

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202392508** (13) **A2**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2024.02.29

(51) Int. Cl. *A61K 31/445* (2006.01)
A61P 13/12 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2018.05.30

(54) **СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ФАБРИ, У КОТОРЫХ ИМЕЕТСЯ ПОЧЕЧНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ**

(31) **62/512,458; 62/626,953; 15/992,336**

(32) **2017.05.30; 2018.02.06; 2018.05.30**

(33) **US**

(62) **201992869; 2018.05.30**

(71) Заявитель:
**АМИКУС ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.
(US)**

(72) Изобретатель:
Кастелли Джефф (US)

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

(57) Предусмотрены способы лечения болезни Фабри у пациента, у которого имеется почечная недостаточность и/или повышенная протеинурия. Некоторые способы предусматривают введение пациенту от приблизительно 100 до приблизительно 150 мг эквивалента свободного основания мигаластата или его соли с частотой один раз в два дня. Некоторые способы также обеспечивают стабилизацию функции почек, уменьшение индекса массы левого желудочка, уменьшение уровня глоботриаозилфингозина в плазме крови и/или увеличение активности α -галактозидазы А у пациента.

202392508

A2

A2

202392508

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ФАБРИ, У КОТОРЫХ ИМЕЕТСЯ ПОЧЕЧНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Идеи и варианты осуществления настоящего изобретения в целом относятся к применению фармакологических шаперонов для лечения болезни Фабри, особенно у пациентов с различными степенями почечной недостаточности.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Многие заболевания человека возникают в результате мутаций, которые вызывают изменения в аминокислотной последовательности белка, которые снижают его стабильность и могут препятствовать его правильному сворачиванию. Белки обычно сворачиваются в конкретной области клетки, известной как эндоплазматический ретикулум или ER. Клетка имеет механизмы контроля качества, которые обеспечивают сворачивание белков в их правильную трехмерную форму, прежде чем они могут переместиться из ER к соответствующему месту назначения в клетке, процесс, который обычно называют транспортом белка. Неправильно свернутые белки часто устраняются посредством механизмов контроля качества после первоначального удерживания в ER. В некоторых случаях неправильно свернутые белки могут накапливаться в ER до их устранения. Удержание неправильно свернутых белков в ER нарушает их надлежащий транспорт и в результате сниженная биологическая активность может привести к нарушению клеточной функции и, в конечном итоге, к развитию заболевания. Кроме того, накопление неправильно свернутых белков в ER может привести к различным типам стресса, оказываемого на клетки, что также может способствовать клеточной дисфункции и заболеванию.

Такие мутации могут привести к развитию лизосомальных нарушений накопления (LSD), которые характеризуются недостатком лизосомальных ферментов из-за мутаций в генах, кодирующих лизосомальные ферменты. Возникшее в результате заболевание является причиной патологического накопления субстратов таких ферментов, к которым относятся липиды, углеводы и полисахариды. Хотя существует много разных

мутантных генотипов, связанных с каждой из LSD, многие из мутаций являются миссенс-мутациями, которые могут привести к выработке менее стабильного фермента. Такие менее стабильные ферменты иногда преждевременно разрушаются вследствие связанного с ER пути разрушения. В результате это приводит к дефициту фермента в лизосоме и патологическому накоплению субстрата. Такие мутантные ферменты иногда называют в соответствующей области техники "мутантами с нарушенным сворачиванием" или "конформационными мутантами".

Болезнь Фабри представляет собой LSD, вызванную мутацией в гене GLA, который кодирует фермент α -галактозидазу A (α -Gal A). α -Gal A необходим для метаболизма гликосфинголипидов. Мутация вызывает накопление субстрата глоботриаозилцерамида (GL-3) в различных тканях и органах. Мужчины с болезнью Фабри являются гемизиготами, поскольку гены данного заболевания кодируются на X-хромосоме. По оценкам, болезнь Фабри поражает 1 из 40000 и 60000 мужчин и встречается реже у женщин.

К настоящему моменту существует несколько подходов к лечению болезни Фабри. Одной одобренной терапией для лечения болезни Фабри является заместительная ферментная терапия (ERT), которая обычно предусматривает внутривенную инфузию очищенной формы соответствующего белка дикого типа. В настоящее время для лечения болезни Фабри доступны два продукта α -Gal A: агалсидаза альфа (Replagal®, Shire Human Genetic Therapies) и агалсидаза бета (Fabrazyme®, Sanofi Genzyme Corporation). Однако у ERT есть несколько недостатков. Одним из основных осложнений при ERT является быстрое разрушение инфузированного белка, что приводит к необходимости многочисленных дорогостоящих инфузий в высоких дозах. У ERT есть несколько дополнительных предостережений, таких как трудности с крупномасштабным получением, очисткой и хранением правильно свернутого белка; получение гликозилированного нативного белка; выработка иммунного ответа к белку; и неспособность белка преодолевать гематоэнцефалический барьер для смягчения патологий центральной нервной системы (т. е. низкая биодоступность). Кроме того, заместительный фермент не может проникать в сердце или почку в достаточных количествах для уменьшения накопления субстрата в подоцитах почки или миоцитах сердца, которые играют заметную роль в патологии Фабри.

Другой подход к лечению некоторых недостатков ферментов предусматривает применение низкомолекулярных ингибиторов для уменьшения выработки природного субстрата дефицитных ферментных белков, тем самым смягчая патологию. Такой подход "уменьшения содержания субстрата" был конкретно описан для класса из приблизительно 40 LSD, куда входят нарушения, развивающиеся в результате накопления гликофинголипидов. Низкомолекулярные ингибиторы, предлагаемые для применения в качестве терапии, специфичны для ингибирования ферментов, участвующих в синтезе гликолипидов, уменьшая количество клеточного гликолипида, который необходимо расщеплять дефицитным ферментом.

Третий подход к лечению болезни Фабри заключается в лечении так называемыми фармакологическими шаперонами (PC). К таким PC относятся низкомолекулярные ингибиторы α -Gal A, которые могут связываться с α -Gal A, увеличивая стабильность как мутантного фермента, так и соответствующего фермента дикого типа.

Одной из проблем современных методов лечения является сложность лечения пациентов, у которых наблюдается почечная недостаточность, что очень часто встречается у пациентов с болезнью Фабри и прогрессирует с данным заболеванием. В среднем пациентам требуется 10-20 лет, чтобы нормальная функция почек снизилась до тяжелой почечной недостаточности, а в некоторых странах отмечается даже более быстрое снижение. По некоторым оценкам приблизительно 10% пациентов с болезнью Фабри, получающих ERT, могут иметь умеренную почечную недостаточность. Еще у 25% мужчин и 5% женщин, получающих ERT, расчетная скорость клубочковой фильтрации (eGFR) составляет менее 30, что соответствует тяжелой почечной недостаточности или даже отказу почек. Из них приблизительно половина имеет тяжелую почечную недостаточность, и приблизительно половина находятся на диализе.

К сожалению, почечная недостаточность будет прогрессировать, несмотря на лечение с помощью ERT. Состояние пациента с eGFR, равной 30, может ухудшиться до точки, где ему будет необходим диализ, за два-пять лет. Приблизительно 30% пациентов, получающих ERT, в конечном итоге закончат необходимостью диализа или необходимостью в пересадке почки, в зависимости от времени начала ERT. Чем раньше начинают ERT, тем дольше можно сохранить функцию почек, но начало ERT может быть отсрочено, потому что болезнь Фабри является редкой и часто неправильно диагностируется.

Кроме того, как рассмотрено выше, с применением ERT часто не осуществляется достаточное проникание в почки, чтобы уменьшить накопление субстрата, тем самым допускается дальнейшее повреждение во время прогрессирования заболевания. При лечении с помощью РС часто именно почки определяют, как лекарственное средство выводится из организма, и почечная недостаточность может влиять на фармакокинетику лекарственного средства и/или фармакодинамику лекарственного средства. Таким образом, все еще существует потребность в лечении пациентов с болезнью Фабри, у которых имеется почечная недостаточность.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ

Различные аспекты настоящего изобретения относятся к лечению пациентов с болезнью Фабри, у которых имеется почечная недостаточность и/или повышенная протеинурия, с применением мигаластата. Такое лечение может включать стабилизацию функции почек, уменьшение индекса массы левого желудочка (LVMI), уменьшение уровня глоботриаозилсфингозина (lyso-Gb3) в плазме крови и/или увеличение активности α -Gal A у пациента.

Один аспект настоящего изобретения относится к способу лечения болезни Фабри у пациента, у которого имеется почечная недостаточность, предусматривающему введение пациенту эффективного количества мигаластата или его соли с частотой один раз в два дня. В одном или нескольких вариантах осуществления эффективное количество составляет от приблизительно 100 мг до приблизительно 150 мг эквивалента свободного основания (FBE).

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет легкую или умеренную почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет легкую почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет умеренную почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет тяжелую почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент представляет собой пациента, получавшего ERT.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент представляет собой пациента, не получавшего ERT.

В одном или нескольких вариантах осуществления у пациента уровень протеинурии составляет менее 100 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

В одном или нескольких вариантах осуществления у пациента уровень протеинурии составляет от 100 до 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

В одном или нескольких вариантах осуществления у пациента уровень протеинурии составляет более 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль усиливает активность α -Gal A у пациента. В одном или нескольких вариантах осуществления активность α -Gal A представляет собой активность α -Gal A лейкоцитов (WBC).

В одном или нескольких вариантах осуществления введение мигаластата или его соли является эффективным для уменьшения LVMi у пациента.

В одном или нескольких вариантах осуществления введение мигаластата или его соли является эффективным для стабилизации уровня lyso-Gb₃ в плазме крови у пациента.

В одном или нескольких вариантах осуществления введение мигаластата или его соли является эффективным для стабилизации функции почек у пациента.

В одном или нескольких вариантах осуществления эффективное количество составляет приблизительно 123 мг FBE.

В одном или нескольких вариантах осуществления эффективное количество составляет приблизительно 123 мг свободного основания мигаластата.

В одном или нескольких вариантах осуществления соль мигаластата представляет собой гидрохлорид мигаластата.

В одном или нескольких вариантах осуществления эффективное количество составляет приблизительно 150 мг гидрохлорида мигаластата.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль представлены в лекарственной форме для перорального применения. В одном или нескольких вариантах осуществления лекарственная форма для перорального применения предусматривает таблетку, капсулу или раствор.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 28 дней.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 6 месяцев.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.

Другой аспект настоящего изобретения относится к применению мигаластата для стабилизации функции почек у пациента, у которого диагностирована болезнь Фабри и у которого имеется почечная недостаточность. В различных вариантах осуществления способ предусматривает введение пациенту от приблизительно 100 мг до приблизительно 150 мг FBE мигаластата или его соли с частотой один раз в два дня.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет легкую или умеренную почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет легкую почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет умеренную почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет тяжелую почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент представляет собой пациента, получавшего ERT.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент представляет собой пациента, не получавшего ERT.

В одном или нескольких вариантах осуществления у пациента уровень протеинурии составляет менее 100 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

В одном или нескольких вариантах осуществления у пациента уровень протеинурии составляет от 100 до 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

В одном или нескольких вариантах осуществления у пациента уровень протеинурии составляет более 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль усиливает активность α -Gal A.

В одном или нескольких вариантах осуществления эффективное количество составляет приблизительно 123 мг FBE.

В одном или нескольких вариантах осуществления эффективное количество составляет приблизительно 123 мг свободного основания мигаластата.

В одном или нескольких вариантах осуществления соль мигаластата представляет собой гидрохлорид мигаластата.

В одном или нескольких вариантах осуществления эффективное количество составляет приблизительно 150 мг гидрохлорида мигаластата.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль представлены в лекарственной форме для перорального применения. В одном или нескольких вариантах осуществления лекарственная форма для перорального применения предусматривает таблетку, капсулу или раствор.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 28 дней.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 6 месяцев.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.

В одном или нескольких вариантах осуществления введение эффективного количества мигаластата или его соли группе пациентов, имеющих легкую или умеренную почечную недостаточность, обеспечивает средний годовой показатель изменения $eGFR_{\text{СКД-ЕРІ}}$ более $-1,0 \text{ мл/мин./1,73 м}^2$.

В одном или нескольких вариантах осуществления введение эффективного количества мигаластата или его соли группе пациентов, имеющих легкую почечную недостаточность, обеспечивает средний годовой показатель изменения $eGFR_{\text{СКД-ЕРІ}}$ более $-1,0 \text{ мл/мин./1,73 м}^2$.

В одном или нескольких вариантах осуществления введение эффективного количества мигаластата или его соли группе пациентов, имеющих умеренную почечную недостаточность, обеспечивает средний годовой показатель изменения $eGFR_{\text{СКД-ЕРІ}}$ более $-1,0 \text{ мл/мин./1,73 м}^2$.

Другой аспект настоящего изобретения относится к применению мигаластата для стабилизации уровня Iyso-Gb_3 в плазме крови у пациента, у которого диагностирована болезнь Фабри и у которого имеется почечная недостаточность. В различных вариантах осуществления способ предусматривает введение пациенту от приблизительно 100 мг до приблизительно 150 мг FBE мигаластата или его соли с частотой один раз в два дня.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет легкую или умеренную почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет легкую почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет умеренную почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет тяжелую почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент представляет собой пациента, получавшего ERT.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент представляет собой пациента, не получавшего ERT.

В одном или нескольких вариантах осуществления у пациента уровень протеинурии составляет менее 100 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

В одном или нескольких вариантах осуществления у пациента уровень протеинурии составляет от 100 до 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

В одном или нескольких вариантах осуществления у пациента уровень протеинурии составляет более 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль усиливает активность α -Gal A.

В одном или нескольких вариантах осуществления эффективное количество составляет приблизительно 123 мг FBE.

В одном или нескольких вариантах осуществления эффективное количество составляет приблизительно 123 мг свободного основания мигаластата.

В одном или нескольких вариантах осуществления соль мигаластата представляет собой гидрохлорид мигаластата.

В одном или нескольких вариантах осуществления эффективное количество составляет приблизительно 150 мг гидрохлорида мигаластата.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль представлены в лекарственной форме для перорального применения. В одном или нескольких вариантах осуществления лекарственная форма для перорального применения предусматривает таблетку, капсулу или раствор.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 28 дней.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 6 месяцев.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.

В одном или нескольких вариантах осуществления введение эффективного количества мигаластата или его соли группе не получавших ERT пациентов, имеющих умеренную почечную недостаточность, обеспечивает среднее снижение уровня lyso-Gb₃ в плазме крови на по меньшей мере приблизительно 5 нмоль/л по прошествии 24 месяцев введения мигаластата или его соли.

Другой аспект настоящего изобретения относится к применению мигаластата для уменьшения LVMi у пациента, у которого диагностирована болезнь Фабри и у которого имеется почечная недостаточность. В различных вариантах осуществления способ предусматривает введение пациенту от приблизительно 100 мг до приблизительно 150 мг FBE мигаластата или его соли с частотой один раз в два дня.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет легкую или умеренную почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет легкую почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет умеренную почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет тяжелую почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент представляет собой пациента, получавшего ERT.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент представляет собой пациента, не получавшего ERT.

В одном или нескольких вариантах осуществления у пациента уровень протеинурии составляет менее 100 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

В одном или нескольких вариантах осуществления у пациента уровень протеинурии составляет от 100 до 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

В одном или нескольких вариантах осуществления у пациента уровень протеинурии составляет более 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль усиливает активность α -Gal A.

В одном или нескольких вариантах осуществления эффективное количество составляет приблизительно 123 мг FBE.

В одном или нескольких вариантах осуществления эффективное количество составляет приблизительно 123 мг свободного основания мигаластата.

В одном или нескольких вариантах осуществления соль мигаластата представляет собой гидрохлорид мигаластата.

В одном или нескольких вариантах осуществления эффективное количество составляет приблизительно 150 мг гидрохлорида мигаластата.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль представлены в лекарственной форме для перорального применения. В одном или нескольких вариантах осуществления лекарственная форма для перорального применения предусматривает таблетку, капсулу или раствор.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 28 дней.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 6 месяцев.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.

В одном или нескольких вариантах осуществления введение эффективного количества мигаластата или его соли группе не получавших ERT пациентов, имеющих умеренную почечную недостаточность, обеспечивает среднее уменьшение LVMi на по меньшей мере приблизительно 2 г/м² по прошествии 24 месяцев введения мигаластата или его соли.

В одном или нескольких вариантах осуществления введение эффективного количества мигаластата или его соли группе получавших ERT пациентов, имеющих умеренную почечную недостаточность, обеспечивает среднее уменьшение LVMi на по меньшей мере приблизительно 2 г/м² по прошествии 18 месяцев введения мигаластата или его соли.

Другой аспект настоящего изобретения относится к применению мигаластата для увеличения активности α -Gal A WBC у пациента, у которого диагностирована болезнь Фабри и у которого имеется почечная недостаточность. В различных вариантах осуществления способ предусматривает введение пациенту от приблизительно 100 мг до приблизительно 150 мг FBE мигаластата или его соли с частотой один раз в два дня.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет легкую или умеренную почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет легкую почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет умеренную почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет тяжелую почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент представляет собой пациента, получавшего ERT.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент представляет собой пациента, не получавшего ERT.

В одном или нескольких вариантах осуществления у пациента уровень протеинурии составляет менее 100 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

В одном или нескольких вариантах осуществления у пациента уровень протеинурии составляет от 100 до 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

В одном или нескольких вариантах осуществления у пациента уровень протеинурии составляет более 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

В одном или нескольких вариантах осуществления эффективное количество составляет приблизительно 123 мг FBE.

В одном или нескольких вариантах осуществления эффективное количество составляет приблизительно 123 мг свободного основания мигаластата.

В одном или нескольких вариантах осуществления соль мигаластата представляет собой гидрохлорид мигаластата.

В одном или нескольких вариантах осуществления эффективное количество составляет приблизительно 150 мг гидрохлорида мигаластата.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль представлены в лекарственной форме для перорального применения. В одном или нескольких вариантах осуществления лекарственная форма для перорального применения предусматривает таблетку, капсулу или раствор.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 28 дней.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 6 месяцев.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.

В одном или нескольких вариантах осуществления введение эффективного количества мигаластата или его соли группе не получавших ERT пациентов, имеющих умеренную почечную недостаточность, обеспечивает среднее увеличение активности α -Gal A WBC на по меньшей мере приблизительно 1 4 МЕд/ч./мг по прошествии 24 месяцев введения мигаластата или его соли.

В одном или нескольких вариантах осуществления введение эффективного количества мигаластата или его соли группе получавших ERT пациентов, имеющих умеренную почечную недостаточность, обеспечивает среднее увеличение активности α -Gal A WBC на по меньшей мере приблизительно 1 4 МЕд/ч./мг по прошествии 18 месяцев введения мигаластата или его соли.

Другой аспект настоящего изобретения относится к применению мигаластата для стабилизации функции почек у пациента, у которого диагностирована болезнь Фабри и имеется повышенная протеинурия. В различных вариантах осуществления способ предусматривает введение пациенту от приблизительно 100 мг до приблизительно 150 мг FBE мигаластата или его соли с частотой один раз в два дня.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет легкую или умеренную почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет легкую почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет умеренную почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет тяжелую почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент представляет собой пациента, получавшего ERT.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент представляет собой пациента, не получавшего ERT.

В одном или нескольких вариантах осуществления у пациента уровень протеинурии составляет от 100 до 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

В одном или нескольких вариантах осуществления у пациента уровень протеинурии составляет более 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль усиливает активность α -Gal A.

В одном или нескольких вариантах осуществления эффективное количество составляет приблизительно 123 мг FBE.

В одном или нескольких вариантах осуществления эффективное количество составляет приблизительно 123 мг свободного основания мигаластата.

В одном или нескольких вариантах осуществления соль мигаластата представляет собой гидрохлорид мигаластата.

В одном или нескольких вариантах осуществления эффективное количество составляет приблизительно 150 мг гидрохлорида мигаластата.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль представлены в лекарственной форме для перорального применения. В одном или нескольких вариантах осуществления лекарственная форма для перорального применения предусматривает таблетку, капсулу или раствор.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 28 дней.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 6 месяцев.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.

В одном или нескольких вариантах осуществления введение эффективного количества мигаластата или его соли группе пациентов, имеющих уровень протеинурии, составляющий от 100 до 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли, обеспечивает средний годовой показатель изменения $eGFR_{\text{СКД-ЕРІ}}$ более $-2,0$ мл/мин./ $1,73$ м².

В одном или нескольких вариантах осуществления введение эффективного количества мигаластата или его соли группе пациентов, имеющих уровень протеинурии более 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли, обеспечивает средний годовой показатель изменения $eGFR_{\text{СКД-ЕРІ}}$ более $-5,0$ мл/мин./ $1,73$ м².

Другой аспект настоящего изобретения относится к способу лечения болезни Фабри у пациента, у которого имеется повышенная протеинурия, при этом способ предусматривает введение пациенту эффективного количества мигаластата или его соли с частотой один раз в два дня. В одном или нескольких вариантах осуществления эффективное количество составляет от приблизительно 100 мг до приблизительно 150 мг FBE.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет легкую или умеренную почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет легкую почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет умеренную почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет тяжелую почечную недостаточность.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент представляет собой пациента, получавшего ERT.

В одном или нескольких вариантах осуществления пациент представляет собой пациента, не получавшего ERT.

В одном или нескольких вариантах осуществления у пациента уровень протеинурии составляет от 100 до 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

В одном или нескольких вариантах осуществления у пациента уровень протеинурии составляет более 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль усиливает активность α -Gal A.

В одном или нескольких вариантах осуществления эффективное количество составляет приблизительно 123 мг FBE.

В одном или нескольких вариантах осуществления эффективное количество составляет приблизительно 123 мг свободного основания мигаластата.

В одном или нескольких вариантах осуществления соль мигаластата представляет собой гидрохлорид мигаластата.

В одном или нескольких вариантах осуществления эффективное количество составляет приблизительно 150 мг гидрохлорида мигаластата.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль представлены в лекарственной форме для перорального применения. В одном или нескольких вариантах осуществления лекарственная форма для перорального применения предусматривает таблетку, капсулу или раствор.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 28 дней.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 6 месяцев.

В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.

В одном или нескольких вариантах осуществления введение эффективного количества мигаластата или его соли группе пациентов, имеющих уровень протеинурии, составляющий от 100 до 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли, обеспечивает средний годовой показатель изменения $eGFR_{\text{СКД-ЕРІ}}$ более $-2,0$ мл/мин./ $1,73$ м².

В одном или нескольких вариантах осуществления введение эффективного количества мигаластата или его соли группе пациентов, имеющих уровень протеинурии более 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли, обеспечивает средний годовой показатель изменения $eGFR_{\text{СКД-ЕРІ}}$ более $-5,0$ мл/мин./ $1,73$ м².

Ниже перечислены различные варианты осуществления. Будет понятно, что перечисленные ниже варианты осуществления можно комбинировать не только как указано ниже, но и в других подходящих комбинациях в соответствии с объемом настоящего изобретения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На фиг. 1А показаны концентрации мигаластата в плазме крови для пациентов без болезни Фабри с различными степенями почечной недостаточности в зависимости от CL_{CR} ;

на фиг. 1B показаны концентрации мигаластата в плазме крови для пациентов без болезни Фабри с различными степенями почечной недостаточности в зависимости от времени после приема дозы;

на фиг. 1C показана площадь под кривой (AUC) для пациентов без болезни Фабри с различными степенями почечной недостаточности;

на фиг. 2 показана концентрация мигаластата в зависимости времени для пациентов, имеющих умеренную и тяжелую степень почечной недостаточности;

на фиг. 3 показана корреляция между $AUC_{0-\infty}$ и концентрацией мигаластата через 48 часов для пациентов без болезни Фабри с различными степенями почечной недостаточности;

на фиг. 4 показана концентрация мигаластата в плазме крови через 48 часов в зависимости от $eGFR_{MDRD}$ для пациентов без болезни Фабри с различными степенями почечной недостаточности и двух пациентов с болезнью Фабри, у которых имеется почечная недостаточность;

на фиг. 5 показана $AUC_{0-\infty}$ плазмы крови для пациентов без болезни Фабри с различными степенями почечной недостаточности и двух пациентов с болезнью Фабри, у которых имеется почечная недостаточность;

на фиг. 6A-D показана смоделированная средняя и наблюдаемая концентрация мигаластата в зависимости от времени для субъектов с нормальным состоянием, тяжелой, легкой и умеренной почечной недостаточностью соответственно;

на фиг. 7A-D показаны смоделированные C_{max} , AUC, C_{min} и C_{48} соответственно для субъектов с нормальным состоянием, легкой, умеренной и тяжелой почечной недостаточностью;

на фиг. 8A-D показан прогноз стационарного состояния для QOD соответственно для субъектов с нормальным состоянием, субъектов с легкой, умеренной и тяжелой почечной недостаточностью;

на фиг. 9A-D показаны C_{max} , AUC, C_{min} и C_{48} соответственно для субъектов с нормальным состоянием, легкой, умеренной и тяжелой почечной недостаточностью;

на фиг. 10А-В показаны схемы исследования для двух исследований, в которых изучали применение мигаластата на пациентах с болезнью Фабри;

на фиг. 11 показана годовая скорость изменения $eGFR_{СКД-ЕР1}$ для пациентов с болезнью Фабри, получающих терапию мигаластатом, с нормальной функцией почек и легкой и умеренной почечной недостаточностью;

на фиг. 12А-В показана годовая скорость изменения соответственно $GFR_{СКД-ЕР1}$ и $mGFR_{Йогексол}$ для пациентов с болезнью Фабри, получающих терапию мигаластатом и ERT, с нормальной функцией почек и почечной недостаточностью;

на фиг. 13 показана годовая скорость изменения $eGFR_{СКД-ЕР1}$ для пациентов с болезнью Фабри, получающих терапию мигаластатом и ERT, с нормальной функцией почек и легкой и умеренной почечной недостаточностью;

на фиг. 14А-Е показана полная последовательность ДНК человеческого гена GLA дикого типа (SEQ ID NO: 1); и

на фиг. 15 показан белок GLA дикого типа (SEQ ID NO: 2).

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

Перед описанием нескольких иллюстративных вариантов осуществления настоящего изобретения следует понять, что настоящее изобретение не ограничено подробными деталями конструкции или стадиями способа, указанными в следующем описании. Настоящее изобретение допускает другие варианты осуществления и может быть осуществлено на практике или выполнено различными путями.

Неожиданно было обнаружено, что терапия мигаластатом стабилизирует функцию почек, уменьшает LVM_i , уменьшает уровень $Iyso-Gb_3$ в плазме крови и увеличивает активность $\alpha-Gal$ А WBC у пациентов с болезнью Фабри с легкой и умеренной почечной недостаточностью. Соответственно, различные аспекты настоящего изобретения относятся к определенным режимам дозирования мигаластата для пациентов с болезнью Фабри, у которых имеется почечная недостаточность. Мигаластат представляет собой фармакологический шаперон, применяемый при лечении болезни Фабри. Этот фармакологический шаперон обычно выводится из организма с помощью почек. Однако пациенты с почечной недостаточностью (общей

проблемой для пациентов с болезнью Фабри) могут быть не в состоянии выводить мигаластат из организма, и ранее не было известно, как пациенты как с болезнью Фабри, так и с почечной недостаточностью будут отвечать на терапию мигаластатом. Поскольку фармакологические шапероны также являются ингибиторами, очень трудно сбалансировать эффекты, заключающиеся в усилении ферментативной активности, и ингибирующие эффекты таких фармакологических шаперонов, как мигаластат. Более того, из-за сложных взаимосвязей между болезнью Фабри и функцией почек и отсутствия сведений о роли фармакологического шаперона трудно производить назначение дозы мигаластата пациентам с болезнью Фабри с почечной недостаточностью без значительных клинических данных и/или компьютерного моделирования.

Соответственно, аспекты настоящего изобретения относятся к способам лечения пациентов с болезнью Фабри, у которых имеется почечная недостаточность и/или повышенная протеинурия, с применением мигаластата или его соли, например, путем стабилизации функции почек, уменьшения LVMi, уменьшения уровня lyso-Gb₃ в плазме крови и/или увеличения активности α -Gal A у пациента.

В одном или нескольких вариантах осуществления способ предусматривает введение пациенту от приблизительно 100 мг до приблизительно 150 мг FBE мигаластата или его соли с частотой один раз в два дня. У пациента может быть легкая, умеренная или тяжелая почечная недостаточность. В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет легкую или умеренную почечную недостаточность. В конкретных вариантах осуществления пациент имеет легкую почечную недостаточность. В других конкретных вариантах осуществления пациент имеет умеренную почечную недостаточность.

Определения

Термины, используемые в данном описании в целом имеют их обычные значения в данной области техники, в контексте настоящего изобретения и в конкретном контексте, где используется каждый термин. Определенные термины обсуждаются ниже или в других местах в данном описании, чтобы обеспечить дополнительное указание для практикующего специалиста при описании композиций и способов по настоящему изобретению и их получении и использовании.

Термин "болезнь Фабри" относится к X-сцепленной врожденной ошибке катаболизма гликофинголипидов из-за недостаточной активности лизосомальной α -Gal A. Этот дефект вызывает накопление субстрата глоботриаозилцерамида ("GL-3", также известного как Gb₃ или тригексозид церамида) и родственных гликофинголипидов в эндотелиальных лизосомах сосудов сердца, почек, кожи и других тканей. Другим субстратом фермента является глоботриаозилфингозин плазмы крови ("lyso-Gbb₃ плазмы крови").

"Носителем" является женщина, у которой одна X-хромосома с дефектным геном α -Gal A и одна X-хромосома с нормальным геном и у которой в клетках одного или нескольких типов имеет место инактивация на X-хромосоме нормального аллеля. У носителя часто диагностируют болезнь Фабри.

