Fabry de inicio tardío experimentan típicamente los primeros síntomas de la enfermedad en la edad adulta y, a menudo, tienen síntomas de la enfermedad centrados en un solo órgano tal como agrandamiento del ventrículo izquierdo o insuficiencia renal progresiva. Además, la enfermedad de Fabry de aparición tardía también puede presentarse en forma de apoplejías de causa desconocida.

Los pacientes con Fabry presentan deterioro renal progresivo y los pacientes no tratados presentan deterioro renal terminal hacia la quinta década de vida. La deficiencia en la actividad de α -Gal A conduce a la acumulación de GL-3 y glicosfingolípidos relacionados en muchos tipos de células, incluyendo las células del riñón. GL-3 se acumula en los podocitos, las células epiteliales y las células tubulares del túbulo distal y el asa de Henle. El deterioro de la función renal puede manifestarse como proteinuria y reducción de la tasa de filtración glomerular.

Debido a que la enfermedad de Fabry es rara, afecta a múltiples órganos, tiene un amplio rango de edad de aparición y es heterogénea, el diagnóstico correcto es un desafío. Los profesionales de la salud no son muy conscientes de esta enfermedad y los diagnósticos erróneos son frecuentes. El diagnóstico de la enfermedad de Fabry se confirma con mayor frecuencia sobre la base de una actividad reducida de α -Gal A en el plasma o en los leucocitos periféricos (WBC) una vez que el paciente presenta síntomas, junto con un análisis mutacional. En las mujeres, el diagnóstico es incluso más difícil, ya que la identificación enzimática de las mujeres portadoras es menos fiable debido a la inactivación aleatoria del cromosoma X en algunas células de las portadoras. Por ejemplo, algunas portadoras obligadas (hijas de varones con la enfermedad clásica) tienen actividades enzimáticas de α -Gal A que van desde normales hasta muy bajas. Dado que los portadores pueden tener una actividad enzimática de α -Gal A normal en los leucocitos, solo la identificación de una mutación de α -Gal A mediante pruebas genéticas proporciona una identificación y/o diagnóstico precisos de la portadora.

Además, como se describió anteriormente, la edad de inicio, progresión y gravedad de la enfermedad de Fabry depende, al menos en parte, de la tasa de acumulación de sustrato, que se correlaciona con la actividad enzimática en los lisosomas. Por lo tanto, una falta total de actividad residual puede corresponder a una rápida acumulación de sustrato y, por lo tanto, a una forma más grave de la enfermedad (que tiene un inicio temprano y una progresión rápida). Sin embargo, incluso pequeñas cantidades de actividad residual pueden ser suficientes para degradar una gran cantidad de sustrato. Esto, a su vez, conduciría a una enfermedad más leve con un inicio más tardío y una progresión más lenta debido a la acumulación de sustrato más lenta. Considerando estos factores, se cree que incluso aumentos modestos en la actividad enzimática pueden reducir el efecto de un fenotipo clínico grave. Los datos sugieren que para la mayoría de los LSD, solo el 1 % al 6 % de la actividad normal se ha estimado como suficiente para retrasar o prevenir el inicio de la enfermedad o producir una forma más leve de la enfermedad. Es decir, solo pequeños aumentos en la actividad podrían tener un impacto significativo en los niveles de sustrato y, por lo tanto, la gravedad de la enfermedad y la tasa de progresión de la enfermedad. Por el contrario, se espera que una enzima lisosomal mutante que no muestra respuesta *in vitro* tampoco responda *in vivo*.

En una o más realizaciones, las formas mutantes o variantes de α -Gal A consideradas susceptibles a migalastat se definen como aquellas que muestran un aumento relativo (+10 μ M de migalastat) de $\geq 1,20$ veces y un aumento absoluto (+10 μ M de migalastat) de $\geq 3,0$ % del tipo salvaje cuando la forma mutante de α -Gal A se expresa en células HEK-293 (denominado "ensayo HEK") de acuerdo con el ensayo *in vitro* validado por las Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP, por sus siglas en inglés) (ensayo de aptitud a migalastat GLP o HEK según las Buenas Prácticas de Laboratorio). Mutaciones o variantes de este tipo también se denominan en esta memoria mutaciones o variantes "aptas al ensayo HEK".

Se han proporcionado métodos de detección previos que evalúan el potenciamiento de la enzima antes del inicio del tratamiento. Por ejemplo, se ha utilizado un ensayo que utiliza células HEK-293 en ensayos clínicos para predecir si una mutación dada responderá al tratamiento con chaperona farmacológica (p. ej., migalastat). En este ensayo, se crean construcciones de ADNc. Las formas mutantes de α -Gal A correspondientes se expresan transitoriamente en células HEK-293. A continuación, las células se incuban \pm migalastat (17 nM a 1 mM) durante 4 a 5 días. Después, se miden los niveles de α -Gal A en lisados de células utilizando un sustrato fluorogénico sintético (4-MU- α -Gal) o mediante transferencia Western. Esto se ha hecho para mutaciones de sentido erróneo o de inserción/delección en marco pequeñas que provocan enfermedades conocidas. Las mutaciones que se han identificado previamente como sensibles a una PC (p. ej., migalastat) utilizando estos métodos se enumeran en la Patente de EE. UU. N° 8.592.362.

Mutaciones susceptibles de ensayo HEK incluyen al menos aquellas mutaciones enumeradas en una tabla de referencia farmacológica (p. ej., las que se enumeran en las etiquetas de productos de EE.UU. o internacionales para un producto de migalastat tal como GALAFOLD®). Como se utiliza en esta memoria, "tabla de referencia farmacológica" se refiere a cualquier registro escrito o electrónico de acceso público, incluido en la etiqueta del producto dentro del envase de un producto de migalastat (p. ej., GALAFOLD®) o en un sitio web accesible para proveedores de atención médica, que transmite si una mutación o variante particular responde a la terapia de PC con migalastat (p. ej., GALAFOLD®), y no se limita necesariamente a registros escritos presentados en forma de tabla. En una realización de la presente invención, una "tabla de referencia farmacológica" se refiere, por lo tanto, a cualquier depósito de información que incluya una o más mutaciones o variantes susceptibles de ensayo. En otra realización, una "tabla de referencia farmacológica" se refiere a un depósito actualizado de mutaciones o variantes susceptibles de ensayo que incluye las nuevas mutaciones o variantes descritas en esta memoria (es decir, D33H, G35A, Y88S, T194A, W204G, Y216S, Q250K, R392T, N53K, Q57R, S62delinsLA, M96V, R112L, D155E, N228D, Q330P, V339A, K391E, N408Y, V22G, N34H, G80V, Q107R, Y152D, A156S, L189F, W204L, S238G, I239M, A257V, P259Q, N320H, P323T, E338V, P380L o T412P). Se puede encontrar una tabla de referencia farmacológica ejemplar para mutaciones susceptibles de ensayo HEK en el resumen de las características del producto y/o la información de prescripción de GALAFOLD® en diversos países en los que GALAFOLD® está aprobado para su uso, o en un sitio web tal como www.galafoldamenabilitytable.com o www.fabrygenevariantsearch.com.

