

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 807 502**

51 Int. Cl.:

A61K 31/445 (2006.01)

A61K 38/47 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.03.2012 PCT/US2012/028260**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.09.2012 WO12125402**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.03.2012 E 12758017 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.04.2020 EP 2683382**

54 Título: **Regímenes de dosificación para el tratamiento de la enfermedad de Fabry**

30 Prioridad:

11.03.2011 US 201161451798 P
20.12.2011 US 201161578201 P
07.02.2012 US 201261596165 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.02.2021

73 Titular/es:

AMICUS THERAPEUTICS, INC. (100.0%)
1 Cedar Brook Drive
Cranbury, NJ 08512, US

72 Inventor/es:

GREENE, DOUGLAS, STUART y
VALENZANO, KENNETH, JOSEPH

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 807 502 T3

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

DESCRIPCIÓN

Regímenes de dosificación para el tratamiento de la enfermedad de Fabry

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente solicitud proporciona un régimen de dosificación y un programa de administración para el uso de 1-desoxigalactonojirimicina y una terapia de reemplazo de enzimas para el tratamiento de la enfermedad de Fabry.

ANTECEDENTES

La enfermedad de Fabry es un error innato unido a X, progresivo del metabolismo de los glicoesfingolípidos causado por una deficiencia en la enzima lisosomal α -galactosidasa A (α -Gal A) como resultado de mutaciones en el gen de α -Gal A (GLA).

A pesar de que es un trastorno unido a X, los individuos de sexo femenino pueden expresar varios grados de manifestaciones clínicas. Fabry es una enfermedad rara con una incidencia estimada entre 1 en 40000 individuos de sexo masculino a 1 en 117000 en la población general. Además, existen variantes del fenotipo de comienzo tardío de la enfermedad de Fabry que pueden subdiagnosticarse ya que no presentan signos y síntomas clásicos. Este y el estudio de análisis de recién nacidos para detectar la enfermedad de Fabry, sugieren que la incidencia real de la enfermedad de Fabry puede ser mayor que la actualmente estimada.

La manifestación clínica de la enfermedad puede tener correlación con los niveles residuales de α -Gal A. La expectativa de vida en los pacientes que padecen la enfermedad de Fabry sin tratar es reducida y la muerte generalmente ocurre en la cuarta o quinta década debido a que la enfermedad vascular afecta los riñones, el corazón y/o el sistema nervioso central. La deficiencia enzimática conduce a la acumulación intracelular del sustrato, globotriaosilceramida (GL-3) en el endotelio vascular y tejidos viscerales en el cuerpo. El deterioro gradual de la función renal y el desarrollo de azotemia, debido al depósito de glicoesfingolípidos, generalmente ocurre en la tercera o cuarta década de vida, pero puede ocurrir tan pronto como en la segunda década. Las lesiones renales se encuentran en los pacientes hemicígotos (masculinos) y heterocígotos (femeninos).

La enfermedad cardíaca ocurre en la mayoría de los individuos de sexo masculino y muchos individuos de sexo femenino. Los descubrimientos prematuros de enfermedad cardíaca incluyen el aumento del ventrículo izquierdo, implicación valvular y anomalías de conducción. La insuficiencia mitral es la lesión valvular más frecuente generalmente presente en la niñez o en la adolescencia. Las manifestaciones cerebrovasculares resultan principalmente de la implicación multifocal de los vasos sanguíneos pequeños y pueden incluir trombosis, ataques isquémicos transitorios, isquemia arterial basilar y aneurisma, ataques epilépticos, hemiplejía, hemianestesia, afasia, trastornos laberínticos o hemorragias cerebrales. La edad promedio de comienzo de manifestaciones cerebrovasculares es 33.8 años. El cambio de personalidad y el comportamiento psicótico puede manifestarse con el aumento de la edad.

El tratamiento actual aprobado para la enfermedad de Fabry es la terapia de reemplazo de enzimas ("ERT"). Dos productos de α -Gal A se encuentran disponibles actualmente para el tratamiento de la enfermedad de Fabry: agalsidasa alfa (Replagal®, *Shire Human Genetic Therapies*) y agalsidasa beta (Fabrazyme®, *Genzyme Corporation*). Estas dos formas de ERT pretenden compensar la actividad de α -Gal A inadecuada de los pacientes con una forma de recombinación de la enzima, administrada intravenosamente. Mientras que la ERT es eficaz en muchos ámbitos, el tratamiento también presenta limitaciones. No se ha demostrado que la ERT disminuye el riesgo de accidentes cardiovasculares, el músculo cardíaco responde lentamente y la eliminación de GL-3 de algunos de los tipos de células de los riñones se limita. Algunos pacientes desarrollan reacciones inmunes a la ERT.

Tal como se describe en el documento WO 99/62517, la 1-desoxigalactonojirimicina y su sal, clorhidrato de 1-desoxigalactonojirimicina (también conocida por su nombre adoptado en los Estados Unidos (USAN) clorhidrato de migalastat) actúa como una chaperona farmacológica para α -Gal A mutante mediante la unión selectiva a la enzima, lo que aumenta su estabilidad y ayuda a que la enzima se pliegue en su forma tridimensional correcta. Esta estabilización de α -Gal A permite que los mecanismos de control de calidad de las células reconozcan la enzima como correctamente plegada de forma tal que el tráfico de la enzima al lisosoma aumente, lo que permite que lleve a cabo su función biológica, el metabolismo de GL-3. Como resultado del restablecimiento del tráfico adecuado de α -Gal A desde ER al lisosoma, el clorhidrato de migalastat también reduce la acumulación de la proteína mal plegada en el ER (reemplazo de enzimas), lo que puede aliviar el estrés sobre las células y algunas respuestas similares a la inflamación que pueden ser factores contribuyentes en la enfermedad de Fabry. Se han llevado a cabo estudios preclínicos *in vitro* e *in vivo*, así como los estudios clínicos de clorhidrato de migalastat. Se mostró que el clorhidrato de migalastat aumenta la cantidad de proteína de α -Gal A intracelular y mejora el transporte de la enzima mutante al lisosoma.

El documento US 2006/0153829 enseña un método de mejora de la eficiencia de la terapia de reemplazo de proteínas poniendo en contacto la proteína de reemplazo con una chaperona específica de sitio activo. En particular, se puede lograr eficacia mejorada del tratamiento de la enfermedad de Fabry administrando la enzima de reemplazo α -Gal A en combinación con DGJ. La DGJ se puede administrar durante un periodo de 6 horas antes a 6 horas después de la administración de α -Gal A.

El documento US 2010/0266571 se refiere a pautas posológicas para administrar chaperonas farmacológicas específicas de sitio para el tratamiento de enfermedades asociadas a proteínas erróneamente plegadas. Se desvelan pautas posológicas para DGJ en el tratamiento de la enfermedad de Fabry: la DGJ se puede administrar en dosis de 50 y 150 mg y 200-500 mg. La DGJ también se puede administrar en combinación con α -Gal A (Fabrazyme®, Replagal®).

SUMARIO

La presente solicitud proporciona 1-desoxigalactonojirimicina para su uso en el tratamiento de enfermedad de Fabry, en donde el tratamiento comprende administrar a un paciente desde aproximadamente 50 mg hasta 600 mg de 1-desoxigalactonojirimicina y una cantidad eficaz de terapia de reemplazo de enzimas con α -Gal A, en donde la 1-desoxigalactonojirimicina se administra hasta aproximadamente 4 horas antes, o simultáneamente con, la administración de la terapia de reemplazo de enzimas con α -Gal A.