"Пациент" относится к субъекту, которому был поставлен диагноз или имеется подозрение на наличие определенного заболевания. Пациентом может быть человек или животное.

"Пациент с болезнью Фабри" относится к индивидууму, у которого диагностировано или подозревается наличие болезни Фабри и который имеет мутантную α -Gal A, как дополнительно определено ниже. Характерные маркеры болезни Фабри могут встречаться у мужчин-гемизигот и женщин-носителей с одинаковой распространенностью, хотя женщины, как правило, поражаются менее тяжелой формой.

Термин "не получавший ERT пациент" относится к пациенту с болезнью Фабри, который никогда не получал ERT или не получал ERT в течение по меньшей мере 6 месяцев до начала терапии мигаластатом.

Термин "получавший ERT пациент" относится к пациенту с болезнью Фабри, который получал ERT непосредственно перед началом терапии мигаластатом. В некоторых вариантах осуществления получавший ERT пациент получил ERT по меньшей мере за 12 месяцев непосредственно перед началом терапии мигаластатом.

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, под регистрационным № X14448.1 и показана под SEQ ID NO: 1 и

на фиг. 14А-Е. Фермент α -Gal А человека состоит из 429 аминокислот, и доступен в GenBank под регистрационными №№ X14448.1 и U78027.1, и показан под SEQ ID NO: 2 и на фиг. 15.

Термин "мутантный белок" включает белок, который имеет мутацию в гене, кодирующем такой белок, что приводит к неспособности белка достичь стабильной конформации в условиях, обычно присутствующих в ER. Неспособность достичь стабильной конформации в результате приводит к тому, что значительное количество фермента разрушается, а не транспортируется в лизосому. Такую мутацию иногда называют "конформационным мутантом". Такие мутации включают без ограничения миссенс-мутации и небольшие делеции и вставки в рамке считывания.

Используемый в данном документе термин "мутантная α -Gal А" включает α -Gal А, которая имеет мутацию в гене, кодирующем α -Gal А, что приводит к неспособности фермента достичь стабильной конформации в условиях, обычно присутствующих в ER. Неспособность достичь стабильной конформации в результате приводит к тому, что значительное количество фермента разрушается, а не транспортируется в лизосому.

Применяемый в данном документе термин "специфический фармакологический шаперон" ("SPC") или "фармакологический шаперон" ("PC") относится к любой молекуле, включая малую молекулу, белок, пептид, нуклеиновую кислоту, углевод и т. д., которая специфически связывается с белком и оказывает один или несколько из следующих эффектов: (i) усиливает образование стабильной молекулярной конформации белка; (ii) индуцирует транспорт белка из ER в другое местоположение в клетке, предпочтительно в его нативное местоположение в клетке, т. е. предотвращает связанное с ER разрушение белка; (iii) предотвращает агрегацию неправильно свернутых белков; и/или (iv) восстанавливает или усиливает по меньшей мере частичную функцию и/или активность белка дикого типа. Наличие соединения, которое специфически связывается, например, с α -Gal А, означает, что оно связывается и оказывает эффект шаперона на фермент, а не общую группу родственных или неродственных ферментов. Более конкретно, этот термин не относится к эндогенным шаперонам, таким как BiP, или к неспецифическим средствам, у которых была продемонстрирована неспецифическая шапероновая активность в отношении различных белков, таких как глицерин, DMSO или дейтерированная вода, т.е.

химическим шаперонам. В одном или нескольких вариантах осуществления настоящего изобретения РС может быть обратимым конкурентным ингибитором.

"Конкурентный ингибитор" фермента может относиться к соединению, которое структурно напоминает химическую структуру и молекулярную геометрию субстрата фермента для связывания фермента примерно в том же месте, что и субстрат. Таким образом, ингибитор конкурирует за тот же активный сайт, что и молекула субстрата, тем самым увеличивая K_m . Конкурентное ингибирование обычно является обратимым, если имеется достаточное количество молекул субстрата для замены ингибитора, т. е. конкурентные ингибиторы могут связываться обратимо. Следовательно, степень ингибирования фермента зависит от концентрации ингибитора, концентрации субстрата и значений относительной аффинности ингибитора и субстрата к активному сайту.

Применяемый 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 связывается с целевым белком, например с α -Gal A, оказывая шаперонный эффект 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 оценивать с помощью стандартных анализов связывания или структурных исследований, например, совместной кристаллизации, ЯМР и т. п. Активным сайтом у α -Gal A является сайт связывания субстрата.

"Недостаточная активность 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 здоровых индивидуумов, не имеющих или без подозрения на наличие болезни Фабри или любого другого заболевания (особенно заболевания крови).

Применяемые в данном документе термины "усиливать активность α -Gal A" или "увеличивать активность α -Gal A" относятся к увеличению количества α -Gal A, которая

принимает стабильную конформацию в клетке, вступившей в контакт с фармакологическим шапероном, специфическим к α -Gal A, относительно количества в клетке (предпочтительно клетке того же типа или той же клетке, например, в более раннее время), не вступавшей в контакт с фармакологическим шапероном, специфическим к α -Gal A. Этот термин также относится к увеличению уровня транспортирования α -Gal A в лизосому в клетке, вступившей в контакт с фармакологическим шапероном, специфическим к α -Gal A, по сравнению с транспортом α -Gal A, не вступавшей в контакт с фармакологическим шапероном, специфическим к такому белку. Эти термины относятся как к α -Gal A дикого типа, так и к мутантной α -Gal A. В одном варианте осуществления увеличение количества α -Gal A в клетке измеряют путем измерения гидролиза искусственного субстрата в лизатах из клеток, которые были обработаны РС. Увеличение гидролиза свидетельствует об увеличенной активности α -Gal A.

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

"Пациент, у которого наблюдается ответ на лечение" представляет собой индивидуума, у которого диагностировано или подозревают наличие лизосомального нарушения накопления, такого как, например, болезнь Фабри, клетки которого проявляют достаточно увеличенную активность α -Gal A соответственно, и/или уменьшение интенсивности симптомов или усиление суррогатных маркеров в ответ на контакт с РС. Неограничивающими примерами усилений суррогатных маркеров при болезни Фабри являются lyso-Gb₃ и те вещества, которые раскрыты в публикации заявки на патент США № US 2010/0113517, которая, таким образом, включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Неограничивающие примеры улучшений суррогатных маркеров при болезни Фабри, раскрытых в US 2010/0113517, включают увеличение уровней или активности α -Gal A в клетках (например, фибробластах) и ткани; уменьшения накопления GL-3; сниженную концентрацию гомоцистеина и васкулярной молекулы клеточной адгезии-1 (VCAM-1) в плазме крови; сниженное накопление GL-3 в клетках миокарда и фиброцитах клапанов; уменьшение уровня lyso-Gb₃ в плазме крови; уменьшение гипертрофии сердца (особенно левого желудочка), уменьшение интенсивности клапанной недостаточности и аритмии; уменьшение интенсивности протеинурии;

сниженные концентрации липидов в моче, таких как СТН, лактозилцерамид, церамид и увеличенные концентрации глюкозилцерамида и сфингомиелина в моче; отсутствие слоистых телец включения (зебровидных телец) в гломерулярных эпителиальных клетках; улучшения функции почек; смягчение гипогидроза; отсутствие ангиокератом; и улучшения нарушений слуха, таких как высокочастотная нейросенсорная тугоухость, прогрессирующая тугоухость, внезапная глухота или шум в ушах. Ослабления неврологических симптомов включают предотвращение преходящего нарушения мозгового кровообращения (ТИА) или инсульта; и уменьшение интенсивности нейропатической боли, проявляющейся как акропарестезия (чувство жжения или покалывания в конечностях). Другим типом клинического маркера, который можно оценивать при болезни Фабри, является частота случаев болезнетворных сердечно-сосудистых проявлений. Общие связанные с сердцем признаки и симптомы болезни Фабри включают гипертрофию левого желудочка, клапанный порок (особенно пролапс митрального клапана и/или ретургитация), преждевременное заболевание коронарной артерии, стенокардию, инфаркт миокарда, нарушения проводимости, аритмии, застойную сердечную недостаточность.

Применяемый в данном документе термин "стабилизация функции почек" и подобные термины, среди прочего, относятся к уменьшению снижения функции почек и/или восстановлению функции почек. Поскольку согласно ожиданиям у не проходящих лечение пациентов с болезнью Фабри, имеет место значительное снижение функции почек, то уменьшение скорости ухудшения функции почек и/или улучшение функции почек демонстрируют преимущества терапии мигаластатом, как описано в данном документе. В частности, стабилизация функции почек может проявляться у пациента с болезнью Фабри независимо от степени тяжести нарушения функции почек, а также от того, получал он ERT или нет, путем улучшения функции почек или замедления скорости ухудшения функции почек по сравнению с аналогичным пациентом, не получавшим лечение терапией по настоящему изобретению, например, до 0,2 мл/мин./1,73 м² для одной конкретной популяции пациентов. Преимущество способа лечения, раскрытого в данном документе, по сравнению с отсутствием лечения (без шаперона или ERT-лечения) или ERT-лечением, заключается в том, что у пациентов с болезнью Фабри, получавших лечение по настоящему изобретению, наблюдается уменьшение или отсутствие снижения функции его или ее почек. Например, на начальном этапе ERT-лечения можно наблюдать улучшения, но функция почек

пациентов, получавших ERT-лечение, испытывает резкое снижение после первых двух или трех лет терапии – аналогично степени снижения, наблюдаемой до ERT-лечения. В отличие от этого, описанная в данном документе терапия более эффективно утилизирует лизосомальный GL-3, и было показано, что она вызывает улучшение у пациентов (например, см. пример 5), которое, согласно предположениям, не улучшится, например, у пациента, получавшего ERT. Ожидается, что до настоящего времени клинические данные, полученные с применением терапии, описанной в данном документе, обеспечат дальнейшие постоянные улучшения результатов лечения пациентов даже после двух лет после лечения. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления у пациента, которого лечат с помощью терапии, описанной в данном документе, продолжает стабилизироваться функция почек в течение более чем двух лет после лечения (например, путем улучшения скорости клубочковой фильтрации (GFR) или задержки скорости снижения GFR у пациента).

"Почечная недостаточность" относится к пациенту с GFR менее 90 мл/мин./1,73 м². Двумя наиболее часто используемыми уравнениями для расчета оценочной скорости клубочковой фильтрации (eGFR) из креатинина сыворотки крови являются уравнение Сотрудничества в области эпидемиологии хронических заболеваний почек (CKD-EPI) и исследование "Модификация рациона при заболевании почек" (MDRD), которые называются eGFR_{CKD-EPI} и eGFR_{MDRD} соответственно. Тяжесть хронического заболевания почек определена шестью стадиями:

- a. (стадия 0) нормальная функция почек – GFR выше 90 мл/мин./1,73 м² и отсутствие протеинурии;
- b. (стадия 1) – GFR выше 90 мл/мин./1,73 м² с признаками повреждения почек;
- c. (стадия 2) (легкая) – GFR составляет 60-89 мл/мин./1,73 м² с признаками повреждения почек;
- d. (стадия 3) (средняя) – GFR составляет 30-59 мл/мин./1,73 м²;
- e. (стадия 4) (тяжелая) – GFR составляет 15-29 мл/мин./1,73 м²;
- f. (стадия 5) отказ почек – GFR менее 15 мл/мин./1,73 м².

"Повышенная протеинурия" относится к уровням белка в моче, которые превышают нормальный диапазон. Нормальный диапазон содержания белка в моче составляет 0-150 мг в сутки, поэтому повышенная протеинурия подразумевает уровни белка в моче приблизительно 150 мг в сутки.

Применяемая в данном документе фраза "стабилизировать lyso-Gb₃ в плазме крови" и подобные термины относятся к уменьшению увеличения уровня lyso-Gb₃ в плазме крови и/или уменьшению уровня lyso-Gb₃ в плазме крови. Поскольку согласно ожиданиям у не проходящих лечение пациентов с болезнью Фабри, имеет место значительное увеличение уровня lyso-Gb₃ в плазме крови, то улучшение скорости накопления lyso-Gb₃ в плазме крови и/или улучшение уровня lyso-Gb₃ в плазме крови демонстрируют преимущества терапии мигаластатом, как описано в данном документе.

Доза, которая приводит к достижению одного или нескольких из вышеупомянутых ответов, является "терапевтически эффективной дозой".

Фраза "фармацевтически приемлемый" относится к молекулярным единицам и композициям, которые являются физиологически переносимыми и обычно не приводят к нежелательным реакциям при введении человеку. В некоторых вариантах осуществления используемый в данном документе термин "фармацевтически приемлемый" означает одобренный регулирующим ведомством федерального правительства или правительства штата или упомянутый в Фармакопее США или другой общепризнанной фармакопее для применения в животных организмах, а более конкретно у людей. Термин "носитель" применительно к фармацевтическому носителю относится к разбавителю, вспомогательному средству, наполнителю или среденосителю, с которыми вводят соединение. Такими фармацевтическими носителями могут являться стерильные жидкости, такие как вода и масла. В качестве носителей, в частности, для инъеклируемых растворов, предпочтительно используют воду или водные солевые растворы и водные растворы декстрозы и глицерина. Подходящие фармацевтические носители описаны в "Remington's Pharmaceutical Sciences", E.W, Martin, 18th Edition, или других изданиях.

Термин "заместительная ферментная терапия" или "ERT" относится к введению ненативного очищенного фермента индивидууму с дефицитом такого фермента. Вводимый белок можно получить из природных источников или путем

рекомбинантной экспрессии (как описано более подробно ниже). Термин также относится к введению очищенного фермента индивидууму, которому по другим причинам необходимо введение очищенного фермента или получающему пользу от этого, например, страдающему от недостаточности фермента. Вводимый фермент может представлять собой очищенный рекомбинантный фермент, полученный *in vitro*, или белок, очищенный из выделенной ткани или жидкости, такой как, например, плацента или молоко животных, или из растений.

Применяемый в данном документе термин "выделенный" означает, что указанный материал удален из среды, в которой он обычно находится. Таким образом, выделенный биологический материал может не содержать клеточных компонентов, т. е. компонентов клеток, в которых материал встречается или получен. В случае молекул нуклеиновой кислоты выделенная нуклеиновая кислота включает продукт ПЦР, полосу mRNA на геле, cDNA или рестрикционный фрагмент. В другом варианте осуществления выделенная нуклеиновая кислота предпочтительно вырезается из хромосомы, в которой она может встречаться, и более предпочтительно больше не присоединяется к нерегуляторным, некодирующим областям или к другим генам, расположенным выше или ниже гена, содержащегося в выделенной молекуле нуклеиновой кислоты при обнаружении в хромосоме. В еще одном варианте осуществления в выделенной нуклеиновой кислоте отсутствует один или несколько интронов. Выделенные нуклеиновые кислоты включают последовательности, вставленные в плазмиды, космиды, искусственные хромосомы и т. п. Таким образом, в конкретном варианте осуществления рекомбинантная нуклеиновая кислота представляет собой выделенную нуклеиновую кислоту. Выделенный белок может быть связан с другими белками или нуклеиновыми кислотами или как с первыми, так и со вторыми, с которыми он связан в клетке, или с клеточными мембранами, если он является мембраносвязанным белком. Выделенная органелла, клетка или ткань удалены из анатомического участка, в котором они находятся в организме. Выделенный материал может быть, но может и не быть очищенным.

Термины "приблизительно" и "примерно" в целом должны означать приемлемую степень погрешности для измеряемой величины с учетом природы или точности измерений. Обычно иллюстративные степени погрешности находятся в пределах 20 процентов (%), предпочтительно в пределах 10% и более предпочтительно в пределах

5% от заданного значения или диапазона значений. В качестве альтернативы и, в частности, в биологических системах термины "приблизительно" и "примерно" могут означать значения, которые находятся в пределах порядка величины, предпочтительно в пределах 10- или 5-кратного и более предпочтительно в пределах 2-кратного изменения указанного значения. Численные величины, приведенные в данном документе, являются примерными, если не указано иное, что означает, что термин "приблизительно" или "примерно" может являться предположительным, если не указано точно.

Применяемый в данном документе термин "эквивалент свободного основания" или "FBE" относится к количеству мигаластата, присутствующего в мигаластате или его соли. Другими словами, термин "FBE" означает либо количество свободного основания мигаластата, либо эквивалентное количество свободного основания мигаластата, которое представлено солью мигаластата. Например, из-за веса гидрохлоридной соли 150 мг гидрохлорида мигаластата обеспечивают мигаластат лишь в количестве 123 мг формы свободного основания мигаластата. Ожидается, что и другие соли будут иметь различные коэффициенты преобразования в зависимости от молекулярного веса соли.

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

Болезнь Фабри

Болезнь Фабри представляет собой редкое, прогрессирующее и разрушительное лизосомальное нарушение накопления, сцепленное с X-хромосомой. Мутации в гене GLA приводят к дефициту лизосомального фермента α -Gal A, который необходим для метаболизма гликофинголипидов. Снижение активности α -Gal A на ранних этапах жизни приводит к накоплению гликофинголипидов, в том числе GL-3 и lyso-Gb₃ в плазме крови, и приводит к симптомам и ограничивающим жизнь последствиям от болезни Фабри, включая боль, желудочно-кишечные симптомы, отказ почек, кардиомиопатию, цереброваскулярные явления и раннюю смертность. Раннее начало терапии и пожизненное лечение предоставляют возможность замедлить прогрессирование заболевания и продлить продолжительность жизни.

Болезнь Фабри охватывает спектр степеней тяжести заболевания и возраст возникновения, хотя ее традиционно делят на 2 основных фенотипа: "классический" и "с поздним началом". 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 началом таких проявлений. 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 800 вызывающих болезнь Фабри мутаций GLA. Примерно 60% являются миссенс-мутациями, приводящими к одиночным аминокислотным заменам в ферменте α -Gal A. Миссенс-мутации GLA часто приводят к образованию аномально свернутых и нестабильных форм α -Gal A, и большинство из них связаны с классическим фенотипом. Нормальные клеточные механизмы контроля качества в эндоплазматическом ретикулуме блокируют перенос таких аномальных белков в лизосомы и направляют их на преждевременное разрушение и выведение. Многие миссенс-мутантные формы являются целями для мигаластата, α -Gal A-специфического фармакологического шаперона.

Клинические проявления болезни Фабри охватывают широкий спектр степеней тяжести и в общих чертах коррелируют с остаточными уровнями α -GAL у пациента. Большинство пациентов, которых лечат в настоящее время, называют пациентами, с классической болезнью Фабри, большая часть из которых — мужчины. Эти пациенты страдают от заболевания различных органов, в том числе почек, сердца и головного мозга, при этом симптомы заболевания впервые появляются в подростковом возрасте и обычно прогрессируют по степени тяжести вплоть до смерти на четвертом или пятом десятилетии жизни. Ряд недавних исследований позволяет предположить, 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. Индивидуумы с таким типом болезни Фабри, называемой болезнью Фабри с поздним началом, склонны иметь более высокие остаточные уровни α -GAL, чем пациенты,

болеющие классической болезнью Фабри. Индивидуумы с поздним началом болезни Фабри обычно впервые испытывают симптомы заболевания во взрослом возрасте и часто имеют симптомы заболевания, сосредоточенные на одном органе, такие как увеличение левого желудочка или прогрессирующий отказ почек. Кроме того, болезнь Фабри с поздним началом также может проявляться в виде инсультов с неизвестной этиологией.

Пациенты с болезнью Фабри имеют прогрессирующую почечную недостаточность, а у не проходящих лечение пациентов к пятому десятилетию жизни проявляется терминальная стадия почечной недостаточности. Дефицит активности α -Gal A приводит к накоплению GL-3 и родственных гликофинголипидов в клетках многих типов, включая клетки в почке. GL-3 накапливается в подоцитах, эпителиальных клетках и канальцевых клетках дистального канальца и петли Генле. Недостаточность функции почек может проявляться в виде протеинурии и сниженной скорости клубочковой фильтрации.

Поскольку болезнь Фабри может вызывать прогрессирующее ухудшение функции почек, важно понимать фармакокинетику (ПК) потенциальных терапевтических средств у индивидуумов с почечной недостаточностью и особенно для терапевтических средств, которые преимущественно выводятся почечной экскрецией. Недостаточность функции почек может привести к накоплению терапевтического средства до уровней, которые становятся токсичными.

Поскольку болезнь Фабри является редкой, поражает множество органов, имеет широкий возрастной диапазон начала проявления и неоднородна, правильная диагностика является проблематичной. Уровень осведомленности среди работников здравоохранения низок, и часто ставятся ошибочные диагнозы. Диагноз болезни Фабри чаще всего подтверждают по сниженной активности α -Gal A в плазме крови или периферических лейкоцитах (WBC) после прохождения пациентом симптоматического анализа 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 у носителей. Например, некоторые "неизбежные носители" (дочери классически пораженных мужчин) имеют активности фермента α -Gal A в диапазоне от нормальной до очень низкой активности. Поскольку носители могут обладать нормальной активностью

фермента α -Gal A в лейкоцитах, только идентификация мутации α -Gal A путем генетического тестирования обеспечивает точную идентификацию и/или диагностику носителя.

Мутантные формы α -галактозидазы A, которые считаются поддающимися лечению мигаластатом, определяются как демонстрирующие относительное увеличение (+10 мкМ мигаластата) в $\geq 1,20$ раза и абсолютное увеличение (+10 мкМ мигаластата) $\geq 3,0\%$ дикого типа при экспрессии мутантной формы α -галактозидазы A в клетках HEK-293 (что называют "HEK-анализом") в соответствии с одобренным надлежащей лабораторной практикой (GLP) анализом *in vitro* (GLP HEK-анализ или анализ восприимчивости лечению мигаластатом). Такие мутации также в данном документе называют мутациями, "поддающимися лечению согласно результатам HEK-анализа".

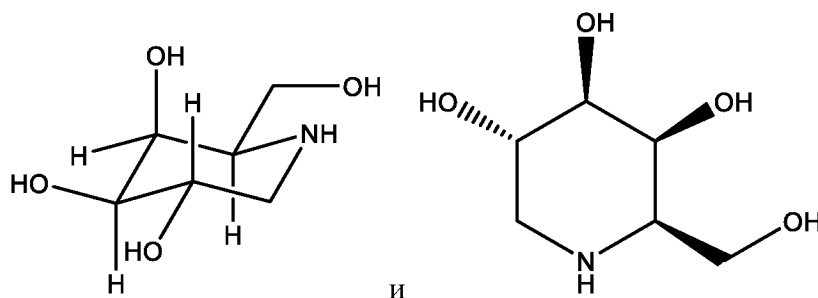
Были предложены предыдущие способы скрининга, которые оценивают повышение уровня фермента до начала лечения. Например, анализ с применением клеток HEK-293 используют в клинических испытаниях для прогнозирования, будет ли данная мутация чувствительной к лечению фармакологическим шапероном (например, мигаластатом). В данном анализе создают cDNA-конструкции. Соответствующие мутантные формы α -Gal A временно экспрессируют в клетках HEK-293. Затем клетки инкубируют \pm мигаластат (от 17 нМ до 1 мМ) в течение 4-5 дней. После этого измеряют уровни α -Gal A в клеточных лизатах с применением синтетического флуорогенного субстрата (4-МЕд- α -Gal) или вестерн-блоттингом. Так поступают в случае известных вызывающих заболевание миссенс-мутаций или небольших вставок/делеций в рамке считывания. Мутации, которые ранее были идентифицированы как чувствительные к РС (например, мигаластату) с помощью таких способов, перечислены в патенте США № 8592362, который, таким образом, включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Фармакологические шапероны

Связывание низкомолекулярных ингибиторов ферментов, связанных с LSD, может увеличивать стабильность как мутантного фермента, так и соответствующего фермента дикого типа (см. патенты США №№ 6274597, 6583158, 6589964, 6599919, 6916829 и 7141582, все 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 транспорт ферментов в лизосому. Таким образом, ожидается, что при увеличении количества фермента в лизосоме увеличится гидролиз ферментных субстратов. Первоначальная теория, лежащая в основе этой стратегии, заключалась в следующем: поскольку мутантный ферментный белок нестабилен в ER (Ishii et al., *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1996; 220: 812-815), ферментный белок тормозится в нормальном транспортном пути (ER → аппарат Гольджи → эндосомы → лизосома) и преждевременно разрушается. Следовательно, соединение, которое связывает и увеличивает стабильность мутантного фермента, может служить в качестве "шаперона" для фермента и увеличивать количество, которое может выходить из ER и перемещаться в лизосомы. Кроме того, поскольку сворачивание и транспорт некоторых белков дикого типа являются неполными, при этом до 70% некоторых белков дикого типа в некоторых случаях разрушаются до достижения своей окончательной локализации в клетке, для стабилизации ферментов дикого типа и увеличения количества фермента, которое может покинуть ER и транспортироваться в лизосомы, можно применять шапероны.

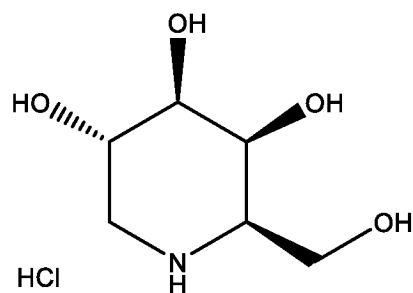
В одном или нескольких вариантах осуществления фармакологический шаперон предусматривает мигаластат или его соль. Соединение мигаластат, также известное как 1-дезоксигалактоноджимидин (1-DGJ) или (2R,3S,4R,5S)-2-(гидроксиметил)пиперидин-3,4,5-триол, представляет собой соединение, имеющее следующую химическую формулу:



Свободное основание мигаластата

Как обсуждается в данном документе, также в настоящем изобретении можно применять фармацевтически приемлемые соли мигаластата. При применении соли мигаластата дозировку соли корректируют так, чтобы доза мигаластата, полученная

пациентом, была эквивалентной количеству, которое было бы получено при применении свободного основания мигаластата. Одним примером фармацевтически приемлемой соли мигаластата является мигаластата HCl:



Мигаластат HCl

Мигаластат представляет собой низкомолекулярный иминосахар и является аналогом концевой галактозы GL-3. В фармакологических исследованиях *in vitro* и *in vivo* было продемонстрировано, что мигаластат действует как фармакологический шаперон, селективно и обратимо связывающийся с высокой аффинностью с активным сайтом α -Gal A дикого типа и конкретными мутантными формами α -Gal A, генотипы которых называют мутациями, поддающимися лечению согласно результатам НЕК-анализа. Связывание мигаластата стабилизирует эти мутантные формы α -Gal A в эндоплазматическом ретикулуме, способствуя их правильному транспорту в лизосомы, где диссоциация мигаластата позволяет α -Gal A уменьшить уровень GL-3 и других субстратов. Примерно 30-50% пациентов с болезнью Фабри имеют мутации, поддающиеся лечению согласно результатам НЕК-анализа; большинство из которых связаны с классическим фенотипом заболевания. Перечень мутаций, поддающихся лечению согласно результатам НЕК-анализа, включает по меньшей мере те мутации, которые перечислены в приведенной ниже таблице 1. В одном или нескольких вариантах осуществления, если двойная мутация присутствует в одной и той же хромосоме (мужчины и женщины), этот пациент считается поддающимся лечению согласно результатам НЕК-анализа, если двойная мутация присутствует в одной записи в таблице 1 (например, D55V/Q57L). В некоторых вариантах осуществления, если двойная мутация присутствует в разных хромосомах (только у женщин), такой пациент считается поддающимся лечению согласно результатам НЕК-анализа, если в таблице 1 присутствует любая одна из отдельных мутаций. В дополнение к приведенной ниже таблице 1 мутации, поддающиеся лечению согласно результатам НЕК-анализа, также

можно найти в сводке характеристик продукта и/или информации о назначении GALAFOLD™ в ряде стран, в которых GALAFOLD™ одобрен для применения, или на веб-сайте www.galafoldamenabilitytable.com, каждый из которых, таким образом, включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

Таблица 1

Изменение нуклеотида	Изменение нуклеотида	Изменение последовательности 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>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>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

Таблица 1

Изменение нуклеотида	Изменение нуклеотида	Изменение последовательности белка
c.7C>G	c.C7G	L3V
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.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

Таблица 1

Изменение нуклеотида	Изменение нуклеотида	Изменение последовательности белка
c.7C>G	c.C7G	L3V
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

Таблица 1

Изменение нуклеотида	Изменение нуклеотида	Изменение последовательности белка
c.7C>G	c.C7G	L3V
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.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.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

Таблица 1

Изменение нуклеотида	Изменение нуклеотида	Изменение последовательности белка
c.7C>G	c.C7G	L3V
c.646T>G	c.T646G	Y216D
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.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

Таблица 1

Изменение нуклеотида	Изменение нуклеотида	Изменение последовательности белка
c.7C>G	c.C7G	L3V
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
c.886A>T или c.886A>C	c.A886T или c.A886C	M296L
c.887T>C	c.T887C	M296T
c.888G>A или c.888G>T или c.888G>C	c.G888A или c.G888T или c.G888C	M296I

Таблица 1

Изменение нуклеотида	Изменение нуклеотида	Изменение последовательности белка
c.7C>G	c.C7G	L3V
c.893A>G	c.A893G	N298S
c.897C>G или c.897C>A	c.C897G или c.C897A	D299E
c.898C>T	c.C898T	L300F
c.899T>C	c.T899C	L300P
c.901C>G	c.C901G	R301G
c.902G>C	c.G902C	R301P
c.902G>A	c.G902A	R301Q
c.902G>T	c.G902T	R301L
c.907A>T	c.A907T	I303F
c.908T>A	c.T908A	I303N
c.911G>A	c.G911A	S304N
c.911G>C	c.G911C	S304T
c.919G>A	c.G919A	A307T
c.922A>G	c.A922G	K308E
c.924A>T или c.924A>C	c.A924T или c.A924C	K308N
c.925G>C	c.G925C	A309P
c.926C>T	c.C926T	A309V
c.928C>T	c.C928T	L310F
c.931C>G	c.C931G	L311V
c.935A>G	c.A935G	Q312R
c.936G>T или c.936G>C	c.G936T или c.G936C	Q312H
c.937G>T	c.G937T	D313Y
c.[937G>T; 1232G>A]	c.G937T/G1232A	D313Y/G411D
c.938A>G	c.A938G	D313G
c.946G>A	c.G946A	V316I
c.947T>G	c.T947G	V316G
c.950T>C	c.T950C	I317T
c.955A>T	c.A955T	I319F
c.956T>C	c.T956C	I319T
c.959A>T	c.A959T	N320I
c.962A>G	c.A962G	Q321R
c.962A>T	c.A962T	Q321L
c.963G>C или c.963G>T	c.G963C или c.G963T	Q321H
c.964G>A	c.G964A	D322N
c.964G>C	c.G964C	D322H
c.966C>A или c.966C>G	c.C966A или c.C966G	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

Таблица 1

Изменение нуклеотида	Изменение нуклеотида	Изменение последовательности белка
c.7C>G	c.C7G	L3V
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.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

Таблица 1

Изменение нуклеотида	Изменение нуклеотида	Изменение последовательности белка
c.7C>G	c.C7G	L3V
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

Функция почек у пациентов с болезнью Фабри

Прогрессирующее снижение функции почек является основным осложнением при болезни Фабри. Например, у пациентов, связанных с классическим фенотипом Фабри, наблюдается прогрессирующая почечная недостаточность, при которой может в конечном итоге потребоваться диализ или трансплантация почки.