Sin embargo, como solo determinadas mutaciones son susceptibles de tratamiento con migalastat, es necesario identificar nuevas mutaciones y determinar si dichas mutaciones son susceptibles de tratamiento con migalastat. Como se describe en el Ejemplo que figura más adelante, se han identificado varias mutaciones nuevas y se ha determinado que son susceptibles de terapia con migalastat. Estas mutaciones incluyen D33H, G35A, Y88S, T194A, W204G, Y216S, Q250K, R392T, N53K, Q57R, S62delinsLA, M96V, R112L, D155E, N228D, Q330P, V339A, K391E, N408Y, V22G, N34H, G80V, Q107R, Y152D, A156S, L189F, W204L, S238G, I239M, A257V, P259Q, N320H, P323T, E338V, P380L y T412P.

Por consiguiente, en una o más realizaciones, migalastat se utiliza para tratar la enfermedad de Fabry y/o mejorar la actividad de α -Gal A en un paciente que tiene una mutación de α -Gal A seleccionada del grupo que consiste en: Y88S y R392T. En una o más realizaciones, el paciente tiene la mutación Y88S. En una o más realizaciones, el paciente tiene la mutación R392T. En diversas realizaciones, estas mutaciones de α -Gal A son relativas a la secuencia de aminoácidos que se muestra en SEQ ID NO: 2.

En la Tabla 1 a continuación se muestran ejemplos de cambios de nucleótidos asociados con estas nuevas mutaciones:

Tabla 1: Nuevas mutaciones susceptibles de ser tratadas con migalastat

Cambio de nucleótidos	Cambio de nucleótidos	Cambio de secuencia de proteínas
c.97G>C	c.G97C	D33H
c.104G>C	c.G104C	G35A
c.263A>C	c.A263C	Y88S
c. 580 A>G	c.A580G	T194A
c. 610T >G	c.T610G	W204G
c.647A>C	c.A647C	Y216S
c.748C>A	c.C748A	Q250K
c.1175G>C	c.G1175C	R392T
c.159C>G o c.159C>A	c.C159G o c.C159A	N53K
c. 170 A>G	c. A170G	Q57R
c.184_185insTAG	c.184_185insTAG	S62delinsLA
c.286A>G	c.A286G	M96V
c. 335G>T	c.G335T	R112L

Cambio de nucleótidos	Cambio de nucleótidos	Cambio de secuencia de proteínas
c.465T>A o c.465T>G	c.T465A o c.T 465G	D155E
c.682A>G	c.A682G	N228D
c.989A>C	c.A989C	Q330P
c.1016T>C	c.T1016C	V339A
c. 1171A>G	c. A1171G	K391E
c.1222A>T	c.A1222T	N408Y
c. 65T>G	c.T65G	V22G
c.100 A>C	c.A100C	N34H
c.239G>T	c.G239T	G80V
c.320A>G	c.A320G	Q107R
c.454T>G	c.T454G	Y152D
c.466G>T	c.G466T	A156S
c.567G>C o c.567G>T	c.G567C o c.G 567T	L189F
c.611G>T	c.G611T	W204L
c.712A>G	c.A712G	S238G
c.717A>G	c.A717G	I239M
c.770C>T	c.C770T	A257V
c.776C>A	c.C776A	P259Q
c.958A>C	c.A958C	N320H
c.967C>A	c.C967A	P323T
c.1013A>T	c.A1013T	E338V
c 1139C>t	c.C1139T	P380L
c.1234A>C	c.A1234C	T412P

5 Por consiguiente, en diversas realizaciones, migalastat se utiliza para tratar la enfermedad de Fabry y/o potenciar la actividad de α -Gal A en un paciente que tiene una mutación de GLA seleccionada del grupo que consiste en: c.263A>C y c.1175G>C. En una o más realizaciones, el paciente tiene la mutación de GLA c.263A>C. En una o más realizaciones, el paciente tiene la mutación de GLA c.1175G>C. En diversas realizaciones, estas mutaciones de GLA son relativas a la secuencia nucleica mostrada en SEQ ID NO: 3.

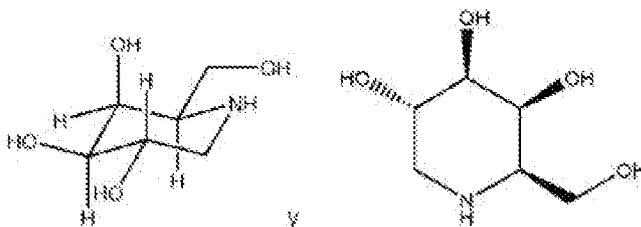
10 Además, diversas realizaciones de la presente invención proporcionan migalastat o una sal del mismo para su uso en un método para el tratamiento de la enfermedad de Fabry en un paciente que tiene una mutación en el gen que codifica α -Gal A, en donde el paciente se identifica como que tiene una mutación sin sentido en una α -Gal A humana codificada por una secuencia de ácido nucleico recogida en SEQ ID NO: 1 y/o SEQ ID NO: 3 como se define en las reivindicaciones adjuntas. En una o más realizaciones, el método comprende administrar a un paciente una dosis terapéuticamente eficaz del migalastat o una sal del mismo, en donde el paciente tiene una α -Gal A mutante codificada por una secuencia de ácido nucleico que tiene una mutación sin sentido con relación a SEQ ID NO: 1 y/o SEQ ID NO: 3. Más adelante se detallan y se describen otras realizaciones de estos usos y métodos.