En ciertas realizaciones, la presente solicitud proporciona un régimen de dosificación y un programa de administración para el uso de clorhidrato de migalastat y agalsidasa (por ejemplo, agalsidasa alfa o agalsidasa beta) para el tratamiento de la enfermedad de Fabry.

En una realización, el paciente permanece en ayunas durante un período de tiempo que comienza de aproximadamente 0.5 a aproximadamente 4 horas antes y finaliza de aproximadamente 0.5 a aproximadamente 4 horas después de la administración de 1-desoxigalactonojirimicina. En una realización adicional, el paciente permanece en ayunas durante al menos aproximadamente 2 horas antes y al menos aproximadamente 2 horas después de la administración de 1-desoxigalactonojirimicina.

En una realización adicional, la 1-desoxigalactonojirimicina se administra aproximadamente 2 horas antes de la administración de la terapia de reemplazo de enzimas con α -Gal A.

En una realización particular, la 1-desoxigalactonojirimicina es clorhidrato de migalastat. En una realización, la terapia de reemplazo de enzimas con α -Gal A es agalsidasa alfa o agalsidasa beta.

En una realización, la 1-desoxigalactonojirimicina se administra como un adyuvante a la terapia de reemplazo de enzimas con α -Gal A. En otra realización, la 1-desoxigalactonojirimicina y la terapia de reemplazo de enzimas con α -Gal A se administran como una terapia de combinación.

En una realización particular, la cantidad de 1-desoxigalactonojirimicina administrada es de aproximadamente 150 mg a aproximadamente 450 mg. En una realización, la cantidad de 1-desoxigalactonojirimicina administrada se selecciona de aproximadamente 150 mg, 300 mg y 450 mg.

En una realización particular, la 1-desoxigalactonojirimicina se administra inmediatamente antes o en el mismo momento de la administración de la terapia de reemplazo de enzimas con α -Gal A. En una realización alternativa, se administra una segunda dosis de 1-desoxigalactonojirimicina entre la administración de la terapia de reemplazo de enzimas con α -Gal A y 4 horas a partir de entonces.

En ciertas realizaciones, la 1-desoxigalactonojirimicina se administra cada 1 a 4 semanas a un paciente que también recibe una terapia de reemplazo de enzimas con α -Gal A. En una realización adicional, la 1-desoxigalactonojirimicina se administra cada 12 a 16 días a un paciente que también recibe una terapia de reemplazo de enzimas con α -Gal A. En una realización adicional, la 1-desoxigalactonojirimicina se administra cada 14 días a un paciente que también recibe una terapia de reemplazo de enzimas con α -Gal A. En ciertas realizaciones, la terapia de reemplazo de enzimas con α -Gal A se administra cada 14 días a un paciente al que también se le administra 1-desoxigalactonojirimicina como una terapia de combinación o adyuvante.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La figura 1 muestra los compuestos de actividad de α -Gal A en plasma para los pacientes tratados durante los períodos 1 y 2 con 0.5 mg/kg o 1.0 mg/kg de agalsidasa beta solamente (período 1) o en combinación con 150 mg de migalastat (período 2).

La figura 2 muestra los aumentos de AUC de actividad de α -Gal A en plasma para todos los pacientes después de la coadministración con migalastat.

La figura 3 muestra la AUC parcial para cada tiempo de muestreo que mostró una actividad superior de α -Gal A en plasma con la coadministración de 0.5 mg/kg o 1.0 mg/kg de agalsidasa beta y 150 mg de migalastat.

La figura 4A-B muestra el aumento en la actividad de α -Gal A en la piel en dos pacientes después de la coadministración de 0.5 mg/kg de agalsidasa beta y 150 mg de migalastat.

La figura 5A-B muestra el aumento en la actividad de α -Gal A en la piel en dos pacientes después de la coadministración de 0.5 mg/kg de agalsidasa beta y 150 mg de migalastat. La figura 5A muestra el aumento de la

actividad de α -Gal A en la piel después de la coadministración de 0.5 mg/kg de agalsidasa beta y 150 mg de migalastat en el paciente que recibió una infusión de ERT de 40 minutos más durante el período 2.

La figura 6A-B muestra el aumento en la actividad de α -Gal A en la piel en dos pacientes después de la coadministración de 1.0 mg/kg de agalsidasa beta y 150 mg de migalastat.

- 5 La figura 7A-B muestra el aumento en la actividad de α -Gal A en las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) en dos pacientes después de la coadministración de 0.5 mg/kg de agalsidasa beta y 150 mg de migalastat.

La figura 8A-B muestra el aumento en la actividad de α -Gal A en PBMC en dos pacientes después de la coadministración de 0.5 mg/kg de agalsidasa beta y 150 mg de migalastat.

- 10 La figura 9A-B muestra el aumento en la actividad de α -Gal A en PBMC en dos pacientes después de la coadministración de 1.0 mg/kg de agalsidasa beta y 150 mg de migalastat.

La figura 10 muestra una tabla que resume los aumentos en la actividad de α -Gal A en plasma, en la piel y en PBMC después de la coadministración de 0.5 mg/kg o 1.0 mg/kg de agalsidasa beta y 150 mg de migalastat.

La figura 11 muestra el genotipo para cada individuo de estudio de los ejemplos 2 y 3.

- 15 La figura 12 muestra la actividad de α -Gal A de AUC en plasma contra el tratamiento con 1.0 mg/kg de agalsidasa beta y el tratamiento con una combinación de 1.0 mg/kg de agalsidasa beta y 150 mg de HCl de migalastat (con medias insertadas y desviaciones estándar).

La figura 13 muestra la actividad de α -Gal A de AUC en plasma contra el tratamiento con 0.5 mg/kg de agalsidasa beta y el tratamiento con una combinación de 0.5 mg/kg de agalsidasa beta y 150 mg de HCl de migalastat (con medias insertadas y desviaciones estándar).

- 20 La figura 14 muestra la actividad de α -Gal A en la piel en el día 2 después del tratamiento con agalsidasa beta solamente o en combinación con 150 mg de HCl de migalastat (con proporciones restadas del punto de referencia de agalsidasa beta solamente).

- 25 La figura 15 muestra la actividad de α -Gal A en la piel en el día 7 después del tratamiento con agalsidasa beta solamente o en combinación con 150 mg de HCl de migalastat (con proporciones restadas del punto de referencia de agalsidasa beta solamente).

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente solicitud proporciona un régimen de dosificación y un programa de administración para el uso de 1-desoxigalactonojirimicina y agalsidasa para el tratamiento de la enfermedad de Fabry.

Definiciones

- 30 “Enfermedad de Fabry” se refiere a la enfermedad de Fabry clásica, enfermedad de Fabry de comienzo tardío e individuos de sexo femenino hemicigotos que presentan mutaciones en la α -galactosidasa A (α -Gal A) que codifica genes. El término “enfermedad de Fabry”, como se utiliza en la presente, incluye además cualquier afección en la que el individuo muestre una actividad de α -Gal A endógena menor a la normal.

- 35 El término “AUC” representa un cálculo matemático para evaluar la exposición total del cuerpo con el paso del tiempo para un fármaco dado. En una gráfica que traza cómo es la concentración en la sangre después de la dosificación, la variable de concentración del fármaco se sitúa en el eje de las y, y el tiempo en el eje de las x. El área entre una curva de concentración de fármaco y el eje de las x para un intervalo de tiempo designado es la AUC. Las AUC se utilizan como una guía para los programas de dosificación y para comparar la disponibilidad de los diferentes fármacos en el cuerpo.

- 40 El término “C_{máx}” representa la concentración en plasma máxima alcanzada después de la dosificación.