В области техники часто применяемым способом оценки функции почек является GFR. Обычно GFR представляет собой объем жидкости, отфильтрованной из почечных клубочковых капилляров в капсулу Боумена за единицу времени. В клинических условиях оценки GFR проводят на основе клиренса креатинина из сыворотки крови. GFR можно оценить путем сбора мочи для определения количества креатинина, который был удален из крови в течение определенного промежутка времени. Также можно принять в учет возраст, размер тела и пол. Чем меньше число GFR, тем более серьезный характер имеет повреждение почек.

Результаты некоторых исследований указывают на то, что не проходящие лечение пациенты с болезнью Фабри, испытывают среднее снижение GFR 7,0-18,9 мл/мин./1,73 м² в год, в то время как пациенты, получающие ERT, могут испытывать среднее снижение GFR 2,0-2,7 мл/мин./1,73 м² в год, хотя у пациентов с более значительной протеинурией или с более тяжелым хроническим заболеванием почек могут происходить более быстрые снижения.

Расчетную GFR (eGFR) рассчитывают из сывороточного креатинина с использованием уравнения прослеживаемых сигналов масс-спектрометрии с изотопным разведением (IDMS). Двумя наиболее часто используемыми уравнениями для оценки скорости клубочковой фильтрации (GFR) из креатинина сыворотки крови являются уравнение Сотрудничества в области эпидемиологии хронических заболеваний почек (СКД-ЕПИ) и уравнение из исследования "Модификация рациона при заболевании почек" (MDRD). Как уравнение из исследования MDRD, так и уравнение СКД-ЕПИ включают переменные для возраста, пола и расы, которые могут позволить медикам наблюдать, что СКД присутствует, несмотря на то, что концентрация креатинина в сыворотке крови находится в пределах или чуть выше нормального контрольного интервала.

В уравнении СКД-ЕПИ применяют 2-наклонный "сплайн" для моделирования взаимосвязи между GFR и сывороточным креатинином, возрастом, полом и расой. Уравнение СКД-ЕПИ, выраженное в виде единого уравнения:

$$GFR = 141 \times \min(S_{кр/к}, 1)^\alpha \times \max(S_{кр/к}, 1)^{-1,209} \times 0,993^{\text{Возраст}} \times 1,018 [\text{если женщина}] \times 1,159 [\text{если негроид}],$$

где:

$S_{кр}$ представляет собой сывороточный креатинин в мг/дл,

k равняется 0,7 для женщин и 0,9 для мужчин,

α равняется -0,329 для женщин и -0,411 для мужчин,

\min указывает на минимальное значение $S_{кр/к}$ или 1, и

\max указывает на максимальное значение $S_{кр/к}$ или 1.

Ниже приведено уравнение из исследования MDRD для прослеживаемых сигналов IDMS (для способов с использованием креатинина, откалиброванных по эталонному способу IDMS):

$$GFR (\text{мл/мин./1,73 м}^2) = 175 \times (S_{кр})^{-1,154} \times (\text{возраст})^{-0,203} \times (0,742, \text{ если женщина}) \times (1,212, \text{ если афроамериканец}).$$

В уравнении не требуются переменные веса или роста, потому что результаты приводятся в нормализованном виде к $1,73 \text{ м}^2$ площади поверхности тела, что является приемлемой средней площадью поверхности взрослого человека. Это уравнение было подвергнуто обширной проверке в популяциях европейцев и афроамериканцев в возрасте от 18 до 70 лет с нарушенной функцией почек ($\text{eGFR} < 60 \text{ мл/мин./}1,73 \text{ м}^2$), и были показаны хорошие результаты у пациентов со всеми распространенными причинами заболевания почек.

Одним из способов оценки скорости клиренса креатинина ($\text{eC}_{\text{кр}}$) является использование уравнения Кокрофта-Голта, с помощью которого, в свою очередь, оценивают GFR в мл/мин.:

$$\text{клиренс креатинина (мл/мин.)} = [(140 - \text{возраст}) \times \text{масса(кг)}^*] \div 72 \times \text{уровень сывороточного креатинина (мг/дл)}$$

[* умноженное на 0,85, если женщина].

Уравнение Кокрофта-Голта является уравнением, предложенным для применения Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств для исследований почечной недостаточности. Обычно клиренс креатинина, рассчитанный по формуле Кокрофта-Голта, должен быть нормализован к площади поверхности тела, равной $1,73 \text{ м}^2$. Следовательно, результат, полученный с помощью этого уравнения, может быть выражен как расчетная eGFR в $\text{мл/мин./}1,73 \text{ м}^2$. Нормальный диапазон GFR с поправкой на площадь поверхности тела составляет 100-130 $\text{мл/мин./}1,73 \text{ м}^2$ у мужчин и 90-120 $\text{мл/мин./}1,73 \text{ м}^2$ у женщин моложе 40 лет.

Было определено, что тяжесть хронического заболевания почек определена шестью стадиями (также см. таблицу 2): (стадия 0) нормальная функция почек – GFR выше 90 $\text{мл/мин./}1,73 \text{ м}^2$ и отсутствие протеинурии; (стадия 1) – GFR выше 90 $\text{мл/мин./}1,73 \text{ м}^2$ с признаками повреждения почек; (стадия 2) (легкая) – GFR от 60 до 89 $\text{мл/мин./}1,73 \text{ м}^2$ с признаками повреждения почек; (стадия 3) (средняя) – GFR от 30 до 59 $\text{мл/мин./}1,73 \text{ м}^2$; (стадия 4) (тяжелая) – GFR от 15 до 29 $\text{мл/мин./}1,73 \text{ м}^2$; (стадия 5) отказ почек - GFR менее 15 $\text{мл/мин./}1,73 \text{ м}^2$. В приведенной ниже таблице 2 показаны различные стадии заболевания почек с соответствующими уровнями GFR.

Таблица 2

Стадия хронического заболевания почек	Уровень GFR (мл/мин./1,73 м ²)
Стадия 1 (норма)	≥ 90
Стадия 2 (легкая)	60 – 89
Стадия 3 (средняя)	30 – 59
Стадия 4 (тяжелая)	15 – 29
Стадия 5 (отказ почек)	< 15

Дозирование, состав и введение

Один или несколько режимов дозирования, описанных в данном документе, особенно подходят для пациентов с болезнью Фабри, у которых имеется некоторая степень почечной недостаточности. В нескольких исследованиях было исследовано применение 150 мг гидрохлорида мигаластата раз в два дня (QOD) на пациентах с болезнью Фабри. Одно исследование представляло собой 24-месячное исследование, включающее 6-месячный двойной слепой плацебо-контролируемый период у 67 пациентов, не получавших ERT. Другое исследование представляло собой 18-месячное исследование с активным контролем у 57 пациентов, получавших ERT, с 12-месячным открытым продолжением (OLE). Оба исследования включали пациентов с расчетной скоростью клубочковой фильтрации (eGFR) ≥30 мл/мин./1,73 м². Соответственно, оба исследования включали пациентов с болезнью Фабри с нормальной функцией почек, а также пациентов с легкой и умеренной почечной недостаточностью, но ни одно исследование не включало пациентов с тяжелой почечной недостаточностью.

Исследования лечения мигаластатом пациентов с болезнью Фабри показали, что 150 мг гидрохлорида мигаластата раз в два дня замедляли прогрессирование заболевания, что было видно по суррогатным маркерам.

Таким образом, в одном или нескольких вариантах осуществления пациенту с болезнью Фабри вводят мигаластат или его соль с частотой один раз в два дня (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 гидрохлоридной соли. В некоторых вариантах осуществления такие дозы относятся к свободному основанию мигаластата. В альтернативных вариантах осуществления такие дозы относятся к соли мигаластата. В дополнительных вариантах осуществления соль мигаластата представляет собой гидрохлорид мигаластата. Введение мигаластата или соли мигаластата в данном документе называют "терапией мигаластатом".

Эффективное количество мигаластата или его соли может находиться в диапазоне от приблизительно 100 мг FBE до приблизительно 150 мг FBE. Иллюстративные дозы включают приблизительно 100 мг FBE, приблизительно 105 мг FBE, приблизительно 110 мг FBE, приблизительно 115 мг FBE, приблизительно 120 мг FBE, приблизительно 123 мг FBE, приблизительно 125 мг FBE, приблизительно 130 мг FBE, приблизительно 135 мг FBE, приблизительно 140 мг FBE, приблизительно 145 мг FBE или приблизительно 150 мг FBE.

Еще раз следует отметить, что 150 мг гидрохлорида мигаластата эквивалентны 123 мг мигаластата в форме свободного основания. Таким образом, в одном или нескольких вариантах осуществления доза составляет 150 мг гидрохлорида мигаластата или представляет собой эквивалентную дозу мигаластата или его соли, отличную от гидрохлоридной соли, вводимую с частотой один раз в два дня. Как указано выше, эту дозу называют 123 мг FBE мигаластата. В дополнительных вариантах осуществления доза составляет 150 мг гидрохлорида мигаластата, вводимого с частотой один раз в два дня. В других вариантах осуществления доза составляет 123 мг свободного основания мигаластата, вводимого с частотой один раз в два дня.

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

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

Введение мигаластата или его соли можно осуществлять в течение определенного периода времени. В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат или его соль вводят в течение периода 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 долгосрочную терапию

мигаластатом, длящуюся 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 настоящим изобретением можно осуществлять в составе, подходящем для любого пути введения, но предпочтительно его вводят в лекарственной форме для перорального применения, такой как таблетка, капсула или раствор. В качестве одного примера, пациенту перорально вводят капсулы, каждая из которых содержит 150 мг гидрохлорида мигаластата или эквивалентную дозу мигаластата или его соли, отличной от гидрохлоридной соли.

В некоторых вариантах осуществления РС (например, мигаластат или его соль) вводят перорально. В одном или нескольких вариантах осуществления РС (например, мигаластат или его соль) вводят с помощью инъекции. РС может сопровождаться фармацевтически приемлемым носителем, который может зависеть от способа введения.

В одном или нескольких вариантах осуществления РС (например, мигаластат или его соль) вводят в рамках монотерапии, и он может быть представлен в форме, подходящей для любого пути введения, включая, например, перорально в форме таблеток, или капсул, или жидкости, или в виде стерильного водного раствора для инъекций. В других вариантах осуществления РС представлен в виде сухого лиофилизированного порошка для добавления в состав заместительного фермента во время или сразу после восстановления для предупреждения агрегации фермента *in vitro* до введения.

Если РС (например, мигаластат или его соль) составляют для перорального введения, таблетки или капсулы можно получить традиционными способами с фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами, такими как связующие средства (например, прежелатинизированный маисовый крахмал, поливинилпирролидон или гидроксипропилметилцеллюлоза), наполнители (например, лактоза, микрокристаллическая целлюлоза или гидрофосфат кальция), смазывающие вещества (например, стеарат магния, тальк или диоксид кремния), разрыхлители (например, картофельный крахмал или крахмалгликолят натрия) или увлажняющие средства (например, лаурилсульфат натрия). Таблетки можно покрывать с помощью способов, хорошо известных из уровня техники. Жидкие препараты для перорального введения могут быть в форме, например, растворов, сиропов или суспензий, или они могут быть

в виде сухого продукта для соединения с водой или другой подходящей средой-носителем перед применением. Такие жидкие препараты можно получать посредством традиционных способов с фармацевтически приемлемыми добавками, такими как суспендирующие средства (например, сорбитный сироп, производные целлюлозы или гидрогенизированные пищевые жиры), эмульгирующие средства (например, лецитин или гуммиарабик), неводные среды-носители (например, миндальное масло, маслянистые сложные эфиры, этиловый спирт или фракционированные растительные масла) и консерванты (например, метил- или пропил-п-гидроксибензоаты или сорбиновая кислота). Препараты при необходимости также могут содержать буферные соли, ароматизаторы, красители и подсластители. Препараты для перорального введения можно составить подходящим образом для получения контролируемого высвобождения соединения активного шаперона.

Фармацевтические составы РС (например, мигаластата или его соли), подходящие для парентерального/инъекционного применения, обычно содержат стерильные водные растворы (т. е. растворимые 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 в такой мере, чтобы легко вводилась шприцем. Она должна быть стабильна при условиях производства и хранения и должна быть законсервирована относительно загрязняющего воздействия микроорганизмов, таких как бактерии и грибки. Носитель может представлять собой растворитель или дисперсионную среду, содержащую, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль и полиэтиленгликоль, и т. п.), их подходящие смеси и растительные масла. Надлежащую текучесть можно поддерживать, например, путем использования покрытия, такого как лецитин, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсии и путем использования поверхностно-активных веществ. Предотвращение воздействия микроорганизмов можно осуществлять посредством различных антибактериальных и противогрибковых средств, например, парабенов, хлорбутанола, фенола, бензилового спирта, сорбиновой кислоты и т. п. Во многих случаях будет обосновано включение изотонических средств, например, сахаров или хлорида натрия. Пролонгированную абсорбцию инъекционных композиций можно получать путем применения в композициях средств, замедляющих абсорбцию, например, моностеарата алюминия и желатина.

Стерильные инъекционные растворы получают включением очищенного фермента (при наличии) и РС (например, мигаластата или его соли) в требуемом количестве в соответствующий растворитель с различными другими ингредиентами, указанными выше, при необходимости, с последующим фильтрованием или окончательной стерилизацией. Обычно дисперсии получают включением различных стерилизованных активных ингредиентов в стерильную среду, которая содержит основную дисперсионную среду и другие требуемые ингредиенты из указанных выше. В случае стерильных порошков для получения стерильных инъекционных растворов предпочтительными способами получения являются техники вакуумной сушки и сублимационной сушки, которые дают порошок активного ингредиента плюс любой дополнительный необходимый ингредиент из его предварительно простерилизованного и отфильтрованного раствора.

Состав может содержать вспомогательное вещество. Фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, которые можно включать в состав, представляют собой буферы, такие как цитратный буфер, фосфатный буфер, ацетатный буфер и 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 составами включают цитратные; ацетатные; бикарбонатные и фосфатные буферы. Фосфатный буфер является предпочтительным вариантом осуществления.

Путь введения соединения шаперона может представлять собой пероральный или парентеральный, включая внутривенный, подкожный, внутриартериальный, внутрибрюшинный, офтальмический, внутримышечный, буккальный, ректальный, вагинальный, подглазничный, внутричерепной, внутрикожный, внутричерепной, интраспинальный, внутрижелудочковый, интратекальный, интрацистернальный, внутрисуставной, внутрилегочный, интраназальный, чресслизистый, трансдермальный или посредством ингаляции.

Введение описанных выше парентеральных составов соединения шаперона можно осуществлять путем периодических инъекций болюса препарата, или их можно вводить

посредством внутривенного или внутрибрюшинного введения из резервуара, который находится вне (например, пакет для внутривенных инъекций) или внутри (например, биоразлагаемый имплантат) организма.

Варианты осуществления, относящиеся к фармацевтическим составам и введению, можно объединять с любым из других вариантов осуществления настоящего изобретения, например, вариантами осуществления, относящимся к способам лечения пациентов с болезнью Фабри, способам лечения не получавших ERT пациентов с болезнью Фабри, способам снижения уровня GL-3 в почках, способам стабилизации функции почек, способам уменьшения LVM или LVMi, способам уменьшения уровня lyso-Gb₃ в плазме крови и/или способам лечения желудочно-кишечных симптомов (например, диареи), способам увеличения α -Gal A у пациента, у которого диагностировали или у которого подозревают наличие болезни Фабри, применению фармакологического шаперона для α -Gal A для получения лекарственного препарата для лечения пациента, у которого диагностирована болезнь Фабри, или фармакологическому шаперону для α -Gal A для применения при лечении пациента, у которого диагностирована болезнь Фабри, а также вариантами осуществления, относящимся к поддающимся лечению мутациям, молекулам PC и их подходящим дозировкам.

В одном или нескольких вариантах осуществления PC (например, мигаластат или его соль) вводят в комбинации с ERT. При ERT увеличивается количество белка путем экзогенного введения инфузией фермента дикого типа или биологически функционального фермента. Эта терапия была разработана для многих генетических нарушений, включая LSD, такие как болезнь Фабри, как указано выше. Согласно ожиданиям, после инфузии экзогенный фермент должен поглощаться тканями с помощью неспецифического или рецептор-специфического механизма. В целом, эффективность поглощения не высокая, а время циркуляции экзогенного белка короткое. Кроме того, экзогенный белок является нестабильным и подвержен быстрому внутриклеточному разрушению, а также имеет потенциал вызывать неблагоприятные иммунологические реакции с последующей необходимостью различных видов лечения. В одном или нескольких вариантах осуществления шаперон вводят одновременно с заместительным ферментом (например, заместительным в отношении α -Gal A). В

некоторых вариантах осуществления шаперон составлен совместно с заместительным ферментом (например, заместительным в отношении α -Gal A).

В одном или нескольких вариантах осуществления пациента переводят с ERT на терапию мигаластатом. В некоторых вариантах осуществления определяют пациента на ERT, ERT у пациента прекращают, и пациент начинает получать терапию мигаластатом. Терапию мигаластатом можно проводить в соответствии с любым из описанных в данном документе способов.

Стабилизация функции почек

С помощью описанных в данном документе режимов дозирования можно стабилизировать функцию почек у пациентов с болезнью Фабри с различными степенями почечной недостаточности. В одном или нескольких вариантах осуществления пациенту с болезнью Фабри с почечной недостаточностью вводят от приблизительно 100 мг до приблизительно 150 мг FBE мигаластата или его соли с частотой один раз в два дня. В одном или нескольких вариантах осуществления пациенту вводят 123 мг FBE мигаластата или его соли, например, 123 мг мигаластата или 150 мг гидрохлорида мигаластата, раз в два дня. В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет легкую или умеренную почечную недостаточность. В конкретных вариантах осуществления пациент имеет легкую почечную недостаточность. В других конкретных вариантах осуществления пациент имеет умеренную почечную недостаточность. Пациент может быть получавшим ERT или не получавшим ERT.

Введение мигаластата можно осуществлять в течение определенного периода времени. В одном или нескольких вариантах осуществления мигаластат 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 или 24 месяца или по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 лет. В различных вариантах осуществления терапия мигаластатом представляет собой долгосрочную терапию мигаластатом, длящуюся по меньшей мере 6 месяцев, например, по меньшей мере 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 20 или 24 месяца или по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 лет.

Терапия мигаластатом может уменьшить снижение функции почек у пациента с болезнью Фабри по сравнению с тем же пациентом без лечения терапией мигаластатом.

В одном или нескольких вариантах осуществления терапия мигаластатом обеспечивает годовое изменение $eGFR_{СКД-ЕР1}$ у пациента, которое превышает (т. е. имеет более положительное значение чем) $-5,0$ мл/мин./ $1,73$ м²/год, например, превышает $-4,5$, $-4,0$, $-3,5$, $-3,0$, $-2,5$, $-2,0$, $-1,5$, $-1,0$, $-0,9$, $-0,8$, $-0,7$, $-0,6$, $-0,5$, $-0,4$, $-0,3$, $-0,2$, $-0,1$ или даже превышает 0 мл/мин./ $1,73$ м²/год. В одном или нескольких вариантах осуществления терапия мигаластатом обеспечивает годовое изменение $mGFR_{йогексол}$ у пациента, которое превышает $-5,0$ мл/мин./ $1,73$ м²/год, например, превышает $-4,5$, $-4,0$, $-3,5$, $-3,0$, $-2,5$, $-2,0$, $-1,5$, $-1,0$, $-0,9$, $-0,8$, $-0,7$, $-0,6$, $-0,5$, $-0,4$, $-0,3$, $-0,2$, $-0,1$ или даже превышает 0 мл/мин./ $1,73$ м²/год. Соответственно, терапия мигаластатом может уменьшить снижение или даже улучшить функцию почек пациента. Эти годовые скорости изменения можно измерять в течение конкретного периода времени, например, в течение 6 месяцев, 12 месяцев, 18 месяцев, 24 месяцев, 30 месяцев, 36 месяцев, 48 месяцев или 60 месяцев.

Терапия мигаластатом может уменьшить снижение функции почек для группы пациентов с болезнью Фабри, такой как субпопуляции пациентов с болезнью Фабри с различными степенями почечной недостаточности. В одном или нескольких вариантах осуществления терапия мигаластатом обеспечивает средний годовой показатель изменения $eGFR_{СКД-ЕР1}$ у пациента с болезнью Фабри с легкой, умеренной или тяжелой почечной недостаточностью, которая превышает $-5,0$ мл/мин./ $1,73$ м²/год, например, превышает $-4,5$, $-4,0$, $-3,5$, $-3,0$, $-2,5$, $-2,0$, $-1,5$, $-1,0$, $-0,9$, $-0,8$, $-0,7$, $-0,6$, $-0,5$, $-0,4$, $-0,3$, $-0,2$, $-0,1$ или даже превышает 0 мл/мин./ $1,73$ м²/год. В одном или нескольких вариантах осуществления терапия мигаластатом обеспечивает средний годовой показатель изменения $mGFR_{йогексол}$ у пациента с легкой, умеренной или тяжелой почечной недостаточностью, которая превышает $-5,0$ мл/мин./ $1,73$ м²/год, например, превышает $-4,5$, $-4,0$, $-3,5$, $-3,0$, $-2,5$, $-2,0$, $-1,5$, $-1,0$, $-0,9$, $-0,8$, $-0,7$, $-0,6$, $-0,5$, $-0,4$, $-0,3$, $-0,2$, $-0,1$ или даже превышает 0 мл/мин./ $1,73$ м²/год. Эти средние годовые скорости изменения можно измерять в течение конкретного периода времени, например, в течение 6 месяцев, 12 месяцев, 18 месяцев, 24 месяцев, 30 месяцев, 36 месяцев, 48 месяцев или 60 месяцев.

Масса левого желудочка

Описанные в данном документе режимы дозирования могут улучшить $LVMi$ у пациентов с болезнью Фабри. Естественный анамнез $LVMi$ и гипертрофии сердца у не

проходящих лечение пациентов с болезнью Фабри, независимо от фенотипа (Patel, O'Mahony *et al.* 2015), свидетельствует о прогрессирующем увеличении LVMi от +4,07 до +8,0 г/м²/год (Kampmann, Linhart *et al.* 2008; Wyatt, Henley *et al.* 2012; Germain, Weidemann *et al.* 2013). Поскольку у не проходящих лечение пациентов с болезнью Фабри, обычно наблюдается увеличение LVMi с течением времени, как снижения, так и поддержание LVMi являются признаками положительного эффекта терапии мигаластатом.

Терапия мигаластатом может уменьшить увеличение LVMi у пациента с болезнью Фабри по сравнению с тем же пациентом без лечения терапией мигаластатом. В одном или нескольких вариантах осуществления терапия мигаластатом обеспечивает изменение LVMi у пациента, которое составляет менее (т. е. имеет более отрицательное значение чем) 0 г/м², например, менее или равно приблизительно -0,5, -1, -1,5, -2, -2,5, -3, -3,5, -4, -4,5, -5, -5,5, -6, -7, -8, -9, -10, -11, -12, -13, -14, -15, -16, -17, -18, -19 или -20 г/м². Иными словами, в одном или нескольких вариантах осуществления терапия мигаластатом обеспечивает уменьшение LVMi, которое превышает 0 г/м², например, уменьшения, которые составляют по меньшей мере приблизительно 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 г/м². В одном или нескольких вариантах осуществления пациент имеет легкую или умеренную почечную недостаточность. В конкретных вариантах осуществления пациент имеет легкую почечную недостаточность. В других конкретных вариантах осуществления пациент имеет умеренную почечную недостаточность. Пациент может быть получавшим ERT или не получавшим ERT.

В одном или нескольких вариантах осуществления терапия мигаластатом обеспечивает среднее снижение LVMi в группе получавших ERT пациентов, которое составляет по меньшей мере приблизительно 1 г/м² по прошествии 18 месяцев введения мигаластата или его соли. В различных вариантах осуществления среднее снижение в группе получавших ERT пациентов по прошествии 18 месяцев введения мигаластата или его соли составляет по меньшей мере приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 г/м².

В одном или нескольких вариантах осуществления терапия мигаластатом обеспечивает среднее снижение LVMi в группе получавших ERT пациентов с умеренной почечной недостаточностью, которое составляет по меньшей мере приблизительно 1 г/м² по прошествии 18 месяцев введения мигаластата или его соли. В различных вариантах

осуществления среднее снижение в группе получавших ERT пациентов по прошествии 18 месяцев введения мигаластата или его соли составляет по меньшей мере приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 г/м².

В одном или нескольких вариантах осуществления терапия мигаластатом обеспечивает среднее снижение LVMi в группе не получавших ERT пациентов, которое составляет по меньшей мере приблизительно 1 г/м² по прошествии 24 месяцев введения мигаластата или его соли. В различных вариантах осуществления среднее снижение в группе не получавших ERT пациентов по прошествии 24 месяцев введения мигаластата или его соли составляет по меньшей мере приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 г/м².

В одном или нескольких вариантах осуществления терапия мигаластатом обеспечивает среднее снижение LVMi в группе не получавших ERT пациентов с умеренной почечной недостаточностью, которое составляет по меньшей мере приблизительно 1 г/м² по прошествии 24 месяцев введения мигаластата или его соли. В различных вариантах осуществления среднее снижение в группе не получавших ERT пациентов по прошествии 24 месяцев введения мигаластата или его соли составляет по меньшей мере приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 г/м².

Ссылка в данном описании на "один вариант осуществления", "определенные варианты осуществления", "разные варианты осуществления", "один или несколько вариантов осуществления" или "вариант осуществления" означает, что конкретный признак, структура, материал или характеристика, описанные в связи с вариантом осуществления, включены по меньшей мере в один вариант осуществления настоящего изобретения. Таким образом, такие фразы как "в одном или нескольких вариантах осуществления", "в определенных вариантах осуществления", "в разных вариантах осуществления", "в одном варианте осуществления" или "в варианте осуществления", появляющиеся в различных местах в данном описании, необязательно относятся к одному и тому же варианту осуществления настоящего изобретения. Кроме того, конкретные признаки, структуры, материалы или характеристики можно объединять любым подходящим образом в одном или нескольких вариантах осуществления.

Хотя настоящее изобретение в данном документе было описано со ссылкой на конкретные варианты осуществления, следует понимать, что эти варианты

осуществления представлены только для иллюстрации принципов и применений настоящего изобретения. Специалистам в данной области техники будет очевидно, что различные модификации и изменения можно сделать в способе и устройстве согласно настоящему изобретению без отклонения от сущности и объема настоящего изобретения. Таким образом, предполагается, что настоящее изобретение включает модификации и изменения, которые находятся в пределах объема приложенной формулы изобретения и ее эквивалентов.

Во всей настоящей заявке цитируются патенты, заявки на патенты, публикации, описания продуктов и протоколы, раскрытия которых включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте во всех отношениях.

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Фармакокинетика мигаластата у не пациентов с болезнью Фабри, у которых имеется почечная недостаточность

Проводили клиническое исследование для изучения фармакокинетики и безопасности мигаластата HCl у субъектов без болезни Фабри с почечной недостаточностью. Однократную дозу 150 мг мигаластата HCl вводили субъектам с легкой, средней и тяжелой почечной недостаточностью и с нормальной функцией почек. eGFR оценивали по уравнению Кокрофта-Голта в соответствии с руководством FDA для исследований почечной недостаточности.

Добровольцев зачисляли в две когорты, стратифицированные по функции почек, рассчитанной с использованием уравнения Кокрофта-Голта для клиренса креатинина (CL_{CR}). Субъектов распределяли по группам на основании расчетного значения CL_{CR} на этапе скрининга, рассчитанного по уравнению Кокрофта-Голта. Для каждого субъекта с помощью некомпартментного анализа с использованием программного обеспечения WinNonlin® (Pharsight Corporation, версия 5.2) определяли следующие PK-параметры мигаластата в плазме крови.