20 En una o más realizaciones, el paciente puede tener otras mutaciones en su gen GLA. Por ejemplo, puede haber mutaciones en la región del intrón que pueden o no afectar a la enzima α -Gal A resultante. Por lo tanto, en una o más realizaciones, el paciente tiene α -Gal A mutante codificada por una secuencia de ácido nucleico que tiene al menos un 95, 96, 97, 98, 99, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, 99,5, 99,6, 99,7, 99,8 o 99,9 % de identidad con SEQ ID NO: 1. Además, el paciente puede tener una o más mutaciones adicionales en la región codificante del gen GLA. Por lo tanto, en una o más realizaciones, el paciente tiene α -Gal A mutante codificada por una secuencia de ácido nucleico que tiene al menos 95, 96, 97, 98, 99, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4, 99,5, 99,6, 99,7, 99,8 o 99,9 % de identidad con SEQ ID NO: 3. Además, en una o más realizaciones, el paciente tiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20 o 30 mutaciones con relación a SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 3. También se observa que algunas mutaciones de ácido nucleico en SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 3 pueden no dar como resultado un cambio en el aminoácido para la proteína resultante, ya que diversos aminoácidos están codificados por múltiples secuencias de ácido nucleico. Nuevamente, cualquiera de estas realizaciones se puede combinar con cualquiera de las otras realizaciones de la invención, por ejemplo, realizaciones relacionadas con mutaciones susceptibles, las PC y dosis adecuadas de las mismas.

30 Chaperonas Farmacológicas

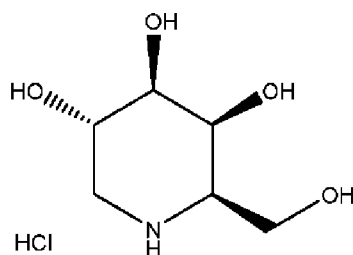
La unión de inhibidores de moléculas pequeñas de enzimas asociadas con LSD puede aumentar la estabilidad tanto de la enzima mutante como de la enzima de tipo salvaje correspondiente (véanse las Patentes de EE.UU. N^o 6.274.597; 6.583.158; 6.589.964; 6.599.919; 6.916.829 y 7.141.582). En particular, la administración de derivados de moléculas pequeñas de glucosa y galactosa, que son inhibidores competitivos selectivos y específicos para varias enzimas lisosomales diana, aumentó de manera eficaz la estabilidad de las enzimas en células *in vitro* y, por lo tanto, aumentó el tráfico de las enzimas al lisosoma. Por lo tanto, al aumentar la cantidad de enzima en el lisosoma, se espera que aumente la hidrólisis de los sustratos enzimáticos. La teoría original detrás de esta estrategia era la siguiente: dado que la proteína enzimática mutante es inestable en el ER (Ishii et al., *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1996; 220: 812-815), la proteína enzimática se retrasa en la vía de transporte normal (ER→aparato de Golgi→endosomas→lisosoma) y se degrada prematuramente. Por lo tanto, un compuesto que se une a una enzima mutante y aumenta su estabilidad puede servir como una "chaperona" para la enzima y aumentar la cantidad que puede salir del ER y trasladarse a los lisosomas. Además, debido a que el plegamiento y el tráfico de algunas proteínas de tipo salvaje es incompleto, y hasta el 70 % de algunas proteínas de tipo salvaje se degradan en algunos casos antes de alcanzar su ubicación celular final, las chaperonas se pueden utilizar para estabilizar las enzimas de tipo salvaje y aumentar la cantidad de enzima que puede salir del ER y ser transportada a los lisosomas.

La chaperona farmacológica comprende migalastat o una sal del mismo. El compuesto migalastat, también conocido como 1-desoxigalactonojirimicina (1-DGJ) o (2R,3S,4R,5S)-2-(hidroximetil)piperidina-3,4,5-triol es un compuesto que tiene la siguiente fórmula química:



Base libre de migalastat

Como se ha comentado en esta memoria, también se pueden utilizar en la presente invención sales farmacéuticamente aceptables de migalastat. Cuando se utiliza una sal de migalastat, la dosis de la sal se ajustará de forma que la dosis de migalastat recibida por el paciente sea equivalente a la cantidad que habría recibido si se hubiera utilizado la base libre de migalastat. Un ejemplo de una sal farmacéuticamente aceptable de migalastat es el hidrocloreto de migalastat:



Migalastat HCl

El migalastat es un iminoazúcar de bajo peso molecular y es un análogo de la galactosa terminal de GL-3. Estudios farmacológicos *in vitro* e *in vivo* han demostrado que migalastat actúa como una chaperona farmacológica, uniéndose de forma selectiva y reversible, con alta afinidad, al sitio activo de la α -Gal A de tipo salvaje y a formas mutantes específicas de α -Gal A. La unión del migalastat estabiliza estas formas mutantes de α -Gal A en el retículo endoplasmático, facilitando su correcto tránsito a los lisosomas, en donde la disociación de migalastat permite que la α -Gal A reduzca el nivel de GL-3 y otros sustratos.

La PC comprende migalastat o una sal del mismo. En otras realizaciones, el PC comprende hidrocloreto de migalastat.

Cualquiera de estas PC para α -Gal A puede utilizarse en combinación con cualquiera de las otras realizaciones de la invención.

Dosificación, Formulación y Administración

En una o más realizaciones, al paciente con Fabry se le administra migalastat o una sal del mismo con una frecuencia de una vez cada dos días (también denominada "QOD"). En diversas realizaciones, las dosis descritas en esta memoria se refieren al hidrocloreto de migalastat o una dosis equivalente de migalastat o una sal del mismo distinta

de la sal de hidrocloreuro. En algunas realizaciones, estas dosis pertenecen a la base libre de migalastat. En realizaciones alternativas, estas dosis pertenecen a una sal de migalastat. En realizaciones adicionales, la sal de migalastat es hidrocloreuro de migalastat. La administración de migalastat o una sal de migalastat se denomina en esta memoria "terapia con migalastat".