- Los términos “dosis terapéuticamente eficaz” y “cantidad eficaz” se refieren a la cantidad de compuesto o composición farmacéutica específica que es suficiente para resultar en una respuesta terapéutica beneficiosa. La respuesta terapéutica beneficiosa puede ser cualquier respuesta que un usuario (por ejemplo, un médico) pueda reconocer como una respuesta eficaz a la terapia, que incluye los síntomas que anteceden y marcadores clínicos sustitutos. Por 45 consiguiente, generalmente la respuesta terapéutica será una mejora de uno o más síntomas de una enfermedad o trastorno, por ejemplo, enfermedad de Fabry, como los conocidos en la técnica para la enfermedad o trastorno, por ejemplo, para la enfermedad de Fabry.

- Los ejemplos no limitativos de las mejoras en los marcadores sustitutos para la enfermedad de Fabry incluyen aumentos en los niveles de α -GAL o actividad en las células (por ejemplo, fibroblastos) y tejido; reducciones en la 50 acumulación de GL-3 como se mide por el cambio en biopsias de los capilares intersticiales del riñón mediante el uso de histología; disminución de los niveles de GL-3 en la orina; evaluación de la función renal (incluida la velocidad de filtración glomerular (GFR) y la proteína en la orina en 24 horas; concentraciones en plasma inferiores de homocisteína

y molécula de adhesión de células vasculares-1 (VCAM-1); disminución de la acumulación de GL-3 dentro de las células del miocardio y fibrocitos valvulares; reducción en la hipertrofia cardíaca (especialmente del ventrículo izquierdo), mejora de la insuficiencia valvular y arritmias; mejora de la proteinuria; disminución de las concentraciones en orina de lípidos como CTH, lactosilceramida, ceramida y aumento en las concentraciones en orina de glucosilceramida y esfingomielina (Fuller et al., *Clinical Chemistry* 2005; 51 : 688-694); ausencia de cuerpos de inclusión laminados (cuerpos de cebra) en las células epiteliales glomerulares; mejoras en la función renal; alivio de la hipohidrosis; ausencia de angioqueratomas; y mejoras en las anomalías de audición como pérdida de la audición sensorineural de alta frecuencia, pérdida de la audición progresiva, sordera repentina o tinnitus. Las mejoras en los síntomas neurológicos incluyen la prevención del ataque isquémico transitorio (TIA) o accidente cerebrovascular; y mejora del dolor neuropático que se manifiesta como una acroparestesia (ardor u hormigueo en las extremidades).

La expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a las entidades y composiciones moleculares que son fisiológicamente tolerables y que generalmente no producen reacciones adversas cuando se administran a un humano. Preferentemente, como se utiliza en la presente, el término "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o que se encuentra en la lista de Farmacopea de Estados Unidos u otras farmacopeas reconocidas de forma general para su uso en animales y más particularmente en seres humanos. El término "vehículo" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el cual se administra el compuesto. Dichos vehículos farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, como agua y aceites. El agua o las soluciones acuosas, soluciones salinas y soluciones de dextrosa y glicerol acuosas se emplean preferentemente como vehículos, particularmente para soluciones inyectables. Los vehículos farmacéuticamente adecuados se describen en "Remington's Pharmaceutical Sciences" por E.W. Martin, 18ª edición u otras ediciones.

"1-desoxigalactonojirimicina" (DGJ) se refiere a (2R,3S,4R,5S)-2-(hidroximetil) piperidina-3,4,5-triol. Como se utiliza en la presente "1-desoxigalactonojirimicina" o "DGJ" a lo largo de la presente incluye la base libre y cualesquiera formas de sales farmacéuticamente aceptables de la misma. La sal de clorhidrato de DGJ es conocida como clorhidrato de migalastat.

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

El término "terapia de combinación" se refiere a cualquier terapia donde los resultados son mejores en comparación con el efecto de cada terapia cuando se lleva a cabo individualmente. Las terapias individuales en una terapia de combinación pueden administrarse conjuntamente o de forma consecutiva.

La mejora puede incluir cualquier mejora del efecto de las varias terapias que puede resultar en un resultado ventajoso en comparación con los resultados logrados por las terapias cuando se llevan a cabo en forma separada. El efecto mejorado y la determinación del efecto mejorado puede medirse con varios parámetros como, a modo no taxativo: parámetros temporales (por ejemplo, duración del tratamiento, tiempo de recuperación, efecto a largo plazo del tratamiento o reversibilidad del tratamiento); parámetros biológicos (por ejemplo, número de células, volumen celular, composición celular, volumen tisular, tamaño del tejido, composición del tejido); parámetros espaciales (por ejemplo, resistencia del tejido, tamaño del tejido o accesibilidad del tejido) y parámetros fisiológicos (por ejemplo, contorno del cuerpo, dolor, incomodidad, tiempo de recuperación o marcas visibles). El efecto mejorado puede incluir una mejora sinérgica, donde el efecto mejorado es más que efectos aditivos de cada terapia cuando se lleva a cabo por sí sola. El efecto mejorado puede incluir una mejora aditiva, donde el efecto mejorado es sustancialmente igual al efecto aditivo de cada terapia cuando se lleva a cabo por sí sola.

El efecto mejorado puede incluir menos que un efecto sinérgico, donde el efecto mejorado es menor que el efecto aditivo de cada terapia cuando se lleva a cabo por sí sola, pero aún mejor que el efecto de cada terapia cuando se lleva a cabo por sí sola.

El término "aproximadamente" significa de forma general un grado aceptable de error para la cantidad medida dada la naturaleza o precisión de las mediciones. Los grados típicos, ejemplares de error se encuentran dentro del 20 por ciento (%), preferentemente dentro del 10% y más preferentemente dentro del 5% de un valor dado o de un intervalo de valores. De forma alternativa y particularmente en sistemas biológicos, el término "aproximadamente" puede significar valores que se encuentran dentro de un orden de magnitud, preferentemente dentro de 5 veces y más preferentemente dentro de 2 veces de un valor dado. Las cantidades numéricas proporcionadas en la presente son aproximadas a menos que se indique lo contrario.

Formulación y administración

La 1-desoxigalactonojirimicina puede administrarse como la base libre o como su forma de sal farmacéuticamente aceptable, que incluye clorhidrato de 1-desoxigalactonojirimicina (es decir, clorhidrato de migalastat). Puede administrarse en una forma adecuada para cualquier ruta de administración, que incluye, por ejemplo, oralmente en forma de comprimidos, cápsulas o líquido o en solución acuosa estéril para la inyección. Puede administrarse oralmente en forma de comprimidos, cápsulas, óvulos, elixíres, soluciones o suspensiones, geles, jarabes, enjuagues bucales o un polvo seco para su constitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso, opcionalmente con agentes saborizantes y agentes colorantes para aplicaciones de liberación inmediata, retrasada, modificada, sostenida,

pulsada o controlada. También pueden utilizarse composiciones sólidas como los comprimidos, cápsulas, lociones, pastillas, píldoras, bolos, polvo, pastas, gránulos, balas o preparaciones de premezcla. Las composiciones sólidas y líquidas para el uso oral pueden prepararse de conformidad con los métodos bien conocidos en la técnica. Tales composiciones también pueden contener uno o más vehículos y excipientes farmacéuticamente aceptables que pueden encontrarse en forma sólida o líquida. Cuando el compuesto se formula para la administración oral, los comprimidos o cápsulas pueden prepararse mediante medios convencionales con excipientes farmacéuticamente aceptables como agentes aglutinantes (por ejemplo, almidón pregelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropil metilcelulosa); rellenos (por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina o hidrogenofosfato de calcio); lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco o sílice); desintegrantes (por ejemplo, almidón de papa o glicolato de almidón de sodio); o agentes humectantes (por ejemplo, laurilsulfato de sodio). Los comprimidos pueden recubrirse mediante métodos bien conocidos en la técnica.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables también incluyen, a modo no taxativo, celulosa macrocristalina, lactosa, citrato de sodio, carbonato de calcio, fosfato de calcio dibásico y glicina, desintegrantes como almidón (preferentemente almidón de maíz, papa o tapioca), glicolato de almidón de sodio, sodio de croscarmelosa y ciertos silicatos complejos y aglutinantes de granulación como polivinilpirrolidona, hidroxipropil etilcelulosa (HPMC), hidroxipropil celulosa (HPC), sucrosa, gelatina y acacia. Asimismo, pueden incluirse agentes lubricantes como estearato de magnesio, ácido esteárico, behenato de glicerilo y talco.

