

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202090564 (13) A1

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2020.06.15

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

(22) Дата подачи заявки  
2018.08.28

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

(31) 62/550,984

(32) 2017.08.28

(33) US

(86) PCT/US2018/048257

(87) WO 2019/046244 2019.03.07

(71) Заявитель:

АМИКУС ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.  
(US)

(72) Изобретатель:

Кастелли Джефф, Барт Джей, Скубан  
Нина (US)

(74) Представитель:

Рыбина Н.А., Рыбин В.Н. (RU)

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

ccctctgttagggcgagagaggttctacttoattactgcgtctcctgggaaggccatcag 60  
gactcgtcgtctaaagtgggaacccagagactctttgtgagttaaagatttctgtatttatat 120  
gtgtgttatcacacattttttaaaaaactgtaacgacatcaggttgagcagtcgtctcgg 180  
gtgtgaattatgtgattttttaaattttatactatattgtatttttcaaatgttcgaa 240  
attgaatatgtagattgtgttatcagcagaaaaataaacattattcaaatactctattc 300  
agtaaaagtaatttattggcgccctttgtcaagcagcatttgcctagatgtgactctaca 360  
gataaaattcaattggggcctcccttcacagacaatcaggcagtggaactgagtcctg 420  
aalggatagaccagacacagacacatttttcaglatcgtlitttcaactcagggcc 480  
gtgtttttcaaacgtttttgccttacggtcaccttaaggtcccccagacccggccag 540  
acagacagatatcaaaaacacatacacagtcattgagcgtccacattttcccaccaggc 600  
gcagcacaggcgccttcccgccactgagatggggggcaggaggagagagcgaggggg 660  
gaggggaagcagagacagaaaggcgaggggggcccccgaaccccgctctgtgttca 720  
tcataccacccctgggtcccgagttcccaacccacacacacacacacacacacacac 780  
aattttctcctctcttccctcaaacggctatagcgagacggtagacgagacacagacta 840  
cttctgtctcagcgaagcagtaatacagtgagcgctacgtcatgtgagatctcggtcac 900  
gtgagcaactctcggcttaaacctcgggatcactaaggtgcgcgactctcctctgtatgg 960  
aaatagggcggttcacatcaagaagaaggaggtgattggttagcgaacgtcttaag 1020  
tgactgattatttgggtacactcgtgggataacgtcccaagttgcagagaaacataacg 1080  
toattatttaataagtcactcgtgattgtgtccgcccctgggttaattcttaaaagccag 1140  
gttaccgcggaaatttatgtctcgggtcacgtgacaatgcagctgaggaacccagaa 1200  
ctaatctgggctcgcgcgttgcgttgcgttccctggccctcgttctcgggaactccct 1260  
ggggctagagcactggcaatgattggcaaggacgctaccatgggtcggctgcactgg 1320  
gagcgtctcatgtcaactcgtactccagagagagacagatctcgtcatcaggtatcag 1380  
aatctgggtactccctcccttgccttttccatgtgtttgggtgtgtttggggaactgga 1440  
gagtcctcaacgggaacagttgagcccgaggagagctcccccacccgactctcgtcgtgc 1500  
ttttttatccccagcaaacctgtccgaatcaggaactagccctaaactttctctgtgtgac 1560  
ctttctcggatggggagtcgggcagcggcccggtttctttctctctctctctctctct 1620  
cgtctcctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctct 1680  
ttctcttttttcaactgctccttcagagcagggccaccccataggaagtggtgccaaagt 1740  
agccctgcgggttctatcagacccctctctgtgaactctcgtctctctctcgtcgggtg 1800  
ctaacgcttagaacatctagggtgggtaggaggaatggggaactaagattcgtgcaattt 1860  
tttctccttttggggtcgtgatttctcggcagatctcggaggaagtagagagaccata 1920  
aggtcgtgagatctctccacctcgcctcagcgtggcatcaggtcggaaaggttgaca 1980  
tggaggaactttatacatttacacatttgcgtgaggttgaggcggattagataggat 2040  
tgaacatatctgacccctcacaactctatctgtaattgggattacaaccttttaatttc 2100  
acggagctgacaaaaaatactgaaataatgtcttctatctcaacaggtgagtttcaag 2160  
gagataaactatttaagtagacagacagcgttgacattcaactgccttcaagagc 2220  
aaatgttcaatgggaatgaaatgaaatctacaactcgaatgaatgtgtatttttc 2280  
tggagagaggtattttacatttttcaaatctcaaaaggcctcgtgatttaaaaaaggt 2340  
taggaatcaatgagatgtgtgaaagggtggcagtcacagtaactttctgtgacata 2400  
agttatctcatgaatattcttatagataaagtcaggtgtgtgcagacatcacagaag 2460  
aaattggccttgtaagttctatgtgacccgtgtgtacagatgtgtggaattttgccc 2520  
tcacggatttttttttattgtgtatttgcactgtgattataaaactaatgcattgc 2580  
aaaaaatgtagataaagaagagcaaatgaaaaataagatttccccccacggttccacca 2640  
cccagaataactcaggtttcaatgttaatatcaaacctcaaatgttttctatataaa 2700  
tgaacaacagatttcttatttcaatttttccataaaaaaggtcatgtttatgtca 2760  
tgtttggctaatggcaagacccctggcaaccagctcgggtcaaatctgctcattgtta 2820  
cttagccctgtgacattgggttaattacacttttttttttttttttttttttttttttttt 2880

202090564

A1

A1

202090564

## **СПОСОБЫ УСИЛЕНИЯ И/ЛИ СТАБИЛИЗАЦИИ СЕРДЕЧНОЙ ФУНКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ФАБРИ**

### **ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ**

**[0001]** Данная заявка заявляет приоритет по предварительной заявке США № 62/550984, поданной 28 августа 2017 года, которая полностью включена в данный документ посредством ссылки.

### **ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ**

**[0002]** Принципы и варианты осуществления данного изобретения в целом относятся к применению фармакологических шаперонов для лечения лизосомных болезней накопления, в частности к применению мигаластата для лечения болезни Фабри.

### **УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ**

**[0003]** Болезнь Фабри представляет собой прогрессирующую X-сцепленную врожденную ошибку метаболизма гликосфинголипидов, вызванную дефицитом лизосомального фермента  $\alpha$ -галактозидазы A ( $\alpha$ -Gal A) в результате мутаций в гене  $\alpha$ -Gal A (GLA). Несмотря на то, что это заболевание связанное с X хромосомой, женщины могут демонстрировать различные степени клинических проявлений. Болезнь Фабри - это редкое заболевание, заболеваемость которым оценивается от 1 на 40 000 мужчин до 1 на 117 000 в общей популяции. Кроме того, существуют варианты фенотипа болезни Фабри с более поздним началом, которые могут быть недодиагностированы, поскольку они не имеют классических признаков и симптомов. Этот факт и скрининг новорожденных на болезнь Фабри предполагает, что фактическая заболеваемость болезнью Фабри может быть выше, чем в настоящее время оценивается.

**[0004]** При отсутствии лечения продолжительность жизни у пациентов с болезнью Фабри снижается, а смерть обычно наступает в четвертой или пятой декаде из-за сосудистых заболеваний, поражающих почки, сердце и/или центральную нервную систему. Дефицит фермента приводит к внутриклеточному накоплению субстрата глоботриаозилцерамида (GL-3) в эндотелии сосудов и висцеральных тканях по всему организму. Постепенное ухудшение почечной функции и развитие азотемии, обусловленные отложением гликофинголипидов, обычно происходят в течение третьей-пятой декады жизни, но могут происходить уже во второй декаде. Почечные поражения обнаруживаются как у гемизиготных (у мужчин), так и у гетерозиготных (у женщин) пациентов.

**[0005]** Болезнь сердца в результате болезни Фабри встречается у большинства мужчин и многих женщин. Ранние сердечные признаки включают расширение левого желудочка, поражение клапанов и нарушения проводимости. Митральная недостаточность является наиболее частым поражением клапанов, обычно присутствующим в детском или подростковом возрасте. Цереброваскулярные проявления возникают главным образом из-за многоочагового поражения мелких сосудов и могут включать тромбозы, преходящие ишемические атаки, ишемию и аневризму основной артерии, судороги, гемиплегию, гемианестезию, афазию, нарушения лабиринта или кровоизлияния в мозг. Средний возраст возникновения цереброваскулярных проявлений составляет 33,8 года. Изменения личности и психотическое поведение могут проявляться с возрастом.

**[0006]** Одной из утвержденных терапий для лечения болезни Фабри является ферментная заместительная терапия (ФЗТ – ERT - enzyme replacement therapy), которая обычно включает внутривенную инфузию очищенной формы соответствующего белка дикого типа. В настоящее время для лечения болезни Фабри доступны два продукта  $\alpha$ -Gal A: агалзидаза альфа (Replagal<sup>®</sup>, Shire Human Genetic Therapies) и агалзидаза бета (Fabrazyme<sup>®</sup>; Sanofi Genzyme Corporation). Хотя ФЗТ эффективна в большом количестве условий, лечение также имеет

ограничения. Не было продемонстрировано, что ФЗТ снижает риск инсульта, сердечная мышца реагирует медленно, а выведение GL-3 из некоторых типов клеток почек ограничено. У некоторых пациентов также развиваются иммунные реакции на ФЗТ.

[0007] Соответственно, остается необходимость в терапии для лечения болезни Фабри, особенно для усиления сердечной функции.

#### КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0008] Различные аспекты данного изобретения относятся к лечению болезни Фабри у ФЗТ-наивных и ФЗТ-леченных пациентов с использованием мигаластата. Такое лечение может включать усиление и/или стабилизацию сердечной функции, такую как увеличение и/или стабилизация средне-стеночного фракционного укорочения (ССФУ - MWFS - midwall fractional shortening).

[0009] Один из аспектов данного изобретения относится к способу улучшения сердечной функции у пациента, страдающего болезнью Фабри, причем способ включает введение пациенту препарата, содержащего эффективное количество мигаластата или его соли раз в два дня для улучшения сердечной функции пациента, при этом указанное эффективное количество составляет от около 100 мг до около 150 мг эквивалента свободного основания (ЭСО - FBE - free base equivalent).

[0010] В одном или большем количестве вариантов осуществления усиление сердечной функции включает усиление систолической функции левого желудочка.

[0011] В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент имеет нарушение ССФУ перед началом введения мигаластата или его соли.

[0012] В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент имеет гипертрофию левого желудочка (ГЛЖ) до начала введения мигаластата или его соли.

[0013] В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль усиливают активность  $\alpha$ -Gal A.

[0014] В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту вводят около 123 мг ЭСО мигаластата или его соли раз в два дня.

[0015] В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту вводят около 123 мг свободного основания мигаластата раз в два дня.

[0016] В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту вводят около 150 мг гидрохлорида мигаластата раз в два дня.

[0017] В одном или большем количестве вариантов осуществления указанный препарат содержит пероральную лекарственную форму. В одном или большем количестве вариантов осуществления пероральная лекарственная форма содержит таблетку, капсулу или раствор.

[0018] В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.

[0019] В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 24 месяцев.

[0020] В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент является ФЗТ-наивным пациентом.

[0021] В одном или большем количестве вариантов осуществления введение мигаластата или его соли обеспечивает среднее увеличение ССФУ в группе ФЗТ-наивных пациентов с нарушенным ССФУ, по меньшей мере, на около 1% после 24 месяцев введения мигаластата или его соли.

[0022] В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент является ФЗТ-леченным пациентом.

[0023] Другой аспект данного изобретения относится к способу увеличения ССФУ у пациента, страдающего болезнью Фабри, причем указанный способ включает введение пациенту препарата, содержащего эффективное количество мигаластата или его соли, раз в два дня для увеличения ССФУ пациента, при этом эффективное количество составляет от около 100 мг до около 150 мг ЭСО.

[0024] В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент имел нарушение ССФУ перед началом введения мигаластата или его соли.

[0025] В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент имеет ГЛЖ перед началом введения мигаластата или его соли.

[0026] В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль усиливает активность  $\alpha$ -Gal A.

[0027] В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту вводят около 123 мг ЭСО мигаластата или его соли раз в два дня.

[0028] В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту вводят около 123 мг свободного основания мигаластата раз в два дня.

[0029] В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту вводят около 150 мг гидрохлорида мигаластата раз в два дня.

[0030] В одном или большем количестве вариантов осуществления указанный препарат содержит пероральную лекарственную форму. В одном или большем количестве вариантов осуществления пероральная лекарственная форма содержит таблетку, капсулу или раствор.

[0031] В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.

[0032] В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 24 месяцев.

[0033] В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент является ФЗТ-наивным пациентом.

[0034] В одном или большем количестве вариантов осуществления введение мигаластата или его соли обеспечивает среднее увеличение ССФУ в группе ФЗТ-наивных пациентов с нарушенным ССФУ, по меньшей мере, на около 1% после 24 месяцев введения мигаластата или его соли.

[0035] В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент является ФЗТ-леченным пациентом.

[0036] Другой аспект данного изобретения относится к способу нормализации ССФУ у пациента с болезнью Фабри и нарушенным ССФУ, причем указанный способ включает введение пациенту препарата, содержащего эффективное количество мигаластата или его соли, раз в два дня для нормализации ССФУ пациента, при этом эффективное количество составляет от около 100 до около 150 мг ЭСО.

[0037] В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль усиливает активность  $\alpha$ -Gal A.

[0038] В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту вводят около 123 мг ЭСО мигаластата или его соли раз в два дня.

[0039] В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту вводят около 123 мг свободного основания мигаластата раз в два дня.

[0040] В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту вводят около 150 мг гидрохлорида мигаластата раз в два дня.

[0041] В одном или большем количестве вариантов осуществления указанный препарат содержит пероральную лекарственную форму. В одном или

большем количестве вариантов осуществления пероральная лекарственная форма содержит таблетку, капсулу или раствор.

[0042] В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.

[0043] В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 24 месяцев.

[0044] В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент является ФЗТ-наивным пациентом.

[0045] В одном или большем количестве вариантов осуществления введение мигаластата или его соли обеспечивает среднее увеличение ССФУ в группе ФЗТ-наивных пациентов с нарушенным ССФУ, по меньшей мере, на около 1% после 24 месяцев введения мигаластата или его соли.

[0046] Другой аспект данного изобретения относится к способу стабилизации ССФУ у пациента, страдающего болезнью Фабри, причем способ включает введение пациенту препарата, содержащего эффективное количество мигаластата или его соли, раз в два дня для стабилизации ССФУ пациента, при этом эффективное количество составляет от около 100 мг до около 150 мг ЭСО.

[0047] В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент имел нарушение ССФУ перед началом введения мигаластата или его соли.

[0048] В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент имеет ГЛЖ перед началом введения мигаластата или его соли.

[0049] В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль усиливает активность  $\alpha$ -Gal A.

[0050] В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту вводят около 123 мг ЭСО мигаластата или его соли раз в два дня.



[0051] В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту вводят около 123 мг свободного основания мигаластата раз в два дня.

[0052] В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту вводят около 150 мг гидрохлорида мигаластата раз в два дня.

[0053] В одном или большем количестве вариантов осуществления указанный препарат содержит пероральную лекарственную форму. В одном или большем количестве вариантов осуществления пероральная лекарственная форма содержит таблетку, капсулу или раствор.

[0054] В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.

[0055] В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 30 месяцев.

[0056] В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент является ФЗТ-леченным пациентом.

[0057] В одном или большем количестве вариантов осуществления введение мигаластата или его соли обеспечивает среднее изменение ССФУ в группе ФЗТ-леченных пациентов с нарушенным ССФУ более чем на около - 0,5% после 30 месяцев введения мигаластата или его соли.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0058] Дополнительные признаки данного изобретения станут очевидными из следующего письменного описания и прилагаемых фигур, на которых:

[0059] На Фиг. 1А-Е продемонстрирована полная последовательность ДНК гена GLA дикого типа человека (SEQ ID NO: 1);

[0060] Фиг. 2 демонстрирует белок  $\alpha$ -Gal А дикого типа (SEQ ID NO: 2); и

[0061] Фиг. 3 демонстрирует последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующая белок  $\alpha$ -Gal A дикого типа (SEQ ID NO: 3).

## ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0062] Прежде чем описывать несколько иллюстративных вариантов осуществления изобретения, следует понимать, что данное изобретение не ограничено деталями конструкции или этапами процесса, изложенными в последующем описании. Данное изобретение допускает другие варианты осуществления и может быть применено на практике или осуществлено различными способами.

[0063] Различные аспекты данного изобретения относятся к режимам дозирования для введения фармакологических шаперонов, таких как мигаластат, для лечения болезни Фабри. В одном или большем количестве вариантов осуществления схемы дозирования мигаластата улучшают один или несколько параметров сердца пациента.

### Определения

[0064] Термины, используемые в данном описании, в целом имеют свои обычные значения в данной области техники, в контексте данного изобретения и в конкретном контексте, в котором используется каждый термин. Некоторые термины обсуждаются ниже или в других местах в описании, чтобы предоставить практикующим специалистам дополнительное руководство для описания препаратов и способов по данному изобретению, а также их изготовления и использования.

[0065] Термин “болезнь Фабри” относится к X-связанной врожденной ошибке катаболизма гликофинголипидов из-за дефицита лизосомальной активности  $\alpha$ -Gal A. Этот дефект вызывает накопление субстрата глоботриаозилцерамида (GL-3, также известного как Gb3 или тригексозид церамида) и связанных с ним гликофинголипидов в лизосомах эндотелия

сосудов сердца, почек, кожи и других тканей. Другим субстратом фермента является глоботриаозилсфингозин плазмы (“лизо-Gb<sub>3</sub> плазмы”).

[0066] Термин “атипичная болезнь Фабри” относится к пациентам с преимущественно сердечными проявлениями дефицита  $\alpha$ -Gal A, а именно с прогрессирующим накоплением GL-3 в клетках миокарда, что приводит к значительному увеличению сердца, особенно левого желудочка.