5 La cantidad eficaz de migalastat o de una sal del mismo puede estar en el intervalo de aproximadamente 100 mg de FBE a aproximadamente 150 mg de FBE. Dosis ejemplares incluyen aproximadamente 100 mg de FBE, aproximadamente 105 mg de FBE, aproximadamente 110 mg de FBE, aproximadamente 115 mg de FBE, aproximadamente 120 mg de FBE, aproximadamente 123 mg de FBE, aproximadamente 125 mg de FBE, aproximadamente 130 mg de FBE, aproximadamente 135 mg de FBE, aproximadamente 140 mg de FBE, aproximadamente 145 mg de FBE o aproximadamente 150 mg de FBE.

15 Nuevamente, se observa que 150 mg de hidrocloreuro de migalastat equivalen a 123 mg de la forma de base libre de migalastat. Por lo tanto, en una o más realizaciones, la dosis es de 150 mg de hidrocloreuro de migalastat o una dosis equivalente de migalastat o una sal del mismo distinta de la sal de hidrocloreuro, administrada con una frecuencia de una vez cada dos días. Como se ha establecido anteriormente, esta dosis se denomina 123 mg de FBE de migalastat. En realizaciones adicionales, la dosis es de 150 mg de hidrocloreuro de migalastat administrados con una frecuencia de una vez cada dos días. En otras realizaciones, la dosis es de 123 mg de la base libre de migalastat administrados con una frecuencia de una vez cada dos días.

20 En diversas realizaciones, la cantidad eficaz es de aproximadamente 122 mg, aproximadamente 128 mg, aproximadamente 134 mg, aproximadamente 140 mg, aproximadamente 146 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 152 mg, aproximadamente 159 mg, aproximadamente 165 mg, aproximadamente 171 mg, aproximadamente 177 mg o aproximadamente 183 mg de hidrocloreuro de migalastat.

25 Por consiguiente, en diversas realizaciones, la terapia con migalastat incluye la administración de 123 mg de FBE con una frecuencia de una vez cada dos días tal como 150 mg de hidrocloreuro de migalastat cada dos días.

30 La administración de migalastat o una sal del mismo puede ser durante un período de tiempo determinado. En una o más realizaciones, el migalastat o una sal del mismo se administra durante una duración de al menos 28 días tal como al menos 30, 60 o 90 días o al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 20, 24, 30 o 36 meses o al menos 1, 2, 3, 4 o 5 años. En diversas realizaciones, la terapia con migalastat es una terapia a largo plazo con migalastat de al menos 6 meses tal como al menos 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 20, 24, 30 o 36 meses o al menos 1, 2, 3, 4 o 5 años.

35 La administración de migalastat o una sal del mismo según la presente invención pueden realizarse en una formulación adecuada para cualquier vía de administración, pero se administra preferiblemente en una forma de dosificación oral tal como un comprimido, una cápsula o una solución. Como ejemplo, se administran al paciente por vía oral cápsulas que contienen cada una 150 mg de hidrocloreuro de migalastat o una dosis equivalente de migalastat o una sal del mismo distinta de la sal de hidrocloreuro.

40 En algunas realizaciones, la PC (migalastat o una sal de la misma) se administra por vía oral. En una o más realizaciones, la PC (migalastat o una sal de la misma) se administra mediante inyección. La PC puede estar acompañada de un soporte farmacéuticamente aceptable, lo que puede depender del método de administración.

45 En una o más realizaciones, la PC (migalastat o una sal de la misma) se administra como monoterapia y puede estar en una forma adecuada para cualquier vía de administración, incluyendo, p. ej., por vía oral en forma de comprimidos o cápsulas o líquido, o en solución acuosa estéril para inyección. En otras realizaciones, la PC se proporciona en un polvo liofilizado seco para añadirlo a la formulación de la enzima de reemplazo durante o inmediatamente después de la reconstitución para evitar la agregación de la enzima *in vitro* antes de la administración.

50 Cuando la PC (migalastat o sal de la misma) se formula para administración oral, los comprimidos o cápsulas se pueden preparar por medios convencionales con excipientes farmacéuticamente aceptables tales como agentes de unión (p. ej., almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropil metilcelulosa); cargas (p. ej., lactosa, celulosa microcristalina o hidrogenofosfato de calcio); lubricantes (p. ej., estearato de magnesio, talco o sílice); disgregantes (p. ej., fécula de patata o glicolato de almidón sódico); o agentes humectantes (p. ej., lauril sulfato de sodio). Los comprimidos se pueden recubrir mediante métodos bien conocidos en la técnica. Las preparaciones líquidas para administración oral pueden adoptar la forma de, por ejemplo, soluciones, jarabes o suspensiones, o se pueden presentar como un producto seco para su constitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Preparaciones líquidas de este tipo se pueden preparar por medios convencionales con aditivos farmacéuticamente aceptables tales como agentes de suspensión (p. ej., jarabe de sorbitol, derivados de celulosa o grasas comestibles hidrogenadas); agentes emulsionantes (p. ej., lecitina o goma arábica); vehículos no acuosos (p. ej., aceite de almendras, ésteres oleosos, alcohol etílico o aceites vegetales fraccionados); y conservantes (p. ej., metil o propil-p-hidroxibenzoatos o ácido sórbico). Las preparaciones también pueden contener sales tampón, agentes aromatizantes, colorantes y edulcorantes según corresponda. Las preparaciones para administración oral pueden formularse adecuadamente para proporcionar una liberación controlada del compuesto chaperona activo.

65

Las formulaciones farmacéuticas de la PC (migalstat o sal de la misma), adecuadas para uso parenteral/inyectable, incluyen generalmente soluciones acuosas estériles (en los casos en los que sean hidrosolubles), o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. En todos los casos, la forma debe ser estéril y debe ser fluida en la medida en que exista una fácil capacidad de inyección. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe preservarse contra la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. El soporte puede ser un disolvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol, y similares), mezclas adecuadas de los mismos y aceites vegetales. La fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de la dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de los microorganismos puede lograrse mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, alcohol bencílico, ácido sórbico y similares. En muchos casos, será razonable incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares o cloruro de sodio. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede lograrse mediante el uso en las composiciones de agentes que retardan la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Las soluciones inyectables estériles se preparan incorporando la enzima purificada (si la hay) y la PC (migalstat o sal de la misma) en la cantidad requerida en el disolvente apropiado con diversos de los otros ingredientes enumerados anteriormente, según sea necesario, seguido de una esterilización por filtración o terminal. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando los diversos ingredientes activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación preferidos son el secado al vacío y la técnica de secado por congelación que producen un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente adicional deseado a partir de una solución previamente filtrada y estéril del mismo.