En una realización específica, el clorhidrato de migalastat se formula con estearato de magnesio y almidón pregelatinizado en una cápsula de gelatina dura de color blanco. En otra realización, la forma de dosificación sólida comprende de aproximadamente un 75% a un 80% de clorhidrato de migalastat, de aproximadamente un 0.1 a un 2% de estearato de magnesio y de aproximadamente un 20 a un 25% de almidón pregelatinizado. En otra realización específica, la cápsula comprende aproximadamente un 76.5% de clorhidrato de migalastat, aproximadamente un 0.5% de estearato de magnesio y aproximadamente un 23% de almidón pregelatinizado.

Terapia de reemplazo de enzimas

El tratamiento actual aprobado para la enfermedad de Fabry es la terapia de reemplazo de enzimas. Dos productos se encuentran disponibles actualmente para el tratamiento de la enfermedad de Fabry: agalsidasa alfa (Replagal®, Shire Human Genetic Therapies) y agalsidasa beta (Fabrazyme®, Genzyme Corporation) comercializados mundialmente. Estas dos formas de ERT pretenden compensar la actividad de α -Gal A inadecuada de un paciente con una forma recombinante de la enzima, administrada intravenosamente. Se demostró que la ERT reduce el depósito de GL-3 en el endotelio capilar del riñón y otros tipos de células. Mientras que la ERT es eficaz en muchos ámbitos, el tratamiento también presenta limitaciones. No se ha demostrado que la ERT disminuye el riesgo de accidentes cardiovasculares, el músculo cardíaco responde lentamente y la eliminación de GL-3 de algunos de los tipos de células de los riñones se limita. Algunos pacientes desarrollan reacciones inmunes a la ERT.

La dosis recomendada de agalsidasa alfa es 0.2 mg/kg de peso corporal administrado cada 2 semanas como una infusión intravenosa. Se llevó a cabo un estudio de 10 semanas en individuos de sexo masculino adultos que padecen la enfermedad de Fabry sometidos a ERT y que no han recibido tratamiento previo para evaluar la farmacocinética y farmacodinámica de agalsidasa alfa. La vida media promedio después de la administración de dosis que varían de 0.1 a 0.4 mg/kg de agalsidasa alfa fue de 56 a 76 minutos sin asociación significativa entre la dosis y la vida media, eliminación o volumen de distribución. La AUC fue linealmente proporcional a la dosis a lo largo de este intervalo de dosis. Los niveles de GL-3 en plasma se redujeron en todos los grupos de dosificación en aproximadamente un 50%; la reducción fue independiente de la dosis y la frecuencia de dosificación. Dos de los 18 pacientes se volvieron IgG positivo durante el estudio. No se detectaron anticuerpos IgE en ningún paciente durante el estudio.

La dosis recomendada de agalsidasa beta es 1 mg/kg de peso corporal administrado cada 2 semanas como una infusión intravenosa. El fabricante de agalsidasa beta anunció una escasez del fármaco, la única ERT aprobada en Estados Unidos para la enfermedad de Fabry. Como resultado, la agalsidasa beta actualmente se raciona y los pacientes reciben generalmente una dosis reducida de la enzima y/o un intervalo de dosificación extendido (es decir, mayor a 2 semanas entre las dosis). La agalsidasa beta muestra una farmacocinética no lineal con valores de exposición (AUC) que aumentan y una eliminación que disminuye proporcionalmente con el aumento de la dosis. Los valores de AUC aumentaron aproximadamente 6 veces y 8 veces cuando las dosis se aumentaron de 0.3 mg/kg a 1 mg/kg y de 1 mg/kg a 3 mg/kg, respectivamente. La vida media de eliminación de agalsidasa beta en los pacientes adultos después de dosis que varían de 0.3 mg/kg a 3 mg/kg dependió de la dosis y osciló de 45 a 100 minutos.

Los anticuerpos IgG para la agalsidasa beta se desarrollaron en un 79% de los pacientes adultos y en un 69% de los pacientes pediátricos tratados con agalsidasa en estudios clínicos; la mayoría de los pacientes que desarrollaron anticuerpos IgG lo hicieron dentro de los primeros 3 meses de la exposición. Los individuos de sexo masculino, particularmente los que tenían niveles bajos de α -Gal A residual, tenían más predisposición a desarrollar anticuerpos IgG que los individuos de sexo masculino con niveles residuales más altos o en individuos de sexo femenino. La seroconversión de IgG en pacientes pediátricos se asoció con la vida media prolongada de agalsidasa. No obstante, en pacientes adultos, se observaron perfiles farmacocinéticos de agalsidasa idénticos antes y después de la seroconversión en un ensayo; en otro ensayo, las concentraciones de agalsidasa máximas y los valores de AUC se

redujeron en hasta un 26 % con respecto a los valores de referencia en pacientes con los valores más altos de IgG. Se informó que la presencia de anticuerpos IgG para agalsidasa disminuye la actividad de la enzima.

El clorhidrato de migalastat estabiliza la α -Gal A de tipo salvaje *in vitro* e *in vivo*. Se demostró *in vitro* que la unión del clorhidrato de migalastat a rha-Gal A resultó en aumentos significativos dependientes del tiempo y de la concentración en la estabilización de rha-Gal A a pH neutro como se mide por la desnaturalización térmica y por la actividad. En un tampón de pH neutro, la rha-Gal A mostró una pérdida en la actividad, con una vida media de aproximadamente 3 horas; la coincubación con clorhidrato de migalastat aumentó la vida media para la pérdida de actividad de rha-Gal A a aproximadamente 40 horas.

En la rata, la administración oral de 3 mg/kg de clorhidrato de migalastat seguida 30 minutos después por una inyección de 10 mg/kg de agalsidasa beta resultó en un aumento de 2.6 veces en la vida media en plasma de rha-Gal A y en un aumento de 2.5 veces y 1.5 veces en los niveles de α -Gal A en plasma a los 60 y 240 minutos, respectivamente. En los ratones con deficiencia de GLA, la administración oral de dosis de 30, 100 o 300 mg/kg de clorhidrato de migalastat 30 minutos antes y 2 horas después de una inyección de rha-Gal A resultó en un aumento dependiente de la dosis en los niveles de α -Gal A en el tejido y una reducción dependiente de la dosis en los niveles de GL-3 en la piel, el corazón, los riñones y el plasma en comparación con la administración de rha-Gal A sola.