[0067] “Носителем” является женщина, у которой одна X-хромосома с дефектным геном  $\alpha$ -Gal A и одна X-хромосома с нормальным геном и у которой инактивация X-хромосомы нормального аллеля присутствует в одном или нескольких типах клеток. У носителя часто диагностируется болезнь Фабри.

[0068] “Пациент” относится к субъекту, которому поставили диагноз или подозревают на наличие определенного заболевания. Пациент может быть человеком или животным.

[0069] “Пациент Фабри” относится к индивидууму, у которого диагностировано или подозревается наличие болезни Фабри и который имеет мутантный  $\alpha$ -Gal A, как определено ниже. Характерные маркеры болезни Фабри могут встречаться у мужчин-гемизигот и женщин-носителей с одинаковой распространенностью, хотя женщины, как правило, поражены меньше.

[0070] “ $\alpha$ -галактозидаза A ( $\alpha$ -Gal A) человека” относится к ферменту, кодируемому геном GLA человека. Полная последовательность ДНК  $\alpha$ -Gal A, включая интроны и экзоны, доступна в GenBank по номеру доступа X14448.1 и продемонстрирована на Фиг. 1A-E (SEQ ID NO: 1). Фермент  $\alpha$ -Gal A человека состоит из 429 аминокислот и доступен по номерам доступа GenBank X14448.1 и U78027.1 и продемонстрирован на Фиг.2 (SEQ ID NO: 2). Последовательность нуклеиновой кислоты, которая включает в себя только кодирующие области (то есть экзоны) SEQ ID NO: 1, продемонстрирована на Фиг. 3 (SEQ ID NO: 3).

[0071] Термин “мутантный белок” включает белок, который имеет мутацию в гене, кодирующем белок, что приводит к неспособности белка

достичь стабильной конформации в условиях, обычно присутствующих в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР). Неспособность достичь стабильной конформации приводит к тому, что значительное количество фермента разрушается, а не транспортируется в лизосому. Такая мутация иногда называется “конформационным мутантом”. Такие мутации включают, но не ограничиваются ими, миссенс мутации и небольшие делеции и вставки в рамке считывания.

**[0072]** Используемый в данном документе в одном варианте осуществления термин “мутантный  $\alpha$ -Gal A” включает  $\alpha$ -Gal A, который имеет мутацию в гене, кодирующем  $\alpha$ -Gal A, что приводит к неспособности фермента достичь стабильной конформации в условиях, обычно присутствующих в ЭР. Неспособность достичь стабильной конформации приводит к тому, что значительное количество фермента разрушается, а не транспортируется в лизосому.

**[0073]** Используемый в данном документе термин “фармакологический шаперон” (ФС – РС - pharmacological chaperone) относится к любой молекуле, включая малую молекулу, белок, пептид, нуклеиновую кислоту, углевод и т. д., которая специфически связывается с белком и имеет один или несколько из следующих эффектов: (i) усиливает образование стабильной молекулярной конформации белка; (ii) индуцирует доставку белка из ЭР в другое клеточное местоположение, предпочтительно в нативное клеточное местоположение, *т.е.*, предотвращает связанную с ЭР деградацию белка; (iii) предотвращает агрегацию неправильно свернутых белков; и/или (iv) восстанавливает или усиливает по меньшей мере частичную функцию и/или активность дикого типа белка. Соединение, которое специфически связывается с, *например*,  $\alpha$ -Gal A, означает, что оно связывается и оказывает эффект шаперона на фермент, а не на общую группу связанных или несвязанных ферментов. Более конкретно, этот термин не относится к эндогенным шаперонам, таким как BiP, или к неспецифическим агентам, которые продемонстрировали неспецифическую активность шаперона против различных белков, таким как глицерин, ДМСО или дейтерированная

вода, *т.е.*, химические шапероны. В одном или большем количестве вариантов осуществления данного изобретения ФШ может быть обратимым конкурентным ингибитором. В одном варианте осуществления ФШ представляет собой мигаластат или его соль. В другом варианте осуществления изобретения ФШ представляет собой свободное основание мигаластата (например, 123 мг свободного основания мигаластата). В еще одном варианте осуществления ФШ представляет собой соль мигаластата (*например*, 150 мг мигаластата HCl).

[0074] “Конкурентный ингибитор фермента” может относиться к соединению, которое структурно напоминает химическую структуру и молекулярную геометрию субстрата фермента для связывания фермента около в том же месте, что и субстрат. Таким образом, ингибитор конкурирует за тот же активный центр, что и молекула субстрата, тем самым увеличивая  $K_m$ . Конкурентное ингибирование обычно обратимо, если имеется достаточное количество субстратных молекул для вытеснения ингибитора, *т.е.*, конкурентные ингибиторы могут связываться обратимо. Следовательно, степень ингибирования фермента зависит от концентрации ингибитора, концентрации субстрата и относительного сродства ингибитора и субстрата к активному сайту.

[0075] Используемый в данном документе термин “специфически связывает” относится к взаимодействию фармакологического шаперона с белком, таким как  $\alpha$ -Gal A, в частности, к взаимодействию с аминокислотными остатками белка, которые непосредственно участвуют в контакте с фармакологическим шапероном. Фармакологический шаперон специфически связывает белок-мишень, *например*,  $\alpha$ -Gal A, чтобы оказывать влияние шаперона на белок, а не на общую группу родственных или неродственных белков. Аминокислотные остатки белка, которые взаимодействуют с любым фармакологическим шапероном, могут находиться или не находиться в активном сайте белка. Специфическое связывание можно оценить с помощью рутинных анализов связывания или структурных исследований, например, совместной кристаллизации, ЯМР и тому подобного. Активный сайт для  $\alpha$ -Gal A является сайтом связывания субстрата.

[0076] “Дефицит активности  $\alpha$ -Gal A” относится к активности  $\alpha$ -Gal A в клетках пациента, которая ниже нормального диапазона по сравнению (с использованием тех же способов) с активностью у нормальных людей, не имеющих или не находящихся под подозрением в наличии болезни Фабри или любого другого заболевания (особенно заболевания крови).

[0077] Используемые в данном документе термины “усиливать активность  $\alpha$ -Gal A” или “увеличивать активность  $\alpha$ -Gal A”, относятся к увеличению количества  $\alpha$ -Gal A, которое принимает стабильную конформацию в клетке, приведенной в контакт с фармакологическим шапероном, специфичным для  $\alpha$ -Gal A, относительно количества в клетке (предпочтительно клетке того же типа или той же клетке, *например*, в более раннее время), не приведенной в контакт с фармакологическим шапероном, специфичным для  $\alpha$ -Gal A. Этот термин также относится к увеличению переноса  $\alpha$ -Gal A в лизосому в клетке, приведенной в контакт с фармакологическим шапероном, специфичным для  $\alpha$ -Gal A, относительно переноса  $\alpha$ -Gal A, не приведенного в контакт с фармакологическим шапероном, специфичным для указанного белка. Эти термины относятся как к дикому типу, так и к мутанту  $\alpha$ -Gal A. В одном варианте осуществления увеличение количества  $\alpha$ -Gal A в клетке измеряется путем измерения гидролиза искусственного субстрата в лизатах из клеток, которые были обработаны ФШ. Увеличение гидролиза свидетельствует о повышении активности  $\alpha$ -Gal A.

[0078] Термин “активность  $\alpha$ -Gal A” относится к нормальной физиологической функции  $\alpha$ -Gal A дикого типа в клетке. Например, активность  $\alpha$ -Gal A включает гидролиз GL-3.

[0079] “Респондер” - это человек, у которого диагностировано или имеется подозрение на наличие лизосомной болезни накопления (ЛБН – LSD – lysosomal storage disease), например, болезни Фабри, клетки которого проявляют достаточно повышенную активность  $\alpha$ -Gal A, соответственно, и/или ослабление симптомов или улучшения суррогатных маркеров, в ответ на контакт с ФШ.

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

**[0080]** Неограничивающие примеры улучшений суррогатных маркеров для болезни Фабри, раскрытых в патенте США 2010/0113517, включают повышение уровней  $\alpha$ -Gal A или активности в клетках (например, фибробластах) и ткани; уменьшение накопления GL-3; снижение концентрации в плазме гомоцистеина и молекулы адгезии клеток сосудов -1 (VCAM-1 - vascular cell adhesion molecule-1); снижение накопления GL-3 в клетках миокарда и фиброцитах клапанов; снижение в плазме лизо-Gb<sub>3</sub>; снижение гипертрофии сердца (особенно левого желудочка), улучшение клапанной недостаточности и аритмии; улучшение протеинурии; сниженные концентрации в моче липидов, таких как СТН, лактозилцерамид, церамид, и повышенные концентрации глюкозилцерамида и сфингомиелина в моче; отсутствие слоистых телец включения (телец зебры (Zebra bodies)) в гломерулярных эпителиальных клетках; улучшение почечной функции; смягчение гипогидроза; отсутствие ангиокератомы; и улучшения нарушений слуха, таких как высокочастотная нейросенсорная потеря слуха, прогрессирующая потеря слуха, внезапная глухота или шум в ушах. Улучшения неврологических симптомов включают предотвращение транзиторной ишемической атаки (ТИА – TIA - transient ischemic attack) или инсульта; и уменьшение невропатической боли, проявляющейся как акропарестезия (жжение или покалывание в конечностях). Другим типом клинического маркера, который можно оценить для болезни Фабри, является распространенность вредных сердечно-сосудистых проявлений.

**[0081]** “Средне-стеночное фракционное укорочение” или “ССФУ” (MWFS - Midwall fractional shortening) является мерой систолической функции, которая идентифицирует пациентов с артериальной гипертонией, у которых есть признаки повреждения органа-мишени, нарушения сократительного резерва и повышенной смертности.

[0082] Термин “сердечная функция” относится к работе сердца пациента. Например, одной из оценок сердечной функции является систолическая функция левого желудочка, которая относится к характеристикам опорожнения левого желудочка сердца. Систолическая функция левого желудочка может быть оценена несколькими способами, включая, но не ограничиваясь этим, фракцию выброса левого желудочка (ФВЛЖ - LVEF - left ventricular ejection fraction), эндокардиальное фракционное укорочение эндокарда (ЭФУ - EFS - endocardial fractional shortening) и ССФУ.

[0083] Как используется в данном документе, фраза, “стабилизация сердечной функции” и подобные термины относятся к уменьшению или прекращению снижения сердечной функции и/или восстановлению сердечной функции. Поскольку ожидается, что у не леченных пациентов с болезнью Фабри значительное снижение сердечной функции будет происходить с течением времени, увеличение скорости ухудшения сердечной функции и/или улучшение сердечной функции демонстрируют преимущества терапии мигаластатом, как описано в данном документе. В различных вариантах осуществления стабилизация функции сердца включает в себя стабилизацию ССФУ. Стабилизация ССФУ также относится к снижению или остановке снижения ССФУ.

[0084] Термин «усиление сердечной функции» относится к благоприятному изменению по меньшей мере одного параметра, используемого для оценки сердечной функции. Если параметр пациента находится в нижней части нормального диапазона или ниже нормального диапазона для этого параметра, то выгодным изменением этого параметра является увеличение этого параметра. Например, увеличение ССФУ для пациента с низким ССФУ является улучшением этого параметра. Точно так же, если параметр пациента находится на верхней границе нормального диапазона или выше нормального диапазона для этого параметра, то выгодное изменение этого параметра - уменьшение этого параметра. В одном аспекте улучшение сердечной функции включает одно или несколько из (i) улучшения функции левого желудочка, (ii) улучшения



фракционного укорочения, (iii) улучшения фракции выброса, (iv) уменьшения конечного диастолического объема и (v) нормализации геометрии сердца.

**[0085]** Используемый в данном документе термин “нарушенное ССФУ” относится к пациенту с ССФУ ниже нормального диапазона. Нормальный диапазон ССФУ для женщины составляет не менее 15%, а нормальный диапазон ССФУ для мужчины составляет не менее 14%. Таким образом, нарушенное ССФУ для пациента женского пола составляет <15%, а нарушение ССФУ для пациента мужского пола составляет <14%.

**[0086]** Используемый в данном документе термин “нормализация ССФУ” относится к увеличению ССФУ пациента от нарушенным ССФУ до нормального диапазона. Таким образом, нормализация ССФУ для пациента женского пола увеличивает ССФУ от <15% по меньшей мере до 15%, а нормализация ССФУ для пациента мужского пола увеличивает ССФУ от <14% по меньшей мере до 14%.

**[0087]** Используемый в данном документе термин “гипертрофия левого желудочка” или “ГЛЖ” относится к пациенту с индексом массы левого желудочка (LVMI - left ventricular mass index) выше нормального диапазона 43-95 г/м<sup>2</sup> для женщин и 49-115 г/м<sup>2</sup> для мужчин. Таким образом, ГЛЖ относится к LVMI > 95 г/м<sup>2</sup> для женщин или > 115 г/м<sup>2</sup> для мужчин.

**[0088]** Доза, которая достигает одного или нескольких из вышеупомянутых ответов, является “терапевтически эффективной дозой”.

**[0089]** Фраза “фармацевтически приемлемый” относится к молекулярным веществам и препаратам, которые являются физиологически переносимыми и обычно не вызывают неблагоприятных реакций при введении человеку. В некоторых вариантах осуществления используемый в данном документе термин “фармацевтически приемлемый” означает одобренный регулирующим органом федерального правительства или правительства штата или перечисленный в Фармакопее США или другой общепризнанной фармакопее для применения на

животных и, в частности, на людях. Термин “носитель” по отношению к фармацевтическому носителю относится к разбавителю, адьюванту, эксципиенту или носителю, с которым вводят соединение. Такими фармацевтическими носителями могут быть стерильные жидкости, такие как вода и масла. Вода или водные физиологические растворы, и водные растворы декстрозы и глицерина предпочтительно используют в качестве носителей, особенно для инъекционных растворов. Подходящие фармацевтические носители описаны в Remington's Pharmaceutical Sciences EW Martin, 18th Edition или других изданиях.

[0090] Используемый в данном документе термин “изолированный/выделенный” означает, что указанный материал удаляется из среды, в которой он обычно находится. Таким образом, изолированный биологический материал может не содержать клеточных компонентов, т.е., компонентов клеток, в которых материал обнаружен или произведен. В случае молекул нуклеиновой кислоты выделенная нуклеиновая кислота включает продукт ПЦР, полосу мРНК на геле, кДНК или фрагмент рестрикции. В другом варианте осуществления выделенная нуклеиновая кислота предпочтительно вырезается из хромосомы, в которой она может быть обнаружена, и более предпочтительно больше не присоединяется к нерегулирующим, некодирующим областям или к другим генам, расположенным выше или ниже гена, который содержится в изолированной молекуле нуклеиновой кислоты при обнаружении в хромосоме. В еще одном варианте осуществления выделенная нуклеиновая кислота лишена одного или нескольких интронов. Выделенные нуклеиновые кислоты включают последовательности, вставленные в плазмиды, космиды, искусственные хромосомы и тому подобное. Таким образом, в конкретном варианте осуществления рекомбинантная нуклеиновая кислота представляет собой выделенную нуклеиновую кислоту. Изолированный белок может быть связан с другими белками или нуклеиновыми кислотами или с обоими, с которыми он ассоциируется в клетке, или с клеточными мембранами, если он является мембраносвязанным белком. Изолированная органелла, клетка или

ткань удаляются из анатомического участка, в котором они находятся в организме. Изолированный материал может быть очищен, но не обязательно.

[0091] Термин “ферментная заместительная терапия” или “ФЗТ” относится к введению ненативного очищенного фермента индивидууму, имеющему дефицит такого фермента. Вводимый белок может быть получен из природных источников или путем рекомбинантной экспрессии (как описано более подробно ниже). Указанный термин также относится к введению очищенного фермента индивидууму, которому требуется или полезно введение очищенного фермента, например, индивидууму страдающему недостаточностью фермента. Введенный фермент может представлять собой очищенный рекомбинантный фермент, продуцируемый *in vitro*, или белок, очищенный из изолированной ткани или жидкости, такой как, *например*, плацента или молоко животного происхождения, или из растений.

[0092] Термин “ФЗТ-наивный пациент” относится к пациенту Фабри, который никогда не получал ФЗТ или не получал ФЗТ в течение по меньшей мере 6 месяцев до начала терапии мигаластатом.

[0093] Термин “ФЗТ-леченный пациент” относится к пациенту Фабри, который получал ФЗТ непосредственно перед началом терапии мигаластатом. В некоторых вариантах осуществления пациент с ФЗТ получил по меньшей мере 12 месяцев ФЗТ непосредственно перед началом терапии мигаластатом.

[0094] Используемый в данном документе термин “эквивалент свободного основания” или “ЭСО” относится к количеству мигаластата, присутствующего в мигаластате или его соли. Другими словами, термин ЭСО означает либо количество свободного основания мигаластата, либо эквивалентное количество свободного основания мигаластата, которое обеспечивается солью мигаластата. Например, из-за веса гидрохлоридной соли 150 мг мигаластата гидрохлорида обеспечивает столько же мигаластата, сколько 123 мг формы свободного основания мигаластата. Ожидается, что другие соли будут иметь различные коэффициенты преобразования в зависимости от молекулярной массы соли.

[0095] Термин “мигаластат” охватывает свободное основание мигаластата или его фармацевтически приемлемую соль (например, мигаластат HCl), если не указано иное.

[0096] Термины “мутация” и “вариант” (*например*, как в случае “поддающийся мутации или варианту”) относятся к изменению нуклеотидной последовательности гена или хромосомы. Указанные два упомянутых в данном документе термина обычно используются вместе - *например*, как в случае “мутации или варианта” - в отношении изменения нуклеотидной последовательности, указанной в предыдущем предложении. Если по какой-либо причине приводится только один из двух терминов, пропущенный термин должен был быть включен, и его следует понимать как таковой. Кроме того, термины “чувствительная мутация” и “чувствительный вариант” относятся к мутации или варианту, которые поддаются лечению с помощью ФШ терапии, *например*, мутация, которая поддается лечению мигаластатом. Конкретный тип чувствительной мутации или варианта представляет собой “чувствительную по анализу НЕК мутацию” или “вариант, чувствительный по анализу НЕК”, которые представляет собой мутацию или вариант, которые определены как пригодные для терапии мигаластатом в соответствии с критериями в анализе НЕК *in vitro*, описанном в данном документе и в патенте США № 8592362, который полностью включен в данное описание посредством ссылки.