La formulación puede contener un excipiente. Excipientes farmacéuticamente aceptables que pueden incluirse en la formulación son tampones tales como tampón citrato, tampón fosfato, tampón acetato, tampón bicarbonato, aminoácidos, urea, alcoholes, ácido ascórbico y fosfolípidos; proteínas, tales como albúmina sérica, colágeno y gelatina; sales tales como EDTA o EGTA y cloruro de sodio; liposomas; polivinilpirrolidona; azúcares, tales como dextrano, manitol, sorbitol y glicerol; propilenglicol y polietilenglicol (p. ej., PEG-4000, PEG-6000); glicerol; glicina u otros aminoácidos; y lípidos. Los sistemas tampón para uso con las formulaciones incluyen tampones citrato; acetato; bicarbonato; y fosfato. El tampón fosfato es una realización preferida.

La vía de administración del compuesto chaperona puede ser oral o parenteral, incluyendo intravenosa, subcutánea, intra-arterial, intraperitoneal, oftálmica, intramuscular, bucal, rectal, vaginal, intraorbital, intracerebral, intradérmica, intracraneal, intraespinal, intraventricular, intratecal, intracisternal, intracapsular, intrapulmonar, intranasal, transmucosal, transdérmica o por inhalación.

La administración de las formulaciones parenterales arriba descritas del compuesto chaperona puede realizarse mediante inyecciones periódicas de un bolo de la preparación, o puede administrarse mediante administración intravenosa o intraperitoneal desde un reservorio externo (p. ej., una bolsa i.v.) o interno (p. ej., un implante bioerosionable).

Realizaciones relacionadas con formulaciones farmacéuticas y la administración se pueden combinar con cualquiera de las otras realizaciones de la invención, por ejemplo, realizaciones relacionadas con métodos para tratar pacientes con enfermedad de Fabry, uso de una chaperona farmacológica para α -Gal A para la fabricación de un medicamento para tratar a un paciente diagnosticado con enfermedad de Fabry o una chaperona farmacológica para α -Gal A para su uso en el tratamiento de un paciente diagnosticado con enfermedad de Fabry, así como realizaciones relacionadas con mutaciones susceptibles, las PC y dosis adecuadas de las mismas.

En una o más realizaciones, la PC (migalstat o sal de la misma) se administra en combinación con ERT. ERT aumenta la cantidad de proteína mediante la introducción exógena de enzima de tipo salvaje o biológicamente funcional mediante infusión. Esta terapia se ha desarrollado para muchos trastornos genéticos, incluidos LSD tales como la enfermedad de Fabry, como se mencionó arriba. Después de la infusión, se espera que la enzima exógena sea absorbida por los tejidos a través de un mecanismo no específico o específico para el receptor. En general, la eficiencia de absorción no es alta y el tiempo de circulación de la proteína exógena es corto. Además, la proteína exógena es inestable y está sujeta a una rápida degradación intracelular, además de tener el potencial de reacciones inmunológicas adversas con tratamientos posteriores. En una o más realizaciones, la chaperona se administra al mismo tiempo que la enzima de reemplazo (p. ej., α -Gal A de reemplazo). En algunas realizaciones, la chaperona se co-formula con la enzima de reemplazo (p. ej., α -Gal A de reemplazo).

La referencia a lo largo de esta memoria descriptiva a "una realización", "determinadas realizaciones", "diversas realizaciones", "una o más realizaciones" o "una realización" significa que un rasgo, estructura, material o característica particular descrito en relación con la realización está incluido en al menos una realización de la invención. Por lo tanto, la aparición de frases tales como "en una o más realizaciones", "en determinadas realizaciones", "en varias realizaciones" o "en una realización" en varios lugares a lo largo de esta memoria descriptiva no se refieren

necesariamente a la misma realización de la invención. Además, los rasgos, estructuras, materiales o características particulares se pueden combinar de cualquier manera adecuada en una o más realizaciones.

Aunque la invención aquí descrita se ha descrito con referencia a realizaciones particulares, se debe entender que estas realizaciones son meramente ilustrativas de los principios y aplicaciones de la presente invención. Será evidente para los expertos en la técnica que se pueden realizar diversas modificaciones y variaciones al método y aparato de la presente invención sin apartarse del espíritu y alcance de la invención. Por lo tanto, se pretende que la presente invención incluya modificaciones y variaciones que estén dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas y sus equivalentes.

EJEMPLO: Efecto de Migalastat sobre Mutaciones de α -Gal A

La actividad de α -Gal A se midió en lisados preparados a partir de células HEK-293 transfectadas transitoriamente con la forma mutante indicada de α -Gal A e incubadas en ausencia o presencia de 10 μ M de migalastat durante 5 días. La actividad de α -Gal A se expresa como nmoles de 4-MU libre liberados por miligramo de proteína por hora (nmol/mg/h). La actividad de α -Gal A basal y la actividad de α -Gal A después de la incubación con 10 μ M de migalastat se expresaron adicionalmente como un porcentaje de la actividad basal de α -Gal A de tipo salvaje (% WT). La actividad de α -Gal A de tipo salvaje que se utilizó para calcular estos porcentajes fue la actividad promedio medida en lisados de células transfectadas de tipo salvaje, incubadas en ausencia de migalastat, medida en paralelo.