Se mostró que el clorhidrato de migalastat estabiliza la agalsidasa alfa *in vitro* e *in vivo*. Se evaluó el efecto de clorhidrato de migalastat sobre la estabilidad física de la agalsidasa alfa con un ensayo de desnaturalización térmica *in vitro*. Con el uso de este ensayo, la agalsidasa alfa mostró una temperatura de fusión (T_m) de aproximadamente 51°C a pH 7.4. No obstante, cuando 10 μ M de clorhidrato de migalastat se incluyeron en la reacción de desnaturalización, la T_m de la agalsidasa alfa aumentó de forma sustancial a 59°C. Como se esperaba para una enzima lisosomal, la agalsidasa alfa fue más estable a pH bajo (T_m de 58°C a pH 5.2) y mostró una resistencia superior a la desnaturalización por calentamiento en la presencia de 10 μ M de clorhidrato de migalastat (T_m de 68°C). Estos datos indican que la unión de clorhidrato de migalastat confiere un alto nivel de estabilidad física para la agalsidasa alfa.

También se investigó el efecto del clorhidrato de migalastat sobre la velocidad de eliminación de agalsidasa alfa de la sangre de las ratas Sprague-Dawley macho. Los animales recibieron un vehículo (agua) o una única sonda oral de 1, 3, 10 o 30 mg/kg de clorhidrato de migalastat, seguida 30 minutos después por administración intravenosa de 0.2 mg/kg de agalsidasa alfa mediante inyección de bolo en la vena de la cola. La sangre se recolectó como una función del tiempo y se midió la actividad de α -Gal A en plasma. En la ausencia de clorhidrato de migalastat, la actividad de α -Gal A disminuyó rápidamente; la administración previa de clorhidrato de migalastat resultó en un aumento dependiente de la dosis en la vida media de agalsidasa alfa (como se mide por la actividad de α -Gal A) de aproximadamente 2 veces y 3 veces, después de la administración de 3 mg/kg y 30 mg/kg de clorhidrato de migalastat, respectivamente, con un aumento aproximado de 2.5 veces y 1.5 veces en los niveles de α -Gal A en plasma a los 60 y 240 minutos, respectivamente. El efecto del clorhidrato de migalastat sobre la agalsidasa alfa *in vitro* e *in vivo* es comparable con el observado con clorhidrato de migalastat sobre agalsidasa beta.

Se llevó a cabo un estudio preliminar en los ratones con deficiencia de GLA que evaluó la seguridad de la coadministración de clorhidrato de migalastat y Fabrazyme®. El clorhidrato de migalastat se administró tres veces a la semana durante cuatro semanas a dosis de 3 y 30 mg/kg en combinación con Fabrazyme® administrado intravenosamente una vez a la semana a una dosis de 1 mg/kg. Pareció no haber cambios directamente relacionados con el fármaco en la supervivencia, afección clínica o hematología y en los parámetros de química clínica observados en los ratones macho con deficiencia de GLA a los que se les coadministró clorhidrato de migalastat y Fabrazyme®.

EJEMPLOS

EJEMPLO 1: Régimen de dosificación para el tratamiento de la enfermedad de Fabry con el uso de clorhidrato de migalastat y agalsidasa

Un objetivo del estudio es evaluar la seguridad, eficacia y farmacodinámica de los regímenes de dosificación que comprenden la coadministración de clorhidrato de migalastat y agalsidasa en pacientes que padecen la enfermedad de Fabry.

Otro objetivo del estudio es evaluar los efectos de las dosis de 150 mg y 450 mg de clorhidrato de migalastat sobre la distribución de α -Gal A. Esto se evaluará mediante la medición de la distribución de agalsidasa en la piel después de la dosificación con agalsidasa sola y agalsidasa en combinación con clorhidrato de migalastat a las 24 horas y 7 días después de la dosificación mediante la medición de los niveles de α -Gal A y los niveles de proteínas.

Otras mediciones que se evaluarán son:

- Excreción urinaria de GL-3 antes y 14 días después de cada dosis de agalsidasa;
- GL-3 en la piel después de la dosificación con agalsidasa sola y agalsidasa en combinación con clorhidrato de migalastat a las 24 horas y 7 días después de la dosificación;

- Niveles de la enzima α -Gal A en WBC, determinados antes del inicio de la infusión de agalsidasa y a las 2, 4 y 24 horas y 7 y 14 días después de la dosificación;

- Valor de anticuerpos (IgG) antes del inicio de la infusión de agalsidasa;

5 • Concentraciones de globotriaosilesfingosina (liso-GB3) en plasma y excreción urinaria de liso-GB3 antes de cada dosis de agalsidasa y 14 días después de cada dosis de agalsidasa.

Todas las mediciones de los niveles de la enzima α -Gal A en plasma, WBC y piel se realizaron con y sin captura de Con A y la determinación de los niveles de proteínas se realizó mediante análisis de inmunotransferencia Western blot.

10 **Diseño del estudio.** Este es un estudio clínico de fase 2, de dos etapas, de etiqueta abierta para evaluar la seguridad y la eficacia de la coadministración de clorhidrato de migalastat y agalsidasa. El estudio se llevará a cabo en individuos de sexo masculino entre 18 y 65 años de edad que han estado recibiendo una dosis estable (0.3 a 1.0 mg/kg) de agalsidasa beta (Fabrazyme®) o (≥ 0.2 mg/kg) de agalsidasa alfa (Replagal®) al menos un mes antes del ingreso en el estudio. Se inscribirán aproximadamente 18 individuos.

15 Este estudio de etiqueta abierta consistirá en dos etapas. La etapa 1 consistirá en un análisis y un estudio de tres períodos para evaluar el efecto de 150 mg de clorhidrato de migalastat sobre la farmacocinética y la seguridad de agalsidasa y el efecto de la agalsidasa sobre la farmacocinética y seguridad de 150 mg de clorhidrato de migalastat. La etapa 2 consistirá en un análisis y un estudio de dos períodos para evaluar el efecto de 450 mg de clorhidrato de migalastat sobre la farmacocinética y la seguridad de agalsidasa. En la etapa 2, no se evaluará el efecto de la agalsidasa sobre la farmacocinética y la seguridad de una dosis de 450 mg de clorhidrato de migalastat. La exposición del plasma al clorhidrato de migalastat se caracterizará cuando el clorhidrato de migalastat se administre con
20 agalsidasa solamente para confirmar el logro de concentraciones en plasma adecuadas de clorhidrato de migalastat.

Cada individuo recibirá cada uno de los siguientes tratamientos en el orden descrito a continuación. La etapa 1 consistirá en los siguientes períodos:

Período 1: Agalsidasa sola como una infusión intravenosa;

25
Período 2: Una dosis oral de 150 mg de clorhidrato de migalastat dos horas antes del inicio de la infusión intravenosa de agalsidasa;

Período 3: Una dosis oral de 150 mg de clorhidrato de migalastat.

La dosis de agalsidasa administrada en los períodos 1 y 2 será idéntica. La agalsidasa alfa se administrará como una infusión intravenosa de 40 minutos y la agalsidasa beta se administrará como una infusión intravenosa de 2 horas.

30 Para el período 1, antes de la siguiente infusión de agalsidasa programada, se realizarán las siguientes evaluaciones a los individuos: evaluación de eventos adversos, medicaciones concomitantes, examen físico, peso, signos vitales, ECG de 12 derivaciones, pruebas clínicas de laboratorio (química de la sangre, hematología y uroanálisis), biopsia de piel (biopsias por punción para la medición de los niveles de enzimas α -Gal A; si hay suficiente muestra disponible, también se determinará GL-3 en la piel).