[0097] Термины “около” и “приблизительно” обычно означают приемлемую степень ошибки для измеряемой величины с учетом характера или точности измерений. Типичные иллюстративные степени погрешности находятся в пределах 20 процентов (%), предпочтительно в пределах 10% и более предпочтительно в пределах 5% от заданного значения или диапазона значений. Альтернативно, и особенно в биологических системах, термины “около” и “приблизительно” могут означать значения, которые находятся в пределах порядка величины, предпочтительно в 10 или 5 раз и более предпочтительно в 2 раза от заданного значения. Числовые величины, приведенные в данном документе, являются приблизительными, если не указано

иное, что означает, что термин “около” или “приблизительно” может быть выведен, если не указано иное.

### Болезнь Фабри

[0098] Болезнь Фабри - это редкая, прогрессирующая и разрушительная ЛБН, связанная с X-хромосомой. Мутации в гене GLA приводят к дефициту лизосомального фермента  $\alpha$ -Gal A, который необходим для метаболизма гликофинголипидов. В начале жизни снижение активности  $\alpha$ -Gal A приводит к накоплению гликофинголипидов, включая GL-3 и лизо-Gb3 в плазме, и приводит к симптомам и ограничивающим жизнь последствиям болезни Фабри, включая боль, желудочно-кишечные симптомы, почечную недостаточность, кардиомиопатию, цереброваскулярные явления и раннюю смертность. Раннее начало терапии и пожизненное лечение дают возможность замедлить прогрессирование заболевания и увеличить продолжительность жизни.

[0099] Болезнь Фабри включает в себя спектр тяжести заболевания и возраст начала заболевания, хотя она традиционно делится на 2 основных фенотипа: классический и поздний. Классический фенотип был приписан главным образом мужчинам с необнаружимой низкой активностью  $\alpha$ -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  $\alpha$ -Gal A и более поздним проявлением этих признаков заболевания. Гетерозиготные носители женского пола обычно экспрессируют фенотип с поздним началом, но в зависимости от характера инактивации X-хромосомы может также проявляться классический фенотип.

[00100] Было выявлено более 1000 мутаций GLA, вызывающих болезнь Фабри. Приблизительно 60% являются миссенс-мутациями, приводящими к одиночным аминокислотным заменам в ферменте  $\alpha$ -Gal A. Миссенс-мутации GLA часто приводят к образованию ненормально свернутых и нестабильных форм  $\alpha$ -Gal A, и большинство из них связаны с классическим фенотипом.

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

[00101] Клинические проявления болезни Фабри охватывают широкий спектр тяжести и приблизительно коррелируют с остаточными уровнями  $\alpha$ -Gal A у пациента. Большинство пациентов, которых лечат в настоящее время, называют классическими пациентами Фабри, большинство из которых мужчины. Эти пациенты испытывают заболевания различных органов, в том числе почек, сердца и головного мозга, причем симптомы заболевания впервые появляются в подростковом возрасте и, как правило, прогрессируют по степени тяжести вплоть до смерти в четвертой или пятой декаде жизни. Ряд недавних исследований показывают, что существует большое количество недиагностированных мужчин и женщин, у которых имеется ряд симптомов болезни Фабри, таких как нарушение функции сердца или почек и инсульты, которые обычно впервые появляются в зрелом возрасте. Люди с этим типом болезни Фабри, называемой болезнью Фабри с более поздним началом, имеют тенденцию иметь более высокие остаточные уровни  $\alpha$ -Gal A, чем классические пациенты Фабри. Люди с поздним началом болезни Фабри обычно впервые испытывают симптомы заболевания в зрелом возрасте и часто имеют симптомы заболевания, сосредоточенные на одном органе, такие как увеличение левого желудочка или прогрессирующая почечная недостаточность. Кроме того, болезнь Фабри с более поздним началом может также проявляться в виде инсультов неизвестной причины.

[00102] Пациенты с болезнью Фабри имеют прогрессирующую почечную недостаточность, а у нелеченных пациентов наблюдается терминальная почечная недостаточность к пятому десятилетию жизни. Дефицит активности  $\alpha$ -Gal A приводит к накоплению GL-3 и родственных гликосфинголипидов во многих типах клеток, включая клетки почки. GL-3 накапливается в подоцитах,

эпителиальных клетках и канальцевых клетках дистального канальца и петли Генле. Нарушение функции почек может проявляться протеинурией и снижением скорости клубочковой фильтрации.

**[00103]** Поскольку болезнь Фабри редка, поражает несколько органов, имеет широкий возрастной диапазон и неоднородна, правильная диагностика является проблемой. Уровень осведомленности среди медицинских работников низок, и часто возникают ошибочные диагнозы. Диагноз болезни Фабри чаще всего подтверждается на основании снижения активности  $\alpha$ -Gal A в плазме или периферических лейкоцитах (БКК – белые кровяные клетки - WBC - white blood cells), когда у пациента имеется симптоматика в сочетании с мутационным анализом. У женщин диагностика является еще более сложной, поскольку ферментативная идентификация женщин-носителей менее надежна из-за случайной инактивации X-хромосомы в некоторых клетках-носителях. Например, некоторые обязательные носители (дочери классически пораженных мужчин) имеют активность фермента  $\alpha$ -Gal A в диапазоне от нормальной до очень низкой активности. Поскольку носители могут иметь нормальную активность фермента  $\alpha$ -Gal A в лейкоцитах, только идентификация мутации  $\alpha$ -Gal A путем генетического тестирования обеспечивает точную идентификацию и/или диагноз носителя.

**[00104]** В одном или большем количестве вариантов осуществления мутантные формы  $\alpha$ -Gal A рассматриваемые как поддающиеся лечению мигаластатом, определяются как демонстрирующие относительное увеличение (+ 10 мкМ мигаластат) в  $\geq 1,2$  раза и абсолютное увеличение (+ 10 мкМ мигаластат)  $\geq 3,0\%$  дикого типа (ДТ), когда мутантная форма  $\alpha$ -Gal A экспрессируется в клетках HEK-293 (что называется “HEK-анализом”) в соответствии с подтвержденным по правилам Надлежащих Лабораторных Практик (GLP - Good Lab Practice) *in vitro* анализом (GLP HEK или анализ чувствительности к мигаластату). Такие мутации также упоминаются в данном документе как “чувствительные по HEK анализу” мутации.

[00105] Предыдущие способы скрининга были предоставлены, чтобы оценить усиление фермента до начала лечения. Например, анализ с использованием клеток НЕК-293 использовался в клинических испытаниях, чтобы предсказать, будет ли данная мутация реагировать на фармакологический шаперон (например, мигаластат). В этом анализе создаются кДНК-конструкции. Соответствующие мутантные формы  $\alpha$ -Gal А временно экспрессируются в клетках НЕК-293. Затем клетки инкубируют  $\pm$  мигаластат (от 17 нМ до 1 мМ) в течение 4-5 дней. После этого уровни  $\alpha$ -Gal А измеряются в клеточных лизатах с использованием синтетического флуорогенного субстрата (4-MU- $\alpha$ -Gal) или вестерн-блоттингом. Это было сделано для известных миссенс-мутаций, вызывающих заболевание, или небольших вставок/делеций в рамке считывания. Мутации, которые ранее были идентифицированы как чувствительные к ФШ (например, мигаластату) с использованием этих способов, перечислены в патенте США № 8592362.

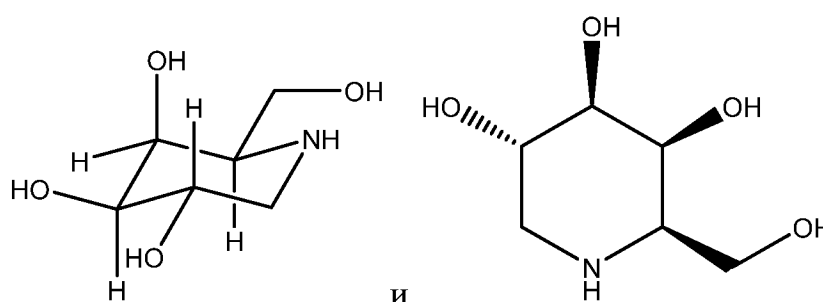
#### Фармакологические шапероны

[00106] Связывание низкомолекулярных ингибиторов ферментов, связанных с ЛБН, может повысить стабильность как мутантного фермента, так и соответствующего фермента дикого типа (см. патенты США № 6274597; 6583158; 6589964; 6599919; 6916829 и 7141582, все они включены в данный документ посредством ссылки). В частности, введение низкомолекулярных производных глюкозы и галактозы, которые являются специфическими селективными конкурентными ингибиторами для нескольких целевых лизосомальных ферментов, эффективно увеличивало стабильность ферментов в клетках *in vitro* и, таким образом, увеличивало доставку ферментов в лизосомы. Таким образом, ожидается, что при увеличении количества фермента в лизосоме гидролиз ферментных субстратов увеличится. Первоначальная теория, лежащая в основе этой стратегии, заключалась в следующем: поскольку мутантный ферментный белок нестабилен в ЭР (Ishii *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1996; 220: 812-815), ферментный белок задерживается в нормальном транспортном пути (ЭР  $\rightarrow$  аппарат Гольджи  $\rightarrow$  эндосомы  $\rightarrow$  лизосома) и



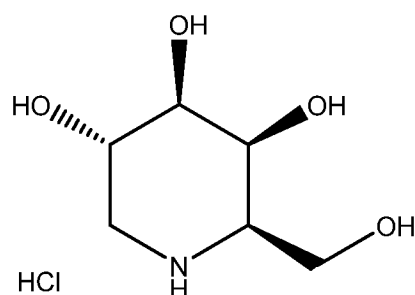
преждевременно деградирует. Следовательно, соединение, которое связывается и увеличивает стабильность мутантного фермента, может служить в качестве шаперона для фермента и увеличивать количество, которое может выходить из ЭР и перемещаться в лизосомы. Кроме того, поскольку сворачивание и транспортировка некоторых белков дикого типа является неполной, поскольку до 70% некоторых белков дикого типа в некоторых случаях деградируют до достижения своего окончательного клеточного расположения, шапероны можно использовать для стабилизации ферментов дикого типа и увеличения количества фермента, который может покинуть ЭР и попасть в лизосомы.

[00107] В одном или большем количестве вариантов осуществления фармакологический шаперон включает мигаластат или его соль. Соединение мигаластат, также известное как 1-дезоксигалактоноджиримицин (1-DGJ) или (2R, 3S, 4R, 5S) -2- (гидроксиметил) пипердин-3,4,5-триол, представляет собой соединение, имеющее следующую химическую формулу:



Свободное основание мигаластата

[00108] Как обсуждается в данном документе, фармацевтически приемлемые соли мигаластата также могут быть использованы в данном изобретении. Когда используется соль мигаластата, дозировка соли будет скорректирована таким образом, чтобы доза мигаластата, полученная пациентом, была эквивалентна количеству, которое было бы получено, если бы использовалось свободное основание мигаластата. Одним примером фармацевтически приемлемой соли мигаластата является мигаластат HCl:



Мигаластат HCl

[00109] Мигаластат представляет собой низкомолекулярный иминосахар и является аналогом терминальной галактозы GL-3. *In vitro* и *in vivo* фармакологические исследования продемонстрировали, что мигаластат действует как фармакологический шаперон, селективно и обратимо связывая, с высокой аффинностью, с активным сайтом  $\alpha$ -Gal A дикого типа и специфическими мутантными формами  $\alpha$ -Gal A, генотипы которых называют чувствительными по НЕК анализу мутациями. Связывание мигаластата стабилизирует эти мутантные формы  $\alpha$ -Gal A в эндоплазматическом ретикулуме, облегчая их правильный перенос в лизосомы, при этом диссоциация мигаластата позволяет  $\alpha$ -Gal A снижать уровень GL-3 и других субстратов. Приблизительно 30-50% пациентов с болезнью Фабри имеют чувствительные по НЕК-анализу мутации; большинство из которых связаны с классическим фенотипом заболевания.

[00110] Подходящие для анализа НЕК мутации включают, по меньшей мере, те мутации, которые перечислены в фармакологической справочной Таблице (*например*, те, которые указаны в ярлыках на продуктах в США или международных продуктах для продукта мигаластата, такого как GALAFOLD<sup>®</sup>). Как используется в данном документе, “фармакологическая справочная Таблица” относится к любой общедоступной письменной или электронной записи, включенной либо в этикетку продукта в упаковке продукта мигаластат (*например*, GALAFOLD<sup>®</sup>), либо на веб-сайте, доступном для поставщиков медицинских услуг, она демонстрирует, реагирует ли конкретная мутация или вариант на ФШ терапию мигаластатом (*например*, GALAFOLD<sup>®</sup>), и не

обязательно ограничивается письменными записями, представленными в табличной форме. Таким образом, в одном варианте осуществления данного изобретения справочная фармакологическая Таблица относится к любому хранилищу информации, которое включает одну или несколько чувствительных мутаций или вариантов. Иллюстративную фармакологическую справочную Таблицу для чувствительных по анализу НЕК мутаций можно найти в сводке характеристик продукта и/или информации о назначении для GALAFOLD<sup>®</sup> в различных странах, в которых GALAFOLD<sup>®</sup> одобрен для применения, или на веб-сайте, таком как [www.galafoldamenabilitytable.com](http://www.galafoldamenabilitytable.com) или [www.fabrygenevariantsearch.com](http://www.fabrygenevariantsearch.com), каждый из которых настоящим включен в качестве ссылки в полном объеме.

**[00111]** Иллюстративная фармакологическая справочная Таблица для поддающихся анализу НЕК мутаций представлена в Таблице 1 ниже. В одном или большем количестве вариантов осуществления, если двойная мутация присутствует в одной и той же хромосоме (мужчины и женщины), этот пациент считается пригодным для анализа НЕК, если двойная мутация присутствует в одной записи в Таблице 1 (*например*, D55V/Q57L). В некоторых вариантах осуществления, если двойная мутация присутствует в разных хромосомах (только у женщин), такой пациент считается пригодным для анализа НЕК, если в Таблице 1 присутствует одна из отдельных мутаций.

**Таблица 1**

| Нуклеотидная замена | Нуклеотидная замена | Изменение последовательности и белка |
|---------------------|---------------------|--------------------------------------|
| c.7C>G              | c.C7G               | L3V                                  |
| c.8T>C              | c.T8C               | L3P                                  |
| c.[11G>T; 620A>C]   | c.G11T/A620C        | R4M/Y207S                            |
| c.37G>A             | c.G37A              | A13T                                 |
| c.37G>C             | c.G37C              | A13P                                 |
| c.43G>A             | c.G43A              | A15T                                 |
| c.44C>G             | c.C44G              | A15G                                 |
| c.53T>G             | c.T53G              | F18C                                 |
| c.58G>C             | c.G58C              | A20P                                 |
| c.59C>A             | c.C59A              | A20D                                 |

**Таблица 1**

| Нуклеотидная замена                   | Нуклеотидная замена                | Изменение последовательности и белка |
|---------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| с.70Т>С или с.70Т>А                   | с.Т70С или с.Т70А                  | W24R                                 |
| с.70Т>G                               | с.Т70G                             | W24G                                 |
| с.72G>С или с.72G>Т                   | с.С72G или с.С72Т                  | W24C                                 |
| с.95Т>С                               | с.Т95С                             | L32P                                 |
| с.97G>С                               | с.С97G                             | D33H                                 |
| с.97G>Т                               | с.С97Т                             | D33Y                                 |
| с.98А>G                               | с.А98G                             | D33G                                 |
| с.100А>G                              | с.А100G                            | N34D                                 |
| с.101А>С                              | с.А101С                            | N34Т                                 |
| с.101А>G                              | с.А101G                            | N34S                                 |
| с.102Т>G или с.102Т>А                 | с.Т102G или с.Т102А                | N34K                                 |
| с.103G>С или с.103G>А                 | с.С103G или с.С103А                | G35R                                 |
| с.104G>А                              | с.С104G                            | G35E                                 |
| с.104G>С                              | с.С104С                            | G35А                                 |
| с.104G>Т                              | с.С104Т                            | G35V                                 |
| с.107Т>С                              | с.Т107С                            | L36S                                 |
| с.107Т>G                              | с.Т107G                            | L36W                                 |
| с.108G>С или с.108G>Т                 | с.С108G или с.С108Т                | L36F                                 |
| с.109G>А                              | с.С109G                            | A37Т                                 |
| с.110С>Т                              | с.С110Т                            | A37V                                 |
| с.122С>Т                              | с.С122Т                            | T41I                                 |
| с.124А>С или с.124А>Т                 | с.С124А или с.С124Т                | M42L                                 |
| с.124А>G                              | с.С124G                            | M42V                                 |
| с.125Т>А                              | с.Т125А                            | M42K                                 |
| с.125Т>С                              | с.Т125С                            | M42Т                                 |
| с.125Т>G                              | с.Т125G                            | M42R                                 |
| с.126G>А или с.126G>С<br>или с.126G>Т | с.С126G или с.С126С или<br>с.С126Т | M42I                                 |
| с.137А>С                              | с.С137А                            | H46P                                 |
| с.142G>С                              | с.С142G                            | E48Q                                 |
| с.152Т>А                              | с.Т152А                            | M51K                                 |
| с.153G>А или с.153G>Т<br>или с.153G>С | с.С153G или с.С153Т или<br>с.С153С | M51I                                 |
| с.157А>G                              | с.А157G                            | N53D                                 |
| с.[157А>С; 158А>Т]                    | с.А157С/А158Т                      | N53L                                 |
| с.160С>Т                              | с.С160Т                            | L54F                                 |
| с.161Т>С                              | с.Т161С                            | L54P                                 |
| с.164А>G                              | с.А164G                            | D55G                                 |
| с.164А>Т                              | с.А164Т                            | D55V                                 |
| с.[164А>Т; 170А>Т]                    | с.А164Т/А170Т                      | D55V/Q57L                            |