Los resultados de las pruebas de actividad de α -Gal A para las nuevas mutaciones D33H, G35A, Y88S, T194A, W204G, Y216S, Q250K y R392T se muestran en la Tabla 2 que figura a continuación:

Tabla 2: Efecto de Migalastat sobre la Actividad de α -Gal A

Forma mutante de α -Gal A	D33H	G35A	Y88S	T194A	W204G	Y216S	Q250K	R392T
Actividad basal de α -Gal A (nmol/mg/h)	12925 \pm 915	19688 \pm 1062	1510 \pm 52	3751 \pm 287	BLD	635 \pm 64	4389 \pm 500	30058 \pm 1487
Actividad de α -Gal A de migalastat 10 μ M (nmol/mg/h)	24908 \pm 1775	31694 \pm 1949	5542 \pm 376	10315 \pm 459	1695 \pm 198	11238 \pm 751	11325 \pm 1111	36679 \pm 1896
Valor p de U de Mann-Whitney	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0014
Actividad basal de α -Gal A (% WT)	36,1 \pm 2,4	51,1 \pm 3,2	3,8 \pm 0,2	10,8 \pm 0,7	N / A	2,0 \pm 0,2	16,1 \pm 1,5	104,6 \pm 6,8
Actividad de 10 μ M de α -Gal A de migalastat (% WT)	68,8 \pm 4,3	82,1 \pm 5,6	14,1 \pm 1,3	30,5 \pm 2,0	6,5 \pm 0,7	34,7 \pm 1,8	41,6 \pm 3,1	125,9 \pm 6,2
Aumento absoluto (% WT)	32,7	31,0	10,3	19,7	6,5	32,7	25,5	21,3
Aumento relativo	1,93	1,61	3,67	2,75	NC	17,70	2,58	1,22

Los resultados de las pruebas de actividad de α -Gal A para las nuevas mutaciones N53K, Q57R, S62delinsLA, M96V, R112L, D155E, N228D, Q330P, V339A, K391E y N408Y se muestran en la Tabla 3 que figura a continuación:

Tabla 3: Efecto de Migalastat sobre la Actividad de α -Gal A

Forma mutante de α -Gal A	Actividad basal de α -Gal A (nmol/mg/h)	Actividad de 10 μ M de α -Gal A de migalastat (nmol/mg/h)	Valor p de U de Mann-Whitney	Actividad basal de α -Gal A (% WT)	Actividad de 10 μ M de α -Gal A de migalastat (% WT)	Aumento absoluto (% WT)	Aumento relativo
N53K	5143 \pm 419	13895 \pm 1270	0,0001	14,6 \pm 1,0	38,6 \pm 2,5	24,0	2,70
Q57R	20289 \pm 995	26357 \pm 916	0,0001	80,9 \pm 3,8	105,0 \pm 3,0	24,0	1,30
S62delinsLA	159 \pm 27	8115 \pm 810	0,0001	0,4 \pm 0,1	21,3 \pm 1,7	20,9	50,92
M96V	5458 \pm 489	14612 \pm 1009	0,0001	14,0 \pm 1,2	38,1 \pm 2,4	24,2	2,68
R112L	BLD	2364 \pm 296	0,0001	N / A	7,5 \pm 1,1	7,5	NC
D155E	1738 \pm 78	6619 \pm 337	0,0001	5,3 \pm 0,3	19,8 \pm 1,0	14,5	3,81
N228D	6264 \pm 654	25816 \pm 2273	0,0001	15,0 \pm 1,5	63,2 \pm 5,4	48,2	4,12
Q330P	5593 \pm 320	12375 \pm 664	0,0001	21,5 \pm 1,6	45,8 \pm 1,9	24,4	2,21

Forma mutante de α -Gal A	Actividad basal de α -Gal A (nmol/mg/h)	Actividad de 10 μ M de α -Gal A de migalastat (nmol/mg/h)	Valor p de U de Mann-Whitney	Actividad basal de α -Gal A (% WT)	Actividad de 10 μ M de α -Gal A de migalastat (% WT)	Aumento absoluto (% WT)	Aumento relativo
V339A	18918 \pm 2287	25174 \pm 2895	0,0339	48,8 \pm 3,3	65,6 \pm 4,2	16,8	1,33
K391E	7853 \pm 735	15979 \pm 1367	0,0001	20,4 \pm 2,0	40,4 \pm 2,9	20,0	2,03
N408Y	11158 \pm 1707	23273 \pm 2965	0,0001	40,9 \pm 4,9	85,5 \pm 7,7	44,6	2,09

Los resultados de las pruebas de actividad de α -Gal A para las nuevas mutaciones V22G, N34H, G80V, Q107R, Y152D, A156S, L189F, W204L, S238G, I239M, A257V, P259Q, N320H, P323T, E338V, P380L y T412P se muestran en la Tabla 4 que figura a continuación:

5

Tabla 4: Efecto de Migalastat sobre la Actividad de α -Gal A

Forma mutante de α -Gal A	Actividad basal de α -Gal A (nmol/mg/h)	Actividad de 10 μ M de α -Gal A de migalastat (nmol/mg/h)	Valor p de Mann-Whitney y U	Actividad basal de α -Gal A (% WT)	Actividad de 10 μ M de α -Gal A de migalastat (% WT)	Aumento absoluto (% WT)	Aumento relativo
V22G	4663 \pm 557	7150 \pm 700	0.0067	15,5 \pm 1,8	24,6 \pm 2,8	9,0	1,53
N34H	BLD	1414 \pm 100	0.0001	N / A	3,6 \pm 0,2	3,6	NC
G80V	765 \pm 56	2434 \pm 333	0.0001	2,1 \pm 0,1	6,4 \pm 0,6	4,3	3,18
Q107R	24590 \pm 1705	31193 \pm 2248	0.0206	88,3 \pm 7,0	109,8 \pm 8,4	21,5	1,27
Y152D	2397 \pm 346	6594 \pm 294	0.0001	6,0 \pm 0,9	16,7 \pm 1,1	10,7	2,75
A156S	24479 \pm 1666	31597 \pm 2293	0.0111	66,7 \pm 5,0	85,1 \pm 5,3	18,4	1,29
L189F	22405 \pm 1496	27388 \pm 1605	0.0266	69,3 \pm 3,9	84,6 \pm 3,8	15,3	1,22
W204L	16126 \pm 2360	32649 \pm 3037	0.0002	36,9 \pm 3,8	84,3 \pm 5,9	47,4	2,02
S238G	5898 \pm 877	25106 \pm 1611	0.0001	18,7 \pm 2,1	86,4 \pm 7,2	67,7	4,26
I239M	4849 \pm 622	24827 \pm 3056	0.0001	13,9 \pm 1,7	69,3 \pm 6,9	55,5	5,12
A257V	16412 \pm 1096	30313 \pm 1981	0.0001	55,5 \pm 3,3	99,9 \pm 4,6	44,4	1,85
P259Q	13658 \pm 1388	25935 \pm 2020	0.0001	37,6 \pm 3,4	73,6 \pm 5,0	36,1	1,90
N320H	8554 \pm 344	22149 \pm 1050	0.0001	20,6 \pm 1,3	52,9 \pm 3,1	32,2	2,59
P323T	24566 \pm 1350	29631 \pm 1144	0.0008	59,0 \pm 4,2	71,3 \pm 4,1	12,3	1,21
E338V	11903 \pm 541	21807 \pm 845	0.0001	30,1 \pm 1,7	54,8 \pm 2,2	24,7	1,83
P380L	1424 \pm 60	4248 \pm 369	0.0001	3,4 \pm 0,2	10,6 \pm 1,0	7,1	2,98
T412P	639 \pm 25	7159 \pm 459	0.0001	1,7 \pm 0,2	18,6 \pm 1,2	16,9	11,21