35 En la mañana del día 1, se recolectará la orina para las determinaciones de GL-3 y liso-GB3 en la orina seguidas por la administración de la dosis actual de agalsidasa del individuo administrada como una infusión mediante el uso de una bomba de infusión. Las muestras de sangre para el análisis de la farmacocinética y la farmacodinámica se recolectarán inmediatamente antes del inicio de la infusión de agalsidasa y durante un período de 24 horas después del inicio de la infusión de agalsidasa. Se determinarán los niveles de enzima α -Gal A en plasma y en WBC, el valor de liso-GB3 en plasma y de anticuerpos en plasma a partir de las muestras de sangre recolectadas en los tiempos
40 resumidos en la tabla 2 para agalsidasa beta y en la tabla 4 para agalsidasa alfa. El electrocardiograma (ECG) de 12 derivaciones se realizará al final de la infusión de agalsidasa, inmediatamente después de la recolección de la muestra de sangre después de la infusión.

45 En el día 2, se recolectará una biopsia de piel por punción a las 24 horas después del inicio de la infusión del día anterior a partir de la cual se determinarán los niveles de enzima α -Gal A; si hay suficiente muestra disponible, también se determinará GL-3 en la piel. Después de la recolección de la última muestra farmacocinética, se realizarán las siguientes evaluaciones: evaluación de eventos adversos, medicaciones concomitantes, examen físico, peso, signos vitales y pruebas clínicas de laboratorio (química de la sangre, hematología y uroanálisis).

50 En el día 7, se realizarán las siguientes evaluaciones a los individuos: examen físico, signos vitales, medicaciones concomitantes y evaluación de eventos adversos. Se recolectará una biopsia de piel a partir de la cual se determinarán los niveles de enzima α -Gal A; si hay suficiente muestra disponible, también se determinará el GL-3 en la piel. También se recolectará una muestra de sangre para las determinaciones del nivel de α -Gal A en WBC y de enzima en plasma. En el día 14, se recolectará una muestra de orina para la determinación de la excreción urinaria de GL-3 y liso-GB3. También se recolectará una muestra de sangre para las determinaciones del nivel de α -Gal A en WBC y de enzima en plasma y se evaluarán los signos vitales.

Para el período 2, antes de la siguiente infusión de agalsidasa programada, se realizarán las siguientes evaluaciones a los individuos: evaluación de eventos adversos, medicaciones concomitantes, examen físico, peso, signos vitales, electrocardiograma de 12 derivaciones y pruebas clínicas de laboratorio (química de la sangre, hematología y uroanálisis).

5 En la mañana del día 1, se recolectará la orina para las determinaciones de GL-3 y liso-GB3 en la orina seguidas por la administración de una dosis oral de 150 mg de clorhidrato de migalastat 2 horas antes de la infusión de agalsidasa programada. Los individuos permanecerán en ayunas durante 2 horas antes y 2 horas después de la administración de clorhidrato de migalastat. En el período 2, cada individuo recibirá una dosis de agalsidasa idéntica a la administrada en el período 1 como una infusión con una bomba de infusión. La infusión de agalsidasa se iniciará 2 horas después de la administración de la dosis de clorhidrato de migalastat.

10 Se recolectarán muestras de sangre para los análisis farmacocinéticos y farmacodinámicos antes de la dosificación de clorhidrato de migalastat 1 hora después de la administración de clorhidrato de migalastat. Se recolectarán muestras de sangre adicionales inmediatamente antes del inicio de la infusión de agalsidasa y durante un período de 24 horas después del inicio de la infusión de agalsidasa. Se determinarán los niveles de enzima α -Gal A en plasma y en WBC, el valor de liso-GB3 en plasma y de anticuerpos en plasma a partir de las muestras de sangre recolectadas en los tiempos resumidos en la tabla 2 para agalsidasa beta y en la tabla 4 para agalsidasa alfa. El electrocardiograma (ECG) de 12 derivaciones se realizará al final de la infusión de agalsidasa, inmediatamente después de la recolección de la muestra de sangre después de la infusión.

20 En el día 2, se recolectará una biopsia de piel por punción a las 24 horas después del inicio de la infusión del día anterior a partir de la cual se determinarán los niveles de enzima α -Gal A; si hay suficiente muestra disponible, también se determinará el GL-3 en la piel. Después de la recolección de la última muestra farmacocinética, se realizarán las siguientes evaluaciones: evaluación de eventos adversos, medicaciones concomitantes, examen físico, peso, signos vitales y pruebas clínicas de laboratorio (química de la sangre, hematología y uroanálisis).

25 En el día 7, se realizarán las siguientes evaluaciones a los individuos: examen físico, signos vitales, medicaciones concomitantes y evaluación de eventos adversos. Se recolectará una biopsia de piel a partir de la cual se determinarán los niveles de enzima α -Gal A; si hay suficiente muestra disponible, también se determinará el GL-3 en la piel. También se recolectará una muestra de sangre para las mediciones del nivel de α -Gal A en WBC y de enzima en plasma.

30 En el día 14, se recolectará una muestra de orina para la determinación de la excreción urinaria de GL-3 y liso-GB3. También se recolectará una muestra de sangre para las determinaciones del nivel de α -Gal A en WBC y de enzima en plasma y se evaluarán los signos vitales.

35 Después de completar todas las evaluaciones después del período 2, los individuos comienzan con el período 3. Todos los individuos recibirán su próxima infusión de agalsidasa en el día 1 después de su programa de dosificación habitual. En el día 6, se realizarán las siguientes evaluaciones a todos los individuos: evaluación de eventos adversos, medicaciones concomitantes, examen físico, peso, signos vitales, electrocardiograma de 12 derivaciones y pruebas clínicas de laboratorio (química de la sangre, hematología y uroanálisis).

40 En el día 7, se administrará una dosis oral de 150 mg de clorhidrato de migalastat. Los individuos permanecerán en ayunas durante 2 horas antes y 2 horas después de la administración de clorhidrato de migalastat. Las muestras de sangre se recolectarán antes de la dosificación y durante un período de 24 horas después de la administración de clorhidrato de migalastat. Las concentraciones de clorhidrato de migalastat se medirán en todas las muestras de plasma (ver la tabla 2 para agalsidasa beta y la tabla 4 para los individuos que reciben agalsidasa alfa para los tiempos de recolección de muestras).

En el día 8, después de la recolección de la última muestra farmacocinética, se realizarán las siguientes evaluaciones: evaluación de eventos adversos, medicaciones concomitantes, examen físico, signos vitales y pruebas clínicas de laboratorio (química de la sangre, hematología y uroanálisis).

45 El seguimiento para el período 3 será por contacto telefónico 28 días después del período 3. Se realizarán las siguientes evaluaciones: medicaciones concomitantes y eventos adversos.

Para la etapa 2, cada individuo recibirá cada uno de los siguientes tratamientos en el orden descrito a continuación:

Período 1: Agalsidasa sola como una infusión;

50 Período 2: Una dosis oral de 450 mg de clorhidrato de migalastat dos horas antes del inicio de la infusión intravenosa de agalsidasa.

La dosis de agalsidasa administrada en los períodos 1 y 2 será idéntica. La agalsidasa alfa se administrará como una infusión intravenosa de 40 minutos y la agalsidasa beta se administrará como una infusión intravenosa de 2 horas.

55 Para el período 1, se realizarán las siguientes evaluaciones a los individuos que cumplan con todos los criterios para participar en el programa antes de la siguiente infusión de agalsidasa programada: evaluación de eventos adversos, medicaciones concomitantes, examen físico, peso, signos vitales, ECG de 12 derivaciones, pruebas clínicas de

laboratorio (química de la sangre, hematología y uroanálisis), biopsia de piel (biopsias por punción para la medición de los niveles de enzimas α -Gal A; si hay suficiente muestra disponible, también se determinará el GL-3 en la piel).