**Таблица 1**

| Нуклеотидная замена                   | Нуклеотидная замена                   | Изменение последовательности и белка |
|---------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|
| с.167G>T                              | с. G167T                              | C56F                                 |
| с.167G>A                              | с. G167A                              | C56Y                                 |
| с.170A>T                              | с. A170T                              | Q57L                                 |
| с.175G>A                              | с. G175A                              | E59K                                 |
| с.178C>A                              | с. C178A                              | P60T                                 |
| с.178C>T                              | с. C178T                              | P60S                                 |
| с.179C>T                              | с. C179T                              | P60L                                 |
| с.196G>A                              | с. G196A                              | E66K                                 |
| с.197A>G                              | с. A197G                              | E66G                                 |
| с.207C>A или с.207C>G                 | с. C207A или с. C207G                 | F69L                                 |
| с.214A>G                              | с. A214G                              | M72V                                 |
| с.216G>A или с.216G>T<br>или с.216G>C | с. G216A или с. G216T или<br>с. G216C | M72I                                 |
| с.218C>T                              | с. C218T                              | A73V                                 |
| с.227T>C                              | с. T227C                              | M76T                                 |
| с.239G>A                              | с. G239A                              | G80D                                 |
| с.247G>A                              | с. G247A                              | D83N                                 |
| с.253G>A                              | с. G253A                              | G85S                                 |
| с.254G>A                              | с. G254A                              | G85D                                 |
| с.[253G>A; 254G>A]                    | с. G253A/G254A                        | G85N                                 |
| с.[253G>A; 254G>T;<br>255T>G]         | с. G253A/G254T/T255G                  | G85M                                 |
| с.261G>C или с.261G>T                 | с. G261C или с. G261T                 | E87D                                 |
| с.263A>C                              | с. A263C                              | Y88S                                 |
| с.265C>T                              | с. C265T                              | L89F                                 |
| с.272T>C                              | с. T272C                              | I91T                                 |
| с.288G>A или с.288G>T<br>или с.288G>C | с. G288A или с. G288T или<br>с. G288C | M96I                                 |
| с.289G>C                              | с. G289C                              | A97P                                 |
| с.290C>T                              | с. C290T                              | A97V                                 |
| с.305C>T                              | с. C305T                              | S102L                                |
| с.311G>T                              | с. G311T                              | G104V                                |
| с.316C>T                              | с. C316T                              | L106F                                |
| с.322G>A                              | с. G322A                              | A108T                                |
| с.326A>G                              | с. A326G                              | D109G                                |
| с.334C>G                              | с. C334G                              | R112G                                |
| с.335G>A                              | с. G335A                              | R112H                                |
| с.337T>A                              | с. T337A                              | F113I                                |
| с.337T>C или с.339T>A<br>или с.339T>G | с. T337C или с. T339A или<br>с. T339G | F113L                                |

**Таблица 1**

| Нуклеотидная замена   | Нуклеотидная замена | Изменение последовательности и белка |
|-----------------------|---------------------|--------------------------------------|
| c.352C>T              | c.C352T             | R118C                                |
| c.361G>A              | c.G361A             | A121T                                |
| c.368A>G              | c.A368G             | Y123C                                |
| c.373C>T              | c.C373T             | H125Y                                |
| c.374A>T              | c.A374T             | H125L                                |
| c.376A>G              | c.A376G             | S126G                                |
| c.383G>A              | c.G383A             | G128E                                |
| c.399T>G              | c.T399G             | I133M                                |
| c.404C>T              | c.C404T             | A135V                                |
| c.408T>A или c.408T>G | c.T408A или c.T408G | D136E                                |
| c.416A>G              | c.A416G             | N139S                                |
| c.419A>C              | c.A419C             | K140T                                |
| c.427G>A              | c.G427A             | A143T                                |
| c.431G>A              | c.G431A             | G144D                                |
| c.431G>T              | c.G431T             | G144V                                |
| c.434T>C              | c.T434C             | F145S                                |
| c.436C>T              | c.C436T             | P146S                                |
| c.437C>G              | c.C437G             | P146R                                |
| c.454T>C              | c.T454C             | Y152H                                |
| c.455A>G              | c.A455G             | Y152C                                |
| c.466G>A              | c.G466A             | A156T                                |
| c.467C>T              | c.C467T             | A156V                                |
| c.471G>C или c.471G>T | c.G471C или c.G471T | Q157H                                |
| c.484T>G              | c.T484G             | W162G                                |
| c.493G>C              | c.G493C             | D165H                                |
| c.494A>G              | c.A494G             | D165G                                |
| c.[496C>G; 497T>G]    | c.C496G/T497G       | L166G                                |
| c.496C>G              | c.C496G             | L166V                                |
| c.496 497delinsTC     | c.496 497delinsTC   | L166S                                |
| c.499C>G              | c.C499G             | L167V                                |
| c.506T>C              | c.T506C             | F169S                                |
| c.511G>A              | c.G511A             | G171S                                |
| c.520T>C              | c.T520C             | C174R                                |
| c.520T>G              | c.T520G             | C174G                                |
| c.525C>G или c.525C>A | c.C525G или c.C525A | D175E                                |
| c.539T>G              | c.T539G             | L180W                                |
| c.540G>C              | c.G540C             | L180F                                |
| c.548G>C              | c.G548C             | G183A                                |
| c.548G>A              | c.G548A             | G183D                                |
| c.550T>A              | c.T550A             | Y184N                                |

**Таблица 1**

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

**Таблица 1**

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



**Таблица 1**

| Нуклеотидная замена                   | Нуклеотидная замена                | Изменение последовательности и белка |
|---------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| с.779G>A                              | с.Г779А                            | G260E                                |
| с.779G>C                              | с.Г779С                            | G260А                                |
| с.781G>A                              | с.Г781А                            | G261S                                |
| с.781G>C                              | с.Г781С                            | G261R                                |
| с.781G>T                              | с.Г781Т                            | G261C                                |
| с.788А>G                              | с.А788G                            | N263S                                |
| с.790G>T                              | с.Г790Т                            | D264Y                                |
| с.794C>T                              | с.С794Т                            | P265L                                |
| с.800T>C                              | с.Т800С                            | M267T                                |
| с.805G>A                              | с.Г805А                            | V269M                                |
| с.806T>C                              | с.Т806С                            | V269A                                |
| с.809T>C                              | с.Т809С                            | I270T                                |
| с.810T>G                              | с.Т810G                            | I270M                                |
| с.811G>A                              | с.Г811А                            | G271S                                |
| с.[811G>А; 937G>Т]                    | с.Г811А/Г937Т                      | G271S/D313Y                          |
| с.812G>A                              | с.Г812А                            | G271D                                |
| с.823C>G                              | с.С823G                            | L275V                                |
| с.827G>A                              | с.Г827А                            | S276N                                |
| с.829T>G                              | с.Т829G                            | W277G                                |
| с.831G>Т или с.831G>С                 | с.Г831Т или с.Г831С                | W277C                                |
| с.832А>Т                              | с.А832Т                            | N278Y                                |
| с.835C>G                              | с.С835G                            | Q279E                                |
| с.838C>A                              | с.С838А                            | Q280K                                |
| с.840А>Т или с.840А>С                 | с.А840Т или с.А840С                | Q280H                                |
| с.844А>G                              | с.А844G                            | T282A                                |
| с.845C>T                              | с.С845Т                            | T282I                                |
| с.850А>G                              | с.А850G                            | M284V                                |
| с.851Т>С                              | с.Т851С                            | M284T                                |
| с.860G>T                              | с.Г860Т                            | W287L                                |
| с.862G>C                              | с.Г862С                            | A288P                                |
| с.866T>G                              | с.Т866G                            | I289S                                |
| с.868А>С или с.868А>Т                 | с.А868С или с.А868Т                | M290L                                |
| с.869Т>С                              | с.Т869С                            | M290T                                |
| с.870G>А или с.870G>С<br>или с.870G>Т | с.Г870А или с.Г870С или<br>с.Г870Т | M290I                                |
| с.871G>A                              | с.Г871А                            | A291T                                |
| с.877C>A                              | с.С877А                            | P293T                                |
| с.881Т>С                              | с.Т881С                            | L294S                                |
| с.884Т>G                              | с.Т884G                            | F295C                                |
| с.886А>G                              | с.А886G                            | M296V                                |

**Таблица 1**

| Нуклеотидная замена                | Нуклеотидная замена             | Изменение последовательности и белка |
|------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|
| с.886А>Т или с.886А>С              | с.А886Т или с.А886С             | М296L                                |
| с.887Т>С                           | с.Т887С                         | М296Т                                |
| с.888G>А или с.888G>Т или с.888G>С | с.G888А или с.Г888Т или с.G888С | М296I                                |
| с.893А>G                           | с.А893G                         | N298S                                |
| с.897С>G или с.897С>А              | с.С897G или с.С897А             | D299E                                |
| с.898С>Т                           | с.С898Т                         | L300F                                |
| с.899Т>С                           | с.Т899С                         | L300P                                |
| с.901С>G                           | с.С901G                         | R301G                                |
| с.902G>С                           | с.G902С                         | R301P                                |
| с.902G>А                           | с.G902А                         | R301Q                                |
| с.902G>Т                           | с.G902Т                         | R301L                                |
| с.907А>Т                           | с.А907Т                         | I303F                                |
| с.908Т>А                           | с.Т908А                         | I303N                                |
| с.911G>А                           | с.G911А                         | S304N                                |
| с.911G>С                           | с.G911С                         | S304Т                                |
| с.919G>А                           | с.G919А                         | A307Т                                |
| с.922А>G                           | с.А922G                         | K308E                                |
| с.924А>Т или с.924А>С              | с.А924Т или с.А924С             | K308N                                |
| с.925G>С                           | с.G925С                         | A309P                                |
| с.926С>Т                           | с.С926Т                         | A309V                                |
| с.928С>Т                           | с.С928Т                         | L310F                                |
| с.931С>G                           | с.С931G                         | L311V                                |
| с.935А>G                           | с.А935G                         | Q312R                                |
| с.936G>Т или с.936G>С              | с.G936Т или с.G936С             | Q312H                                |
| с.937G>Т                           | с.G937Т                         | D313Y                                |
| с.[937G>Т; 1232G>А]                | с.G937Т/G1232А                  | D313Y/G411D                          |
| с.938А>G                           | с.А938G                         | D313G                                |
| с.946G>А                           | с.G946А                         | V316I                                |
| с.947Т>G                           | с.Т947G                         | V316G                                |
| с.950Т>С                           | с.Т950С                         | I317Т                                |
| с.955А>Т                           | с.А955Т                         | I319F                                |
| с.956Т>С                           | с.Т956С                         | I319Т                                |
| с.959А>Т                           | с.А959Т                         | N320I                                |
| с.962А>G                           | с.А962G                         | Q321R                                |
| с.962А>Т                           | с.А962Т                         | Q321L                                |
| с.963G>С или с.963G>Т              | с.G963С или с.G963Т             | Q321H                                |
| с.964G>А                           | с.G964А                         | D322N                                |
| с.964G>С                           | с.G964С                         | D322H                                |
| с.966С>А или с.966С>G              | с.С966А или с.С966G             | D322E                                |

**Таблица 1**

| Нуклеотидная замена     | Нуклеотидная замена   | Изменение последовательности и белка |
|-------------------------|-----------------------|--------------------------------------|
| с.968C>G                | с.С968G               | P323R                                |
| с.973G>A                | с.С973A               | G325S                                |
| с.973G>C                | с.С973C               | G325R                                |
| с.978G>C или с.978G>T   | с.С978C или с.С978T   | K326N                                |
| с.979C>G                | с.С979G               | Q327E                                |
| с.980A>T                | с.С980T               | Q327L                                |
| с.983G>C                | с.С983C               | G328A                                |
| с.989A>G                | с.С989G               | Q330R                                |
| с.1001G>A               | с.С1001A              | G334E                                |
| с.1010T>C               | с.С1010C              | F337S                                |
| с.1012G>A               | с.С1012A              | E338K                                |
| с.1016T>A               | с.С1016A              | V339E                                |
| с.1027C>A               | с.С1027A              | P343T                                |
| с.1028C>T               | с.С1028T              | P343L                                |
| с.1033T>C               | с.С1033C              | S345P                                |
| с.1046G>C               | с.С1046C              | W349S                                |
| с.1055C>G               | с.С1055G              | A352G                                |
| с.1055C>T               | с.С1055T              | A352V                                |
| с.1061T>A               | с.С1061A              | I354K                                |
| с.1066C>G               | с.С1066G              | R356G                                |
| с.1066C>T               | с.С1066T              | R356W                                |
| с.1067G>A               | с.С1067A              | R356Q                                |
| с.1067G>C               | с.С1067C              | R356P                                |
| с.1072G>C               | с.С1072C              | E358Q                                |
| с.1073A>C               | с.С1073C              | E358A                                |
| с.1073A>G               | с.С1073G              | E358G                                |
| с.1074G>T или с.1074G>C | с.С1074T или с.С1074C | E358D                                |
| с.1076T>C               | с.С1076C              | I359T                                |
| с.1078G>A               | с.С1078A              | G360S                                |
| с.1078G>T               | с.С1078T              | G360C                                |
| с.1079G>A               | с.С1079A              | G360D                                |
| с.1082G>A               | с.С1082A              | G361E                                |
| с.1082G>C               | с.С1082C              | G361A                                |
| с.1084C>A               | с.С1084A              | P362T                                |
| с.1085C>T               | с.С1085T              | P362L                                |
| с.1087C>T               | с.С1087T              | R363C                                |
| с.1088G>A               | с.С1088A              | R363H                                |
| с.1102G>A               | с.С1102A              | A368T                                |
| с.1117G>A               | с.С1117A              | G373S                                |
| с.1124G>A               | с.С1124A              | G375E                                |

**Таблица 1**

| Нуклеотидная замена  | Нуклеотидная замена  | Изменение последовательности и белка |
|----------------------|----------------------|--------------------------------------|
| c.1153A>G            | c.A1153G             | T385A                                |
| c.1168G>A            | c.G1168A             | V390M                                |
| c.1172A>C            | c.A1172C             | K391T                                |
| c.1175G>C            | c.G1175C             | R392T                                |
| c.1184G>A            | c.G1184A             | G395E                                |
| c.1184G>C            | c.G1184C             | G395A                                |
| c.1192G>A            | c.G1192A             | E398K                                |
| c.1202_1203insGACTTC | c.1202_1203insGACTTC | p.T400_S401dup                       |
| c.1208T>C            | c.T1208C             | L403S                                |
| c.1225C>G            | c.C1225G             | P409A                                |
| c.1225C>T            | c.C1225T             | P409S                                |
| c.1225C>A            | c.C1225A             | P409T                                |
| c.1228A>G            | c.A1228G             | T410A                                |
| c.1229C>T            | c.C1229T             | T410I                                |
| c.1232G>A            | c.G1232A             | G411D                                |
| c.1235C>A            | c.C1235A             | T412N                                |
| c.1253A>G            | c.A1253G             | E418G                                |
| c.1261A>G            | c.A1261G             | M421V                                |

**Дозирование, препарат и введение**

**[00112]** В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенту Фабри вводят мигаластат или его соль с частотой один раз в день (также называемой QOD). В различных вариантах осуществления описанные в данном документе дозы относятся к гидрохлориду мигаластата или эквивалентной дозе мигаластата или его соли, отличной от соли гидрохлорида. В некоторых вариантах осуществления эти дозы относятся к свободному основанию мигаластата. В альтернативных вариантах осуществления эти дозы относятся к соли мигаластата. В других вариантах осуществления соль мигаластата представляет собой гидрохлорид мигаластата. Введение мигаластата или соли мигаластата в данном описании называется терапией мигаластатом.

**[00113]** Эффективное количество мигаластата или его соли может находиться в диапазоне от около 100 мг ЭСО до около 150 мг ЭСО.

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

[00114] Опять же, отмечается, что 150 мг гидрохлорида мигаластата эквивалентны 123 мг формы мигаластата в форме свободного основания. Таким образом, в одном или большем количестве вариантов осуществления доза составляет 150 мг гидрохлорида мигаластата или эквивалентной дозы мигаластата или его соли, отличной от соли гидрохлорида, вводимой с частотой один раз в день. Как указано выше, эту дозу называют 123 мг ЭСО мигаластата. В других вариантах осуществления доза составляет 150 мг гидрохлорида мигаластата, вводимого с частотой один раз в день. В других вариантах осуществления доза составляет 123 мг свободного основания мигаластата, вводимого с частотой один раз в день.

[00115] В различных вариантах осуществления эффективное количество составляет около 122 мг, около 128 мг, около 134 мг, около 140 мг, около 146 мг, около 150 мг, около 152 мг, около 159 мг, около 165 мг, около 171 мг, около 177 мг или около 183 мг мигаластата гидрохлорида.

[00116] Соответственно, в различных вариантах осуществления терапия мигаластатом включает введение 123 мг ЭСО с частотой один раз в день, например 150 мг гидрохлорида мигаластата, раз в два дня.

[00117] Введение мигаластата или его соли может происходить в течение определенного периода времени. В одном или большем количестве вариантов осуществления мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 28 дней, например по меньшей мере 30, 60 или 90 дней или по меньшей мере 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 20, 24, 30 или 36 месяцев или, по меньшей мере, 1, 2, 3, 4 или 5 лет. В различных вариантах осуществления терапия мигаластатом представляет собой длительную терапию мигаластатом, по меньшей мере, 6

месяцев, например, по меньшей мере, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 20, 24, 30 или 36 месяцев или, по меньшей мере, 1, 2, 3, 4 или 5 лет.