En las Tablas 2-4, se calcularon los valores de la media \pm error típico de la media (SEM). nmol/mg/h indica "nmoles de 4-MU libre liberados por mg de proteína por hora". WT indica "tipo salvaje". NC indica "no calculable". N/A indica "no aplicable".

10

Actividad de α -Gal A basal y de 10 μ M de migalastat: Las diferencias en la actividad de α -Gal A entre lisados incubados en ausencia y presencia de 10 μ M de migalastat se determinaron utilizando una prueba de U de Mann Whitney unilateral; un aumento de 10 μ M de migalastat con un $p < 0,05$ se consideró significativo. "BLD" indica que la actividad media de α -Gal A estaba por debajo del límite de detección (< 142 nmol/mg/h).

15

Actividad de α -Gal A basal (% WT) = (actividad de α -Gal A en lisados de células transfectadas mutantes sin migalastat \div actividad de α -Gal A en lisados de células transfectadas de tipo salvaje sin migalastat) * 100

20

Actividad de α -Gal A de 10 μ M de migalastat (% WT) = (actividad de α -Gal A en lisados de células transfectadas mutantes con 10 μ M de migalastat \div actividad de α -Gal A en lisados de células transfectadas de tipo salvaje sin migalastat) * 100

Aumento absoluto (% WT) = es la actividad de α -Gal A de 10 μ M de migalastat (% WT) menos la actividad de α -Gal A basal (% WT).

25

Aumento relativo es la actividad de α -Gal A de 10 μ M de migalastat en lisados de células transfectadas mutantes \div actividad de α -Gal A basal en lisados de células transfectadas incubados sin migalastat.

- 5 Como se puede observar en la Tabla 2, las nuevas mutaciones de α -Gal A D33H, G35A, Y88S, T194A, W204G, Y216S, Q250K y R392T demostraron una respuesta *in vitro* a la incubación con migalastat que cumplió con los criterios de adaptabilidad. Por consiguiente, se espera que los pacientes con estas mutaciones puedan ser tratados con terapia con migalastat como se describe en esta memoria.
- 10 Como se puede observar en la Tabla 3, las nuevas mutaciones de α -Gal A D33H, G35A, Y88S, T194A, W204G, Y216S, Q250K y R392T demostraron una respuesta *in vitro* a la incubación con migalastat que cumplió con los criterios de adaptabilidad. Por consiguiente, se espera que los pacientes con estas mutaciones puedan ser tratados con terapia con migalastat como se describe en esta memoria.
- 15 Como se puede observar en la Tabla 4, las nuevas mutaciones de α -Gal A V22G, N34H, G80V, Q107R, Y152D, A156S, L189F, W204L, S238G, I239M, A257V, P259Q, N320H, P323T, E338V, P380L y T412P demostraron una respuesta *in vitro* a la incubación con migalastat que cumplía los criterios de adaptabilidad. Por consiguiente, se espera que los pacientes con estas mutaciones puedan ser tratados con terapia con migalastat como se describe en esta memoria.
- 20 La patente y la bibliografía científica a las que se hace referencia en esta memoria establecen el conocimiento que está disponible para aquellos con experiencia en la técnica.
- 25 Si bien esta invención se ha mostrado y descrito particularmente con referencias a realizaciones preferidas de la misma, los expertos en la técnica entenderán que se pueden realizar diversos cambios en la forma y los detalles en la misma sin apartarse del alcance de la invención abarcada por las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Migalastat o una sal del mismo para uso en un método para el tratamiento de la enfermedad de Fabry en un paciente humano que lo necesita, comprendiendo el método administrar al paciente una dosis terapéuticamente eficaz del migalastat o una sal del mismo, en donde el paciente tiene una mutación de α -galactosidasa A seleccionada del grupo que consiste en: Y88S y R392T.
- 10 2. Migalastat o una sal del mismo para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el migalastat o la sal del mismo se administra al paciente cada dos días.
- 15 3. Migalastat o una sal del mismo para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que se administran al paciente aproximadamente 100 a aproximadamente 150 mg de equivalente de base libre del migalastat o una sal del mismo cada dos días.
- 20 4. Migalastat o una sal del mismo para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que se administran al paciente aproximadamente 123 mg de equivalente de base libre del migalastat o una sal del mismo cada dos días.
- 25 5. Migalastat o una sal del mismo para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que se administran al paciente aproximadamente 123 mg de base libre de migalastat cada dos días.
- 30 6. Migalastat o una sal del mismo para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que se administran al paciente aproximadamente 150 mg de hidrocloreuro de migalastat cada dos días.
- 35 7. Migalastat o una sal del mismo para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el migalastat o una sal del mismo se administra por vía oral.
- 40 8. Migalastat o una sal del mismo para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el migalastat o la sal del mismo se administra mediante inyección.
9. Migalastat o una sal del mismo para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el migalastat o la sal del mismo potencia la actividad de la α -galactosidasa A.
10. Migalastat o una sal del mismo para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que el paciente es varón.
11. Migalastat o una sal del mismo para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que el paciente es mujer.
12. Migalastat o una sal del mismo para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que la mutación es Y88S.
13. Migalastat o una sal del mismo para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que la mutación es R392T