C_{max} максимальная наблюдаемая концентрация

t_{max} время до достижения максимальной концентрации

AUC_{0-t} площадь под кривой зависимости концентрации от времени от часа 0 до последней поддающейся измерению концентрации, рассчитанная с использованием правила линейных трапеций для возрастающих концентраций и логарифмического правила для нисходящих концентраций

$AUC_{0-\infty}$ площадь под кривой зависимости концентрации от времени, экстраполированная на бесконечность, которую рассчитывали по формуле:

$$AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t} + C_t/\lambda Z,$$

где C_t обозначает последнюю поддающуюся измерению концентрацию, а λZ обозначает кажущуюся конечную константу скорости выведения;

λZ кажущаяся конечная константа скорости выведения, где λZ обозначает величину углового коэффициента линейной регрессии логарифмической концентрации в зависимости от временного профиля на конечной фазе;

$t_{1/2}$ кажущийся конечный период полувыведения (когда это было возможно), где

$$t_{1/2} = (\ln 2)/\lambda Z;$$

CL/F клиренс при пероральном приеме, рассчитанный как доза/ $AUC_{0-\infty}$;

Vd/F объем распределения при пероральном приеме, рассчитанный как доза/ $AUC_{0-\infty} \cdot \lambda Z$;

C_{48} концентрация через 48 часов после введения дозы.

Определяли следующие фармакокинетические параметры: площадь под кривой зависимости концентрации от времени (AUC) от нулевого момента времени до последней измеряемой концентрации после введения дозы (AUC_{0-t}), и экстраполированную до бесконечности ($AUC_{0-\infty}$), максимальную наблюдаемую концентрацию (C_{max}), время до C_{max} (t_{max}), концентрацию через 48 часов после введения дозы (C_{48}), конечный период полувыведения ($t_{1/2}$), клиренс при пероральном приеме (CL/F) и кажущуюся конечную константу скорости выведения (λZ).

Исследуемых пациентов определяли как имеющих почечную недостаточность, если клиренс креатинина (CL_{CR}) составлял менее 90 мл/мин. (т. е. $CL_{CR} < 90$ мл/мин.), как

определяли с использованием формулы Кокрофта-Голта. Субъектов группировали по степени дисфункции почек: легкая ($CL_{Cr} \geq 60$ и < 90 мл/мин.), умеренная ($CL_{Cr} \geq 30$ и < 60 мл/мин.) или тяжелая ($CL_{Cr} \geq 15$ и < 30 мл/мин.).

Была изучена фармакокинетика мигаластата в плазме крови и моче у здоровых добровольцев и пациентов с болезнью Фабри с нормальной функцией почек и легкой недостаточностью функции почек. В исследованиях с однократными дозами мигаластат характеризовался средней скоростью абсорбции, достигая максимальных концентраций примерно через 3 часа (диапазон от 1 до 6 часов) после перорального введения в изученном диапазоне доз. Средние значения C_{max} и AUC_{0-t} увеличивались пропорционально дозе после пероральных доз в диапазоне от 75 мг до 1250 мг мигаластата. Значения среднего периода полувыведения ($t_{1/2}$) варьировали в диапазоне от 3,04 до 4,79 часа. Средний процент дозы, выведенной с мочой, относительно доз, оцененных в исследовании с однократной восходящей дозой (SAD), составлял 32,2%, 43,0%, 49,3% и 48,5% для групп с дозами 25 мг, 75 мг, 225 мг и 675 мг соответственно. В исследованиях с множественными возрастающими дозами наблюдали лишь минимальное накопление мигаластата в плазме крови. В исследовании TQT мигаластат был отрицательным по влиянию на реполяризацию сердечных клеток при однократных дозах 150 мг и 1250 мг (Johnson et al., Clin Pharmacol Drug Dev. 2013 Apr;2(2):120-32).

В этом исследовании почечной недостаточности при однократной дозе, проведенном на субъектах без болезни Фабри, концентрации однократной дозы 150 мг мигаластата HCl в плазме крови увеличивались с увеличением степени отказа почек по сравнению с субъектами с нормальной функцией почек. После однократной пероральной дозы 150 мг мигаластата HCl средняя $AUC_{0-\infty}$ мигаластата в плазме крови увеличилась у субъектов с легкой, средней или тяжелой почечной недостаточностью в 1,2, 1,8 и 4,5 раза соответственно по сравнению со здоровыми контрольными субъектами. Увеличения значений $AUC_{0-\infty}$ мигаластата в плазме крови были статистически значимыми у субъектов с умеренной или тяжелой почечной недостаточностью, но не у субъектов с легкой почечной недостаточностью после введения однократной дозы по сравнению с субъектами с нормальной функцией почек. t_{max} мигаластата было чуть более длинным в группе с тяжелой формой; C_{max} не увеличивалась ни в одной из групп после однократного пероральной дозы 150 мг мигаластата HCl у субъектов с различными степенями почечной недостаточности по сравнению со здоровыми

контрольными субъектами. Уровни C_{48} мигаластата в плазме крови были повышены у субъектов с умеренной (преимущественно у субъектов с $Cr_{CL} < 50$ мл/мин.) и тяжелой почечной недостаточностью по сравнению со здоровыми контрольными субъектами. $t_{1/2}$ мигаластата в плазме крови увеличивалось с увеличением степени почечной недостаточности (среднее арифметическое [min, max]: 6,4 [3,66, 9,47], 7,7 [3,81, 13,8], 22,2 [6,74, 48,3] и 32,3 [24,6, 48,0] ч.) у субъектов с нормальной функцией почек и субъектов с легкой, средней или тяжелой почечной недостаточностью соответственно. Среднее значение CL/F снижалось с увеличением степени отказа почек и варьировало от 12,1 до 2,7 л/ч. от легкой до тяжелой почечной недостаточности (Johnson, et al., American College of Clinical Pharmacology 4.4 (2015): 256-261).

Клиренс мигаластата снижался с увеличением почечной недостаточности, что приводило к увеличению $t_{1/2}$, $AUC_{0-\infty}$ и C_{48} мигаластата HCl в плазме крови по сравнению с субъектами с нормальной функцией почек. Частота нежелательных явлений была сопоставимой во всех группах функции почек.

После однократной пероральной дозы 150 мг мигаластата HCl концентрация в плазме крови (выраженная как AUC_{0-t}) увеличивалась с увеличением степени почечной недостаточности. На фиг. 1A показано увеличение значений AUC_{0-t} мигаластата по мере уменьшения значений CL_{CR} . На фиг. 1B показаны средние (SE) профили зависимости концентрации мигаластата в плазме крови от времени для каждой группы функции почек. Значения BLQ были введены как нулевые и включены в расчет средних значений.

Как продемонстрировано на фиг. 1C, по мере ухудшения почечной недостаточности значения AUC_{0-t} мигаластата в плазме крови увеличивались нелинейным образом. Результаты демонстрировали, что по мере ухудшения почечной недостаточности снижался клиренс мигаластата в плазме крови, что приводило к длительному $t_{1/2}$, более высоким значениям C_{48} и более высокой общей концентрации в плазме крови ($AUC_{0-\infty}$), в частности у субъектов с тяжелой почечной недостаточностью. Мигаластат в основном выводится с мочой в неизменном виде. Таким образом, увеличение концентрации мигаластата в плазме крови согласовывалось с ухудшением почечной недостаточности.

Выводы: клиренс мигаластата из плазмы крови уменьшался с увеличением степени почечной недостаточности.

В приведенной ниже таблице 3 показана сводка PK-результатов.

Таблица 3

PK	Единицы измерения	Группа функции почек			
		Норма (N = 8)	Легкая (N = 8)	Средняя (N = 8)	Тяжелая (N = 8)
AUC _{0-t}	(нг·ч./мл)	12306 (27,9)	14389 (31,1)	22126 (42,8)	53070 (27,0)
AUC _{0-∞}	(нг·ч./мл)	12397 (27,7)	14536 (30,7)	22460 (42,2)	56154 (24,9)
C _{max}	(нг/мл)	2100 (26,0)	2191 (28,8)	1868 (32,1)	2078 (45,5)
t _{max}	(ч.)	2,50 (1,50, 3,00)	2,50 (1,50, 4,00)	3,00 (1,50, 4,00)	4,27 (3,00, 8,00)
t _{1/2}	(ч.)	6,42 (1,93)	7,66 (3,02)	22,2 (14,2)	32,3 (7,35)
CL/F	(л/ч.)	12,1 (27,7)	10,3 (30,7)	6,68 (42,2)	2,67 (24,9)
C ₄₈	(нг/мл)	5,70 (3,63)	9,34 (7,57)	64,5 (68,1)	334 (126)

Пример 2. Моделирования нескольких доз на субъектах с почечной недостаточностью

В исследовании почечной недостаточности из примера 1 при значениях eGFR ≤ 35 мл/мин. наблюдали постоянные 2-4-кратные увеличения значений площади под кривой (AUC) и остаточной концентрации мигаластата через 48 часов после введения дозы после дозирования QOD (C₄₈) относительно субъектов с нормальной функцией почек.

Была разработана популяционная PK-модель для прогнозирования значений концентрации и времени выше IC₅₀ у пациентов с болезнью Фабри с различными степенями почечной недостаточности. В этом примере приведены результаты компьютерного моделирования дозирования субъектам с почечной недостаточностью из примера 1. Ключевым допущением было, что концентрация, характеризуемая у субъектов без болезни Фабри с почечной недостаточностью, является такой же, как у пациентов с болезнью Фабри, у которых имеется почечная недостаточность. Программным обеспечением было WinNonlin версии 5.2 или выше. Ниже описаны условия модели. В модельный эксперимент были включены 11 субъектов, у которых

была скорректированная по BSA $eGFR_{\text{Кокрофта-Галта}} \leq 35$ мл/мин./1,73 м²; 3 имели умеренную почечную недостаточность, но скорость у них составляла ≥ 30 мл/мин./1,73 м² и ≤ 35 мл/мин./1,73 м², а у 8 составляла ≥ 14 мл/мин./1,73 м² и < 30 мл/мин./1,73 м². Наступление стационарного состояния предполагали к 7-й дозе.

Использовали 2-комpartmentную модель для оценки Vd и констант скорости выведения, полученных из данных исследования с однократной дозой. Эти оценки были введены в каждый режим моделирования молекулярной дозы.

На фиг. 2 показаны средние графики, полученные с помощью моделирования, для режима дозирования 150 мг мигаластата HCl QOD. В приведенной ниже таблице 4 показаны значения концентрации и нормы накопления.

На фиг. 3 показана AUC относительно C₄₈ из примера 1. На этой диаграмме представлена визуальная корреляция AUC к концентрации C₄₈ для всех уровней функции почек и продемонстрировано, что эти два значения хорошо визуально коррелируют.

Таблица 4

Субъект	Группа функции почек	BSA-Adj eGFR Кокрофта- Галта (мл/мин./1,73 м ²)	AUC _{0- 48 ч.}	R _{ac48 ч.}
1	Умеренная (≥ 30 - ≤ 35)	35,3	31920	1,12
2	Умеренная (≥ 30 - ≤ 35)	35,0	35320	1,17
3	Умеренная (≥ 30 - ≤ 35)	32,2	17507	1,12
4	Тяжелая (< 30)	18,4	59178	1,42
5	Тяжелая (< 30)	17,0	44124	1,21
6	Тяжелая (< 30)	20,6	37409	1,28
7	Тяжелая (< 30)	15,8	41687	1,54
8	Тяжелая (< 30)	21,9	45790	1,29
9	Тяжелая (< 30)	29,3	56331	1,17
10	Тяжелая (< 30)	14,4	23732	1,45
11	Тяжелая (< 30)	24,4	39012	1,26
Среднее геометрическое		22,9	37256	1,27
CV%		33,8	33,4	11,1

Пример 3. Фармакокинетика мигаластата у пациентов с болезнью Фабри, у которых имеется почечная недостаточность

Приведенные выше результаты компьютерного моделирования предоставляют сценарии изменения концентрации мигаластата в плазме крови, но не учитывают почечную недостаточность у пациентов с болезнью Фабри. То есть эти данные не включают фармакодинамический компонент (lyso-GB₃ в плазме крови). Таким образом, проводили оценку двух пациентов с болезнью Фабри, у которых имеется почечная недостаточность. У одного пациента (P1) была умеренная почечная недостаточность, а у другого пациента (P2) — тяжелая почечная недостаточность. В приведенной ниже таблице 5 показана концентрация мигаластата в плазме крови для P1 по сравнению с результатами исследования в отношении не получавших ERT пациентов с болезнью Фабри, и субъектами со средней недостаточностью из исследования почечной недостаточности примера 1. Были два набора результатов измерений концентрации мигаластата, взятых с интервалом в 6 месяцев, и пациент ранее подвергался лечению мигаластатом. В таблице 6 приведена аналогичная информация для P2, за исключением сравнения с пациентами с тяжелой недостаточностью из исследования почечной недостаточности примера 1. Исследование в отношении не получавших ERT субъектов проводили на пациентах с болезнью Фабри с поддающимися лечению мутациями, где популяционное исследование PK проводили на минимальной выборке образцов крови. Сравнение с результатами, полученными в ходе исследования на не получавших ERT субъектах, позволяло сравнить PK в популяции пациентов с болезнью Фабри с преимущественно нормальной функцией, но с несколькими пациентами с болезнью Фабри с легкой недостаточностью и совсем небольшим количеством пациентов со средней недостаточностью. Ни один из пациентов в исследовании на не получавших ERT субъектах не имел тяжелой почечной недостаточности, потому что эти пациенты были исключены из исследования.

Таблица 5

Стандартные часы	Время (ч.)	Концентрация мигаластата (нг/мл)	Концентрация мигаластата через 6 месяцев (нг/мл)	Сравнение с PK из исследования на не получавших ERT субъектах	Сравнение с умеренной недостаточностью из примера 1

0	До введения дозы	19,9	36,4	8,70	64,5 (105,6%)
3	3 часа после введения дозы	1620	2160	1180 (31,0%)	1868 (29,7%)
24	24 часа после введения дозы	168	211	-	239 (85,1%)
48	48 часов после введения дозы	41,8	62,4	8,70	64,5 (105,6%)

Таблица 6

Стандартные часы	Указанное время	Случай	Концентрация мигаластата (нг/мл)	Сравнение с РПК из исследования на не получавших ЕРТ субъектах	Сравнение с тяжелой недостаточностью из примера 1
2	2ч.	1	564	-	1549 (59,3%)
48	48ч.	1	322	8,70	334 (38,2%)
24	24ч.	2	569	-	770 (26,5%)
48	48ч.	2	260	8,70	334 (38,2%)

Как видно из таблицы 5, концентрация C_{48} , хотя и увеличивалась на 49%, оставалась схожей с таковой у субъектов без болезни Фабри из примера 1 с умеренной почечной недостаточностью. C_{max} повышалась на 33%, но оставалась схожей с таковой из примера 1. C_{24} была схожей с таковой из примера 1 для умеренной почечной недостаточности. $eGFR_{MDRD}$ также оставалась в диапазоне для средней дисфункции (32 мл/мин.).

Проценты в скобках представляют собой коэффициенты вариаций, которые относительно высоки, что соответствует вариабельности концентраций в момент времени 0 ч. или момент времени 48 ч. Этот результат, судя по всему, связан с тем фактом, что половина субъектов из примера 1 с умеренной почечной недостаточностью имела низкие концентрации, а половина из них — высокие концентрации.

Концентрации через 48 часов были выше, чем на момент 0 часов для P1 (третий и четвертый столбцы), но для человека с умеренной недостаточностью из примера 1 концентрация через 48 часов была такой же, как и на момент 0 часов. Это было обусловлено тем, что у P1 отдельные образцы крови были взяты в моменты времени 0 и 48 ч. Однако в примере 1 использовали результаты моделирования с повторными дозами, полученные из данных исследования с однократной дозой, поэтому значения в обоих случаях были одинаковыми.

Схожие тенденции можно наблюдать в таблице 6. Соответственно, таблицы 5 и 6 подтверждают схожую фармакокинетику мигаластата у болеющих и пациентов без болезни Фабри, имеющих схожую почечную недостаточность.

На фиг. 4 показаны остаточные концентрации (C_{48}) мигаластата в плазме крови у пациентов с болезнью Фабри по сравнению с результатами исследования почечной недостаточности из примера 1. На фиг. 5 показаны средние (SD) концентрации из исследования почечной недостаточности по сравнению с расчетными значениями AUC у пациентов с болезнью Фабри. Как видно из данной фигуры, P1 и P2 следовали общей тенденции результатов исследования почечной недостаточности у пациентов без болезни Фабри.

В приведенной ниже таблице 7 показаны Lyso-GB₃/eGFR для P1.

Таблица 7

<u>Визиты</u>	<u>Lyso-Gb₃ (нМ/л)</u>	<u>eGFR (MDRD), IDMS, отслеживаемые</u>
18-месячный визит	11,1	42
24-месячный визит	13,1	37
30-месячный визит	10,8	Недоступно
34-месячный визит	9,3	32

Несмотря на продолжающееся снижение функции почек до eGFR 32 мл/мин./1,73 м², для lyso-GB₃ в плазме крови не было продемонстрировано клинически значимых изменений по сравнению с предыдущими визитами, а концентрации мигаластата в

плазме крови оставались такими же, как у пациентов без болезни Фабри с умеренной почечной недостаточностью.

Это исследование демонстрирует, что почечная недостаточность и фармакокинетические тенденции у пациентов с болезнью Фабри коррелируют с тенденциями у пациентов без болезни Фабри.

Пример 4. Дополнительные моделирования на субъектах с почечной недостаточностью

В этом примере приведены результаты дополнительного компьютерного моделирования введения дозы мигаластата субъектам с почечной недостаточностью из примера 1.

На фиг. 6A-D показана смоделированная средняя и наблюдаемая концентрация мигаластата в зависимости от времени для субъектов с нормальным состоянием, тяжелой, легкой и умеренной почечной недостаточностью соответственно. В приведенной ниже таблице 8 показаны данные.

Таблица 8

Группа почеч функции (диапазон CL_{CR} , мл/мин.), N	C_{max}^a (нг/мл)	$AUC_{0-\infty}^a$ (ч.*нг/мл)	AUC Соотношение	$t_{1/2}^c$ (ч.)
Нормальная (≥ 90), 8	2270 (37,6)	12808 (31,3)	-	6,2 (1,6)
Легкая ($\geq 60 < 90$), 8	2278 (22,5)	15359 (25,2)	1,2	8,0 (2,8)
Умеренная ($\geq 30 < 60$), 8	2058 (47,1)	23897 (38,9)	1,9	23,0 (13,3)
Тяжелая (< 30), 4	2122 (29,1)	61208 (23,1)	4,8	32,5 (2,4)

^a Среднее геометрическое (CV%)

^c Среднее (SD)

На фиг. 7A-D показаны смоделированные C_{max} , AUC, C_{min} и C_{48} соответственно для субъектов с нормальным состоянием, субъектов с легкой, умеренной и тяжелой почечной недостаточностью.

На фиг. 8A-D показан прогноз стационарного состояния для QOD. Пунктирной линией показано среднее значение, полученное из исследования QT. На фиг. 9A-D показаны C_{max} , AUC, C_{min} и C_{48} соответственно для аналогичного моделирования.

Пример 5. Клинические результаты терапии мигаластатом у пациентов с болезнью Фабри, у которых имеется почечная недостаточность и/или повышенная протеинурия

Как описано выше, было проведено несколько исследований с применением 150 мг гидрохлорида мигаластата раз в два дня (QOD) на пациентах с болезнью Фабри. Одно исследование представляло собой 24-месячное исследование, включающее 6-месячный двойной слепой плацебо-контролируемый период у 67 пациентов, не получавших ERT. Другое исследование представляло собой 18-месячное исследование с активным контролем у 57 пациентов, получавших ERT, с 12-месячным открытым продолжением (OLE). Как исследование с не получавшими ERT пациентами, так и исследование с получавшими ERT пациентами включали пациентов с $eGFR \geq 30$ мл/мин./1,73 м². Схемы исследований для этих исследований показаны на фиг. 10А-В.

В исследовании с пациентами, получавшими ERT, первичными параметрами эффективности были ежегодные изменения (мл/мин./1,73 м²/год) от исходного уровня до месяца 18 в измеряемой GFR полученной с помощью клиренса йогексола ($mGFR_{\text{йогексол}}$), и $eGFR$, полученной с помощью формулы Сотрудничества в области эпидемиологии хронических заболеваний почек (CKD-EPI) ($eGFR_{\text{CKD-EPI}}$). Также рассчитывали ежегодное изменение $eGFR$ с помощью исследования "Модификация рациона при заболевании почек" ($eGFR_{\text{MDRD}}$).

В исследовании с субъектами, не получавшими ERT, первичным параметром эффективности были включения GL-3 на внутренний капилляр почки. Функцию почек также оценивали с помощью $mGFR_{\text{йогексол}}$, $eGFR_{\text{CKD-EPI}}$ и $eGFR_{\text{MDRD}}$.

С помощью ретроспективного анализа данных, полученных в ходе исследования с субъектами, не получавшими ERT, изучали годовую скорость изменения $eGFR_{\text{CKD-EPI}}$ в подгруппах на основе $eGFR$ на исходном уровне для поддающихся лечению пациентов с умеренной почечной недостаточностью (от 30 до <60 мл/мин./1,73 м²), легкой почечной недостаточностью (от 60 до <90 мл/мин./1,73 м²) и нормальной функцией почек (≥ 90 мл/мин./1,73 м²). Годовая скорость изменения $eGFR_{\text{CKD-EPI}}$ от исходного уровня до 18/24 месяцев показана на фиг. 11. Как можно видеть из фиг. 11, у пациентов с умеренной почечной недостаточностью была средняя \pm SEM годовая скорость изменения $eGFR_{\text{CKD-EPI}}$, составляющая $-0,7 \pm 3,97$ мл/мин./1,73 м²/год, у пациентов с легкой почечной недостаточностью была средняя годовая скорость изменения

eGFR_{СКД-ЕР1}, составляющая $-0,8 \pm 1,01$ мл/мин./1,73 м²/год, а у пациентов с нормальной функцией почек была средняя годовая скорость изменения eGFR_{СКД-ЕР1}, составляющая $0,2 \pm 0,90$ мл/мин./1,73 м²/год. Эти данные демонстрируют стабилизацию функции почек при лечении мигаластатом, которое наблюдали независимо от исходного уровня eGFR.

С помощью ретроспективного анализа данных, полученных в ходе исследования с субъектами, получавшими ERT, изучали годовую скорость изменения eGFR_{СКД-ЕР1} и mGFR_{йогексол} в подгруппах на основе eGFR на исходном уровне для пациентов с легкой/умеренной почечной недостаточностью (от 30 до <90 мл/мин./1,73 м²) и нормальной функцией почек (≥ 90 мл/мин./1,73 м²). Годовые скорости изменения от исходного уровня до 18 месяцев для пациентов, получающих терапию мигаластатом (пациентов с поддающимися лечению мутациями) и ERT, показаны на фиг. 12А-В для eGFR_{СКД-ЕР1} и mGFR_{йогексол} соответственно. Как можно видеть из фиг. 12А, у пациентов с нормальной функцией почек была средняя годовая скорость изменения eGFR_{СКД-ЕР1}, составляющая $-0,4$ мл/мин./1,73 м²/год, при терапии мигаластатом и $-1,03$ мл/мин./1,73 м²/год при ERT. У пациентов с легкой или умеренной почечной недостаточностью была средняя годовая скорость изменения eGFR_{СКД-ЕР1}, составляющая $-3,33$ мл/мин./1,73 м²/год, при терапии мигаластатом и $-9,05$ мл/мин./1,73 м²/год при ERT. Как можно видеть из фиг. 12В, у пациентов с нормальной функцией почек была средняя годовая скорость изменения mGFR_{йогексол}, составляющая $-4,35$ мл/мин./1,73 м²/год, при терапии мигаластатом и $-3,24$ мл/мин./1,73 м²/год при ERT. У пациентов с легкой или умеренной почечной недостаточностью была средняя годовая скорость изменения mGFR_{йогексол}, составляющая $-3,51$ мл/мин./1,73 м²/год, при терапии мигаластатом и $-7,96$ мл/мин./1,73 м²/год при ERT. Эти данные демонстрируют, что терапия мигаластатом и ERT оказывали сопоставимые благоприятные эффекты на функцию почек с использованием обоих способов GFR.

С помощью другого ретроспективного анализа данных, полученных в ходе исследования с субъектами, получавшими ERT, изучали годовую скорость изменения eGFR_{СКД-ЕР1} в подгруппах на основе eGFR на исходном уровне для пациентов с умеренной почечной недостаточностью (от 30 до <60 мл/мин./1,73 м²), легкой почечной недостаточностью (от 60 до <90 мл/мин./1,73 м²) и нормальной функцией почек (≥ 90 мл/мин./1,73 м²). Годовые скорости изменения от исходного уровня до 18 месяцев для

пациентов, получающих терапию мигаластатом (пациентов с поддающимися лечению мутациями) и ERT, показаны на фиг. 13. Как можно видеть из фиг. 13, у пациентов с нормальной функцией почек была средняя \pm SE годовая скорость изменения $eGFR_{СКД-ЕР1}$, составляющая $-2,0 \pm 0,57$ мл/мин./1,73 м²/год, при терапии мигаластатом и $-2,1 \pm 1,60$ мл/мин./1,73 м²/год при ERT. У пациентов с легкой почечной недостаточностью была средняя \pm SE годовая скорость изменения $eGFR_{СКД-ЕР1}$, составляющая $-0,2 \pm 1,25$ мл/мин./1,73 м²/год, при терапии мигаластатом и $-7,3 \pm 6,01$ мл/мин./1,73 м²/год при ERT. У пациентов с умеренной почечной недостаточностью была средняя \pm SE годовая скорость изменения $eGFR_{СКД-ЕР1}$, составляющая $-4,5 \pm 2,68$ мл/мин./1,73 м²/год, при терапии мигаластатом и $1,3$ мл/мин./1,73 м²/год при ERT. Эти данные демонстрируют, что мигаластат стабилизировал функцию почек независимо от того, была ли у пациента нормальная функция почек или легкая почечная недостаточность. Хотя количество пациентов с умеренной почечной недостаточностью, включенных в этот анализ, было равно двум (по сравнению с тремя для исследования на субъектах, не получавших ERT), эти данные подтверждают эффективность мигаластата при введении пациентам с той или иной формой почечной недостаточности.

С помощью дополнительного анализа данных, полученных в ходе этих исследований, изучали годовое изменение $eGFR_{СКД-ЕР1}$, $LVMi$, активность α -Gal A WBC и уровни lyso-Gb₃ в плазме крови относительно функции почек на исходном уровне. Результаты для каждой из подгрупп функции почек показаны в приведенной ниже таблице 9, с подгруппами исследования с субъектами, не получавшими ERT, по $eGFR_{MDRD}$ и подгруппами исследования с субъектами, получавшими ERT, по $mGFR_{йогексол}$.

Таблица 9

Обработка	Подгруппа функции почек	Изменение от исходного уровня, среднее \pm SE [n]			
		Годовое изменение $eGFR_{СКД-ЕР1}$ мл/мин./1,73 м ²	$LVMi$, г/м ²	Активность α -Gal A WBC, 4 МЕд/ч./мг (только у мужчин)	lyso-Gb ₃ в плазме крови, нмоль/л (SD вместо SE)
Субъекты, не получавшие ERT					
Мигаластат □	от 30 до <60	$+3,2 \pm 1,1$	$-5,5 \pm 10,0$	+1,4	-29,0 (41,5)
Мигаластат		[2]	[2]	[1]	[2]
0-24 месяца	≥ 60	$-0,7 \pm 0,6$	$-9,2 \pm 5,8$	$+1,6 \pm 1,5$	-7,7 (24,5)

		[20]	[14]	[3]	[14]
Плацебо □	от 30 до <60	-2,8 ± 2,8	-21,0 ± 14,1	+4,0 ± 3,0	—
Мигаластат		[2]	[2]	[2]	
6-24 месяца	≥60	+0,1 ± 0,7	-3,2 ± 5,6	+5,2 ± 1,4	-20,0 (28,7)
		[17]	[10]	[5]	[13]
Получавшие ERT					
Мигаластат	от 30 до <60	-4,2 ± 2,7	-10,2 ± 2,4	+4,6 ± 2,3	+0,5 (0,6)
0-18 месяцев		[2]	[2]	[2]	[3]
	≥60	-0,4 ± 0,8	-4,8 ± 2,3	+5,5 ± 1,4	1,9 (5,8)
		[32]	[24]	[12]	[28]

Как можно видеть из таблицы 9, в исследовании с субъектами, не получавшими ERT, lyso-Gb₃ в плазме крови и LVMi снижались, а активность α-Gal A WBC повышалась с применением мигаластата через 24 месяца в обеих подгруппах функции почек. Более того, независимо от функции почек в исследовании с субъектами, не получавшими ERT, имело место уменьшение количества включений GL-3 во внутреннем капилляре почки от исходного уровня до 6 месяцев с применением мигаластата (eGFR <60 мл/мин./1,73 м², -0,39, n=3; eGFR ≥60 мл/мин./1,73 м², -0,30, n=22), но не с применением плацебо (<60, 0,04, n=2; ≥60, 0,07, n=18). В таблице 9 также показано, что в исследовании с субъектами, получавшими ERT, LVMi снижался, активность α-Gal A WBC увеличилась, а уровень lyso-Gb₃ оставался низким и стабильным в течение 18 месяцев лечения мигаластатом в обеих подгруппах функции почек. В таблице 9 также показано, что функция почек стабилизировалась у пациентов с исходным уровнем eGFR ≥60 мл/мин./1,73 м² как в исследовании с субъектами, не получавшими ERT, так и в исследовании с субъектами, получавшими ERT. Эти данные дополнительно подтверждают эффективность мигаластата при введении пациентам с той или иной формой почечной недостаточности.