En la mañana del día 1, se recolectará la orina para las determinaciones de GL-3 y liso-GB3 en la orina seguidas por la administración de la dosis actual de agalsidasa del individuo administrada como una infusión mediante el uso de una bomba de infusión. Las muestras de sangre para el análisis de la farmacocinética y la farmacodinámica se recolectarán inmediatamente antes del inicio de la infusión de agalsidasa y durante un período de 24 horas después del inicio de la infusión de agalsidasa. Se determinarán los niveles de enzima α -Gal A en plasma y en WBC, el valor de liso-GB3 en plasma y de anticuerpos en plasma a partir de las muestras de sangre recolectadas en los tiempos resumidos en la tabla 3 para agalsidasa beta y en la tabla 5 para agalsidasa alfa. El electrocardiograma (ECG) de 12 derivaciones se realizará al final de la infusión de agalsidasa, inmediatamente después de la recolección de la muestra de sangre después de la infusión.

En el día 2, se recolectará una biopsia de piel por punción a las 24 horas después del inicio de la infusión del día anterior a partir de la cual se determinarán los niveles de enzima α -Gal A; si hay suficiente muestra disponible, también se determinará el GL-3 en la piel. Después de la recolección de la última muestra farmacocinética, se realizarán las siguientes evaluaciones: evaluación de eventos adversos, medicaciones concomitantes, examen físico, peso, signos vitales y pruebas clínicas de laboratorio (química de la sangre, hematología y uroanálisis).

En el día 7, se realizarán las siguientes evaluaciones a los individuos: signos vitales, medicaciones concomitantes y evaluación de eventos adversos. Se recolectará una biopsia de piel a partir de la cual se determinarán los niveles de enzima α -Gal A; si hay suficiente muestra disponible, también se determinará el GL-3 en la piel. También se recolectará una muestra de sangre para las mediciones del nivel de α -Gal A en WBC y de enzima en plasma.

En el día 14, se recolectará una muestra de orina para la determinación de la excreción urinaria de GL-3 y liso-GB3. También se recolectará una muestra de sangre para las determinaciones del nivel de α -Gal A en WBC y de enzima en plasma y se evaluarán los signos vitales.

Para el período 2, antes de la siguiente infusión de agalsidasa programada, se realizarán las siguientes evaluaciones a los individuos: evaluación de eventos adversos, medicaciones concomitantes, examen físico, peso, signos vitales, electrocardiograma de 12 derivaciones y pruebas clínicas de laboratorio (química de la sangre, hematología y uroanálisis).

En la mañana del día 1, se recolectará la orina para las determinaciones de GL-3 y liso-GB3 en la orina seguidas por la administración de una dosis oral de 450 mg de clorhidrato de migalastat 2 horas antes de la infusión de agalsidasa programada. Los individuos permanecerán en ayunas durante 2 horas antes y 2 horas después de la administración de clorhidrato de migalastat. En el período 2, cada individuo recibirá una dosis de agalsidasa idéntica a la administrada en el período 1 como una infusión con una bomba de infusión. La infusión de agalsidasa se iniciará 2 horas después de la administración de la dosis de clorhidrato de migalastat.

Se recolectarán muestras de sangre para los análisis farmacocinéticos y farmacodinámicos antes de la dosificación de clorhidrato de migalastat y 1 hora después de la administración de clorhidrato de migalastat. Se recolectarán muestras de sangre adicionales inmediatamente antes del inicio de la infusión de agalsidasa y durante un período de 24 horas después del inicio de la infusión de agalsidasa. Se determinarán los niveles de enzima α -Gal A en plasma y en WBC, el valor de liso-GB3 en plasma y de anticuerpos en plasma a partir de las muestras de sangre recolectadas en los tiempos resumidos en la tabla 3 para agalsidasa beta y en la tabla 5 para agalsidasa alfa. El electrocardiograma de 12 derivaciones se realizará al final de la infusión de agalsidasa, inmediatamente después de la recolección de la muestra de sangre después de la infusión.

En el día 2, se recolectará una biopsia de piel por punción a las 24 horas después del inicio de la infusión del día anterior a partir de la cual se determinarán los niveles de enzima α -Gal A; si hay suficiente muestra disponible, también se determinará el GL-3 en la piel. Después de la recolección de la última muestra farmacocinética, se realizarán las siguientes evaluaciones: evaluación de eventos adversos, medicaciones concomitantes, examen físico, peso, signos vitales y pruebas clínicas de laboratorio (química de la sangre, hematología y uroanálisis).

En el día 7, se realizarán las siguientes evaluaciones a los individuos; signos vitales, medicaciones concomitantes y evaluación de eventos adversos. Se recolectará una biopsia de piel a partir de la cual se determinarán los niveles de enzima α -Gal A. También se recolectará una muestra de sangre para las mediciones del nivel de α -Gal A en WBC y de enzima en plasma.

En el día 14, se recolectará una muestra de orina para la determinación de la excreción urinaria de GL-3 y liso-GB3. También se recolectará una muestra de sangre para las determinaciones del nivel de α -Gal A en WBC y de enzima en plasma y se evaluarán los signos vitales.

El seguimiento se realizará por 28 días después del período 2. Se realizarán las siguientes evaluaciones: medicaciones concomitantes y eventos adversos.

Evaluación y programas de recolección de muestras. La tabla 1 muestra el programa de evaluaciones para las etapas 1 y 2. Los tiempos de recolección de muestras y los analitos para la coadministración de clorhidrato de

migalastat con Fabrazyme® se muestran en las tablas 2 y 3. Los tiempos de recolección de muestras y los analitos para la coadministración de clorhidrato de migalastat con Replagal® se muestran en las tablas 4 y 5.

Tabla 1: Programa de evaluaciones (etapas 1 y 2)

Actividad	Análisis	Período 1 y 2 (etapas 1 y 2)					Período 3 (etapa 1 únicamente)				Seguimiento (etapas 1 y 2)
	Dentro de los 28 días desde el inicio	Día -1	Día 1	Día 2	Día 7	Día 14	Día 1	Día 6	Día 7	Día 8	Contacto telefónico
Consentimiento informado	X										
Historia médica y datos demográficos	X										
Examen físico	x	x		x	x			x		x	
ECG (12 derivaciones)	X	X	X					X	X		
Signos vitales ⁶	X	X	X	X	X	X		X	X	X	
Hematología	X	X		X				X		X	
Uroanálisis	X	X		X				X		X	
Química de la sangre	X	X		X				X		X	
Registro de medicación concomitante	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X
eGFR	X										
GL-3/liso GB3 en orina		X				X					
Procedimientos de registro		X						X			
Dosis de fármaco			X ¹				X ²		X ³		
Muestreo ⁴ de sangre farmacocinético			X	X	X	X			X	X	
Biopsia ⁴ de piel		X ⁵		X	X						
Recolección ⁴ de WBC			X	X	X	X					
Valor ⁴ de anticuerpos			X								
Eventos adversos		X	X	X	X	X		X	X	X	X

¹Fármaco(s) administrado(s): agalsidasa (períodos 1 y 2), clorhidrato de migalastat (período 2).

²Administración de Fabrazyme® o Replagal® a un paciente externo.

³Fármaco administrado: clorhidrato de migalastat.

⁴Los tiempos de recolección de muestras y los analitos se resumen en la tabla 2 y la tabla 3 para Fabrazyme® (agalsidasa beta) y en la tabla 4 y tabla 5 para Replagal® (agalsidasa alfa).

5 ⁵Período 1 únicamente.

⁶Los signos vitales incluyen la temperatura, la presión sanguínea, ritmo cardíaco y respiración.