[00118] Введение мигаластата или его соли в соответствии с данным изобретением может быть в составе, подходящем для любого пути введения, но предпочтительно его вводят в пероральной лекарственной форме, такой как таблетка, капсула или раствор. В качестве одного примера, пациенту вводят перорально капсулы, каждая из которых содержит 150 мг мигаластата гидрохлорида или эквивалентную дозу мигаластата или его соли, отличную от гидрохлоридной соли.

[00119] В некоторых вариантах осуществления ФШ (*например*, мигаластат или его соль) вводят перорально. В одном или большем количестве вариантов осуществления ФШ (*например*, мигаластат или его соль) вводят инъекцией. ФШ может сопровождаться фармацевтически приемлемым носителем, который может зависеть от способа введения.

[00120] В одном или большем количестве вариантов осуществления ФШ (*например*, мигаластат или его соль) вводят в виде монотерапии и могут быть в форме, подходящей для любого пути введения, включая, *например*, перорально в форме таблеток или капсул или жидкости или в стерильном водном растворе для инъекций. В других вариантах осуществления ФШ предоставляется в виде сухого лиофилизированного порошка для добавления в препарат замещающего фермента во время или сразу после восстановления для предотвращения агрегации фермента *in vitro* до введения.

[00121] Когда ФШ (*например*, мигаластат или его соль) составлен для перорального введения, таблетки или капсулы могут быть приготовлены обычными способами с фармацевтически приемлемыми наполнителями, такими как связующие агенты (*например*, предварительно желатинизированный кукурузный крахмал, поливинилпирролидон или гидроксипропилметилцеллюлоза); наполнители (*например*, лактоза, микрокристаллическая целлюлоза или гидрофосфат кальция); смазывающие

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

**[00122]** Фармацевтические препараты ФШ (*например*, мигаластата или его соли), подходящие для парентерального/инъекционного применения, обычно включают стерильные водные растворы (при этом растворимы в воде) или дисперсии и стерильные порошки для немедленного приготовления стерильных инъекционных растворов или дисперсий. Во всех случаях форма должна быть стерильной и должна быть жидкой до такой степени, чтобы ее можно было легко вводить шприцем. Она должна быть стабильной в условиях производства и хранения и должна быть защищена от загрязняющего действия микроорганизмов, таких как бактерии и грибы. Носителем может быть растворитель или дисперсионная среда, содержащая, *например*, воду, этанол, полиол (*например*, глицерин, пропиленгликоль и полиэтиленгликоль и тому подобное), их подходящие смеси и растительные масла. Подходящая текучесть

может поддерживаться, например, путем использования покрытия, такого как лецитин, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсии и путем использования поверхностно-активных веществ. Предотвращение действия микроорганизмов может осуществляться различными антибактериальными и противогрибковыми агентами, например, парабенами, хлорбутанолом, фенолом, бензиловым спиртом, сорбиновой кислотой и тому подобным. Во многих случаях целесообразно включать изотонические агенты, например сахара или хлорид натрия. Пролонгированная абсорбция инъектируемых препаратов может быть достигнута путем использования в препаратах агентов, замедляющих абсорбцию, например моностерата алюминия и желатина.

**[00123]** Стерильные растворы для инъекций готовят путем включения очищенного фермента (если он есть) и ФШ (*например*, мигаластата или его соли) в необходимом количестве в соответствующем растворителе с различными другими ингредиентами, перечисленными выше, по мере необходимости, с последующим фильтрованием или терминальной стерилизацией. Обычно дисперсии готовят путем включения различных стерилизованных активных ингредиентов в стерильный носитель, который содержит основную дисперсионную среду и необходимые другие ингредиенты из перечисленных выше. В случае стерильных порошков для приготовления стерильных растворов для инъекций предпочтительными способами приготовления являются вакуумная сушка и метод сублимационной сушки, которые дают порошок активного ингредиента плюс любой дополнительный желаемый ингредиент из его предварительно стерильно отфильтрованного раствора.

**[00124]** Препарат может содержать наполнитель. Фармацевтически приемлемые наполнители, которые могут быть включены в состав, представляют собой буферы, такие как цитратный буфер, фосфатный буфер, ацетатный буфер, бикарбонатный буфер, аминокислоты, мочевины, спирты, аскорбиновую кислоту и фосфолипиды; белки, такие как сывороточный альбумин, коллаген и желатин; соли, такие как EDTA или EGTA, и хлорид



натрия; липосомы; поливинилпирролидон; сахара, такие как декстран, маннит, сорбит и глицерин; пропиленгликоль и полиэтиленгликоль (*например*, PEG-4000, PEG-6000); глицерин; глицин или другие аминокислоты; и липиды. Буферные системы для использования с препаратами включают цитрат; ацетат; бикарбонат; и фосфатные буферы. Фосфатный буфер является предпочтительным вариантом осуществления.

**[00125]** Способ введения соединения-шаперона может быть пероральным или парентеральным, включая внутривенный, подкожный, внутриартериальный, внутрибрюшинный, офтальмологический, внутримышечный, буккальный, ректальный, вагинальный, интраорбитальный, интрацеребральный, внутрикожный, внутричерепной, внутриспинальный, внутрижелудочковый, интратекальный, интрацистернальный, внутрикапсулярный, внутрилегочный, интраназальный, трансмукозальный, трансдермальный или через ингаляцию.

**[00126]** Введение вышеописанных парентеральных составов соединения-шаперона может быть периодическим введением болюса препарата или может быть введено внутривенным или внутрибрюшинным введением из резервуара, который является внешним (*например*, пакет для внутривенного (в/в) введения) или внутренним (*например*, биоразрушаемый имплантат).

**[00127]** Варианты осуществления, относящиеся к фармацевтическим составам и введению, могут быть объединены с любым из других вариантов осуществления изобретения, *например*, вариантами осуществления, относящимися к способам лечения пациентов с болезнью Фабри, способам лечения ФЗТ-наивных Фабри пациентов, способам лечения ФЗТ-леченных Фабри пациентов, способы улучшения сердечной функции (*например*, систолической функции левого желудочка), способам стабилизации сердечной функции (*например*, систолической функции левого желудочка), способам увеличения ССФУ, способам стабилизации ССФУ, способам нормализации ССФУ, способам усиления  $\alpha$ -Gal A у пациента с диагнозом или подозрением на болезнь Фабри, использованию фармакологического шаперона для  $\alpha$ -Gal A для

производства лекарственного средства для лечения пациента с диагнозом болезни Фабри или фармакологического шаперона для  $\alpha$ -Gal A для применения при лечении пациента с диагнозом болезни Фабри, а также в вариантах осуществления, относящихся к чувствительным мутациям, ФШ и их подходящим дозам.

**[00128]** В одном или большем количестве вариантов осуществления ФШ (*например*, мигаластат или его соль) вводят в комбинации с ФЗТ. ФЗТ увеличивает количество белка путем экзогенного введения фермента дикого типа или биологически функционального фермента путем инфузии. Эта терапия была разработана для многих генетических расстройств, включая ЛБН, такие как болезнь Фабри, как указано выше. Ожидается, что после инфузии экзогенный фермент будет поглощаться тканями посредством неспецифического или специфического рецепторного механизма. В общем, эффективность поглощения не высока, а время циркуляции экзогенного белка короткое. Кроме того, экзогенный белок является нестабильным и подвержен быстрой внутриклеточной деградации, а также имеет потенциал для неблагоприятных иммунологических реакций с последующим лечением. В одном или большем количестве вариантов осуществления шаперон вводят одновременно с замещающим ферментом (*например*, замещающим  $\alpha$ -Gal A ). В некоторых вариантах осуществления шаперон совместно вводят с замещающим ферментом (*например*, замещающим  $\alpha$ -Gal A ).

**[00129]** В одном или большем количестве вариантов осуществления пациент переключается с ФЗТ на терапию мигаластатом. В некоторых вариантах осуществления изобретения пациент на ФЗТ идентифицирован, ФЗТ пациента прекращена, и пациент начинает получать терапию мигаластатом. Терапия мигаластата может проводиться в соответствии с любым из способов, описанных в данном документе.

Сердечная функция

**[00130]** Описанные в данном документе режимы дозирования могут стабилизировать и/или усиливать сердечную функцию (*например*, систолическую функцию левого желудочка) у пациентов с болезнью Фабри. Поскольку у нелеченных пациентов с болезнью Фабри обычно наблюдается ухудшение сердечной функции с течением времени, как улучшение, так и поддержание сердечной функции свидетельствуют о преимуществах терапии мигаластатом. Как более подробно описано в Примерах ниже, исследования фазы 3 продемонстрировали, что терапия мигаластатом увеличивает и/или стабилизирует ССФУ как у пациентов с ФЗТ, так и у ФЗТ-наивных пациентов. Эти исследования фазы 3 также продемонстрировали, что терапия мигаластатом нормализует ССФУ у некоторых пациентов с нарушениями ССФУ. Соответственно, терапия мигаластатом может быть использована для лечения Фабри пациентов путем стабилизации ССФУ, увеличения ССФУ и/или нормализации ССФУ у ФЗТ-наивных и/или ФЗТ-леченных Фабри пациентов, включая пациентов с нарушениями ССФУ.

**[00131]** Терапия мигаластатом может остановить или уменьшить уменьшение ССФУ и/или увеличить ССФУ для пациента с болезнью Фабри по сравнению с тем же пациентом без лечения терапией мигаластатом. В одном или большем количестве вариантов осуществления терапия мигаластатом обеспечивает изменение ССФУ для пациента, которое больше чем (то есть более положительно чем) -2%, такое как больше или равно около -1,5%, -1,4%, -1,3 %, -1,2%, -1,1%, -1%, -0,9%, -0,8%, -0,7%, -0,6%, -0,5%, -0,4%, -0,3%, -0,2%, -0,1%, 0%, 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9%, 1%, 1,1%, 1,2%, 1,3%, 1,4%, 1,5%, 1,6 %, 1,7%, 1,8%, 1,9%, 2%, 2,1%, 2,2%, 2,3%, 2,4% или 2,5%. В одном или большем количестве вариантов осуществления Фабри пациент представляет собой ФЗТ-леченного пациента. В одном или большем количестве вариантов осуществления Фабри пациент представляет собой пациента, не получающего ФЗТ. В одном или большем количестве вариантов осуществления Фабри пациент имел нарушение ССФУ до начала терапии мигаластатом.

**[00132]** В одном или большем количестве вариантов осуществления терапия мигаластатом обеспечивает среднее изменение ССФУ в группе ФЗТ-наивных пациентов, по меньшей мере, около 0% после 12 месяцев введения мигаластата или его соли. В различных вариантах осуществления среднее увеличение в группе ФЗТ-наивных пациентов, после 12 месяцев введения мигаластата или его соли составляет, по меньшей мере, около 0,05%, около 0,1%, около 0,15% или около 0,2%. В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенты, не получавшие ФЗТ, имели нарушение ССФУ до начала терапии мигаластатом.

**[00133]** В одном или большем количестве вариантов осуществления терапия мигаластатом обеспечивает среднее изменение ССФУ в группе ФЗТ-наивных пациентов, по меньшей мере, около 0% после 24 месяцев введения мигаластата или его соли. В различных вариантах осуществления среднее увеличение в группе ФЗТ-наивных пациентов, после 12 месяцев введения мигаластата или его соли составляет, по меньшей мере, около 0,05%, около 0,1%, около 0,15%, около 0,2%, около 0,3%, около 0,4%, около 0,5%, около 0,6%, около 0,7%, около 0,8%, около 0,9%, около 1%, около 1,1%, около 1,2%, около 1,3%, около 1,4% или около 1,5%. В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенты, не получавшие ФЗТ, имели нарушение ССФУ до начала терапии мигаластатом.

**[00134]** В одном или большем количестве вариантов осуществления терапия мигаластатом обеспечивает среднее изменение ССФУ в группе ФЗТ-наивных пациентов, по меньшей мере, около 0% после 36 месяцев введения мигаластата или его соли. В различных вариантах осуществления среднее увеличение в группе ФЗТ-наивных пациентов, после 12 месяцев введения мигаластата или его соли составляет, по меньшей мере, около 0,05%, около 0,1%, около 0,15%, около 0,2%, около 0,3%, около 0,4%, около 0,5%, около 0,6%, около 0,7%, около 0,8%, около 0,9%, около 1%, около 1,1%, около 1,2%, около 1,3%, около 1,4% или около 1,5%. В одном или большем количестве вариантов осуществления

пациенты, не получавшие ФЗТ, имели нарушение ССФУ до начала терапии мигаластатом.

**[00135]** В одном или большем количестве вариантов осуществления терапия мигаластатом обеспечивает среднее изменение ССФУ в группе ФЗТ-наивных пациентов, по меньшей мере, около 0% после 48 месяцев введения мигаластата или его соли. В различных вариантах осуществления среднее увеличение в группе ФЗТ-наивных пациентов, после 12 месяцев введения мигаластата или его соли составляет, по меньшей мере, около 0,05%, около 0,1%, около 0,15%, около 0,2%, около 0,3%, около 0,4%, около 0,5%, около 0,6%, около 0,7%, около 0,8%, около 0,9%, около 1%, около 1,1%, около 1,2%, около 1,3%, около 1,4%, около 1,5%, около 1,6%, около 1,7%, около 1,8%, около 1,9%, около 2%, около 2,1%, около 2,2%, около 2,3%, около 2,4% или около 2,5%. В одном или большем количестве вариантов осуществления пациенты, не получавшие ФЗТ, имели нарушение ССФУ до начала терапии мигаластатом.

**[00136]** В одном или большем количестве вариантов осуществления терапия мигаластатом обеспечивает среднее изменение ССФУ в группе ФЗТ-наивных пациентов, более чем на около -1,5% после 30 месяцев введения мигаластата или его соли. В различных вариантах осуществления среднее увеличение в группе ФЗТ-наивных пациентов, после 12 месяцев введения мигаластата или его соли превышает -1,5%, -1,4%, -1,3%, -1,2%, -1,1%, -1%, -0,9%, -0,8%, -0,7%, -0,6%, -0,5%, -0,4%, -0,3%, -0,2%, -0,1% или 0%. В одном или большем количестве вариантов осуществления ФЗТ-леченные пациенты, имели нарушение ССФУ до начала терапии мигаластатом.

## **ПРИМЕРЫ**

**ПРИМЕР 1: Режимы дозирования для лечения ФЗТ-наивных Фабри пациентов с использованием гидрохлорида мигаластата**

**[00137]** В данном примере описывается фаза 3 исследования терапии мигаластатом у ФЗТ-наивных Фабри пациентов.

[00138] *Набор пациентов.* Подходящие пациенты были в возрасте 16-74 лет и имели генетически подтвержденную болезнь Фабри; никогда не получали или не получали ФЗТ в течение  $\geq 6$  месяцев; имели мутацию GLA, которая приводила к мутантному белку, который был бы чувствителен к мигаластату, на основе анализа с клетками эмбриональной почки человека -293 (HEK), который применялся при наборе; имел рСКФ (eGFR)  $> 30$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> и имел GL-3 в моче в  $\geq 4$  раза выше верхнего предела нормы.

[00139] *Дизайн исследования.* После базовых оценок приемлемости (2 месяца) пациенты были рандомизированы на стадию 1 - 6 месяцев двойного неинформированного введения 150 мг мигаластата гидрохлорида или плацебо раз в два дня. Все пациенты, закончившие стадию 1, имели право на получение открытого введения мигаластата на стадии 2 (месяцы 6-12) и в течение дополнительного года (месяцы 13-24) после этого. Основная цель состояла в том, чтобы сравнить влияние мигаластата и плацебо на уровень GL-3 в почках по гистологической оценке количества включений в интерстициальных капиллярах после 6 месяцев лечения. Второстепенными целями Стадии 1 было сравнение влияния мигаластата на плацебо на уровни GL-3 в моче, функцию почек, суточный (24 ч) белок мочи, а также на безопасность и переносимость. Третичными целями были сердечная функция, результаты, сообщаемые пациентами, предварительный анализ почек и активность  $\alpha$ -Gal A лейкоцитов. Завершившие исследование имели право участвовать в расширенном исследовании с открытым введением на срок до 5 лет.

[00140] *Оценка гистологии почек.* Каждый пациент прошел начальную биопсию почки, а также повторную биопсию почки через 6 и 12 месяцев. Количество включений GL-3 на почечный интерстициальный капилляр на пациента в начале исследования, а также через 6 и 12 месяцев количественно оценивали в 300 капиллярах 3 независимыми патологами, не осведомленными по поводу лечения и посещения. Все значения для каждой отдельной биопсии в данное время были усреднены до статистического анализа.

[00141] Изменения GL-3 в подоцитах, эндотелиальных клетках и мезангиальных клетках и гломерулярный склероз были качественно оценены теми же тремя патологами, которые были не осведомлены по поводу лечения/посещения.

[00142] *Глоботриаозилцерамид и Глоботриаозилсфингозин.* Лизо-Gb3 плазмы и 24-часовой анализ GL-3 мочи анализировали методом жидкостной хроматографии-масс-спектрологии с использованием нового стабильного изотопно-меченного внутреннего стандарта  $^{13}\text{C}_6$ -лизо-Gb3 (нижний предел количественного определения: 0,200 нг/мл, 0,254 нмоль/л).

[00143] *Оценка почечной функции.* Нормализованные для года (annualized) скорости изменения (мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>/год) рассчитывали с использованием критериев Сотрудничества в области Эпидемиологии Хронической Болезни Почек (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) –  $\text{pCKF}_{\text{ХБП-ЭПИ}}$  ( $\text{GFR}_{\text{CKD-EPI}}$ ) и измеренного клиренса иогексола -  $\text{иСКФ}_{\text{иогексол}}$  ( $\text{mGFR}_{\text{iohexol}}$ ).

[00144] *Эхокардиография.* LVMi, толщину левой задней стенки, диастолическую, толщину межжелудочковой перегородки, диастолические и другие параметры оценивали посредством неинформированной, централизованной оценки.