В дополнение к описанным выше исследованиям другие пациенты также получали терапию мигаластатом и в других исследованиях, таких как исследования с подбором дозы и/или долгосрочные расширенные исследования. Пациенты, которые завершали некоторые исследования, имели право на продолжение открытого приема 150 мг мигаластата HCl раз в два дня в отдельном расширенном исследовании.

Дополнительно были проанализированы 12 пациентов, завершивших множество исследований. Для расчета годовой скорости изменения eGFR_{СКД-ЕРТ} от исходного уровня использовали линейную регрессию. На момент проведения данного анализа среднее время для мигаластата у этих 12 пациентов составляло 8,2 (стандартное отклонение [SD], 0,83) года, медианное время лечения составляло 8,4 (диапазон, 6,3-

9.3) года и 11 пациентов получали мигаластат HCl дозой 150 мг QOD в течение ≥ 17 месяцев. Исходные демографические данные для этих 12 пациентов показаны в приведенной ниже таблице 10.

Таблица 10

Пациент	Возраст (лет)	Пол	eGFR (мл/мин./1,73 м ²)
1	37	М	100,9
2	39	М	114,4
3	42	М	87,1
4	49	М	84,4
5	24	М	126,2
6	39	М	121,7
7	55	М	92,0
8	47	М	135,7
9	62	Ж	90,1
10	59	Ж	76,4
11	36	Ж	100,6
12	43	Ж	116,0
Среднее (SD)	44,3 (10,7)	--	103,8 (18,7)
Медианное (min, max)	42,5 (24, 62)	--	100,8 (76, 136)

Годовое изменение eGFR_{СКД-ЕР1} для этих пациентов показано в приведенной ниже таблице 11.

Таблица 11

Пациент	Годовая скорость изменения eGFR _{СКД-ЕР1} , мл/мин./1,72 м ² а
1	-0,853
2	0,584
3	-2,838
4	0,488
5	0,001
6	-2,179
7	-0,704
8	-1,09
9	-0,443
10	0,219
11	-0,342
12	-0,871
Среднее (95% CI)	-0,67 (-1,32, -0,02)

^aВключает всю продолжительность лечения мигаластатом, включая периоды, когда пациенты получали различные режимы дозирования мигаластата, и периоды, когда пациенты получали мигаластат HCl дозой 150 мг раз в два дня.

Как можно видеть из таблицы 11, у этих 12 пациентов функция почек оставалась стабильной (годовое среднее изменение $eGFR_{\text{СКД-ЕР1}}$, $-0,67$ мл/мин./ $1,72$ м² [95% CI -1,32, -0,02]) в ходе всего периода лечения мигаластатом (средняя продолжительность 8,2 года). Функция почек также оставалась стабильной (годовое среднее изменение $eGFR_{\text{СКД-ЕР1}}$, $0,24$ мл/мин./ $1,72$ м² [95% CI -1,7, 2,2]) в анализе с участием 11 пациентов, которые получали мигаластат HCl дозой 150 мг QOD в течение ≥ 17 месяцев (средняя продолжительность 4-5 лет). Полученные для почек результаты для этих 11 пациентов, исходя из их пола и уровней протеинурии на исходном уровне, показаны в приведенной ниже таблице 12.

Таблица 12

Пол	Категория исходного уровня 24-часового белка в моче (мг/24 ч.) ^a	n	Годовая скорость изменения $eGFR_{\text{СКД-ЕР1}}$, мл/мин./ $1,73$ м ² , Среднее (95%CI)
Все	Все	11	+0,3 [-1,7, 2,2]
Мужчины	<100	3	+0,4 [-4,1, 4,9]
Мужчины	100-1000	4	+2,4 [-4,0, 8,8]
Женщины	<100	2	-1,6 [-2,4, -0,9]
Женщины	100-1000	2	-1,7 [-2,0, -1,3]

Эти результаты показывают стабилизацию функции почек, которая была продемонстрирована у пациентов мужского и женского пола с болезнью Фабри и поддающимися лечению мутации, которые получали лечение мигаластатом в течение срока до 9 лет. Данные эффекты наблюдали в широком диапазоне исходного уровня протеинурии.

Проводили другой анализ на пациентах, которые принимали участие во многих исследованиях по применению мигаластата. Годовую скорость изменения $eGFR_{\text{СКД-ЕР1}}$ и $eGFR_{\text{MDRD}}$ рассчитывали для пациентов на основании протеинурии на исходном уровне (<100, 100-1000, >1000 мг/24 ч.). Всего было проанализировано 52 пациента, не получавших ERT, с поддающимися лечению мутациями, которые получали мигаластат

НС1 дозой 150 мг QOD в течение ≥ 17 месяцев. В приведенной ниже таблице 13 показан исходный уровень протеинурии и продолжительность лечения мигаластатом для этих пациентов.

Таблица 13

Исходный уровень 24-ч. белка в моче, мг/24 ч.	Мужчины		Женщины	
	n	Продолжительность, годы, медианное (min, max)	n	Продолжительность, годы, медианное (min, max)
<100	3	4,8 (4,8, 4,8)	9	4,2 (2,0, 5,3)
100-1000	16	4,3 (1,5, 4,9)	19	3,5 (1,5, 5,0)
>1000	2	3,6 (3,0, 4,3)	3	3,7 (1,5, 4,1)

Как можно видеть из таблицы 13, у большинства пациентов (67%) были уровни протеинурии от 100 до 1000 мг/24 ч. на исходном уровне; у 23% пациентов были исходные уровни протеинурии <100 мг/24 ч. и у 10% были уровни >1000 мг/24 ч. Медианная продолжительность лечения варьировала от 3,5 до 4,8 года (максимум 5,3 года) среди подгрупп исходного уровня протеинурии.

Годовое среднее изменение $eGFR_{СКД-EP1}$ при лечении мигаластатом от исходного уровня протеинурии для этих пациентов показано в приведенной ниже таблице 14.

Таблица 14

Исходный уровень 24-ч. белка в моче, мг/24 ч.	Мужчины		Женщины	
	n	Годовая скорость изменения $eGFR_{СКД-EP1}$, мл/мин./1,73 м ² , среднее (SE)	n	Годовая скорость изменения $eGFR_{СКД-EP1}$, мл/мин./1,73 м ² , среднее (SE)
<100	3	0,4 (1,0)	9	-0,9 (0,4)
100-1000	16	0,2 (0,8)	19	-0,3 (1,0)
>1000	2	-5,1 (0,1)	3	-2,2 (1,3)

Как можно видеть из таблицы 14, $eGFR_{СКД-EP1}$ в ходе лечения мигаластатом оставалась стабильной у большинства пациентов с исходным уровнем протеинурии ≤ 1000 мг/24 ч. Снижения $eGFR_{СКД-EP1}$ наблюдали у пациентов с уровнями протеинурии >1000 мг/24 ч. на исходном уровне.

Результаты для eGFR_{MDRD} сравнивали с изменениями eGFR_{MDRD}, опубликованными в литературе для не проходивших лечение пациентов с болезнью Фабри (когорта течения болезни; Schiffmann R et al. Nephrol Dial Transplant. 2009;24:2102-11), и они показаны в приведенной ниже таблице 15:

Таблица 15

Исходный уровень 24-ч. белка в моче, мг/24 ч.	Мужчины		Женщины	
	n	Годовая скорость изменения eGFR, мл/мин./м ² , среднее (SEM)	n	Годовая скорость изменения eGFR, мл/мин./м ² , среднее (SEM)
Когорта мигаластата				
<100	3	1,2 (1,2)	9	-0,9 (0,5)
100-1000	16	0,9 (1,0)	19	1,3 (1,5)
>1000	2	-4,3 (0,1)	3	-1,7 (1,1)
Когорта течения болезни (Schiffmann et al. 2009)				
<100	18	-1,6 (1,5)	7	-0,6 (2,6)
100-1000	21	-3,3 (1,8)	17	-2,2 (2,2)
>1000	22	-6,9 (1,5)	5	-4,6 (2,3)

Как показано в таблице 15, среднее годовое изменение eGFR было меньше в целом у пациентов, получавших лечение мигаластатом, по сравнению с тем, что наблюдали в когорте течения болезни в разных категориях протеинурии. Хотя средняя eGFR снижалась во всех подгруппах без лечения, увеличения наблюдали для мигаластата у пациентов с исходным уровнем протеинурии <100 мг/24 ч. (мужчины) и 100-1000 мг/24 ч. (мужчины и женщины). Независимо от лечения eGFR снижалась у пациентов с исходным уровнем протеинурии >1000 мг/24 ч.; однако у пациентов, получавших лечение мигаластатом, наблюдали меньшие снижения по сравнению с когортой течения болезни. Таким образом, длительное лечение мигаластатом обычно было связано со стабильной функцией почек у пациентов с болезнью Фабри и поддающимися лечению мутациями независимо от исходного уровня протеинурии.

В патентной и научной литературе, на которую ссылаются в данном документе, представлены сведения, доступные специалистам в данной области техники. Все патенты США и опубликованные или неопубликованные заявки на патенты США, цитируемые в данном документе, включены посредством ссылки. Все опубликованные зарубежные патенты и патентные заявки, цитируемые в данном документе, таким

образом, включены посредством ссылки. Все остальные опубликованные источники, документы, монографии и научная литература, цитируемые в данном документе, таким образом, включены посредством ссылки.

Несмотря на то, что настоящее изобретение было конкретно показано и описано со ссылкой на предпочтительные варианты осуществления, специалистам в данной области техники будет понятно, что в него можно внести различные изменения по форме и деталям, без отступления от объема настоящего изобретения, охватываемого прилагаемой формулой изобретения.

Настоящее изобретение дополнительно проиллюстрировано следующими вариантами осуществления:

1. Способ стабилизации функции почек у пациента, у которого диагностирована болезнь Фабри и у которого имеется почечная недостаточность, при этом способ предусматривает введение пациенту эффективного количества мигаластата или его соли с частотой один раз в два дня, где эффективное количество составляет от приблизительно 100 мг до приблизительно 150 мг эквивалента свободного основания (FBE), и где введение мигаластата или его соли является эффективным для стабилизации функции почек у пациента.
2. Способ по п. 1, где пациент имеет легкую или умеренную почечную недостаточность.
3. Способ по п. 1, где пациент имеет легкую почечную недостаточность.
4. Способ по п. 1, где пациент имеет умеренную почечную недостаточность.
5. Способ по п. 1, где пациент имеет тяжелую почечную недостаточность.
6. Способ по любому из пп. 1-5, где пациент представляет собой пациента, получавшего заместительную ферментную терапию (ERT).
7. Способ по любому из пп. 1-5, где пациент представляет собой пациента, не получавшего заместительную ферментную терапию (ERT).
8. Способ по любому из пп. 1-7, где у пациента уровень протеинурии составляет менее 100 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

9. Способ по любому из пп. 1-7, где у пациента уровень протеинурии составляет от 100 до 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.
10. Способ по любому из пп. 1-7, где у пациента уровень протеинурии составляет более 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.
11. Способ по любому из пп. 1-10, где мигаластат или его соль представлены в твердой лекарственной форме.
12. Способ по любому из пп. 1-11, где мигаластат или его соль вводят перорально.
13. Способ по любому из пп. 1-12, где мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 28 дней.
14. Способ по любому из пп. 1-13, где мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 6 месяцев.
15. Способ по любому из пп. 1-14, где мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.
16. Способ по любому из пп. 1-15, где введение эффективного количества мигаластата или его соли группе пациентов, имеющих легкую или умеренную почечную недостаточность, обеспечивает средний годовой показатель изменения $eGFR_{CKD-EPI}$ более $-1,0$ мл/мин./ $1,73$ м².
17. Способ по любому из пп. 1-16, где введение эффективного количества мигаластата или его соли группе пациентов, имеющих легкую почечную недостаточность, обеспечивает средний годовой показатель изменения $eGFR_{CKD-EPI}$ более $-1,0$ мл/мин./ $1,73$ м².
18. Способ по любому из пп. 1-17, где введение эффективного количества мигаластата или его соли группе пациентов, имеющих умеренную почечную недостаточность, обеспечивает средний годовой показатель изменения $eGFR_{CKD-EPI}$ более $-1,0$ мл/мин./ $1,73$ м².
19. Способ по любому из пп. 1-18, где эффективное количество составляет приблизительно 123 мг FBE.

20. Способ по любому из пп. 1-19, где эффективное количество составляет приблизительно 123 мг свободного основания мигаластата.
21. Способ по любому из пп. 1-19, где эффективное количество составляет приблизительно 150 мг гидрохлорида мигаластата.
22. Способ по любому из пп. 1-21, где пациент имеет поддающуюся лечению мутацию в гене α -галактозидазы А согласно результатам анализа с использованием клеток НЕК.
23. Способ лечения болезни Фабри у пациента, у которого диагностирована болезнь Фабри и у которого имеется почечная недостаточность, при этом способ предусматривает введение пациенту эффективного количества мигаластата или его соли с частотой один раз в два дня, где эффективное количество составляет от приблизительно 100 мг до приблизительно 150 мг эквивалента свободного основания (FBE).
24. Способ по п. 23, где пациент имеет легкую или умеренную почечную недостаточность.
25. Способ по п. 23, где пациент имеет легкую почечную недостаточность.
26. Способ по п. 23, где пациент имеет умеренную почечную недостаточность.
27. Способ по п. 23, где пациент имеет тяжелую почечную недостаточность.
28. Способ по любому из пп. 23-27, где пациент представляет собой пациента, получавшего заместительную ферментную терапию (ERT).
29. Способ по любому из пп. 23-27, где пациент представляет собой пациента, не получавшего заместительную ферментную терапию (ERT).
30. Способ по любому из пп. 23-29, где у пациента уровень протеинурии составляет менее 100 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.
31. Способ по любому из пп. 23-29, где у пациента уровень протеинурии составляет от 100 до 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.
32. Способ по любому из пп. 23-29, где у пациента уровень протеинурии составляет более 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

33. Способ по любому из пп. 23-32, где мигаластат или его соль представлены в твердой лекарственной форме.
34. Способ по любому из пп. 23-33, где мигаластат или его соль вводят перорально.
35. Способ по любому из пп. 23-34, где мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 28 дней.
36. Способ по любому из пп. 23-35, где мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 6 месяцев.
37. Способ по любому из пп. 23-36, где мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.
38. Способ по любому из пп. 23-37, где введение мигаластата или его соли является эффективным для увеличения активности α -галактозидазы А (α -Gal A) у пациента.
39. Способ по п. 38, где активность α -Gal A представляет собой активность α -Gal A лейкоцитов (WBC).
40. Способ по любому из пп. 23-39, где введение мигаластата или его соли является эффективным для уменьшения индекса массы левого желудочка (LVMI) у пациента.
41. Способ по любому из пп. 23-40, где введение мигаластата или его соли является эффективным для стабилизации глоботриаозилсфингозина (lyso-Gb₃) в плазме крови у пациента.
42. Способ по любому из пп. 23-41, где введение мигаластата или его соли является эффективным для стабилизации функции почек у пациента.
43. Способ по любому из пп. 23-42, где эффективное количество составляет приблизительно 123 мг FBE.
44. Способ по любому из пп. 23-43, где эффективное количество составляет приблизительно 123 мг свободного основания мигаластата.
45. Способ по любому из пп. 23-43, где эффективное количество составляет приблизительно 150 мг гидрохлорида мигаластата.

46. Способ по любому из пп. 23-45, где пациент имеет поддающуюся лечению мутацию в гене α -галактозидазы А согласно результатам анализа с использованием клеток НЕК.
47. Способ стабилизации глоботриаозилсфингозина (lyso-Gb₃) в плазме крови у пациента, у которого диагностирована болезнь Фабри и у которого имеется почечная недостаточность, при этом способ предусматривает введение пациенту эффективного количества мигаластата или его соли с частотой один раз в два дня, где эффективное количество составляет от приблизительно 100 мг до приблизительно 150 мг эквивалента свободного основания (FBE), и где введение мигаластата или его соли является эффективным для стабилизации lyso-Gb₃ в плазме крови у пациента.
48. Способ по п. 47, где пациент имеет легкую или умеренную почечную недостаточность.
49. Способ по п. 47, где пациент имеет легкую почечную недостаточность.
50. Способ по п. 47, где пациент имеет умеренную почечную недостаточность.
51. Способ по п. 47, где пациент имеет тяжелую почечную недостаточность.
52. Способ по любому из пп. 47-50, где пациент представляет собой пациента, получавшего заместительную ферментную терапию (ERT).
53. Способ по любому из пп. 47-51, где пациент представляет собой пациента, не получавшего заместительную ферментную терапию (ERT).
54. Способ по любому из пп. 47-53, где у пациента уровень протеинурии составляет менее 100 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.
55. Способ по любому из пп. 47-53, где у пациента уровень протеинурии составляет от 100 до 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.
56. Способ по любому из пп. 47-53, где у пациента уровень протеинурии составляет более 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.
57. Способ по любому из пп. 47-56, где мигаластат или его соль представлены в твердой лекарственной форме.
58. Способ по любому из пп. 47-57, где мигаластат или его соль вводят перорально.

59. Способ по любому из пп. 47-58, где мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 28 дней.
60. Способ по любому из пп. 47-59, где мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 6 месяцев.
61. Способ по любому из пп. 47-60, где мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.
62. Способ по любому из пп. 47-61, где введение эффективного количества мигаластата или его соли группе не получавших ERT пациентов, имеющих умеренную почечную недостаточность, обеспечивает среднее снижение уровня lyso-Gb₃ в плазме крови на по меньшей мере приблизительно 5 нмоль/л по прошествии 24 месяцев введения мигаластата или его соли.
63. Способ по любому из пп. 47-62, где эффективное количество составляет приблизительно 123 мг FBE.
64. Способ по любому из пп. 47-63, где эффективное количество составляет приблизительно 123 мг свободного основания мигаластата.
65. Способ по любому из пп. 47-64, где эффективное количество составляет приблизительно 150 мг гидрохлорида мигаластата.
66. Способ по любому из пп. 47-65, где пациент имеет поддающуюся лечению мутацию в гене α -галактозидазы А согласно результатам анализа с использованием клеток НЕК.
67. Способ уменьшения индекса массы левого желудочка (LVMi) у пациента, у которого диагностирована болезнь Фабри и у которого имеется почечная недостаточность, при этом способ предусматривает введение пациенту эффективного количества мигаластата или его соли с частотой один раз в два дня, где эффективное количество составляет от приблизительно 100 мг до приблизительно 150 мг эквивалента свободного основания (FBE), и где введение мигаластата или его соли является эффективным для уменьшения LVMi у пациента.
68. Способ по п. 67, где пациент имеет легкую или умеренную почечную недостаточность.

69. Способ по п. 67, где пациент имеет легкую почечную недостаточность.
70. Способ по п. 67, где пациент имеет умеренную почечную недостаточность.
71. Способ по п. 67, где пациент имеет тяжелую почечную недостаточность.
72. Способ по любому из пп. 67-71, где пациент представляет собой пациента, получавшего заместительную ферментную терапию (ERT).
73. Способ по любому из пп. 67-71, где пациент представляет собой пациента, не получавшего заместительную ферментную терапию (ERT).
74. Способ по любому из пп. 67-73, где у пациента уровень протеинурии составляет менее 100 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.
75. Способ по любому из пп. 67-73, где у пациента уровень протеинурии составляет от 100 до 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.
76. Способ по любому из пп. 67-73, где у пациента уровень протеинурии составляет более 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.
77. Способ по любому из пп. 67-76, где мигаластат или его соль представлены в твердой лекарственной форме.
78. Способ по любому из пп. 67-77, где мигаластат или его соль вводят перорально.
79. Способ по любому из пп. 67-78, где мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 28 дней.
80. Способ по любому из пп. 67-79, где мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 6 месяцев.
81. Способ по любому из пп. 67-80, где мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.
82. Способ по любому из пп. 67-81, где введение эффективного количества мигаластата или его соли группе не получавших ERT пациентов, имеющих умеренную почечную недостаточность, обеспечивает среднее уменьшение LVMi на по меньшей мере приблизительно 2 г/м^2 по прошествии 24 месяцев введения мигаластата или его соли.

83. Способ по любому из пп. 67-82, где введение эффективного количества мигаластата или его соли группе получавших ERT пациентов, имеющих умеренную почечную недостаточность, обеспечивает среднее уменьшение LVMi на по меньшей мере приблизительно 2 г/м^2 по прошествии 18 месяцев введения мигаластата или его соли.
84. Способ по любому из пп. 67-83, где эффективное количество составляет приблизительно 123 мг FBE.
85. Способ по любому из пп. 67-84, где эффективное количество составляет приблизительно 123 мг свободного основания мигаластата.
86. Способ по любому из пп. 67-84, где эффективное количество составляет приблизительно 150 мг гидрохлорида мигаластата.
87. Способ по любому из пп. 67-86, где пациент имеет поддающуюся лечению мутацию в гене α -галактозидазы A согласно результатам анализа с использованием клеток НЕК.
88. Способ увеличения активности α -галактозидазы A (α -Gal A) лейкоцитов (WBC) у пациента, у которого диагностирована болезнь Фабри и у которого имеется почечная недостаточность, при этом способ предусматривает введение пациенту эффективного количества мигаластата или его соли с частотой один раз в два дня, где эффективное количество составляет от приблизительно 100 мг до приблизительно 150 мг эквивалента свободного основания (FBE), и где введение мигаластата или его соли является эффективным для увеличения активности α -Gal A WBC у пациента.
89. Способ по п. 88, где пациент имеет легкую или умеренную почечную недостаточность.
90. Способ по п. 88, где пациент имеет легкую почечную недостаточность.
91. Способ по п. 88, где пациент имеет умеренную почечную недостаточность.
92. Способ по п. 88, где пациент имеет тяжелую почечную недостаточность.
93. Способ по любому из пп. 88-92, где пациент представляет собой пациента, получавшего заместительную ферментную терапию (ERT).

94. Способ по любому из пп. 88-92, где пациент представляет собой пациента, не получавшего заместительную ферментную терапию (ERT).
95. Способ по любому из пп. 88-94, где у пациента уровень протеинурии составляет менее 100 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.
96. Способ по любому из пп. 88-94, где у пациента уровень протеинурии составляет от 100 до 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.
97. Способ по любому из пп. 88-94, где у пациента уровень протеинурии составляет более 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.
98. Способ по любому из пп. 88-97, где мигаластат или его соль представлены в твердой лекарственной форме.
99. Способ по любому из пп. 88-98, где мигаластат или его соль вводят перорально.
100. Способ по любому из пп. 88-99, где мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 28 дней.
101. Способ по любому из пп. 88-100, где мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 6 месяцев.
102. Способ по любому из пп. 88-101, где мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.
103. Способ по любому из пп. 88-102, где введение эффективного количества мигаластата или его соли группе не получавших ERT пациентов, имеющих умеренную почечную недостаточность, обеспечивает среднее увеличение активности α -Gal A WBC на по меньшей мере приблизительно 1 4 МЕд/ч./мг по прошествии 24 месяцев введения мигаластата или его соли.
104. Способ по любому из пп. 88-103, где введение эффективного количества мигаластата или его соли группе получавших ERT пациентов, имеющих умеренную почечную недостаточность, обеспечивает среднее увеличение активности α -Gal A WBC на по меньшей мере приблизительно 1 4 МЕд/ч./мг по прошествии 18 месяцев введения мигаластата или его соли.

105. Способ по любому из пп. 88-104, где эффективное количество составляет приблизительно 123 мг FBE.

106. Способ по любому из пп. 88-105, где эффективное количество составляет приблизительно 123 мг свободного основания мигаластата.

107. Способ по любому из пп. 88-105, где эффективное количество составляет приблизительно 150 мг гидрохлорида мигаластата.

108. Способ по любому из пп. 88-107, где пациент имеет поддающуюся лечению мутацию в гене α -галактозидазы А согласно результатам анализа с использованием клеток НЕК.

109. Способ стабилизации функции почек у пациента, у которого диагностирована болезнь Фабри и имеется повышенная протеинурия, при этом способ предусматривает введение пациенту эффективного количества мигаластата или его соли с частотой один раз в два дня, где эффективное количество составляет от приблизительно 100 мг до приблизительно 150 мг эквивалента свободного основания (FBE), и где введение мигаластата или его соли является эффективным для стабилизации функции почек у пациента.

110. Способ по п. 109, где пациент имеет почечную недостаточность.

111. Способ по п. 110, где пациент имеет легкую почечную недостаточность.

112. Способ по п. 110, где пациент имеет умеренную почечную недостаточность.

113. Способ по п. 110, где пациент имеет тяжелую почечную недостаточность.

114. Способ по любому из пп. 109-113, где пациент представляет собой пациента, получавшего заместительную ферментную терапию (ERT).

115. Способ по любому из пп. 109-113, где пациент представляет собой пациента, не получавшего заместительную ферментную терапию (ERT).

116. Способ по любому из пп. 109-115, где у пациента уровень протеинурии составляет от 100 до 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

117. Способ по любому из пп. 109-115, где у пациента уровень протеинурии составляет более 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

118. Способ по любому из пп. 109-117, где мигаластат или его соль представлены в твердой лекарственной форме.

119. Способ по любому из пп. 109-118, где мигаластат или его соль вводят перорально.

120. Способ по любому из пп. 109-119, где мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 28 дней.

121. Способ по любому из пп. 109-120, где мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 6 месяцев.

122. Способ по любому из пп. 109-121, где мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.

123. Способ по любому из пп. 109-122, где введение эффективного количества мигаластата или его соли группе пациентов, имеющих уровень протеинурии, составляющий от 100 до 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли, обеспечивает средний годовой показатель изменения $eGFR_{\text{СКД-ЕРІ}}$ более $-2,0$ мл/мин./ $1,73$ м².

124. Способ по любому из пп. 109-123, где введение эффективного количества мигаластата или его соли группе пациентов, имеющих уровень протеинурии более 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли, обеспечивает средний годовой показатель изменения $eGFR_{\text{СКД-ЕРІ}}$ более $-5,0$ мл/мин./ $1,73$ м².

125. Способ по любому из пп. 109-124, где эффективное количество составляет приблизительно 123 мг FBE.

126. Способ по любому из пп. 109-125, где эффективное количество составляет приблизительно 123 мг свободного основания мигаластата.

127. Способ по любому из пп. 109-125, где эффективное количество составляет приблизительно 150 мг гидрохлорида мигаластата.

128. Способ по любому из пп. 109-127, где пациент имеет поддающуюся лечению мутацию в гене α -галактозидазы А согласно результатам анализа с использованием клеток НЕК.

129. Способ лечения болезни Фабри у пациента, у которого диагностирована болезнь Фабри и у которого имеется повышенная протеинурия, при этом способ предусматривает введение пациенту эффективного количества мигаластата или его соли с частотой один раз в два дня, где эффективное количество составляет от приблизительно 100 мг до приблизительно 150 мг эквивалента свободного основания (FBE).

130. Способ по п. 129, где пациент имеет почечную недостаточность.

131. Способ по п. 130, где пациент имеет легкую почечную недостаточность.

132. Способ по п. 130, где пациент имеет умеренную почечную недостаточность.

133. Способ по п. 130, где пациент имеет тяжелую почечную недостаточность.

134. Способ по любому из пп. 129-133, где пациент представляет собой пациента, получавшего заместительную ферментную терапию (ERT).

135. Способ по любому из пп. 129-133, где пациент представляет собой пациента, не получавшего заместительную ферментную терапию (ERT).

136. Способ по любому из пп. 129-134, где у пациента уровень протеинурии составляет от 100 до 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

137. Способ по любому из пп. 129-134, где у пациента уровень протеинурии составляет более 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли.

138. Способ по любому из пп. 129-137, где мигаластат или его соль представлены в твердой лекарственной форме.

139. Способ по любому из пп. 129-138, где мигаластат или его соль вводят перорально.

140. Способ по любому из пп. 129-139, где мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 28 дней.

141. Способ по любому из пп. 129-140, где мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 6 месяцев.

142. Способ по любому из пп. 129-141, где мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.

143. Способ по любому из пп. 129-142, где введение эффективного количества мигаластата или его соли группе пациентов, имеющих уровень протеинурии, составляющий от 100 до 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли, обеспечивает средний годовой показатель изменения $eGFR_{\text{СКД-EP1}}$ более $-2,0$ мл/мин./ $1,73 \text{ м}^2$.

144. Способ по любому из пп. 129-143, где введение эффективного количества мигаластата или его соли группе пациентов, имеющих уровень протеинурии более 1000 мг/24 ч. до начала введения мигаластата или его соли, обеспечивает средний годовой показатель изменения $eGFR_{\text{СКД-EP1}}$ более $-5,0$ мл/мин./ $1,73 \text{ м}^2$.

145. Способ по любому из пп. 129-144, где эффективное количество составляет приблизительно 123 мг FBE.

146. Способ по любому из пп. 129-145, где эффективное количество составляет приблизительно 123 мг свободного основания мигаластата.