cccttcttggtagggggagggagggttctacttcahtantgggtctccctgggaaaggcaatcag 40
gactgcttgggtcaagtggggacccaggcaatcttctgaggttcaagcaatttgggtatctatct 120
gtgtgttlatacacatcttttcaaaaactgtcaagcaatcagggttggagcagtgctctccgg 180
gtggtagacttatgtgtatcttcaaatcttctctctctctctctctctctctctctctctct 240
atctgaatctgttgggttcttct 260
agtaaaatct 300
gatcaaatct 360
aatgggtctggcaagcaatct 420
gggttctcaaaaacttct 480
ccagagcagatctcaaaaact 540
ggagcaatctgggttct 600
ggggggagagcagagcaatct 660
ct 720
ct 780
ct 840
ct 900
ct 960
aatagggggggtct 1020
tct 1080
tct 1140
gtcaacccgggcaatct 1200
ctcaatct 1260
gggggtctgggttct 1320
gggggtct 1380
aatct 1440
gagctctcaacggggaatct 1500
tct 1560
ct 1620
ct 1680
tct 1740
agcct 1800
ctcaacgtctggcaatct 1860
tct 1920
aggtct 1980
tggagcaatct 2040
tgaacatct 2100
gggggtct 2160
gagatcaatct 2220
aatct 2280
tggagagagagatct 2340
tggagatct 2400
agtct 2460
aatct 2520
tcaagatct 2580
caaaaatct 2640
ccagcaatct 2700
tcaaaaact 2760
tct 2820
cttct 2880

FIG. 1A


```
gaatcgccttgcacccggggagtggaggttgccttgcgctggagtcabgcacccctcaatcaa 11580
gcttgggcaacacagcttcaatctcaaaaaaaaaaaaaagccaggccacagtcgctctatg 11640
cttgggaatccacagccctttcggaaagctggaggccaggccagctcaatcagcttgcgcttca 11700
agccacagccttgggtcaactagctaaagcccttctctcactcaaacctcaaaccttgcgag 11760
gtatgggtggcagctctctgtagccccagctactcaggagactgaggccaggagcaatcaact 11820
gaccccgggagctgggggggtggagtgaccccaagatcaagcccaactgcactccagcctggg 11880
caccagagccagactccctctcaaaaacaaactctctacttcccttgaatcaactctccg 11940
agcttcaactttaggaaacaaactctcaaacctgatttactcctccagataccacccc 12000
cccttgttgcgctctctcccaactctcaaacctgtgtagctctcttaactaccagagct 12060
aacctcaattagactgaaatgtcttaagaaagctgtataggccaggccagctgtctcc 12120
gctctcaactcccaacactttgggaggccagctcgggggctcagcaggtcaggagctgga 12180
gacctcctggccacactggtgaaacccccctctactcaaacctcaaaccttgcgagcgg 12240
caggtggcagccacctgtcaatccagctactccagagctgaggcaggcccaatcaactga 12300
ccttgggagccagagctccctgagctgaggttgcacccctgcactccagctcagctcagta 12360
ccagccacactcaatctcaaaaacagcaaaaaaacctgtatcaatttggcaactctta 12420
agaggaactttaaaga 12480
```

FIG. 1E

MDLWVPSIRL	GCIALALPFL	LVWRDIPGR	ALDNLARTP	TNQLWVWTF	NCHLDQSRP	60
DDCIQKILPM	ENRRLMVPSK	WHDAGTYILC	LDGWRMAPQR	QSEQLQADP	QPTFHQIRQL	120
RRVHRSKGLK	LSIYADVENH	TCADTFQSLP	YEDIDAGTFA	QWVDHLATD	GCYDDELEHL	180
ADENKIMOLA	LVRTDSIVY	QENRPLYWTF	FGSPHYTEIR	QYCNWERTFA	DIDQWKSQIK	240
QILDWTSTNQ	ERIVQYAGQ	QNDPCHLYI	QNPQLSWHQ	VIGHALWAIH	AAPLPMNDL	300
RRISPKAKL	LQKQVIALP	QDFLOKQIC	LKQDQWFEV	ENPLSGLAWA	VANINQKIK	360
QPARVYIANA	SLEKQVACHP	ACFITQLLIV	KARLQYVWWT	SLRARRIHTP	GTVILQLENT	420
HQNELLDLL						428

FIG. 2

atgaagctgaggaatccagagctccacctgggctgtgctcctggctctggctctgggcttctggcctc
gtgtcctgggcaatccctgggctagggccctcgataacggactggccccgaccccccaaatg
ggatggctccctgggaaaaggtcaagtgcaatctggactgtcaggaggaaaccgactcctgc
atcagogaaaaagtctcactggagatggcagagctgahggtgagcgaaggctggaaaggaagc
ggctacgagtatctgtgcatcgatgactgctggatggccctcaaaggactcgaaggnagg
ctgagagctgatcccaaaaggtctcccccgggaatccggcagctcgcaactacqigcatcwe
aagggcctcaagctaggcatctacgcagagctgggcaacaaaaaatggcaggattcccggc
agcttcggtaactacgcaatcgacggccagcaatctgctgatggggagtggacttgotgaag
ttcgaaggctgttaactggahccctggaaaaactggcagcggtaacaaacacatgtccctc
ggctgaaaccggaagggcgggtccatcgtgacagctggagtgggccctgtacatgtggcct
ttcaggaagccccactacacagagatcaggcagtaactgaaaccctggaggaaattggctgac
atcgacgactcctggaagagcaatcaagagcatcctggactggaccagcttcaaccaggagagg
atcgtggagctggctggaccggaggctggaaagaccagatctgctggtgattggaaactc
ggactggctggaaaccagcaggtagaccagatggccctgtgggcatfatggccctccctg
ttcatgtccaaagacctggggcaatcagccccaggcccaaggctctgctgcaaggacaaggat
gtgatggcatcaaccaggaaccctggccagcagggctaccagctgaggcaaggagatacc
ttcagaggtgtggagaggccccctcggactggctggggcctggccatgatcaatcggcag
gagatgggggacccccgtcctaccacttgcctgtggccagcctgggaaaaaggagtggcctgc
aacccccctgcttcaatcccgctgctccccgtgaaagcggaaagctggccttctatgagtgg
accagcaggtgaggtcccatatcaatcctaccggcaccctcctcctccagctcagagaatacc
atgaagctgagcctcaaggatctgctgtga

FIG. 3