[00145] *Результаты, о которых сообщали пациенты.* Результаты, о которых сообщали пациенты, оценивали с использованием шкалы оценки желудочно-кишечных симптомов (GSRS - Gastrointestinal-Symptoms-Rating-Scale), короткой формы 36v2TM (Short Form-36v2TM) и краткого-учета-боли-компонента-тяжести-боли (Brief-Pain-Inventory-Pain-Severity-Component).

[00146] *Анализ безопасности и неблагоприятные события.* Рандомизированные пациенты, получавшие  $\geq 1$  дозу, были включены в анализ безопасности, который включал в себя показатели жизненно важных функций, физические осмотры, электрокардиограммы, клинические лабораторные исследования и побочные эффекты.

**[00147]** *Статистический анализ почечного интерстициального капиллярного субстрата GL-3.* Первичным существенным параметром (endpoint) Стадии 1 (6 месяцев) (популяция ИТТ с начальными биопсиями, n = 64) была доля пациентов в группах мигаластата и плацебо с уменьшением  $\geq 50\%$  включений GL-3 на интерстициальный капилляр. Были оценены два других измеряемых параметра Стадии 1 (популяция с модифицированным ИТТ: рандомизированные пациенты с парным начальным измерением и биопсией через 6 месяцев; n = 60): процентное изменение включений GL-3 на интерстициальный капилляр и процент интерстициальных капилляров с отсутствием включений GL-3.

**[00148]** Анализ эффективности по включениям GL-3 на интерстициальный капилляр и по другим предварительно определенным существенным параметрам на Стадии 2 (месяцы 6-12) и продление с информированным введением (месяцы 12-24) были основаны на популяции для модифицированного намерения лечить (мНЛ - mITT - modified intention to treat), состоящей из рандомизированных пациентов с мутантным ферментом  $\alpha$ -Gal A, для которого была продемонстрирована чувствительность к лечению мигаластатом с помощью подтвержденного анализа; n = 50.

### ***Результаты***

**[00149]** **Начальные/исходные характеристики.** Шестьдесят семь пациентов (16-74 года; 64% женщины) с потенциально чувствительным мутантным  $\alpha$ -Gal A были рандомизированы (популяция НЛ). В Таблице 2 представлены исходные характеристики для 50 пациентов в популяции НЛ с подходящим мутантом  $\alpha$ -Gal A. Не было статистически значимых различий в исходных параметрах.



**Таблица 2: Исходные характеристики**

| Параметр                                                                                         | Группа лечения                |                                                 | Всего<br>(N = 50) |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------|
|                                                                                                  | Мигаластат<br>HCl<br>(N = 28) | Плацебо<br>для<br>мигаластат<br>HCl<br>(N = 22) |                   |
| <b>Возраст (лет) (n)</b>                                                                         | 28                            | 22                                              | 50                |
| Среднее $\pm$ CO                                                                                 | 41,5 $\pm$ 13                 | 45,1 $\pm$ 8,0                                  | 43,1 $\pm$ 11     |
| Медианное                                                                                        | 37,0                          | 45,5                                            | 45,0              |
| <b>Вес (кг) (n)</b>                                                                              | 28                            | 22                                              | 50                |
| Среднее $\pm$ CO                                                                                 | 72,6 $\pm$ 15,35              | 76,1 $\pm$ 16,52                                | 74,1 $\pm$ 15,81  |
| Медианное                                                                                        | 72,3                          | 74,0                                            | 72,8              |
| <b>Количество лет после<br/>диагностики болезни Фабри</b>                                        | 28                            | 21                                              | 49                |
| Среднее $\pm$ CO                                                                                 | 5,6 $\pm$ 6,89                | 7,3 $\pm$ 8,80                                  | 6,3 $\pm$ 7,73    |
| Медианное                                                                                        | 4,1                           | 4,1                                             | 4,1               |
| <b>Число пациентов, ранее<br/>получавших ФЗТ (&gt; 6 месяцев<br/>до исходного измерения) (%)</b> | 4 (14,3%)                     | 7 (31,8%)                                       | 11 (22,0%)        |
| <b>Использование ACEi/ARB/Ri<br/>при исходном измерении</b>                                      |                               |                                                 |                   |
| Да (%)                                                                                           | 9 (32,1%)                     | 12 (54,5%)                                      | 21 (42,0%)        |
| Нет (%)                                                                                          | 19 (67,9%)                    | 10 (45,5%)                                      | 29 (58,0%)        |
| <b>Протеинурия &gt; 150 мг/24ч (%)</b>                                                           | 17 (60,7%)                    | 18 (81,8%)                                      | 35 (70,0%)        |
| <b>Протеинурия &gt; 300 мг/24ч (%)</b>                                                           | 8 (28,6%)                     | 11 (50,0%)                                      | 19 (38,0%)        |
| <b>Протеинурия &gt; 1000 мг/24ч (%)</b>                                                          | 3 (10,7%)                     | 3 (13,6%)                                       | 6 (12,0%)         |
| <b>pСКФ<sub>иогексол</sub> (мл/мин/1,73м<sup>2</sup>)</b>                                        | 27                            | 21                                              | 48                |
| Среднее $\pm$ CO                                                                                 | 79,95 $\pm$ 30,9              | 83,12 $\pm$ 22,8                                | 81,34 $\pm$ 27,5  |
| Медианное                                                                                        | 84,90                         | 82,20                                           | 83,40             |
| <b>pСКФ<sub>ХБП-ЭПИ</sub> (мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>)</b>                                        | 28                            | 22                                              | 50                |
| Среднее $\pm$ CO                                                                                 | 94,4 $\pm$ 27,0               | 90,6 $\pm$ 17,1                                 | 92,7 $\pm$ 23,0   |
| Медианное                                                                                        | 96,6                          | 93,5                                            | 94,0              |
| <b>Лизо-Gb<sub>3</sub> (n)</b>                                                                   | 18                            | 13                                              | 31                |
| Среднее (нмоль/л) $\pm$ CO                                                                       | 47,3 $\pm$ 62                 | 41,9 $\pm$ 39                                   | 45,0 $\pm$ 53     |

[00150] Опубликованные отчеты о клиническом фенотипе(ах), связанных с генотипами пациентов с подходящими мутациями (n = 50), указывают на то, что

30 (60%) имели мутации, связанные с классическим фенотипом болезни Фабри, один (2%) с неклассическим фенотипом, три (6%) с обоими фенотипами и 16 (32%) еще не классифицированных. Остаточная активность  $\alpha$ -Gal A в БКК (WBC) <3% была обнаружена у 14 из 16 (87%) мужчин; 29 из 31 (94%) мужчин и женщин имели повышенный уровень лизо-Gb3 в плазме, а 47 из 50 (94%) мужчин и женщин страдали полиорганной системной болезнью (multi-organ system disease).

**[00151] Исходное ССФУ.** В начале исследования у 9 пациентов отмечалось нарушение ССФУ (<15% для женщин и <14% для мужчин).

**[00152] Мигаластат и сердечная функция.** Данное исследование ФЗТ-наивных пациентов продемонстрировало, что терапия мигаластатом увеличивала ССФУ у пациентов с присутствующими в начале исследования нарушениями ССФУ. Таблица 3 ниже демонстрирует изменение ССФУ от исходного уровня после терапии мигаластатом.

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

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

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

**[00153]** Как видно из Таблицы 3, анализ ПРПН у ФЗТ-наивных пациентов, с нарушениями ССФУ на исходном уровне продемонстрировал средние изменения ССФУ на 1,9% (95% ДИ - 0,8%, 4,5%;  $n = 8$ ) в течение 48 месяцев терапии мигаластатом. У 6/8 (75%) пациентов наблюдалось увеличение ССФУ после терапии мигаластатом, причем у 3/8 (38%) наблюдалось нормализация ССФУ.

**[00154]** ССФУ также было проанализировано у пациентов с ГЛЖ в начале исследования. Изменение от исходного уровня у ССФУ у пациентов с ГЛЖ на исходном уровне представлено в Таблице 4 ниже:

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

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

Анализ ПРПН основан на последней оценке исследования, включая любые незапланированные или досрочные визиты; ГЛЖ подгруппа: LVMi > 95 г/м<sup>2</sup> (женщины) или > 115 г/м<sup>2</sup> (мужчины).

**[00155]** Как видно из Таблицы 4, ПРПН-анализ ФЗТ-наивных пациентов, с ГЛЖ на исходном уровне продемонстрировал средние изменения ССФУ на 1,0%

(95% ДИ  $-1,5\%$ ,  $3,5\%$ ;  $n = 10$ ) в течение 48 месяцев терапии мигаластатом. 7/10 (70%) пациентов имели увеличение ССФУ после терапии мигаластатом, при этом 2/10 (20%) демонстрировали нормализацию ССФУ.

**[00156]**     **Безопасность и неблагоприятные события.** Во время Стадии 1 побочные эффекты, возникающие от лечения, были сходными между группами. Неблагоприятными явлениями с более высокой частотой у пациентов, получавших мигаластат, по сравнению с плацебо, были головная боль (12/34 пациентов - 35% против 7/33 пациентов - 21%) и назофарингит (6/34 пациентов - 18% против 2/34 - 6%), Наиболее частыми побочными эффектами для Стадии 2 были головная боль (9/63 пациентов - 14%) и процедурная боль (7/63 пациентов - 11% - связанная с биопсией почек), а для открытой пробы - протеинурия (9/57 пациентов - 16%), головная боль (6/57 пациентов - 11%) и бронхит (6/57 пациентов - 11%). Большинство неблагоприятных явлений были легкой или средней степени тяжести. Никакие нежелательные явления не привели к прекращению применения мигаластата.

**[00157]**     Шесть пациентов испытывали серьезные нежелательные явления на Стадии 1 (2: мигаластат; 4: плацебо), 5 на Стадии 2 и 11 продления с информированным введением. Исследователем были оценены два серьезных нежелательных явления, которые, возможно, были связаны с мигаластатом: усталость и парестезия. Оба произошли у одного и того же пациента между 12-24 месяцами и прекратились. Не было сообщений об отдельных серьезных нежелательных явлениях от  $>1$  пациента. Два пациента прекратили прием мигаластата из-за серьезных нежелательных явлений; оба были признаны не связанными с мигаластатом. О смертельных случаях не сообщалось.

**[00158]**     Возникающая при лечении протеинурия была отмечена у 9 пациентов (16%) в период с 12 до 24 месяцев, и в одном случае была оценена как связанная с мигаластатом. У 5 пациентов 24-месячные значения были в том же диапазоне, что и исходный уровень. У трех пациентов с подходящими мутациями была выраженная исходная протеинурия ( $>1$  г/24 часа), которая

увеличилась в течение 24 месяцев. У 23/28 пациентов с исходной протеинурией  $<300$  мг/24ч 24-часовой белок мочи оставался стабильным во время лечения мигаластатом.

[00159] Не было прогрессирования до терминальной стадии почечной недостаточности, смерти по причине проблем с сердцем и инсульта, как было продемонстрировано в Vanikazemi et al. Был только один случай преходящей ишемической атаки, не связанный с мигаластатом.

[00160] Анализ показателей жизненно важных функций, физических данных, лабораторных параметров и параметров ЭКГ не выявил какого-либо клинически значимого эффекта мигаластата.

## **ПРИМЕР 2: Режимы дозирования для лечения ФЗТ-леченных Фабри пациентов с использованием гидрохлорида мигаластата**

[00161] В данном примере описывается фаза 3 исследования терапии мигаластатом у ФЗТ-леченных Фабри пациентов.

[00162] *Набор пациентов.* Приемлемые пациенты были в возрасте 16-74 лет и имели генетически подтвержденную болезнь Фабри; получили ФЗТ в течение  $\geq 12$  месяцев; имели мутацию GLA, которая приводила к мутантному белку, который был чувствителен к мигаластату, на основе анализа с клетками эмбриональной почки человека-293 (НЕК), который использовался во время набора; имели рСКФ  $\geq 30$  мл/мин/1,73м<sup>2</sup>; и имели уровень дозы ФЗТ и режим, который был стабильным в течение по меньшей мере 3 месяцев.

[00163] *Дизайн исследования.* После начальных оценок приемлемости 57 пациентов были рандомизированы на 18 месяцев терапии мигаластатом или ФЗТ, после чего следовали 12 месяцев терапии мигаластатом. Режим дозирования мигаластата составлял 150 мг гидрохлорида мигаластата раз в два дня. Основная цель состояла в том, чтобы сравнить влияние мигаластата с ФЗТ на функцию почек, оцененную по иСКФ<sub>иогексол</sub> после 18 месяцев лечения. Вторичными задачами было сравнение влияния мигаластата с ФЗТ на: функцию

почек (оценивалась по рСКФ и 24-часовому белку мочи); совокупный клинический исход (оценивается по времени до появления почечных, сердечных, цереброваскулярных событий или смерти); сердечную функцию (оцениваемая с помощью эхокардиографии) и результаты, сообщаемые пациентом (боль и качество жизни).

**[00164] Исходное ССФУ.** На начальном этапе нарушения ССФУ (<15% для женщин и <14% для мужчин) были зарегистрированы у 19 (14 мигаластат, 5 ФЗТ) пациентов.

### *Результаты*

**[00165] Мигаластат и сердечная функция.** Данное исследование ФЗТ-леченных пациентов продемонстрировало, что терапия мигаластатом стабилизировала ССФУ у пациентов с нарушениями ССФУ в начале исследования. Анализ ПРПН у пациентов с нарушениями ССФУ на исходном уровне продемонстрировал средние изменения исходного уровня  $-0,2\%$  (95% ДИ  $-1,3\%$ ,  $1,0\%$ ;  $n = 14$ ) за 30 месяцев терапии мигаластатом. Анализ ПРПН пациентов с нарушениями ССФУ на исходном уровне продемонстрировал среднее изменение ССФУ на  $-0,6\%$  (95% ДИ  $-2,6\%$ ,  $1,4\%$ ;  $n = 5$ ) в течение 18 месяцев лечения с помощью ФЗТ.

**[00166]** Описанные в данном документе варианты осуществления предназначены для иллюстрации данных препаратов и способов и не предназначены для ограничения объема данного изобретения. Предполагается включение в него различных модификаций и изменений, согласующихся с описанием в целом и которые очевидны для специалиста в данной области техники. Прилагаемая формула изобретения не должна ограничиваться конкретными вариантами осуществления, изложенными в примерах, но должна иметь самую широкую интерпретацию, согласующуюся с описанием в целом.

**[00167]** Патенты, заявки на патенты, публикации, описания продуктов, номера доступа GenBank и протоколы цитируются в данной заявке, раскрытия

которых включены в данный документ посредством ссылки во всей их полноте для всех целей.

### Первоначально поданная формула изобретения

1. Способ усиления сердечной функции у пациента с болезнью Фабри, включающий введение пациенту препарата, содержащего эффективное количество мигаластата или его соли, раз в два дня для усиления сердечной функции пациента, при этом указанное эффективное количество составляет от около 100 мг до около 150 мг эквивалента свободного основания (ЭСО - FBE - free base equivalent).
2. Способ по п. 1, в котором усиление сердечной функции включает усиление систолической функции левого желудочка.
3. Способ по пп. 1 или 2, в котором у пациента нарушено средне-стеночное фракционное укорочение (ССФУ - MWFS - midwall fractional shortening) до начала введения мигаластата или его соли.
4. Способ по любому из пп. 1-3, в котором мигаластат или его соль усиливает активность  $\alpha$ -галактозидазы А.
5. Способ по любому из пп. 1-4, в котором пациенту вводят около 123 мг ЭСО мигаластата или его соли раз в два дня.
6. Способ по любому из пп. 1-5, в котором пациенту вводят около 123 мг свободного основания мигаластата раз в два дня.
7. Способ по любому из пп. 1-5, в котором пациенту вводят около 150 мг гидрохлорида мигаластата раз в два дня.
8. Способ по любому из пп. 1-7, в котором указанный препарат содержит пероральную форму дозирования.
9. Способ по п. 8, в котором указанная пероральная форма дозирования содержит таблетку, капсулу или раствор.
10. Способ по любому из пп. 1-9, в котором мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.



11. Способ по любому из пп. 1-10, в котором мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 24 месяцев.
12. Способ по любому из пп. 1-11, в котором пациент является наивным пациентом в отношении ферментной заместительной терапии (ФЗТ- наивным).
13. Способ по любому из пп. 1-12, в котором введение мигаластата или его соли обеспечивает среднее увеличение ССФУ в группе ФЗТ-наивных пациентов с нарушенным ССФУ, по меньшей мере, на около 1% после 24 месяцев введения мигаластата или его соли.
14. Способ по любому из пп. 1-11, в котором пациент является ФЗТ-леченным пациентом.
15. Способ по любому из пп. 1-14, в котором пациент имеет чувствительную (amenable) по НЕК анализу мутацию в  $\alpha$ -галактозидазе А.
16. Способ по п. 15, в котором указанная мутация раскрыта в фармакологической справочной таблице.
17. Способ по п. 16, в котором указанная фармакологическая справочная таблица представлена на этикетке продукта для продукта мигаластата, одобренного для лечения болезни Фабри.
18. Способ по п. 16, в котором указанная фармакологическая справочная таблица приведена на этикетке продукта для GALAFOLD®.
19. Способ по п. 16, в котором указанная фармакологическая справочная таблица представлена на веб-сайте.
20. Способ по п. 19, в котором указанный веб-сайт представляет собой один или большее количество из [www.galafoldamenabilitytable.com](http://www.galafoldamenabilitytable.com) или [www.fabrygenevariantsearch.com](http://www.fabrygenevariantsearch.com).
21. Способ увеличения средне-стеночного фракционного укорочения (ССФУ) у пациента с болезнью Фабри, включающий введение пациенту препарата,

содержащего эффективное количество мигаластата или его соли, раз в два дня для увеличения ССФУ пациента, при этом эффективное количество составляет от около 100 мг до около 150 мг эквивалента свободного основания (ЭСО).