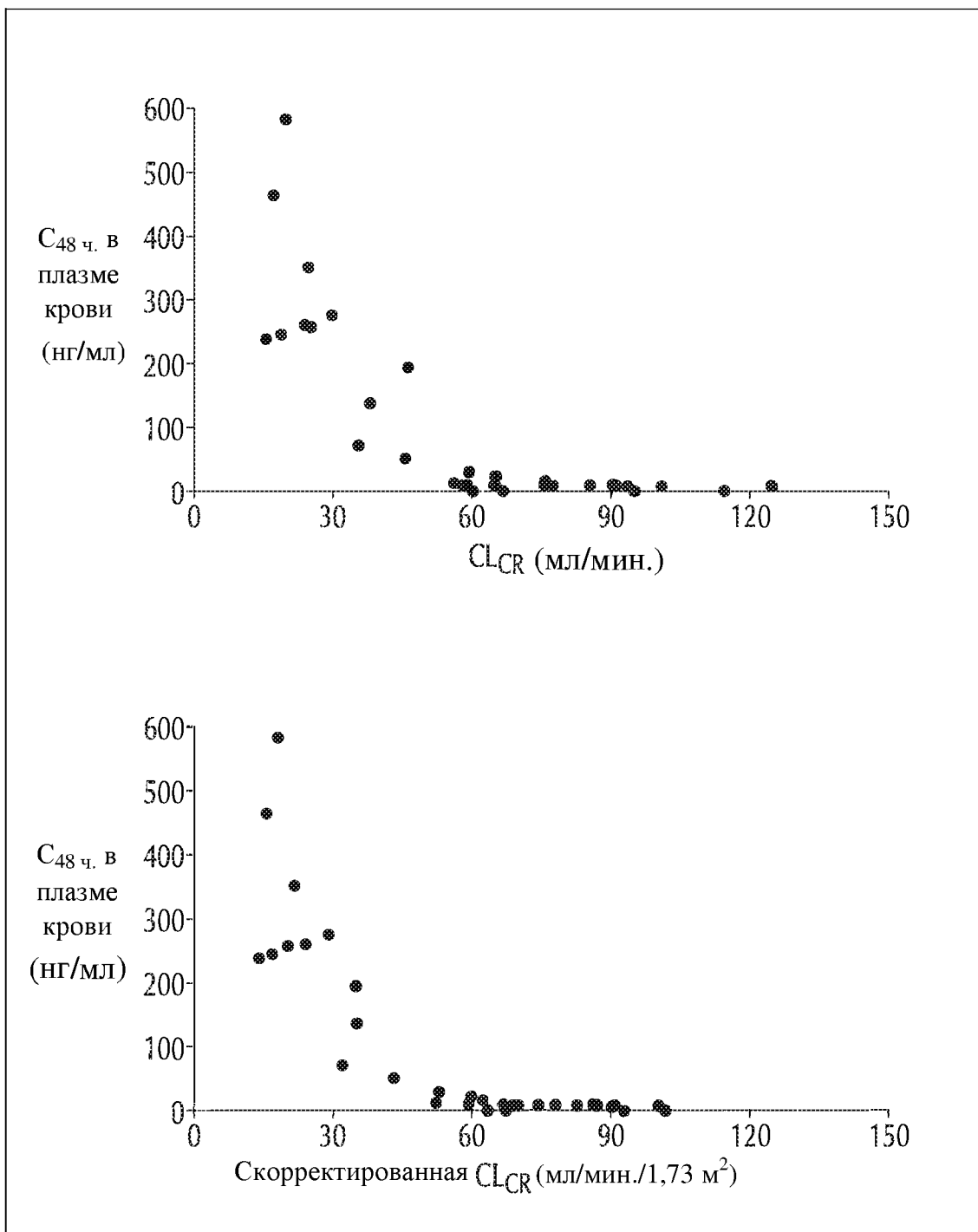
147. Способ по любому из пп. 129-146, где эффективное количество составляет приблизительно 150 мг гидрохлорида мигаластата.

148. Способ по любому из пп. 129-147, где пациент имеет поддающуюся лечению мутацию в гене α -галактозидазы А согласно результатам анализа с использованием клеток НЕК.

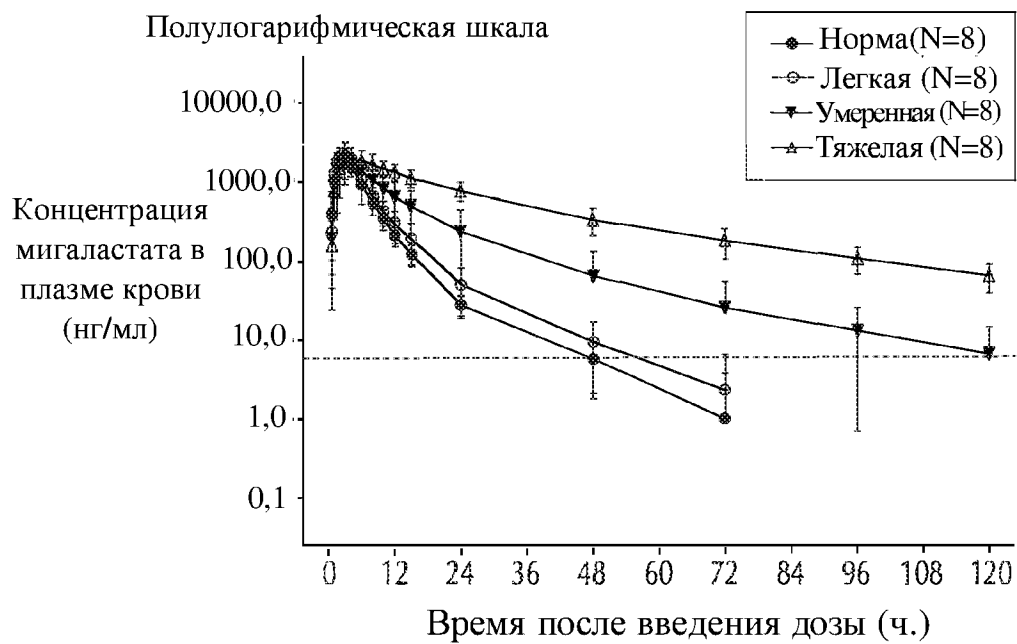
Формула изобретения

1. Применение мигаластата или его соли в способе лечения болезни Фабри у пациента, у которого диагностирована болезнь Фабри, где пациент имеет поддающуюся лечению мутацию в гене α -галактозидазы А согласно результатам анализа с использованием клеток НЕК, и где мутация выбрана из группы, состоящей из N34T, E87D, I133M, F145S, P146R, Y152H, M208R, I219L, N224T, Q250R, G261C, I303F, K326N, E358Q и G375E.
2. Применение мигаластата или его соли по п. 1, где мутация выбрана из группы, состоящей из E87D, I133M, F145S, M208R, K326N и G375E.
3. Применение мигаластата или его соли по п. 1 или 2, где у пациента имеется почечная недостаточность.
4. Применение мигаластата или его соли по любому из пп. 1-3, где способ включает введение пациенту эффективного количества мигаластата или его соли с частотой один раз в два дня, где эффективное количество составляет от приблизительно 100 мг до приблизительно 150 мг эквивалента свободного основания (FBE).
5. Применение мигаластата или его соли по п. 4, где эффективное количество составляет приблизительно 123 мг FBE, или приблизительно 123 мг свободного основания мигаластата, или приблизительно 150 мг гидрохлорида мигаластата.
6. Применение мигаластата или его соли по любому из пп. 1-5, где мигаластат или его соль представлены в твердой лекарственной форме.
7. Применение мигаластата или его соли по любому из пп. 1-6, где мигаластат или его соль вводятся перорально.
8. Применение мигаластата или его соли по любому из пп. 1-7, где мигаластат или его соль вводятся в течение по меньшей мере 28 дней, или в течение по меньшей мере 6 месяцев, или в течение по меньшей мере 12 месяцев.

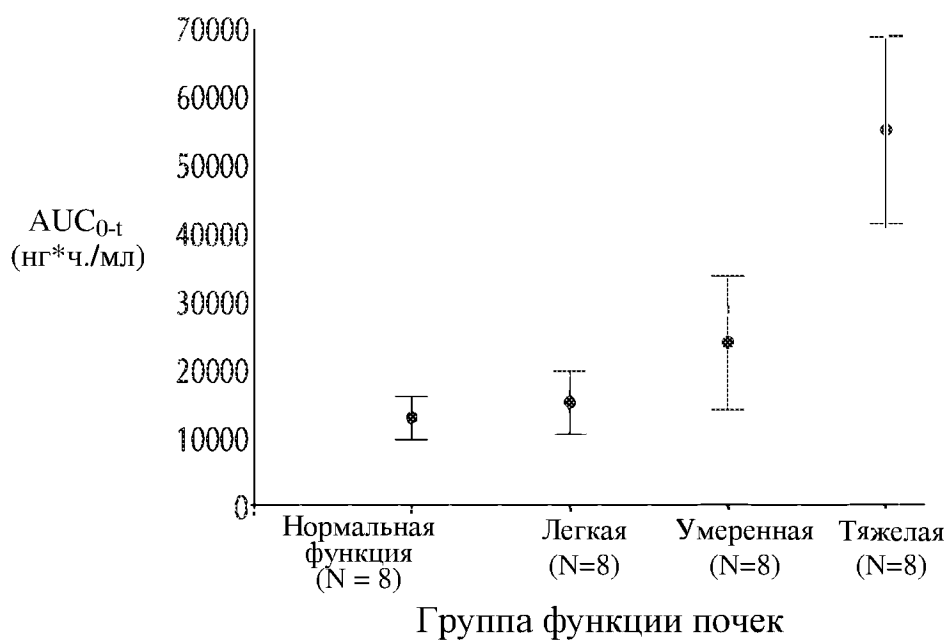
9. Применение мигаластата или его соли по любому из пп. 1-8, где введение мигаластата или его соли является эффективным для увеличения активности α -галактозидазы А (α -Gal А) у пациента.
10. Применение мигаластата или его соли по п. 9, где активность α -Gal А представляет собой активность α -Gal А лейкоцитов (WBC).
11. Применение мигаластата или его соли по любому из пп. 1-10, где введение мигаластата или его соли является эффективным для уменьшения индекса массы левого желудочка (LVMI) у пациента.
12. Применение мигаластата или его соли по любому из пп. 1-11, где введение мигаластата или его соли является эффективным для стабилизации глоботриаозилсфингозина (lyso-Gb₃) в плазме крови у пациента.
13. Применение мигаластата или его соли по любому из пп. 1-12, где введение мигаластата или его соли является эффективным для стабилизации функции почек у пациента.
14. Применение мигаластата или его соли по любому из пп. 1-13, где введение мигаластата или его соли уменьшает накопление GL-3 в клетках миокарда и фиброцитах клапанов.



ФИГ. 1А

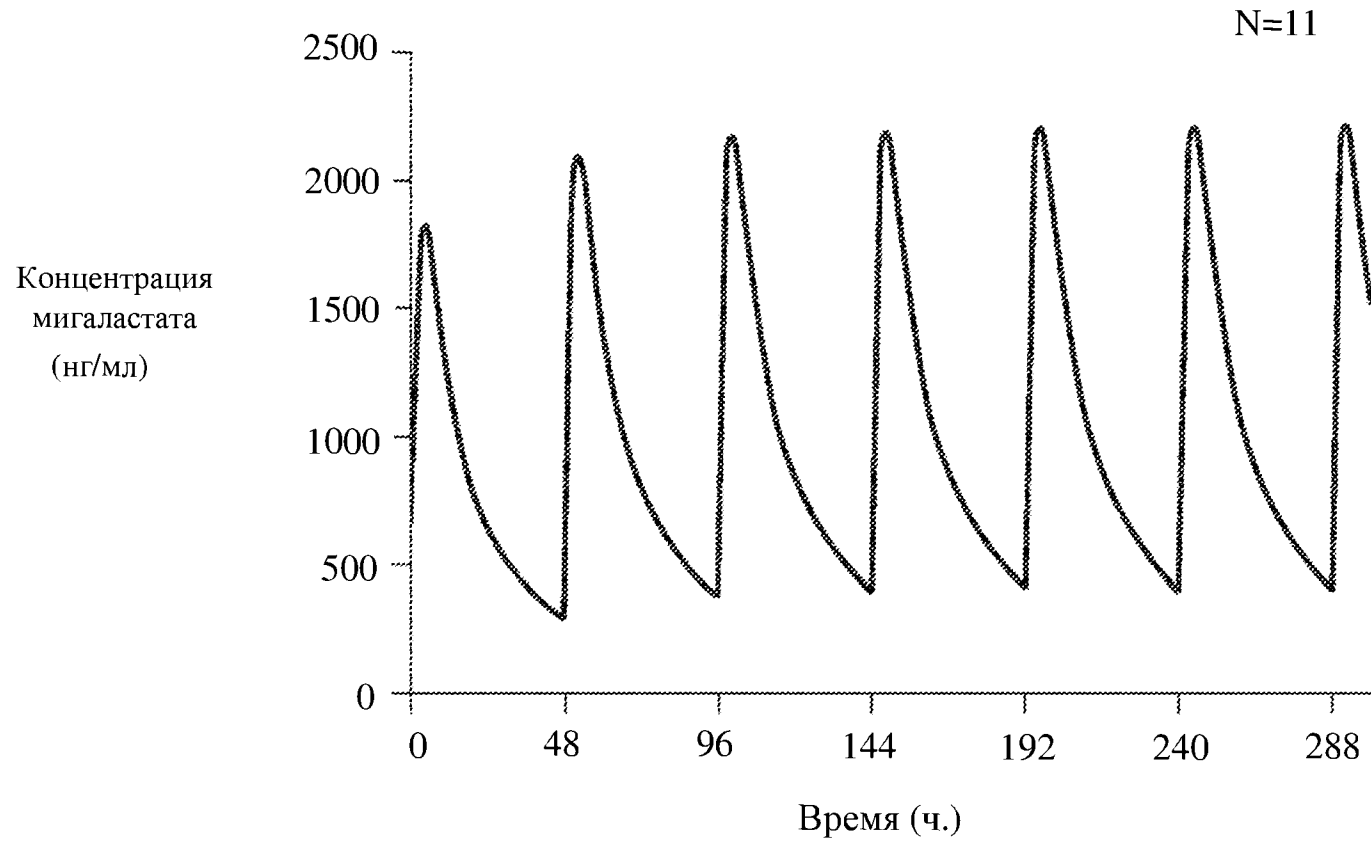


ФИГ. 1В



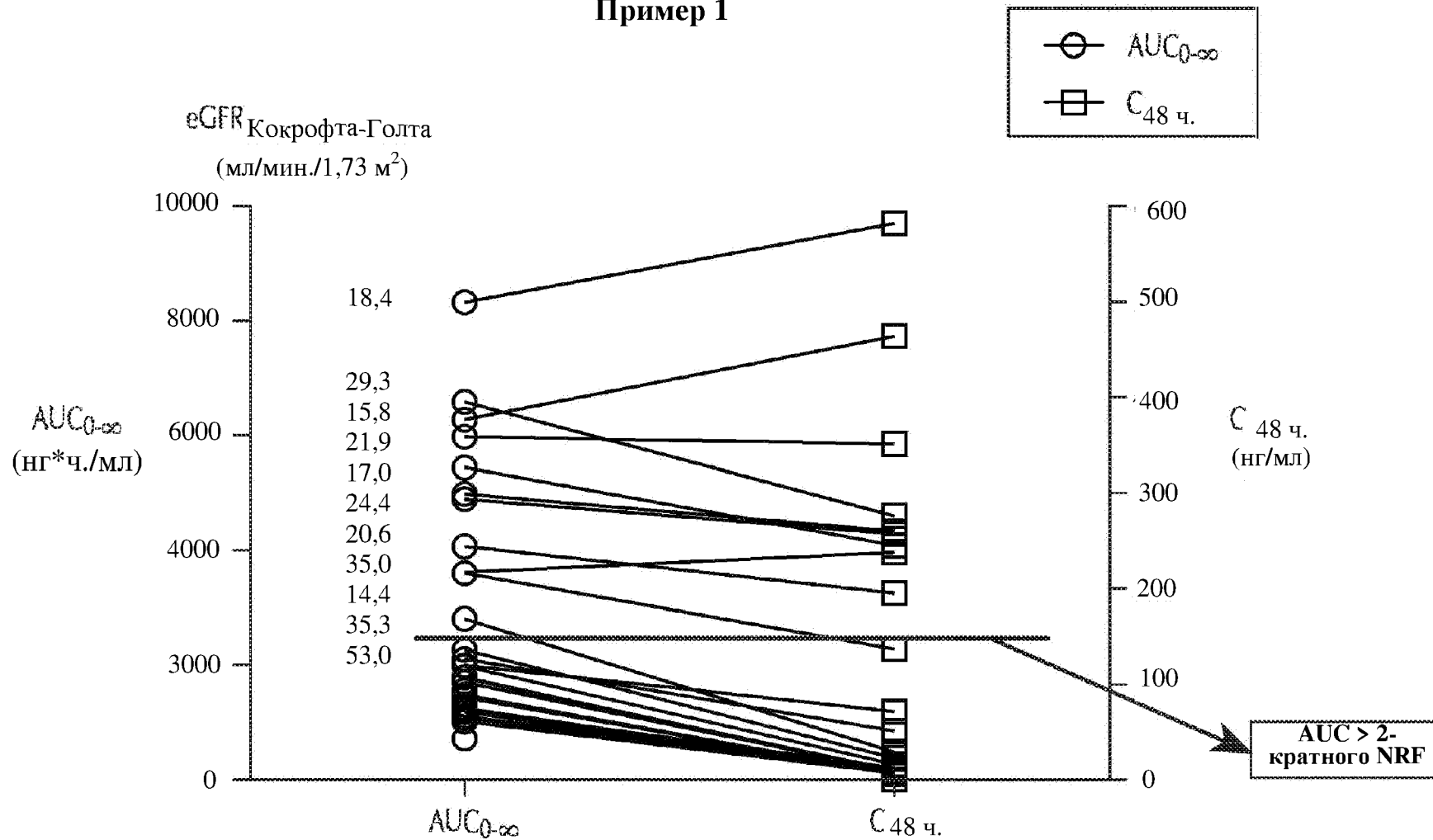
ФИГ. 1С

150 мг QOD при почечной недостаточности с умеренной и тяжелой степенью тяжести (≤ 35 мл/мин./ $1,73$ м²)