22. Способ по п. 21, в котором пациент имел нарушение ССФУ до начала введения мигаластата или его соли.

23. Способ по пп. 21 или 22, в котором мигаластат или его соль усиливает активность  $\alpha$ -галактозидазы А.

24. Способ по любому из пп. 21-23, в котором пациенту вводят около 123 мг ЭСО мигаластата или его соли раз в два дня.

25. Способ по любому из пп. 21-24, в котором пациенту вводят около 123 мг свободного основания мигаластата раз в два дня.

26. Способ по любому из пп. 21-24, в котором пациенту вводят около 150 мг гидрохлорида мигаластата раз в два дня.

27. Способ по любому из пп. 21-26, в котором указанный препарат содержит пероральную форму дозирования.

28. Способ по п. 27, в котором указанная пероральная форма дозирования содержит таблетку, капсулу или раствор.

29. Способ по любому из пп. 21-28, в котором мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.

30. Способ по любому из пп. 21-29, в котором мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 24 месяцев.

31. Способ по любому из пп. 21-30, в котором пациент является наивным пациентом в отношении ферментной заместительной терапии (ФЗТ-наивным).

32. Способ по любому из пп. 21-31, в котором введение мигаластата или его соли обеспечивает среднее увеличение ССФУ в группе ФЗТ-наивных пациентов

с нарушенным ССФУ, по меньшей мере, на около 1% после 24 месяцев введения мигаластата или его соли.

33. Способ по любому из пп. 21-30, в котором пациент является ФЗТ-леченным пациентом.

34. Способ по любому из пп. 21-33, в котором пациент имеет чувствительную (amenable) по НЕК анализу мутацию в  $\alpha$ -галактозидазе А.

35. Способ по п. 34, в котором мутация раскрыта в фармакологической справочной таблице.

36. Способ по п. 35, в котором указанная фармакологическая справочная таблица представлена на этикетке продукта для продукта мигаластата, одобренного для лечения болезни Фабри.

37. Способ по п. 35, в котором указанная фармакологическая справочная таблица приведена на этикетке продукта для GALAFOLD<sup>®</sup>.

38. Способ по п. 35, в котором указанная фармакологическая справочная таблица представлена на веб-сайте.

39. Способ по п. 38, в котором указанный веб-сайт представляет собой один или большее количество из [www.galafoldamenabilitytable.com](http://www.galafoldamenabilitytable.com) или [www.fabrygenevariantsearch.com](http://www.fabrygenevariantsearch.com).

40. Способ нормализации средне-стеночного фракционного укорочения (ССФУ) у пациента с болезнью Фабри и нарушенным ССФУ, включающий введение пациенту препарата, содержащего эффективное количество мигаластата или его соли, раз в два дня для нормализации ССФУ пациента, в котором указанное эффективное количество составляет от около 100 мг до около 150 мг эквивалента свободного основания (ЭСО).

41. Способ по п. 40, в котором указанные мигаластат или его соль усиливают активность  $\alpha$ -галактозидазы А.

42. Способ по пп. 40 или 41, в котором пациенту вводят около 123 мг ЭСО мигаластата или его соли раз в два дня.
43. Способ по любому из пп. 40-42, в котором пациенту вводят около 123 мг свободного основания мигаластата раз в два дня.
44. Способ по любому из пп. 40-42, в котором пациенту вводят около 150 мг гидрохлорида мигаластата раз в два дня.
45. Способ по любому из пп. 40-44, в котором препарат содержит пероральную форму дозирования.
46. Способ по п. 45, в котором указанная пероральная форма дозирования содержит таблетку, капсулу или раствор.
47. Способ по любому из пп. 40-46, в котором мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 12 месяцев.
48. Способ по любому из пп. 40-47, в котором мигаластат или его соль вводят в течение по меньшей мере 24 месяцев.
49. Способ по любому из пп. 40-48, в котором пациент является наивным пациентом в отношении ферментной заместительной терапии (ФЗТ).
50. Способ по любому из пп. 40-49, в котором введение мигаластата или его соли обеспечивает среднее увеличение ССФУ в группе ФЗТ-наивных пациентов, с нарушениями ССФУ, по меньшей мере, на около 1% после 24 месяцев введения мигаластата или его соли.
51. Способ по любому из пп. 40-50, в котором пациент имеет чувствительную по НЕК анализу мутацию в  $\alpha$ -галактозидазе А.
52. Способ по п. 51, в котором указанная мутация раскрыта в фармакологической справочной таблице.

53. Способ по п. 52, в котором указанная фармакологическая справочная таблица представлена на этикетке продукта для продукта мигаластата, одобренного для лечения болезни Фабри.

54. Способ по п. 52, в котором указанная фармакологическая справочная таблица приведена на этикетке продукта для GALAFOLD<sup>®</sup>.

55. Способ по п. 52, в котором указанная фармакологическая справочная таблица представлена на веб-сайте.

56. Способ по п. 55, в котором указанный веб-сайт представляет собой один или большее количество из [www.galafoldamenabilitytable.com](http://www.galafoldamenabilitytable.com) или [www.fabrygenevariantsearch.com](http://www.fabrygenevariantsearch.com).

57. Способ стабилизации средне-стеночного фракционного укорочения (ССФУ) у пациента с болезнью Фабри, леченного фермент-заместительной терапией (ФЗТ), включающий введение пациенту препарата, содержащего эффективное количество мигаластата или его соли раз в два дня для стабилизации ССФУ пациента, при этом указанное эффективное количество составляет от около 100 мг до около 150 мг эквивалента свободного основания (ЭСО).

58. Способ по п. 57, в котором пациент имел нарушение ССФУ до начала приема мигаластата или его соли.

59. Способ по пп. 57 или 58, в котором мигаластат или его соль усиливает активность  $\alpha$ -галактозидазы А.

60. Способ по любому из пп. 57-59, в котором указанному пациенту вводят около 123 мг ЭСО мигаластата или его соли раз в два дня.

61. Способ по любому из пп. 57-60, в котором указанному пациенту вводят около 123 мг свободного основания мигаластата раз в два дня.

62. Способ по любому из пп. 57-60, в котором указанному пациенту вводят около 150 мг гидрохлорида мигаластата раз в два дня.
63. Способ по любому из пп. 57-62, в котором указанный препарат включает пероральную форму дозирования.
64. Способ по п. 63, в котором указанная пероральная форма дозирования содержит таблетку, капсулу или раствор.
65. Способ по любому из пп. 57-64, в котором мигаластат или его соль вводят в течение, по меньшей мере, 12 месяцев.
66. Способ по любому из пп. 57-65, в котором мигаластат или его соль вводят в течение, по меньшей мере, 30 месяцев.
67. Способ по любому из пп. 57-66, в котором пациент является пациентом, леченным ферментной заместительной терапией (ФЗТ- леченным).
68. Способ по любому из пп. 57-67, в котором введение мигаластата или его соли обеспечивает среднее изменение ССФУ в группе ФЗТ-леченных пациентов с нарушенным ССФУ, превышающее около -0,5% после 30 месяцев введения мигаластата или его соли.
69. Способ по любому из пп. 57-68, в котором пациент имеет чувствительную (amenable) по НЕК анализу мутацию в  $\alpha$ -галактозидазе А.
70. Способ по п. 69, в котором мутация раскрыта в фармакологической справочной таблице.
71. Способ по п. 70, в котором указанная фармакологическая справочная таблица приведена на этикетке продукта для продукта мигаластата, одобренного для лечения болезни Фабри.
72. Способ по п. 70, в котором указанная фармакологическая справочная таблица представлена на этикетке продукта для GALAFOLD<sup>®</sup>.

73. Способ по п. 70, в котором указанная фармакологическая справочная таблица представлена на веб-сайте.

74. Способ по п. 73, в котором указанный веб-сайт представляет собой один или большее количество из [www.galafoldamenabilitytable.com](http://www.galafoldamenabilitytable.com) или [www.fabrygenevariantsearch.com](http://www.fabrygenevariantsearch.com).

|                                                                  |      |
|------------------------------------------------------------------|------|
| cccttctgtaggggcagagaggttctacttccattactgcgctctcctgggaaggccatcag   | 60   |
| gactgctggctaaagtgggaaccaggactctttgtgagttaagaatttgtgtatttatat     | 120  |
| gtgtgttatacacatttttttaaaaaactgtaacgacatcagggtgagcagtcgtctcggg    | 180  |
| gtgggtgaattatgtgtattttttaaatlttatactatattgttatttttcaaalgttcgaa   | 240  |
| attgaatatgtagattgttgttatcagcagaaaaataaacattattcaaatactctattc     | 300  |
| agtaaagtaattttattgggcgcctttgtcaagcagcatttgcctagatgtgactctaca     | 360  |
| gataaaattcacttggggcctcccttacagacaatcaggcagtgagagactgagtgcctg     | 420  |
| aatggatagaccagcactcagaccactatlttccagtatctgtttttcttaactcagggcc    | 480  |
| gtgggttttcaaacgttttttcgccttacgggtcacccttaggggtcccccgagaccggcccag | 540  |
| acagacagatatacaaaaacacatacacagtcatgagcgtccaccatttccccaccaggc     | 600  |
| gcagcacaggcggccttcccggcactgagatgggggggaggaggaggagagcgcgaggggg    | 660  |
| gaggggaaagcagagaaacgaaagaggcggaggcggcccccgaaccccgcctctggtcttca   | 720  |
| tcateaccaccccctgggtccccagttccccacccacacaccaacctetaacgataccgggt   | 780  |
| aatttttctccttcttctccctcaaacggctatagcgagacgggtagacgaacaccagaacta  | 840  |
| cttctgctcagtaagcgagtaatacagtgagcgcctacgtcatgtgagatctcggtcac      | 900  |
| gtgagcaactctcggcttaaactcgggatacctaaggtgcgcgaacttcttctggtatgg     | 960  |
| aaatagggcgggtcaatatcaagaaaggaagagggtgattgggttagcggaacgtcttaacg   | 1020 |
| tgaactgattattggtctacctctggggataaacgtcccagttgccagagaaacaataacg    | 1080 |
| tcattattttaataagtcacgtggtgattgggtccgccttgagggttaattcttaaagcccag  | 1140 |
| gttaaccgcggaaatttatgtgtccgggtcaccgtgacaatgcagctgaggaaccacagaa    | 1200 |
| ctacatctgggctgcgcgcttgcgcttgcgttccctggccctcgtttcctgggacatccct    | 1260 |
| ggggttagagcactggacaatggattggcaaggacgcctaccatggggtggctgcaactgg    | 1320 |
| gagcgttcatgtgcaaccttgactgccagggaagagccagattcctgcacaggtatcag      | 1380 |
| atattgggtactcccttccctttgcttttccatgtgtttgggtgtgtttggggaactgga     | 1440 |
| gagtctcaacgggaacagttgagcccgaggggagagctccccacccgactctgctgctgc     | 1500 |
| ttttttatcccagcaaaactgtcccgaaacagggaactagccctaaaactttctctgtgtgac  | 1560 |
| ctttcctgggatgggagtcgggccagcggcccccgtttctttctctctctctctctctct     | 1620 |
| cgttctccttctctttctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctctct     | 1680 |
| ttctcttttttcaactgctccttgccagagcagggccaccccataggcagtggtgccaaagt   | 1740 |
| agccctgcccggttctatttcagacccttcttgtgaacttctgctcttctctgcccgggtg    | 1800 |
| ctaaccgttagaacatctagggtgggtaggaggaatggggaactaagattcgtgccattt     | 1860 |
| tttctccttttggggctggtgatttctcggcagtatctcagagggttagagagaccata      | 1920 |
| aggctcgtgagatctctcccacctcggccatgagcgtggcatcaggctggaagggttgaca    | 1980 |
| tggaggaactttatacatlttacacctttgcgtgagggttgaggctggattagataggat     | 2040 |
| tgaacatatctgacctcacaatccttatctgtaaattgggattacaaccttttaatttc      | 2100 |
| agggagctgacaaaaaaaatctgaaaaatagttcttatctcacacagggtgagttttcaag    | 2160 |
| gagataacctatlttaaggtacatagcacagcgcttgaccattcaactgogcttacagagc    | 2220 |
| aaatgttcaatgggaaaatgaatgtaaatctacaaatctgaatgaatatgtgtatttttc     | 2280 |
| tggagagaggatattttacctttcttcaaattctcaaagggtctgtgatttaaaaaagggt    | 2340 |
| taggaatcactgatagatgttggtaaaagggtggcagtcacagtlacatttctgtgtccata   | 2400 |
| agttattcctatgaatatctttatagataaagtcaggatgttggtcagacatcacagaag     | 2460 |
| aaattggccttgtaagtttcatgtgacctgtgggtacagtatgtgtggcaattttgccc      | 2520 |
| tcacggatttttttttattggtatttgcactctgattataaaaactaatgcattgatcattgc  | 2580 |
| aaaaaatgtagataaagaagagcaaaatgaaaataaagatttccccccaccggttccacca    | 2640 |
| cccagaaataatcatgggttaaatgttaatatacaaccttacaattgttttctatataaa     | 2700 |
| tgaaaacatagatttctttatttccatttttccataaaaaatggatcatgtttatgtca      | 2760 |
| tgtttggctaatggcaagaccctggcaccagctctgggtcaaattctgacctcattgtta     | 2820 |
| cttagccctgtgacattgggttaaattacacttttttttttttttttttttgagacggggg    | 2880 |

Фиг. 1А



|                                                                  |      |
|------------------------------------------------------------------|------|
| tctcgctctgtcgcccaggtgaggatgcagtgccacgatctcggtcactgcaagtccgc      | 2940 |
| ctcctgggttcacgccattcttctgcctcagcctcccagtagctgggaactacaggcgcc     | 3000 |
| tgccaccaagcctggctcttttttttttttttttttttttagtacagacgggtttcac       | 3060 |
| catgttagccagggtggtctcaatctcctgacctcgtgattcgccgcctcagcctccca      | 3120 |
| aagtgtggtgtgagccaccgtgccagccttacttttttttttgagagggggtctcact       | 3180 |
| ctgtcaccaggttgaggatgcagtgccgcgatctctgctcagtgcaaacctccacctccg     | 3240 |
| ggtttaagcagttctcctgtcgtagtctcctgagtagctgggattacaggcacaccacca     | 3300 |
| cggccagctaatttttgtattttcagtagagacgggtttccaccatgttgcccaagctggt    | 3360 |
| ctcgaaactcctggcctcaagtgatctgccgccttgccctcccagagtgctgggattaca     | 3420 |
| gggtgtgagccaccgcaccgcgcctctttttcttttttagtctatcataccttgcaata      | 3480 |
| cagtggttcttctctatgtgttggttttgatatttatgtaatacaaacacatcagttttcc    | 3540 |
| tttctgattttctgactttggggtcatgctgagaaagtcctttcctacctgaagataatac    | 3600 |
| agtatatacgtttcttactagtatttttgtggatttttaaaataatttaaatctttagtcc    | 3660 |
| atctgaacttggtcttctctatcagaaatgccacatttaataaataataagttccatggtat   | 3720 |
| cagatggctggaaggacctctttcgaaactttgtttaattccattaatctgtgtattctt     | 3780 |
| attctaatagttaatagttccacactagcttcttttatcttttttttttttttttttt       | 3840 |
| ttttgagctggagtttcgctcttggtgccaggtggagtagcaaatgtcacgatctcggt      | 3900 |
| caccgcaacctccgcctcccaggttcaagcaattctcctgcctcatcctcgogagtagct     | 3960 |
| ggaattacaggcatgcgccaccacgcctagctattttgtatttttagtagagatggggtt     | 4020 |
| tctccatgttggtcaggctggtctcaaacctcccagcctcaggtgatctgcctgcctcggc    | 4080 |
| ctcccaaatgctgttattacaggcgtgagccaccgcgccagccttcatcttttaatga       | 4140 |
| atgtacatgtatgtaactcttttaggtgaactttttgtaatgttgtgccaagttccttaa     | 4200 |
| aagcccttttggaagctgggcagggtggccacgcctgtaatcccagcattttgggagctg     | 4260 |
| aggcagggtggaatcacttgaggccaggagttcaagactagcctagccaaaatgcaaaacc    | 4320 |
| tgtctctactaaagatacaaaaaattagccggatgcgatggcacatgcctgtaatctcagc    | 4380 |
| tactcgggaggtctgaggtagaagaatcgcttgaaccggggagggcagaggttgcaagtgc    | 4440 |
| aagatggcgccactgcactccagcctgggtgacagaggagagactccatctcaaaaaaaaa    | 4500 |
| aaaaaaaaaaaaagataaaaaaggaaaacctaaagtactcttgggctttgttaaggattttgtt | 4560 |
| aaatatacaaaaggattgcagggaaaattaaacttatttttaataattgagtatgcttatcca  | 4620 |
| agagcaaaataaatatttctccattttattcaaatcatttaggagcatcatagttttaacat   | 4680 |
| atgggccttgcaogtatcttaaatttatctctaggcatttttaggttggttcagttggtctt   | 4740 |
| gtgaatgggatctttttctccaaataggattattgttgatatctgttgattatgttaact     | 4800 |
| ttgtagttttctgaacttactgaactgtcttcttagatctaataactcttttcaatttcac    | 4860 |
| atataatttctcatttctattttgtttggggttttttagggcggggaatattaacgggataag  | 4920 |
| agagacaaaagaaaatctggaaaaacaattcattttaccttacattgcttggtgattacta    | 4980 |
| ccacactattactgggttggaaaaaattgtgaaatcccaagggtgcctaataaatgggagg    | 5040 |
| tacctaaagtgttcatttaataatgaattgtaatgattattggaatttctctttcagtgagaag | 5100 |
| ctcttcattggagatggcagagctcatggtctcagaaggctggaaggatgcaggttatgag    | 5160 |
| tacctctgcattgatgactgttggtggatggctcccaagagattcagaaggcagacttcag    | 5220 |
| gcagacctcagcgctttctcctcatgggattcgccagctagctaattatgtgagtttatag    | 5280 |
| ataatgttcttggttcattcagaggactgtaagcacttctgtacagaagcttggttagaaa    | 5340 |
| cagccctcatggccggcggtggtggctcacgctgtaatcccaacactttgggaggccgag     | 5400 |
| gcgggtggatcacctgaggtcaagagttcaagaccagcctggccaacatggtgaaacccc     | 5460 |
| aactctattaaaagtacaaaaaattagctgggcattggtggtgaaacgctgtaacccagc     | 5520 |
| tacttgggaggtctgaggcaggagaatcgcttgaaccaggaggtggaagtttcagtgagc     | 5580 |
| tgagatcacgccattgcactctagcctgggcaacaaaagagaaaactccatctcaaaaaaa    | 5640 |
| aaaacaaggaaaaaaaagaaacagccctcatgacacttagaaaagtagaatagctggctgtt   | 5700 |
| atctgaacattgaattgtaaggcttatcaggtggactttgcattccatcagcagacaatt     | 5760 |