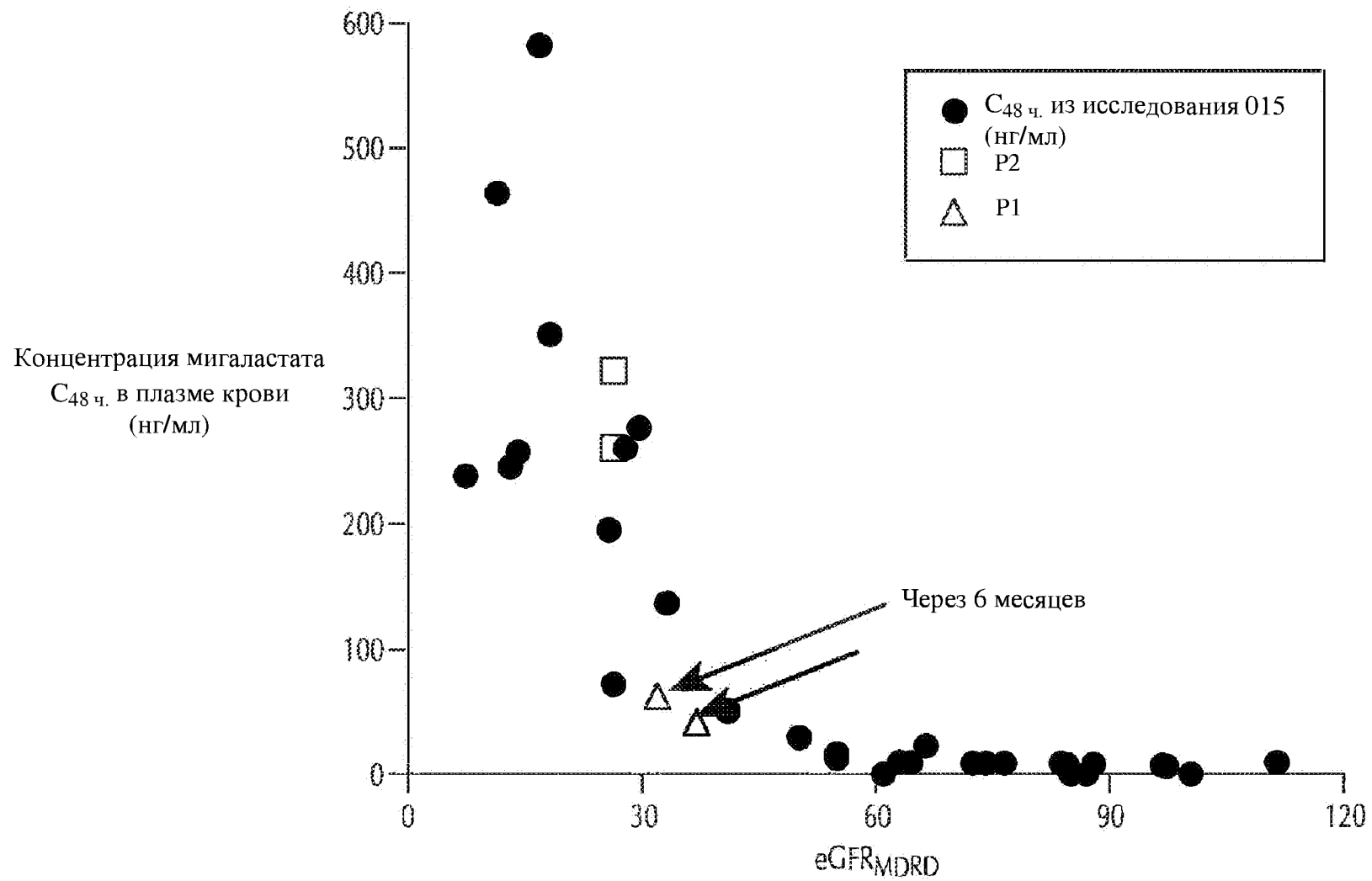


ФИГ. 2

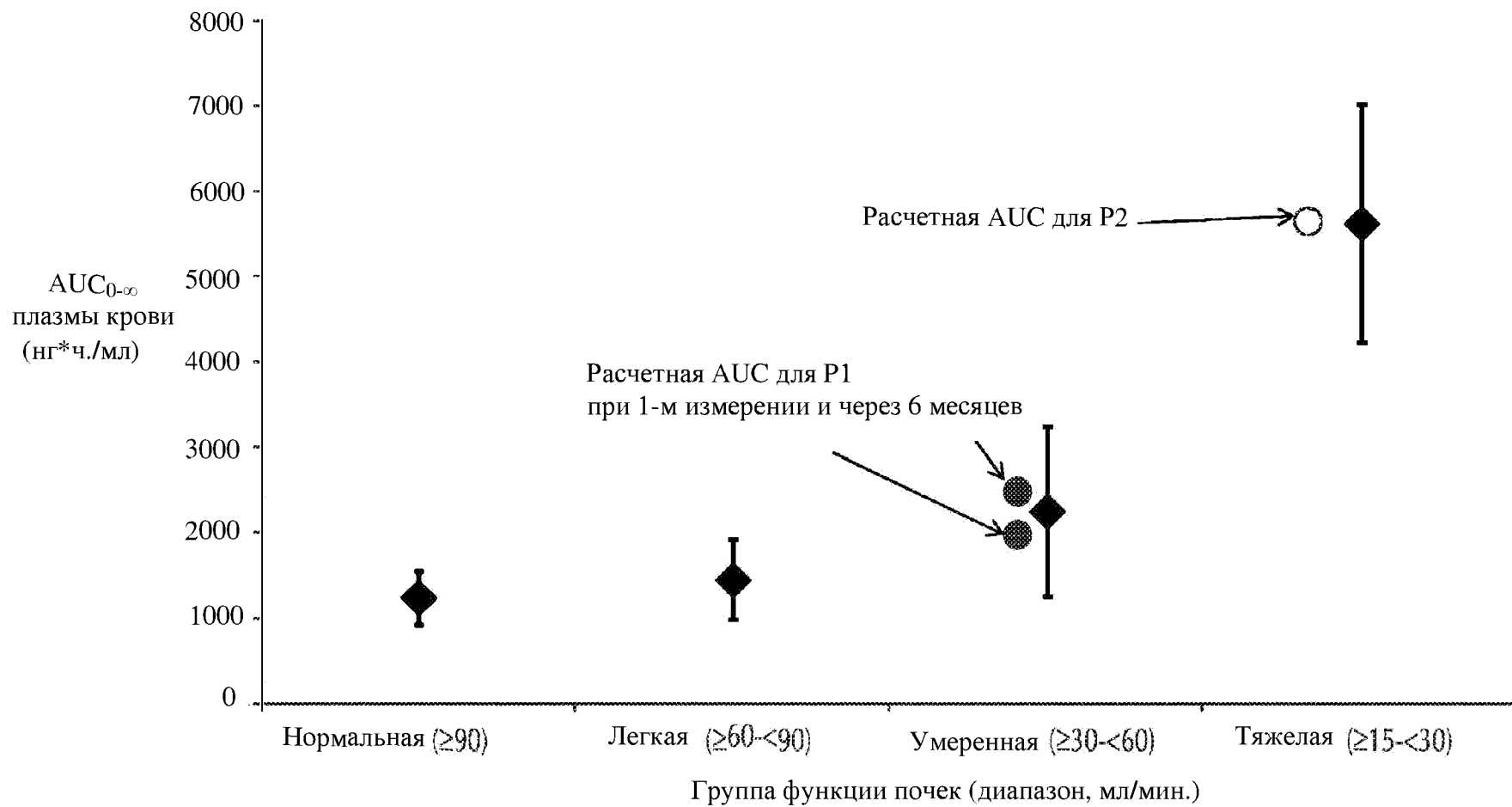
Пример 1



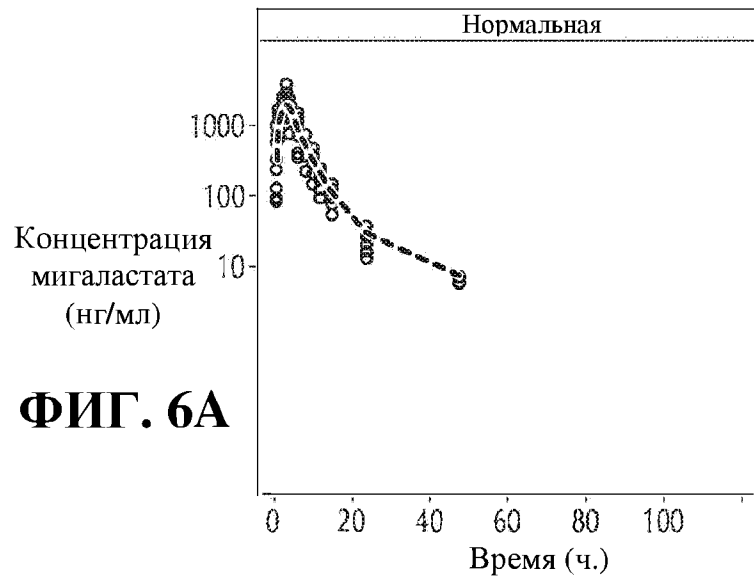
ФИГ. 3



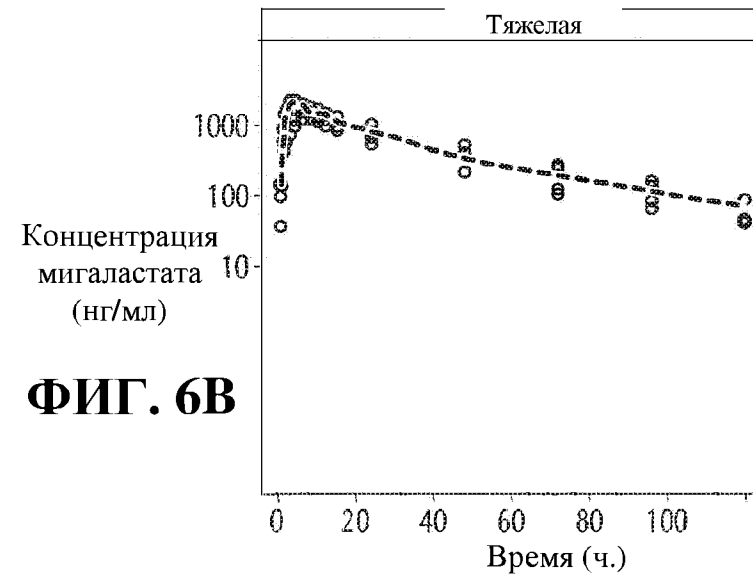
ФИГ. 4



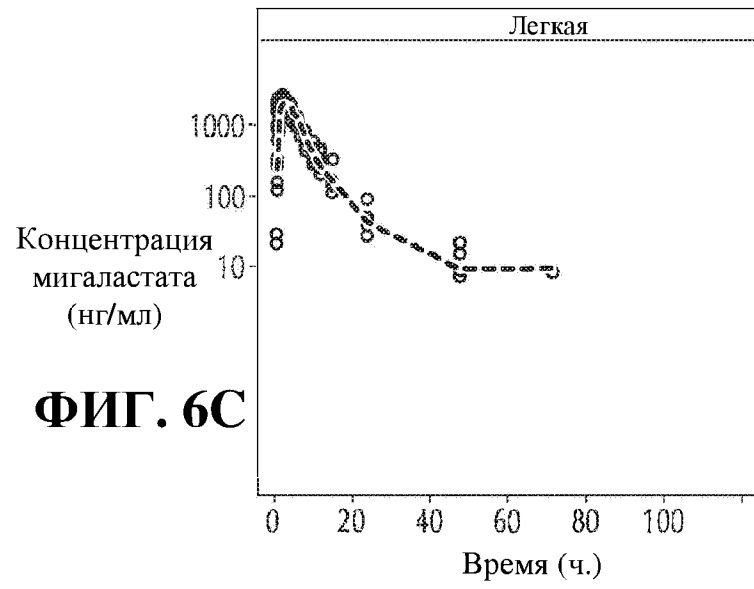
ФИГ. 5



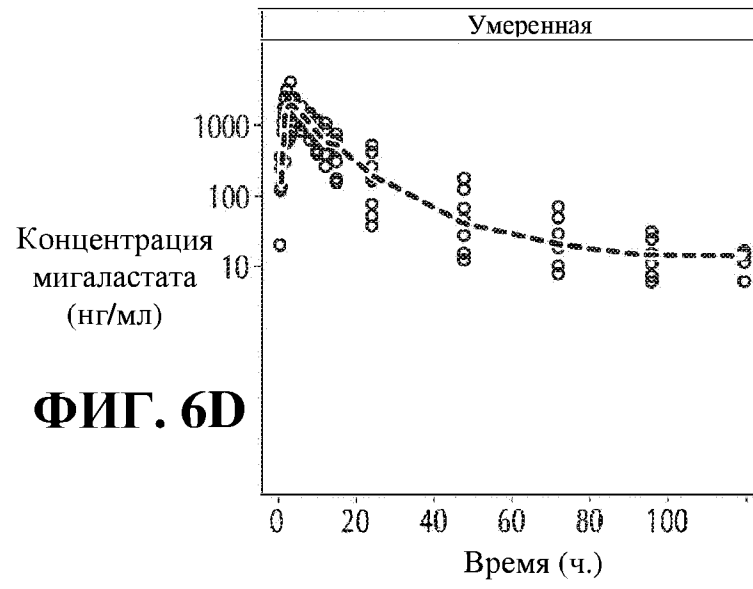
ФИГ. 6А



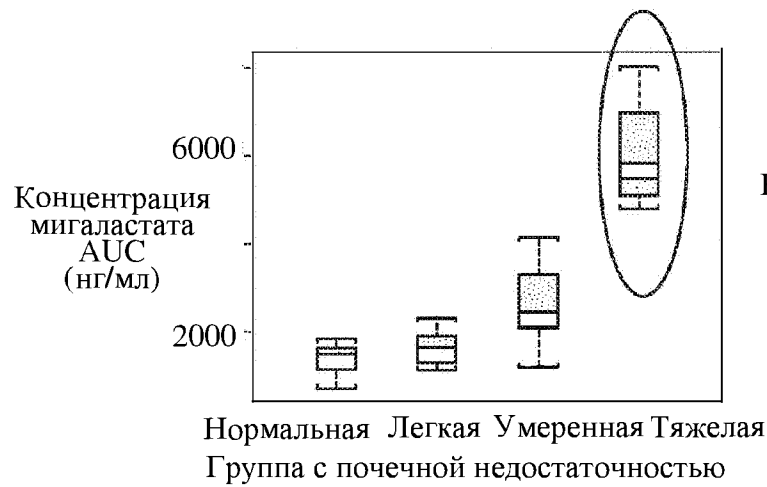
ФИГ. 6В



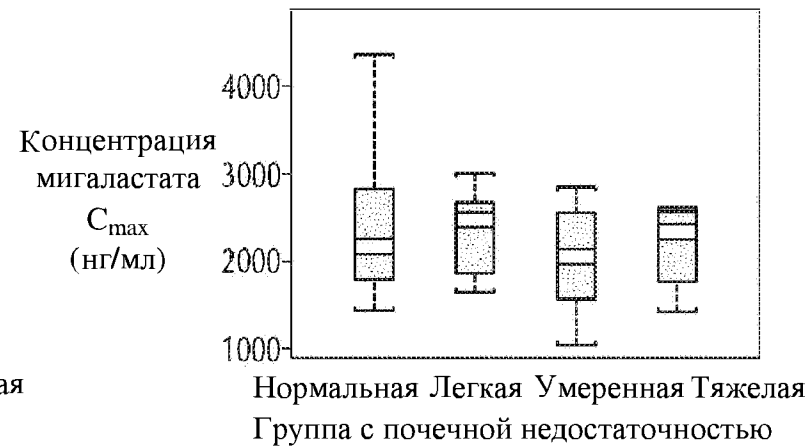
ФИГ. 6С



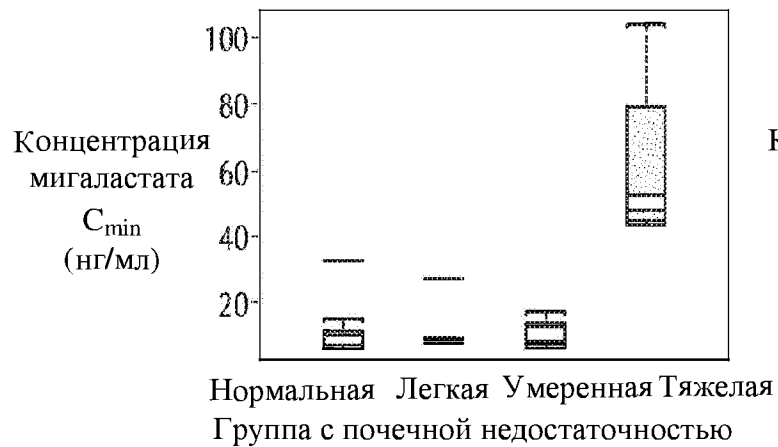
ФИГ. 6Д



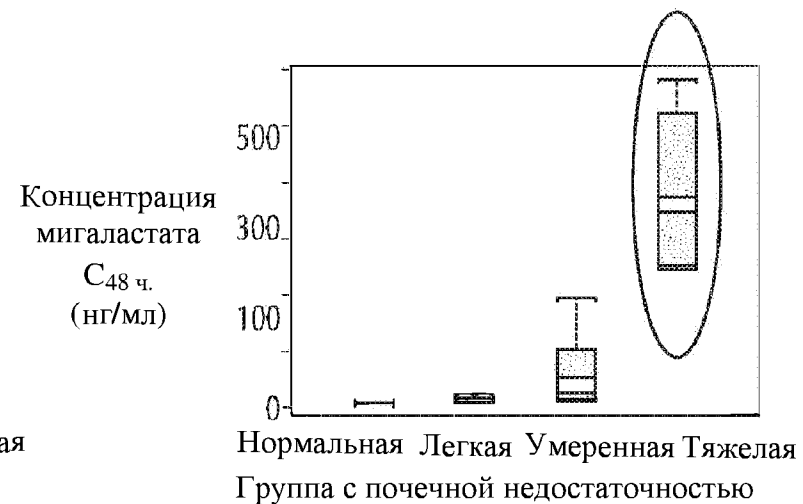
ФИГ. 7А



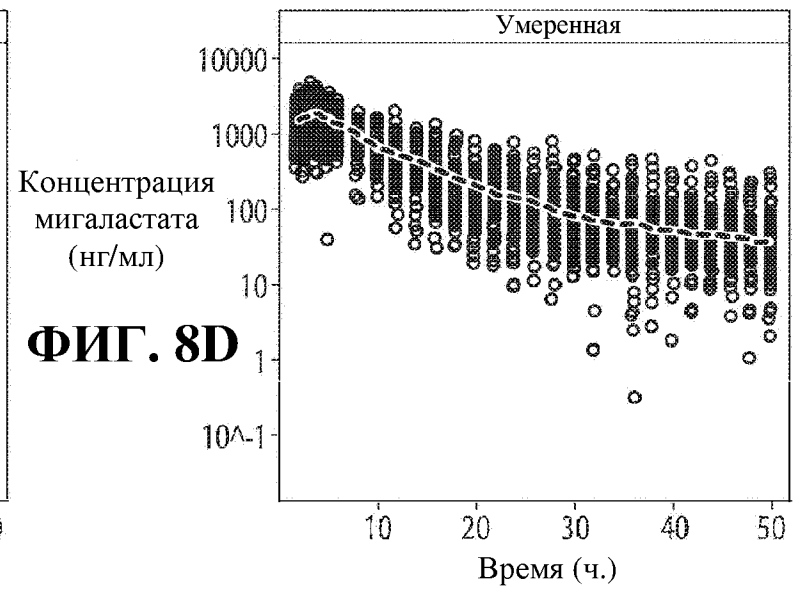
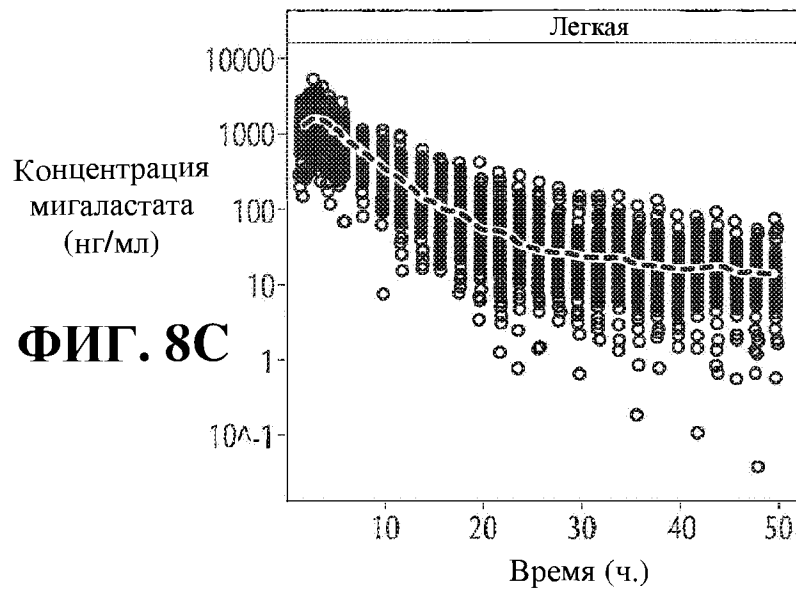
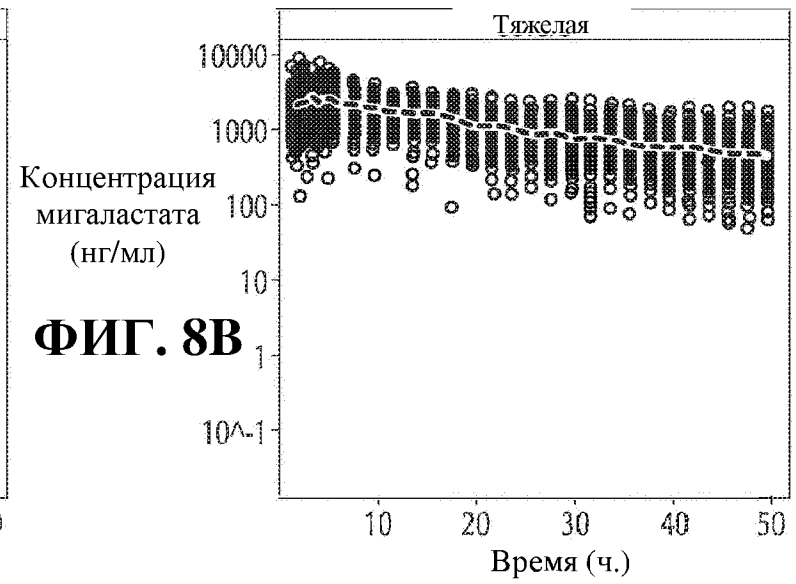
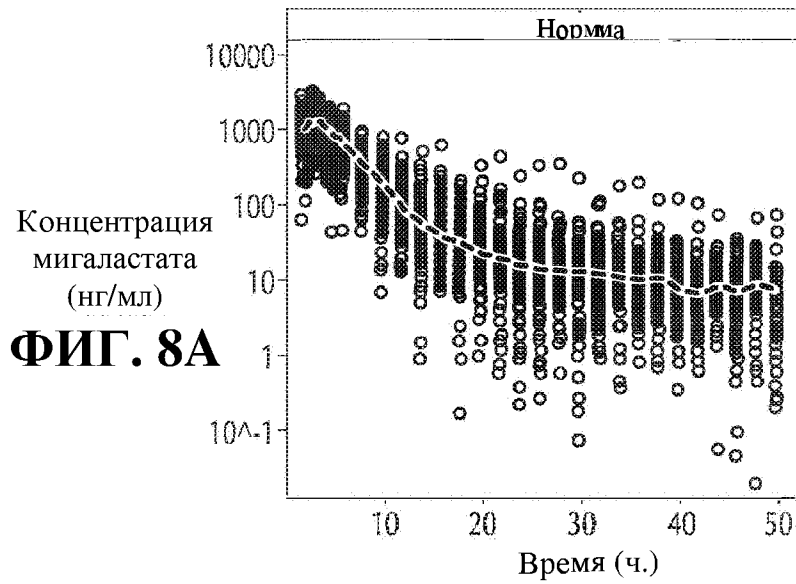
ФИГ. 7В

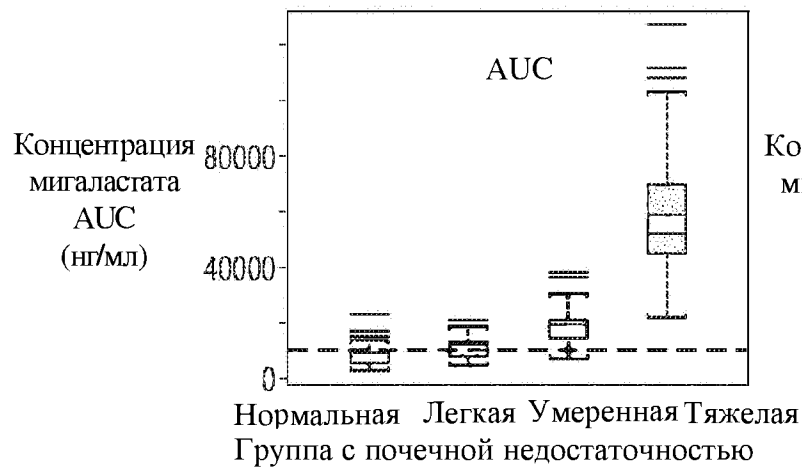


ФИГ. 7С

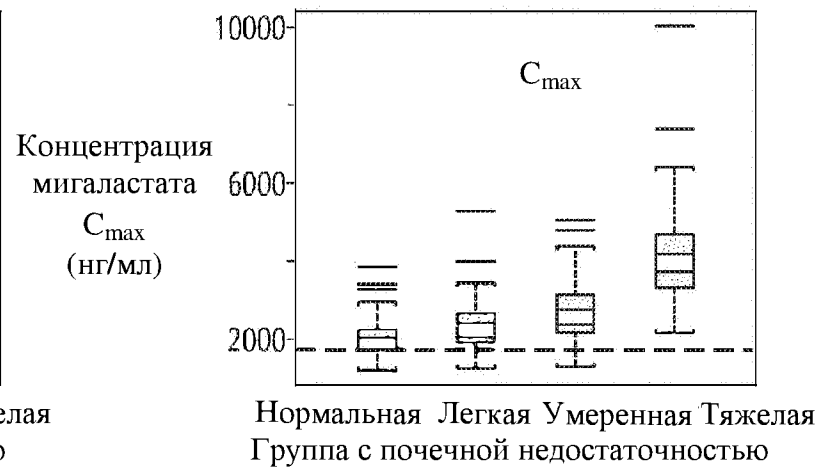


ФИГ. 7D

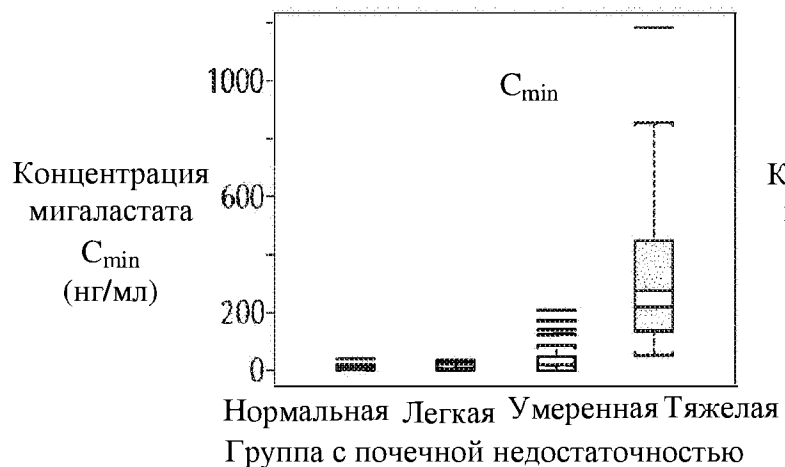




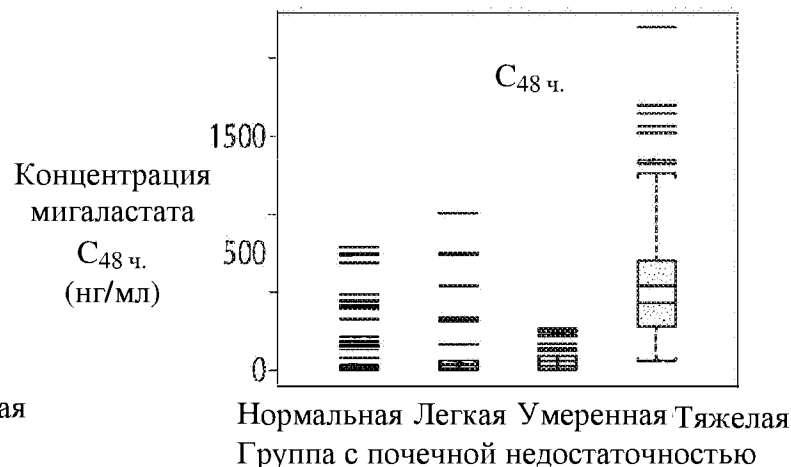
ФИГ. 9А



ФИГ. 9В

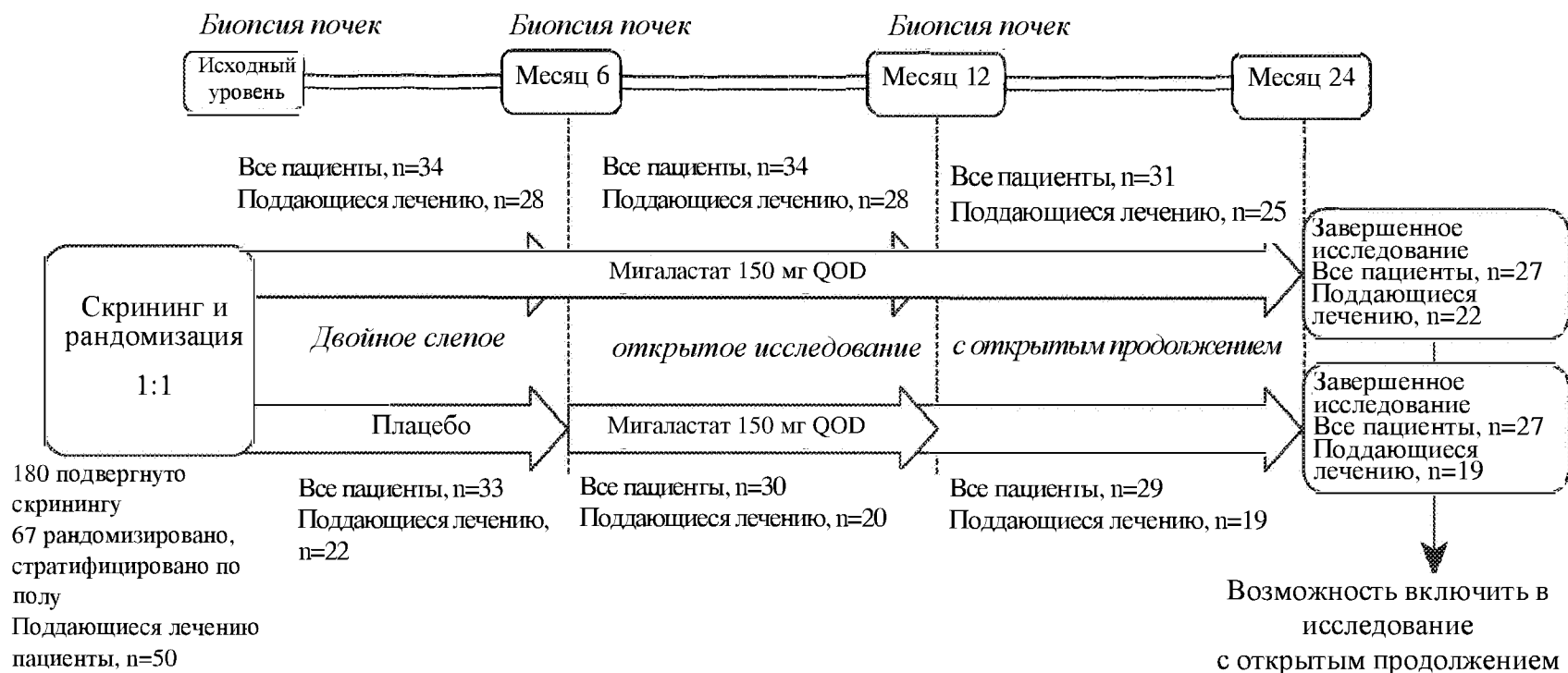


ФИГ. 9С



ФИГ. 9Д

Схема исследования с субъектами, не получавшими ERT

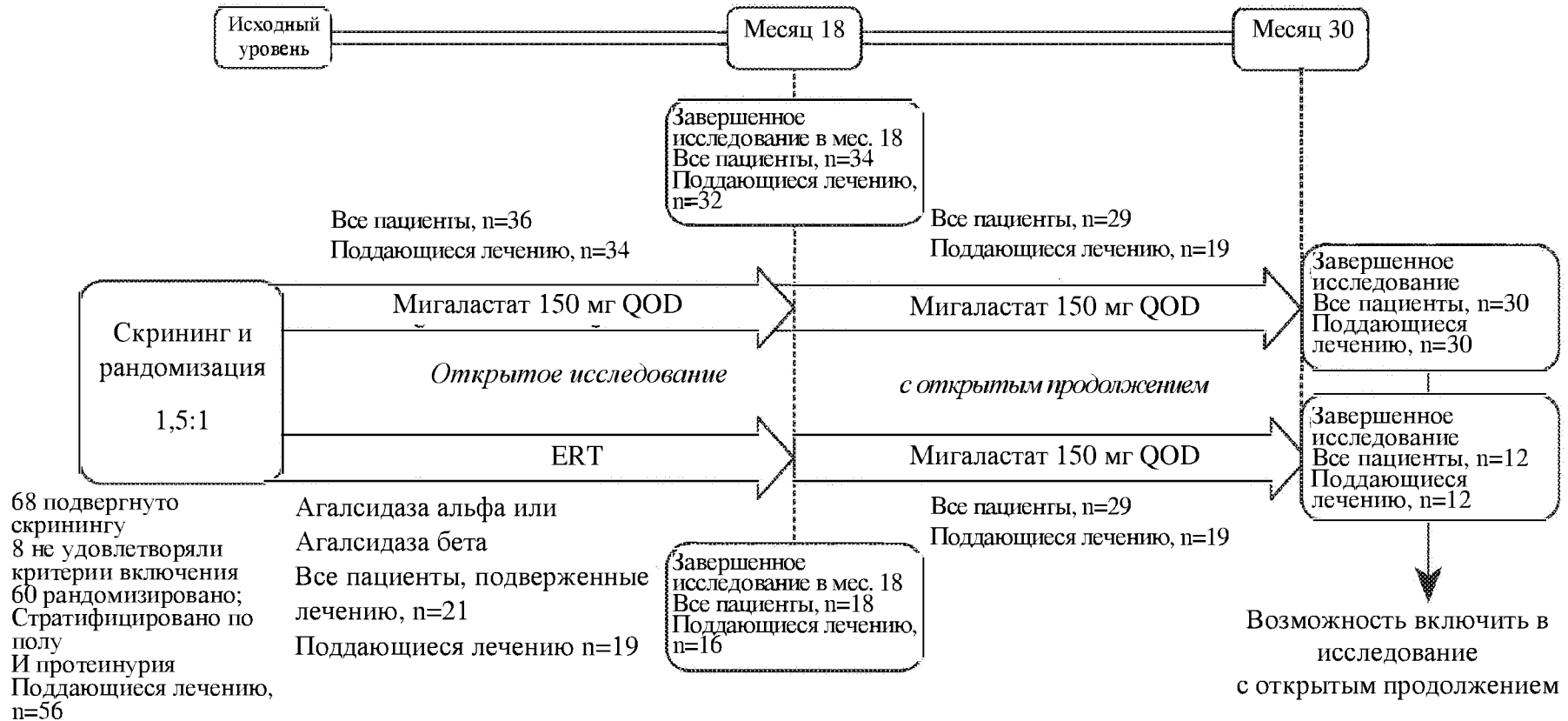


11/21

Восприимчивость определяли с использованием одобренного GLP НЕК-анализа, который стал доступен во время исследования фазы 3, заменяя предварительный НЕК-анализ, используемый для включения пациентов в исследование. German DP et.al *N.Engl J Med.* 2016;375(6);545-555.

ФИГ. 10А

Схема исследования с субъектами, получавшими ERT



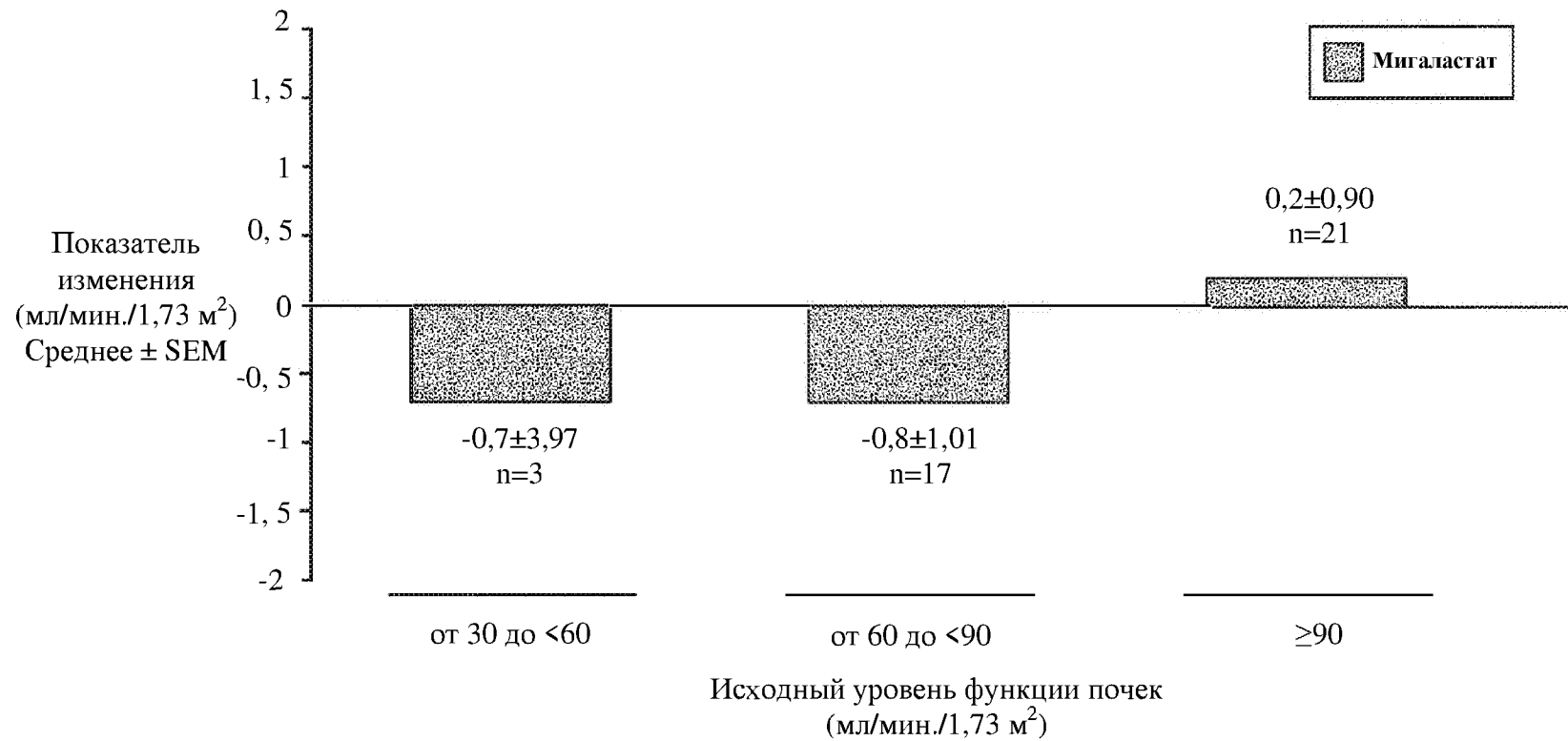
12/21

Восприимчивость определяли с использованием одобренного GLP НЕК-анализа, который стал доступен во время исследования, заменяя предварительный НЕК-анализ, используемый для включения пациентов в исследование. Hughes DA et.al *J Med. Genet* 2017;54;288-296.