Фиг. 1В

|                                                                   |      |
|-------------------------------------------------------------------|------|
| tttttttttttttttttttttttgagatggaggtctcattctgtctcccaggctggagggcagtg | 5820 |
| gtgcatctcgggtcactgcaagctccacccctcctgggttcattgccattctcctgcctcag    | 5880 |
| cctcccaagtagctgggaccacaggaaccggccaccatgccagttaattttttgtattt       | 5940 |
| ttagtagagacgggtttcaccatgttagccaagatgggtctcgatctcctgacctcgtga      | 6000 |
| tcggccacctcggcctcccaaagtgtcgggattacaggaatgagccaccggcgcctagcc      | 6060 |
| tacaaatgttttgtaatagctcttgaggcccatcttgaggttctccttttgctaaaacca      | 6120 |
| ctgaactctctaggaggaaaaaggaacttggttcttgacatatgtgtgcatgtatttcca      | 6180 |
| tataaccttttaggaagctattgcaatggtactataaactagaattttagaagatagaagg     | 6240 |
| aaaatattctggagatcattgaagagaaatggagtcacacactagttaagatgatgaag       | 6300 |
| acagatttttttttttgacggaggtctcgtctgtcggccaggctggagtgagtgggcaca      | 6360 |
| atctcagctcactgcaaccctccacctcttgggttcaagtgattctcctgcctcagcctc      | 6420 |
| ccaagtagctgggaactacaggcgcacaccaccacgcccggctaattttttgtatttttagt    | 6480 |
| agagacaaggtttcaccatattcggccaggctgggtctcgaactcctgacctgtaatccgc     | 6540 |
| ccaccttggcctcccaaagtgtcgggattacaggcatgagccaccacgcccggccgatga      | 6600 |
| agacagattttattcagtactaccacagtagaggaaagagccaaagttcaattccaaatac     | 6660 |
| aacaaagacaggtggagatttatagccaatgagcagattgagggggtcagtggaatggaat     | 6720 |
| atttaagaagacatcaagggtaggagcttcttgcataaagcttcatgtacttaaacaga       | 6780 |
| aggggtgggggatgagggaaattgatcagatatcaatgggtggcagattgacttagcagga     | 6840 |
| ttcttgcataagaggtcttgcaggacagacataggaagccaaaggtggaggtctagtcgaa     | 6900 |
| aagaaggctcatcagagaagtctaaactaaagtttggtcaagaagagctcttgcgaaggta     | 6960 |
| aatctatcatttccctcaaaaggtaatttttcaggatcccatcaggaagattagcatggct     | 7020 |
| getagctttctcctcagttctgggtctatagctcacatgcctagtttgaaactagctcagca    | 7080 |
| gaactgggggattttattctttgtcttccaaactcatctggatgattttgggggttttg       | 7140 |
| tggggaaaagcccccaatacctgggtgaagtaaccttctcttccccagcctggaatgg        | 7200 |
| ttctctctttctgctacctcacgattgtgcttctacaatgggtgactcttttccctcctct     | 7260 |
| catttcagggttcacagcaaaaggactgaagctagggttttatgcagatgttggaataaaaa    | 7320 |
| cctgcgcaggcttccctgggagttttggatactacgacattgatgccagacctttgctg       | 7380 |
| actggggagtagatctgctaaaatttgatgggttggtactgtgacagtttggaataatttg     | 7440 |
| cagatggtaattgtttcattccagagatttagccacaaaggaaagaaactttgaggccatgg    | 7500 |
| tagctgagccaaagaaccaatcttcagaatttttaataacctgtcacataactggaaata      | 7560 |
| atttattctccatgtgccagagctcccatctcttctctttcagtttcattaattaattaatt    | 7620 |
| aattcatgtaaaatccatgcataacctaacctatagctaatattgtgcacttataattcaag    | 7680 |
| agggctctaagagtttaattagtaattgtaactctctataacatcatttaggggagtcag      | 7740 |
| gttgtcaatcgggtcacagagaaagaagcatcttcattcctgcctttcctcaatatacaca     | 7800 |
| ccatctctgcaactacttctcagaacaatccagcagctctgggaggtactttacacaatt      | 7860 |
| taagcacagagcaactgcctgtccctgctgctagtttaaacatgaaccttccaggtagcc      | 7920 |
| tcttcttaaaaataacagccccagctgggcattgatggctcatgcctgtaattcctagcact    | 7980 |
| ttgggaggctgagggcgggtggattacttgagggtcaggagttcgagaccacctggccaac     | 8040 |
| atgggtgaaaccccatctctagtaaaaaatacaaaaattagctgactttgggtggcacatgcc   | 8100 |
| tgtaatccagctacttggaagctgagacagaagagtcacttgaacctgggaaacagag        | 8160 |
| gttgcagtgagccaagatcgccacctgcactccacctggatgacagactgaaccccat        | 8220 |
| ctcaaaaaattaaaaataaaaataaaaataaaaataactatatatatagccccagctggaaatt  | 8280 |
| catttctttcccttatttttaccattgttttctcatacagggtataagcacatgtccttg      | 8340 |
| gcccgtgaataggactggcagaagcatttgttactcctgtgagtggcctctttatatgtgg     | 8400 |
| ccctttcaaaagggtgagatagtgagccagaatccaatagaactgtactgatagatagaa      | 8460 |
| cttgacaacaaaggaaaccaagggtctccttcaaaagtcacacgttacttactatcactcta    | 8520 |
| ccatctctccagggtccaaccacttctcaccatccccactgctgtaattatagcctaag       | 8580 |
| ctaccatcacctggaaagtcattccttgtgtcttccctttatttcaccattcatgtcctg      | 8640 |

Фиг. 1С

|                                                                 |       |
|-----------------------------------------------------------------|-------|
| tctatcaacagtccttccaccagtatctctctaaaatatctcctgaatcagcccacttccct  | 8700  |
| ccatcttcaactacatgcacctggccttccaagctactatcggtctctcaaccagactgt    | 8760  |
| gggaccacctgatctctgtcttccactctgtctcaacccccatctattttccaagcagc     | 8820  |
| actagagttatcatattaaaaatgtaaatatcagtttttttttaagaaaaaacctga       | 8880  |
| gacttaacagagttataaaaaatataaatgtcatcatcagttccctgcttaaaacctta     | 8940  |
| actcgcttccaattgcacttggaatgaaaccaaactgcactgatccagcccttgccctgcc   | 9000  |
| tcccaaaagtccaaggggtcatggctcttccctggctacactgggtttctttctgtccc     | 9060  |
| tcaacactgcaagcctattgctgccccagggcctttacacttgctttttttctgacctaga   | 9120  |
| acagttcttccccaaagatttttaaggggcgggctccttaacattgaagtcgcagacca     | 9180  |
| aacgccacatatgcagacagttcttctctaaactactttaaaatagccctctgtccattca   | 9240  |
| ttcttcatcacattaacctgtttaattttcttctcagagctccacactatttggaagtat    | 9300  |
| ttgttgacttggtaccatgtctccccactagagtgtaagtttcatgagggcagggacctt    | 9360  |
| gtctgactttgactgtatctctcgcatatgggttaagtggttaaatagttatttatggaatg  | 9420  |
| aatccctattattccctcattatctctgcaaaatagtcttttttctcaacatcttaaac     | 9480  |
| tgatatcccacctgacctatctacaaaacttttttttgcgacagagtctcactgtcaccca   | 9540  |
| ggctagagtgcaagtggcgccatctcggtcactgcaacctccgctcccggttttaagcg     | 9600  |
| attctcttgccctcagcctcccagtagctgggattataggcgctgcgtaccacatctggt    | 9660  |
| aatttttgatatttttagtagagatggtttcacatggtggccaggttgctctgaactcc     | 9720  |
| tgacctcagatgatccacctgctcgccctcccaaagtgtgggattacaggcatgagcc      | 9780  |
| accgtgcccagcctctacaaaactttttattccatttaacaaactatatgctgggatttaag  | 9840  |
| ttttcttaataacttgatggagtcctatgtaattttcgagcttttaattttactaagacca   | 9900  |
| ttttagttctgattatagaagtaaatataacttttaagggatttcaagttatatggcctact  | 9960  |
| tctgaagcaaaacttcttacagtgaaaattcattataaggggttttagacctccttatggaga | 10020 |
| cgttcaatctgtaaactcaagagaaggctacaagtgcctccttttaaactgttttcatctc   | 10080 |
| acaaggatggttagtagaaagtaaacagaagagtcatatctgttttcacagcccaattata   | 10140 |
| cagaaatccgacagtactgcaatcactggcgaaattttgctgacattgatgattcctgga    | 10200 |
| aaagtataaagagtatcttggactggacatcttttaaccaggagagaattggtgatgttg    | 10260 |
| ctggaccagggggttggaatgacccagatatggtaaaaaacttgagccctccttggtcaag   | 10320 |
| acctgcggttaggcttggtttcctatttttgacattcaaggtaaatacagggtaaagttcctg | 10380 |
| ggaggaggctttatgtgagagtacttagagcaggatgctgtggaaagtggtttctccata    | 10440 |
| tgggtcatctaggttaacttttaagaatgtttcctcctctcttggttggaattatttcattct | 10500 |
| ttttctcagttagtgttggtgcaactttggcctcagctggaatcagcaagtaactcagatg   | 10560 |
| gacctctgggctatcatggctgtcctttattcatgtctaatgaacctccgacacatcagc    | 10620 |
| cctcaagccaaagctctccttcaggataaggacgttaattgccatcaatcaggaccttg     | 10680 |
| ggcaagcaagggtaccagcttagacaggtaaaataagagtatatatttttaagatggcttta  | 10740 |
| tatacccaataaccaactttgtcttgggcctaaatctattttttcccttgctcttgatgt    | 10800 |
| tactatcagtaataaagcttcttgctagaaacattactttattttccaaaataatgctaca   | 10860 |
| ggatcatttttaatttttctacaagtgttgatagttctgacattaagaatgaatgccaa     | 10920 |
| actaacagggccacttatcactagttgttaagcaaccacactttcttggtttttcagggga   | 10980 |
| gacaactttgaagtgtgggaacgacctctctcaggttagcctgggctgtagctatgata     | 11040 |
| aaccggcaggagattgggtggacctcgctcttataccatcgagttgcttccctgggtaaa    | 11100 |
| ggagtggcctgtaatcctgctgcttcatcacacagctcctccctgtgaaaaggaageta     | 11160 |
| gggttctatgaatggacttcaaggttaagaagtcacataaatcccacaggcactgttttg    | 11220 |
| cttcagctagaaaaatacaatgcagatgtcattaaaaagacttaactttaaaatgtttat    | 11280 |
| attgccaaactactacttctgtccacctttttctccattcactttaaaagctcaaggota    | 11340 |
| ggtggctcatgctgtaatcccagcactttgggaggctgaggcgggcagatcacctgagg     | 11400 |
| tgggactttgagaccgcctggacaacatggtgaaaccccattttctaataaaaaatataa    | 11460 |
| aaatttagccaggtgtggtggcgacctgtggtcccagctactctgggggctgaggcatga    | 11520 |

Фиг. 1D

|                                                                  |       |
|------------------------------------------------------------------|-------|
| gaatcgcttgaacccgggagtgagggtgcattgagctgagatcatgccacctcactcca      | 11580 |
| gcctgggcaacaaagattccatctcaaaaaaaaaaaaaaagccaggcacagtggctcatg     | 11640 |
| cctggaatcccagcacttttggaaagctgaggcaggcagatcacttgaggttaggatttca    | 11700 |
| agaccagcctggctaacaatagtaaagccctgtctctactaaaaatacaaaaattagccag    | 11760 |
| gtatggtggcgagcttctgtagccccagctactcaggagactgaggcaggagaatcactt     | 11820 |
| gaacccgggaagtgggggggtgcagtgaaccaagatcaagccactgcattccagcctggg     | 11880 |
| caacagagcaagaactccatctcaaaaaaaaaaagttctatttcccttgaataaaaattttccg | 11940 |
| aagtttaaaacttttaggaataaaaactattaaaccggtatttactcatccagatacccaccc  | 12000 |
| cccttggttgagattctctcccaattatcaaaatgtgtagcatatttaactaccaagagct    | 12060 |
| aaacatcattaagactgaaatgtattaagaaggatgtataggccaggcacggtgtctcac     | 12120 |
| gcctgtaatcccaacactttgggaggccaagtccggcggtatcacgaggtcaggagatgga    | 12180 |
| gaccatcctggccaacatggtgaaacccctctctactaaaaatacaaaaattagccagg      | 12240 |
| cagggtggcaggcacctgtaatcccagctactccagaggctgaggcaggacaatcacttga    | 12300 |
| acctgggaggcagaggctgcagtgagctgaggttgtaccaattgcactccagcctaggta     | 12360 |
| acgagcaacactccatctcaaaaaaagaaaaaaaaaagatgtataatttggaactgtta      | 12420 |
| agaggcatttttaaaga                                                | 12436 |

Фиг. 1Е

|            |            |             |             |            |            |     |
|------------|------------|-------------|-------------|------------|------------|-----|
| MQLRNPELHL | GCALALRFLA | LVSWDIPGAR  | ALDNGLARTP  | TMGWLHWERF | MCNLDCQEEP | 60  |
| DSCISEKLFM | EMAELMVSEG | WKDAGYEYLC  | IDDCWMAPQR  | DSEGRLQADP | QRFPHGIRQL | 120 |
| ANYVHSKGLK | LGIYADVGNK | TCAGFPGSFG  | YYDIDAQTFA  | DWGVDLLKFD | GCYCDSLENL | 180 |
| ADGYKHMSLA | LNRTGRSIVY | SCEWPLYMWP  | FQKPNYTEIR  | QYCNHWRNFA | DIDDSWKSİK | 240 |
| SILDWISFNQ | ERIVDVAGPG | GWNDPDM LVI | GNFGLSWNQQ  | VTQMALWAIM | AAPLFMSNDL | 300 |
| RHISPQAKAL | LQDKDVIAIN | QDPLGKQGYQ  | LRQGDNF EVW | ERPLSGLAWA | VAMINRQEIG | 360 |
| GPRSYTIAVA | SLGKGVACNP | ACFITQLLPV  | KRKLGFEYEW  | SRLRSHINPT | GTVLLQLENT | 420 |
| MQMSLKDLL  |            |             |             |            |            | 429 |

## Фиг. 2

|                                                                 |      |
|-----------------------------------------------------------------|------|
| Atgcagctgaggaatcccgagctccacctgggctgtgctctggctctgcgggttcctggcc   | 60   |
| Ctcgtgtcctgggacatccctggcgttagggccctcgataacggactggcccggaccccc    | 120  |
| Acaatgggatggctccaactgggaaaggttcattgtgcaatctggactgtcaggaggaaacc  | 180  |
| Gactcctgcattcagcgaaaaagctcttcattggagatggccgagctgatggtgagcgagggc | 240  |
| Tggaaggacgcccggctacgagtatctgtgcatcgatgactgctggatggcccctcaaagg   | 300  |
| Gactccgaaggcaggetgcaggctgatcccaaaagggttcccccaaggaaatccggaagctc  | 360  |
| Gccaaactacgtgcattccaagggtcctcaagctcggcattctacgcgcagctgggcaacaaa | 420  |
| Acatggccggattccccggcagcttcggctactacgacatcgacgccccagacattcgt     | 480  |
| Gattggggagtggaacctgctgaagttcgacggctgttactgcgattccctggaaaacctg   | 540  |
| Gccgacggctacaaacacatgtccctcgccctgaaccggacaggcaggtccatcgtgtac    | 600  |
| Agetgcgagtgggccctgtacatgtggcctttccagaagcccaactacacagagatcagg    | 660  |
| Cagtactgcaaccactggaggaaacttcgctgacatcgacgactcctggaagagcatcaag   | 720  |
| Agcatcctggactggaccagcttcaaccaggagaggatcgtggacgtggctggaccggga    | 780  |
| Ggctggaaacgaccccgatatgctggtgattggcaacttcggactgagctggaaccagcag   | 840  |
| Gtgacccagatggccctgtgggccatttatggccgctccctgttcattgtccaacgacctg   | 900  |
| Aggcacatcagcccccaggcccaaggctctgctgcaggacaaggatgtgatcgccatcaac   | 960  |
| Caggacccccctgggcaagcagggctaccagctgaggcaaggagataaacttcgaggtgtgg  | 1020 |
| Gagaggccccctgtccggactggcttgggcccgtggccatgatcaatcggcaggagatcggc  | 1080 |
| Ggacccccggtcctacaccattgctgtggccagcctgggaaaaggagtcgacctgcaacccc  | 1140 |
| Gcctgcttcattaccagctgctcccggtgaagcggaaagctgggcttctatgagtggacc    | 1200 |
| Agcaggetgaggtcccatatcaatcctaccggcaacgctcctcctccagctcgagaatacc   | 1260 |
| Atgcagatgagcctcaaggatctgctgtga                                  | 1290 |

## Фиг. 3