ФИГ. 10В

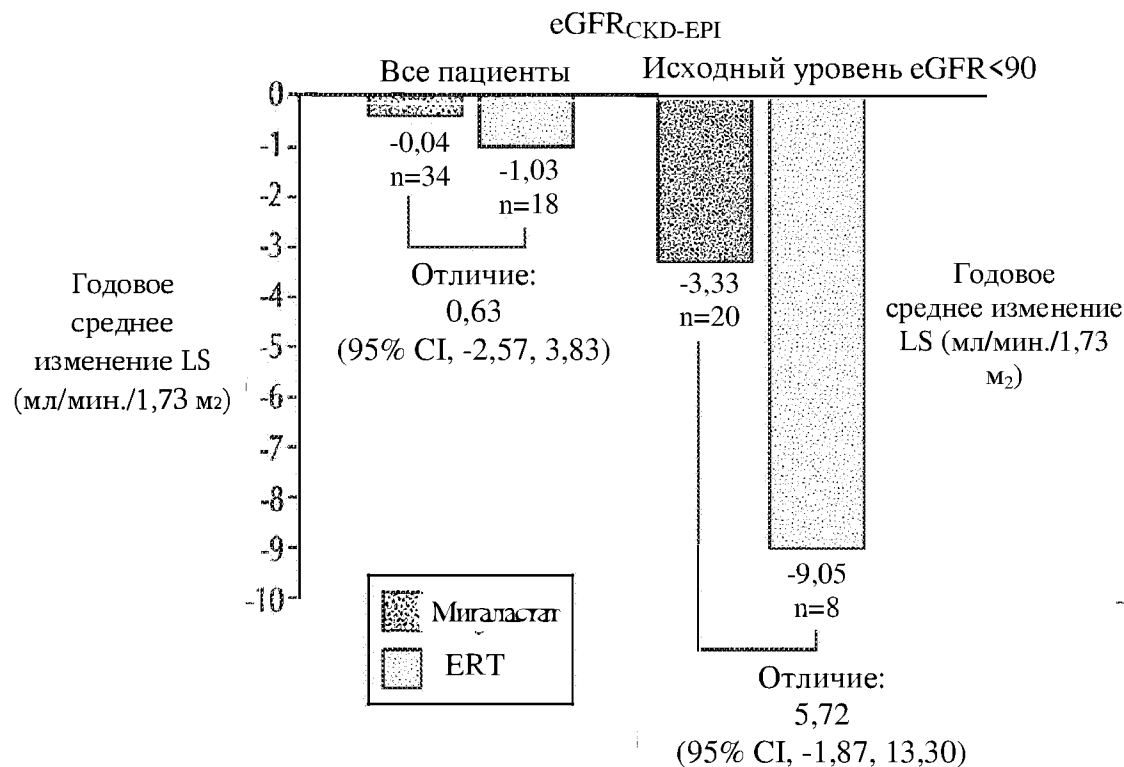
Мигаластат стабилизировал функцию почек независимо от исходного уровня eGFR (пациенты с поддающимися лечению мутациями)

Годовой показатель изменения eGFR_{СКД-EP1} по подгруппе



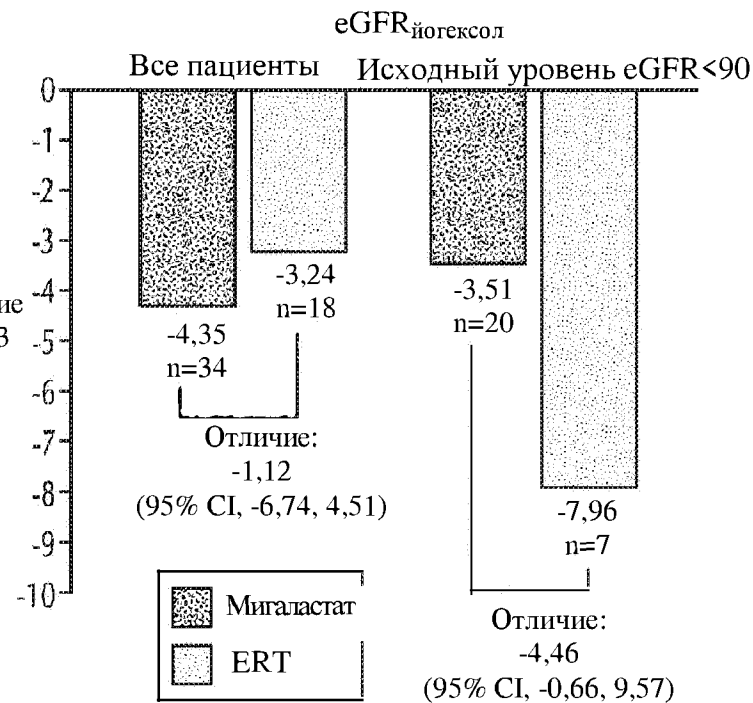
ФИГ. 11

В месяц 18 мигаластат и ERT имели сопоставимые благоприятные эффекты на функцию почек, определенные с помощью обоих способов по GFR (пациенты с поддающимися лечению мутациями)



Среднее LS и 95% CI на основе ANCOVA, которые включают лечение, исходный уровень GFR, пол, возраст и 24-часовой белок в моче. LS = значения по методу наименьших квадратов.

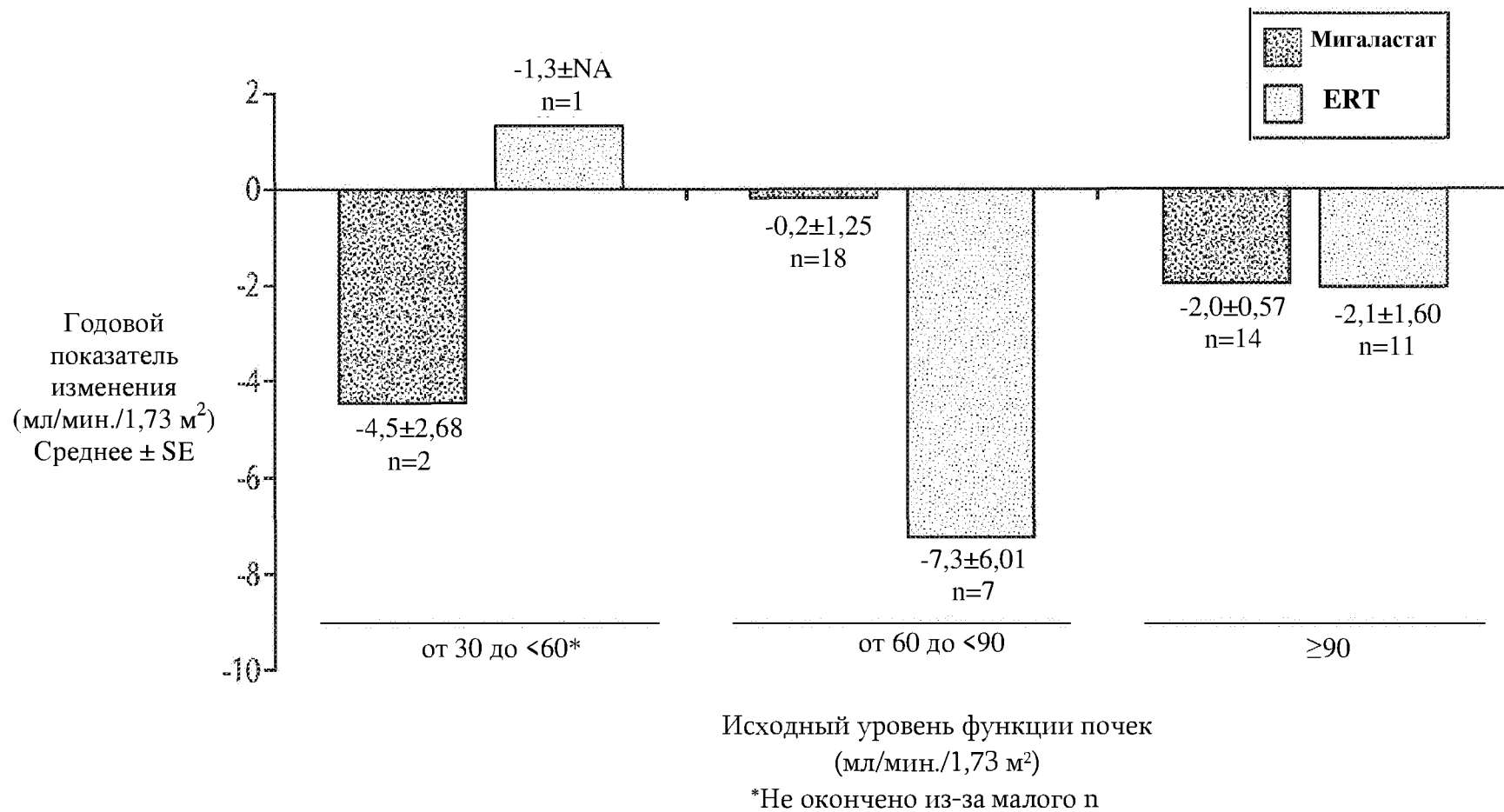
ФИГ. 12А



Среднее LS и 95% CI на основе ANCOVA, которые включают лечение, исходный уровень GFR, пол, возраст и 24-часовой белок в моче. LS = значения по методу наименьших квадратов.

ФИГ. 12В

Годовой показатель изменения $eGFR_{CKD-EPI}$ по исходному уровню $eGFR$



ФИГ. 13

cccttctgtaggggcagagaggttctacttcattactgcgctctcctgggaaggccatcag	60
gactgctggctaaagtgggaaccaggactcttctgtgagtttaagaatttgtgtatattat	120
gtgtgttatacacatTTTTTAAAAAactgtaacgacatcaggttgagcagtcgctccgg	180
gtggtgaattatgtgtatttttaaatTTTatactatattgttattttcaaagtTCGAA	240
attgaatatgtagattglttgTtatcagcagaaaaataaacattattcaaatactctattc	300
agtaaagtaattttattgggcgcctttgtcaagcagcatttgcctagatgtgactctaca	360
gataaaattcacttggggcctccccctacagacaatcaggcagtgagagactgagtgcctg	420
aatggatagaccagcactcagaccactattttcagtatctgtttttcttaactcagggcc	480
gtggttttcaaacgtttttcgccttacggtcacccttagggcccccgagaccggcccag	540
acagacagatatacaaaaaacacatacacagtcattgagcgtccaccatttccccaccaggc	600
gcagcacagggcgcttccccgcactgagatgggggggaggaggagagagcgcgagggggg	660
gaggggaaagcagagaaacgaaagaggcggaggcggcccccgaaaccocgctctggtcttca	720
tcatcaccacccctgggtccccagttcccaccacacacacaaacctctaacgataccgggt	780
aattttcctccttctccctcaaacggctatagcagagacggtagacgaacagaccagaacta	840
cttctgctcaagtaagcagtaatacagtgagcgcctacgctcattgtgagatctcggtcac	900
gtgagcaactctcggcttaaacctcgggatcactaagggtgcgcgacttctctcgggatgg	960
aaatagggcgggtcaatatcaagaaaggaaaggggtgatttggttagcggaaacgtcttacg	1020
tgactgattatttggctacctctggggataaacctcagttgcccagagaaacaataacg	1080
tcattatttaataagtcactcgggtgattggtcggccccctgaggttaactcttaaagcccag	1140
gttaccgcgggaaatttatgctgctcgggtcacctgacaatgcagctgaggaaccagaa	1200
ctacatctgggctgcgcgcttgcgcttcgcttctggccctcgtttcctgggacatccct	1260
ggggctagagcactggacaatggatttggcaaggacgcctaccatgggctggctgcaactgg	1320
gagcgttctatgtgcaaccttgactgccaggaagagccagattcctgcatcaggtatcag	1380
atattgggtactcccttccctttgcttttccatgtgtttgggtgtgtttggggaactgga	1440
gagctcaaacgggaacagttgagcccaggggagagctccccaccgactctgctgctgc	1500
TTTTTatccccagcaaaactgtcccgaatcaggactagccctaaaactttctctgtgtgac	1560
ctttcctgggatgggagtcgggccagcggccccctgtttctttctctctctctctctct	1620
cgttctccttctctttctctttctctctctctctctctctctctctctctctctctct	1680
ttctcttttttcaactgctccttgcagagcagggccacccccataggcagtggtgccaaagt	1740
agccctgcccggttctattcagacccttcttgtgaacttctgctcttctctgcccgggtg	1800
ctaaccggttagaacatctagggtgggtaggaggaatggggaaactaagattcgtgccattt	1860
tttctccttttggggctcgtggatttctcggcagtatctcgagggagttagagagaccata	1920
aggctcgtgagatctctcccacctcggccatgagcgtggcatcaggtcggaaaggttgaca	1980
tggaggaactttatacatTTTACACctttgcgtgaggggttgaggctgattagataggtat	2040
tgaacatatctgacctcacaatccttatctgtaaatTGGGattacaacctTTTaatTTc	2100
agggagctgacaaaaaaaaatctgaaaaatagttcttatctcacacaggtgagtttcaag	2160
gagataacctatttaaagtacatagcacagcgttgaccattcaactgcgcttacagagc	2220
aatggtcaatgggaaaatgaatgtaaatctacaaatctgaatgaatatgtgtatTTTTc	2280
tggagagaggataTTTAcctttcttcaattctcaaagggctctgtgatttaaaaaagggt	2340
taggaatcactgatagatgttggtaaaagggtggcagtcacagttacatttctgtgtccata	2400
agttattcctatgaatatctttatagataaaagttaggtggtcagacatcacagaag	2460
aaattggccttgtaagttcatgtgacctgtggtaacagtatgtgtggcaattttgcccac	2520
tcacggattttttttatttggatTTTgcattctgattataaaaaactaatgcattgatcattgc	2580
aaaaaatgtagataaagaagagcaaaatgaaaataaagatttccccccaccgttccacca	2640
cccagaaataateatggtttaaatgttaatatcaaaccttacaattgTTTTctatataaa	2700
tgaaaaatagatttctttatttcattattttccataaaaaaatggatcattgTTtatgtca	2760
tgTTTTggctaatggcaagacctggcaccagctcgggctcaaatctgcctcattgTTa	2820
cttagccctgtgacaltgggtaaaattacactTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTtgagacgggg	2880

ФИГ. 14А

tctcgtctctgtcgcgccagggctggagtgccagtggcacgatctcggctcactgcaagtcgcg	2940
ctcctgggttcacgccattctctctgcctcagcctcccgagttagctgggactacaggcgcc	3000
tgccaccacgcctggctcttttttttttttttttttttttttttagtacagacgggggttcac	3060
catgttagccaggggtggctcctcctcctgacctcgtgattcgcccgctcagcctcca	3120
aagtgcctggtgtgagccaccgtgccagccttacttttttttttttttttttttttttttttttt	3180
ctgtcaccaggttgagtgccagtgccagcctcctcctcctcagtgcaaaactccacctcccg	3240
ggtttaagcagttctcctcctcctcctcctcctcctcctcctcctcctcctcctcctcctcctcct	3300
cggccagctaatttttttgatatttcagtagagacgggtttcaccatggttgcaccaagctgg	3360
ctcgaactcctggcctcaagtgatctgcccgccttgccctcccagagtgctgggattaca	3420
gggtgtagccaccgcaccggcctctttttttcttttttttttttttttttttttttttttttt	3480
cagtggttcttccatagtggtttggttttgatatttatgtaatcaaacacatcagtttttcc	3540
tttctgattctgactttggggctcatgctgagaaagtcccttccctacctgaagataatac	3600
agtatatacgtttcttactagtatttttttgggttttttaaaatattttaaatcttttagtcc	3660
atctgaaactgttcttctatcagaaatgccacatttaataaataataagtcoccatgggat	3720
cagatggctggaaggacctctttcogaaactttgtttaattccattaalctgtgtattctt	3780
attctaagtctaatagttccacaactagccttcccttatctttttttcttttttttttttt	3840
ttttgagctggagtttcgcctcttgttgcccagggctggagtacaatgtcacgatctcgggt	3900
caaccgaaacctccgctcccaggttcaagcaattctcctgcctcatcctcgcgagtagct	3960
ggaatcacaggcatgcccaccacgcctagctattttgtatttttagtagagatgggggt	4020
tctccatgttggctcaggctggctcctcaaacctcccagcctcaggtgatctgcctgcctcggc	4080
ctcccataatgctgttatttacaggcctgagccaccacgcctcagccttcatcttttaatga	4140
atgtacatgtatgtaactcttttaggtgaactttttgtaatggttgccaagttccttaaa	4200
aagcccttttggaagctgggcaggtggccacgcctgtaatcccagcattttgggagtctg	4260
aggcaggtggatcacttgaggccaggagtccaagactagcctagccaaaatgcaaaacc	4320
tgtctcactaaagatacaaaaattagccggatgctgagtgccacatgctgtaatctcagc	4380
tactcgggaggctgaggtagaagaatcgcttgaaaccggggaggcagaggttgcaagtgagc	4440
aagatggcgccactgcactccagcctgggtgacagaggggagactccatctcaaaaaaaaa	4500
aaaaaaaaaaaaagataaaaaaggaaaacctaaagtactctgggctttgttaaggattttgtt	4560
aaatatacaaaggattgcaaggaaaatttaacttattttaataattgagtatgcttatcca	4620
agagcaaaaataatatttctccatttatccaaatcatttaggagcatcatagttttaacat	4680
atgggccttgcaagctatcttaaatttatctctagggcattttagggtgttcagttgttctt	4740
gtgaatgggatctttttctccaaataggattattgttgatctgttgattatgttaact	4800
ttgtagttctgactttactgaactgtcttcttagatctaatactcttttcaatttcatc	4860
atataatttctcatttctattttgtttgggggttttttagggcgggaatattaacgggataag	4920
agagacaaaagaaaatctggaaaaacaattcattttaccttacattgcttctgattacta	4980
ccacactattactgggttggaaaaaattgtgaaatcccaggtgcctaataaatgggagg	5040
tacctaaagtgttcatttaattgaattgtaattgattattggaatttctctttcagtgagaag	5100
ctctcatggagatggcagagctcatggctcagaaggctggaaggatgcaggttatgag	5160
tacctctgcattgatgactgttggatggctcccacaagagattcagaaggcagacttcag	5220
gcagaccctcagcgtttcctcatgggattcgccagctagctaattatgtgagtttatag	5280
ataatgttcttgttcattcagaggactgtaagcacttctgtacagaagcttgtttagaaa	5340
cagccctcatggccggcgtggtgctcaagctgtaatcccacactttgggaggccgag	5400
gcggttggtacactgaggtcaagagttcaagaccagcctggccaacatggtgaaacccc	5460
aaacttattaaaagtacaaaaattagctgggcattggtgtaacgcctgtaaccccagc	5520
tactgggaggctgaggcaggagaatcgcttgaaaccaggaggtggaagtttcagtgagc	5580
tgagatcacgccattgcactctagcctgggcaacaaaagagaaactccatctcaaaaaaa	5640
aaaacaaggaaaaaaagaaacagccctcatgacacttagaaagtagaatagctggctgtt	5700
atctgaacattgaattgtaaggcttatcaggtggaactttgcattccatcagcagacaatt	5760

ФИГ. 14В

ttttttttttttttttttttgagatggagtctcattctgtctcccaggetggagggcagtg 5820
 gtgogatctcggctcactgcaagetccacctcctgggttcatgcoattctcctgcctcag 5880
 cctcccagtagctgggaccacagggcaccocgcccacatgcccagttaatTTTTGTATTT 5940
 ttagtagagacggggTTTTcaccatgTTtagccaagatggctctcgatctcctgacctcgtga 6000
 tccgccacctcggcctcccaaagtgtgggattacaggcatgagcccaccggcctagcc 6060
 taaaaatgTTTTgtaatagctcttgaggcccatcttgaggtctctcctTTTTgctaaaacca 6120
 ctgaactctctaggaggaaaaaaggaaacttggttcttgacatatgtgtgcatgtatttcca 6180
 tataaccttttaggaagctattgcaatggtaactataaaactagaatttttagaagatagaagg 6240
 aaaatattctggagatcattggaagagaaatggagtcacaactagttaaagatgatgaag 6300
 acagattTTTTTTTTtgacggagtctcgtctctgtcgcaccaggctggagtgagtgccaca 6360
 atctcagctcactgcaacctccacctcttggttcaagtgattctcctgcctcagcctc 6420
 ccaagttagctgggactacagggcgcacaccaccacgcccggctaattTTTTGTATTTtagt 6480
 agagacaaggTTTTaccatattcgcacaggtggtctcgaactcctgacctgtaatccgc 6540
 ccaccttggcctcccaaagtgtgggattacagggcatgagccaccacgcccggcctga 6600
 agacagattttattcagtaactaccacagtagaggaagagccaagttcaattccaaatac 6660
 aacaaagacaggtggagatttatagccaatgagcagattgagggggctcagtggaat 6720
 atttaaagaacatcaagggtagggagctcttgctaaagcttcatgtaactaaacaaga 6780
 aggggtgggggatgagggaaattgatcagatatcaatggtggcagttattgacttagcagga 6840
 ttcttgctaagaggtcttgctaggacagacataggaagccaagggtggaggtctagtcgaa 6900
 aagaaggctcatcagagaagtctaactaaagtttggccaagaagagcttttgccaaggtta 6960
 aatctatcatttccctcaaaaggtaattttcaggatcccatcaggaagattagcatggct 7020
 gctagctttctcctcagttctgggtatagctcacatgcttagtttgaactagctcagca 7080
 gaactgggggatTTattctttgtcttccaacaaactcatctggatgattttgggggtttg 7140
 tggggaaaaagcccccaatacctgggtgaagtaaccttgtctcttccccagcctggaatgg 7200
 ttctctctttctgctacctcagattgtgctctacaatgggtgactcttttccctccctct 7260
 catttcaggttcacagcaaaaggactgaagctagggatttatgcagatgTTggaaataaaa 7320
 cctgcgcaggcttccctgggagTTTTggatactacgacattgatgccagacctttgctg 7380
 actggggagtagatctgctaaaatTTgatggttgTTactgtgacagtttggaataatTTgg 7440
 cagatggtaatgTTctcctcagagatttagccacaaaggaaagaactTTgaggccatgg 7500
 tagctgagccaaagaaccaatcttcagaatTTtaataacctgtcacataactggaaata 7560
 attattctccatgtgccagagctcccatctctctcttctcagttcattaattaattaatt 7620
 aattcatgtaaaaatccatgcataacctaacatagctaataattgtgcacttataattcaag 7680
 agggctctaagagtttaattagttaattgtaactctctataacatcatttaggggagtcag 7740
 gttgtcaatcggtcacagagaaagaagcatcttctcctcctgcttctcctcaatatacaca 7800
 ccctctctgcactacttctcagaacaatcccagcagctctgggaggtactttacacaatt 7860
 taagcacagagcaactgcctgtccctgctgctagtttaaacatgaaccttccaggtagcc 7920
 tctttttaaaatatacagccccagctgggcatgatggctcatgctgtaatcctagcact 7980
 ttgggaggttgaggcgggtggattacttgaggtcaggagttcagagaccacctggccaac 8040
 atggtgaaaccccatctctagtataaaatacaaaaattagctgactttgggtggcacatgcc 8100
 tgtaatcccagctacttgggaagctgagacagaagagtcacttgaacctgggaaacagag 8160
 gttgcagtgagccaagatcgcaccactgcactccacctggatgacagactgaaccccat 8220
 ctcaaaaaattaaaataaaaataaaaataaaataactatatatatagccccagctggaaatt 8280
 catttctttcccttattttaccattgttttctcatacaggttataagcacatgtccttg 8340
 gccctgaaataggactggcagaagcattgtgtaactcctgtgagtggectctttatatgtgg 8400
 ccttttcaaaaggtgagatagtgagcccagaatccaatagaactgtactgatagatagaa 8460
 cttgacaacaaaaggaaaccaaggtctccttcaaaagtcacaagttacttactatcactcta 8520
 ccctctctcccaggttccaaccactctcaccatccccactgctgtaattatagcctaag 8580
 ctaccatcacctggaaagtcactccttgggtcttccctttatttcaaccattcatgtcctg 8640

ФИГ. 14С

tctatcaacagtccttccaccagtatctctaaaaatatctcctgaatcagcccacttccct	8700
ccatcttccactacatgcaccctggccttccaagctactatcggctctcaaccagactgct	8760
gggaccacctgatctctctgcttccactctgtctcaacccccatctattttccaagcagc	8820
actagagttatcatattaaaatgtaaatatcagtttttttttaagaaaaaacctga	8880
gacttaacagagttataaaaaatataaatgtcatcatcagttccctgcttaaaacctta	8940
actcgcttccaattgcacttggaaatgaaaccaaactgcaactgatccagcccctgacctgcc	9000
tccccaaagtccaaggggtcatggctctttccctggctaacactggttttctttctgtccc	9060
tcaacactgcaagcctattgctgccccagggcctttacactgctttttttctgctaga	9120
acagttcttccccaaagatttttaagggcgggctcttaacattgaagtcgcagacca	9180
aacgccacatattgcagacagttcttctctaaactactttaaaatagccctctgtccattca	9240
ttcttcatcacattaacctgtttaattttctctcagagctccacactatttggaagtat	9300
ttggtgacttgttaccatgtctccccactagagtgtaagttcatgagggcagggacctt	9360
gtctgactttgactgtatctctcgcatatgggttaagtggtaaaatagttatttatggaatg	9420
aatccctattattccctcattatctctgcaaaaatagttctttttctcaacatcttaaac	9480
tgatatcccacctgacctatctacaaaacttttttttggacagagttcactgtcaccca	9540
ggctagagtgcaagtggcgccatctcggtcactgcaacctccgctcccggttttaagcg	9600
attctcttgacctcagcctcccagtagctgggattatagggctgctaccacatctggct	9660
aatttttgtattttttagtagagatggtttcaccatggttggccaggcttgtctcgaactcc	9720
tgacctcagatgatccacctgctcgccctcccaaagtgtgggattacagggcatgagcc	9780
accgtgcccagcctctacaaaactttttattccattaaacaaactatattgctgggatttaag	9840
ttttcttaataacttgatggagtccatgtaattttctgagcttttaattttactaagacca	9900
tttagttctgattatagaagtaaatcttaagggatttcaagttatattggcctact	9960
tctgaagcaaacctctttacagtgaaaattcattataaggggttagacctccttatggaga	10020
cgttcaatctgtaaacctcaagagaaggctacaagtgccctcctttaaactgttttcatctc	10080
acaaggatggttagtagaaaagtaaacagaagagtcatatctgttttcacagcccaattata	10140
cagaatccgacagtaactgcaatcactggcgaaattttgctgacattgatgattcctgga	10200
aaagtataaagagtatcttggactggacatcttttaaccaggagagaattggtgatggtg	10260
ctggaccaggggggttggaaatgaccagatattggtaaaaacttgagccctccttgttcaag	10320
accctgcggttaggcttgtttcctattttgacattcaaggtaaaatacaggtaaaagttcctg	10380
ggaggaggctttatgtgagagtaacttagagcaggatgctgtggaaagtggtttctccata	10440
tgggtcatctaggtaactttaagaatgtttcctcctctcttgtttgaattatttcattct	10500
ttttctcagtttagtgattggcaactttggcctcagctggaatcagcaagtaactcagatg	10560
gcccctctgggctatcatggctgctccttattcatgtctaatagacctccgacacatcagc	10620
cctcaagccaaagctctccttcaggataaggacgtaattgccatcaatcaggacccttg	10680
ggcaagcaagggtagcagcttagacaggtaaataagagtatatattttaagatggcttta	10740
tatacccaataaccaactttgtcttgggcctaaatctatttttttcccttgcctttagatgt	10800
tactatcagtaataaagcttcttgcctagaacattactttatttccaaaataatgctaca	10860
ggatcatttttaatttttccacaagtgcttgatagttctgacattagaatgaatgccaa	10920
actaacagggccacttatcactagttgctaagcaaccacactttcttggtttttcagggga	10980
gacaactttgaagtggtgggaacgacctctctcaggcttagcctgggctgtagctatgata	11040
aaccggcaggagattggtggacctcgtcttataccatcgcagttgcttccctgggtaaa	11100
ggagtggcctgtaatcctgctgcttcatcacacagctcctccctgtgaaaaggaagcta	11160
gggttctatgaatggacttcaaggttaagaagtcacataaaatcccacaggcaactgttttg	11220
cttcagctagaaaatacaatgcagatgtcattaaaagacttactttaaaatgtttatttt	11280
attgccaactactacttccctgtccacctttttctccattcactttaaagctcaaggcta	11340
gggtggctcatgacctgtaatcccagcactttggggaggctgaggcgggcagatcacctgagg	11400
tggggactttgagaccgctggacaacatgggtgaaacccccatttctaataaaaaatataa	11460
aaattagccagggtggtggcgcacctgtgggtcccagctactctgggggctgaggcatga	11520

ФИГ. 14D

gaatcgcttgaacccgggagtgagggttgcattgagctgagatcatgccacctcactcca	11580
gcctgggcaacaaagattccatctcaaaaaaaaaaaaaaaaaagccaggcacagtggtcatg	11640
cctggaatcccagcaacttttggaaagctgaggcaggcagatcacttgagggttaggatttca	11700
agaccagcctggctaacatagtaaagccctgtctctactaaaaatacaaaaattagccag	11760
gtatggtggcgagcttctgtagcccagctactcaggagactgaggcaggagaatcactt	11820
gaacccgggaagtgggggggtgcagtgacccaagatcacgcactgcattccagcctggg	11880
caacagagcaagactccatctcaaaaaaaaaaagttctatttcttgaataaaaattttccg	11940
aagtttaaacttttaggaataaaaactatataaacccgtatttactcatccagatacccacc	12000
cccttggtgagattctctcccaattatcaaaatgtgtagcatatttaactaccaagagct	12060
aaacatcattaagactgaaatgtattaagaaggatgtataggccaggcacggtgtctcac	12120
gcctgtaatcccaacactttgggaggccaagtccggcggatcacgaggtcaggagatgga	12180
gaccatcctggccaacatggtgaaacccctctctactaaaaatacaaaaattagccagg	12240
caggtggcaggcacctgtaatcccagctactccagaggctgaggcaggacaatcacttga	12300
acctgggaggcagaggctgcagtgagctgaggttgtaccaattgcactccagcctaggta	12360
acgagcaacactccatctcaaaaaaaaaaagataataatttggactgtta	12420
agaggcatttttaaga	12435

ФИГ. 14E

MQLRNPELHL	GCALALRFLA	LVSWDIPGAR	ALDNGLARTP	TMGWLHWERF	MCNLDCQEER	60
DSCISEKLFM	EMAELMVSEC	WKDACYEYLC	IDDCWMAPQR	DSECRLOADP	QRFPHCIROQL	120
ANYVHSKGLK	LGIYADVGNK	TCAGFPGSFG	YYDIDAQTFA	DWGVDLLKFD	GCYCDSLENL	180
ADGYKHMSLA	LNRTGRSIVY	SCEWPLYMWP	FQKPNYTEIR	QYCNHWRNFA	DIDDSWKSJK	240
SILDWTSFNQ	ERIVDVAGPG	GWNDPDMLEI	GNFGLSWNQQ	VTQMALWAIM	AAPLFMSNDL	300
RHISPQAKAL	LQDKDVIAIN	QDPLGKQGYQ	LRQGDNFEVW	ERPLSGLAWA	VAMINRQEIG	360
GPRSYTIAVA	SLGKGVACNP	ACFITQLLPV	KRKLGFYEWT	SRLRSHINPT	GTVLLQLENT	420
MQMSLKDLL						429

ФИГ. 15