Tabla 2: FABRAZYME (agalsidasa beta) - Etapa 1: Recolección de sangre, orina y piel

Tiempos y análisis de muestras

10 Período 1 - Programa de recolección

Muestra recolectada	Después del inicio de la infusión de Fabrazyme® (horas)														Día	
	0	0.5	1	1.5	2	2.5	3	4	5	6	7	8	12	24	7	14
Sangre	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Piel	X													X	X	
Orina	X															X

Infusión de Fabrazyme®

Análisis de muestras																	
Plasma	α-Gal A en plasma	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	Anticuerpos	X															
	α-Gal A en WBC	X					X			X						X	X
	Liso-GB3	X															X
Piel	α-Gal A*	X														X	
Orina	GL-3	X															X
	Liso-GB3	X															X

Período 2

Programa de recolección

Después de HCl
de migalastat

Después del inicio de la infusión de Fabrazyme® (horas)

Día

Muestra recolectada	0	1	0	0.5	1	1.5	2	2.5	3	4	5	6	7	8	10	12	24		
	0	1	0	0.5	1	1.5	2	2.5	3	4	5	6	7	8	10	12	24	7	14
Sangre	X	x	x	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Piel																	X	X	
Orina	X																		X

Administración
de HCl de
migalastat

X

15 Infusión de
Fabrazyme®

(flecha)

Análisis de muestras

Plasma	α -Gal A en plasma	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X
	HCl de migalastat	X	X	X		X		X		X	X	X	X		X	X		X		
	Anticuerpos	X																		
	α -Gal A en WBC	X						X			X							X		
	Liso-GB3	X																		
Piel	α -Gal A*																	X		
Orina	GL-3	X																		X
	Liso-GB3	X																		X

Período 3

Programa de recolección

Después de la dosis de HCl de migalastat

Muestra recolectada	0	1	2	3	4	5	6	7	8	10	12	24
Sangre	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Piel												
Orina												

Administración de HCl de migalastat X

5

Análisis de muestras

Plasma	HCl de migalastat	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
--------	-------------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

*Si hay suficiente muestra disponible, también se medirá el GL-3 en la piel.

Tabla 3: FABRAZYME (agalsidasa beta) - Etapa 2 - Recolección de sangre, orina y piel

Tiempos y análisis de muestras

10

Período 1

Programa de recolección

Después del inicio de la infusión de Fabrazyme® (horas)

Día

Muestra recolectada	0	0.5	1	1.5	2	2.5	3	4	5	6	7	8	12	24	7	14
Sangre	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Piel	X																X		X
Orina	X																		X

Infusión de Fabrazyme®

Análisis de muestras

Plasma	α-Gal A en plasma	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	Anticuerpos	X																	
	α-Gal A en WBC	X					X			X								X	
	Liso-GB3	X																	
Piel	α-Gal A*	X																X	
Orina	GL-3	X																	X
	Liso-GB3	X																	X

Período 2

Programa de recolección

Después de
HCl de
migalastat

Después del inicio de la infusión de Fabrazyme® (horas)

Día

Muestra
recolectada

0 1 0 0.5 1 1.5 2 2.5 3 4 5 6 7 8 10 12 24 7 14

Sangre	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Piel																		X	
Orina	X																		X

Administración
de

X

HCl de
migalastat

5 Infusión de
Fabrazyme®
(flecha)

Análisis de muestras

Plasma	α-Gal A en plasma	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	HCl de migalastat	X	X	X		X		X		X	X	X	X		X	X		X	
	Anticuerpos	X																	
	α-Gal A en WBC	X						X			X							X	
	Liso-GB3	X																	
Piel	α-Gal A*																	X	

[illegible]

*Si hay suficiente muestra disponible, también se medirá el GL-3 en la piel.

Tabla 4: REPLAGAL (agalsidasa alfa) - Etapa 1: Recolección de sangre, orina y piel

Tiempos y análisis de muestras

5 Período 1

Programa de recolección

[illegible]

Infusión de Replagal®

Análisis de muestras

[illegible]

Período 2

Programa de recolección

Después de
HCl de
migalastat

Después del inicio de la infusión de Replagal® (horas)

Día

Muestra recolectada	0	1	0	0.33	0.66	1	1.5	2	3	4	5	6	7	8	10	12	24
Sangre	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Piel																	X
Orina	X																

Administración de HCl de micalastat

←————→

Infusión de
Replagal®
(flecha)

Análisis de muestras

Plasma	α -Gal A en plasma	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X		X	X
	HCl de migalastat	X	X	X			X		X	X	X	X	X		X	X					
	Anticuerpos	X																			
	α -Gal A en WBC	X							X		X									X	
	Liso-GB3	X																			
Piel	α -Gal A*																		X		
Orina	GL-3	X																			X
	Liso-GB3	X																			X

Período 3

Programa de recolección

Después de la dosis de HCl de migalastat

Muestra recolectada	0	1	2	3	4	5	6	7	8	10	12	24
Sangre	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Piel												
Orina												

Administración de HCl X
de migalastat

Análisis de muestras

Plasma	HCl de migalastat	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
--------	-------------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

*Si hay suficiente muestra disponible, también se medirá el GL-3 en la piel.

5 Tabla 5: REPLAGAL (agalsidasa alfa) - Etapa 2: Recolección de sangre, orina y piel

Tiempos y análisis de muestras

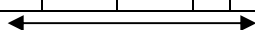
Período 1

Programa de recolección

Después del inicio de la infusión de Replagal® (horas)

Día

Muestra recolectada	0	0.33	0.66	1	1.5	2	3	4	5	6	7	8	12	24	7	14
Sangre	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Piel	X													X	X	X
Orina	X															X



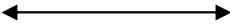
Infusión de Replagal®

Análisis de muestras

Plasma	α -Gal A en plasma	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	Anticuerpos	X																			
	α -Gal A en WBC	X						X		X										X	
	Liso-GB3	X																			
Piel	α -Gal A*	X																		X	
Orina	GL-3	X																			X
	Liso-GB3	X																			X

Período 2

Programa de recolección

Después de HCl de migalastat		Después del inicio de la infusión de Replagal® (horas)																			Día	
Muestra recolectada		0	1	0	0.33	0.66	1	1.5	2	3	4	5	6	7	8	10	12	24			7	14
Sangre		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X
Piel																			X		X	
Orina		X																				X
Administración de HCl de migalastat		X																				
Infusión de Fabrazyme® (flecha)																						

5

Análisis de muestras

Plasma	α -Gal A en plasma	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X		X	X
	HCl de migalastat	X	X	X		X		X	X	X	X	X		X	X			X			
	Anticuerpos	X																			
	α -Gal A en WBC	X					X			X									X		X
	Liso-GB3	X																			X
Piel	α -Gal A*																		X		X
Orina	GL-3	X																			X
	Liso-GB3	X																			X

*Si hay suficiente muestra disponible, también se medirá el GL-3 en la piel.

Farmacocinética de HCl de migalastat y α -Gal A. Las concentraciones de HCl de migalastat en las muestras de sangre se medirán en plasma mediante el uso de un ensayo de LC-MS/MS validado. Los niveles de α -Gal A en plasma se determinarán con un ensayo validado que mide la actividad enzimática mediante el uso de 4-MUG, con y sin Con A. Los niveles de proteína α -Gal A se medirán con Western blot con el uso del anticuerpo Gal A antihumano.

10

Niveles de la enzima α -Gal A en la piel. Los niveles de la enzima α -Gal A se examinarán en las muestras de biopsia de piel. Las biopsias de piel se realizarán con un dispositivo de "punción". Se quitará una pieza en cada visita. Los niveles de α -Gal A en la piel se determinarán con un ensayo validado que mide la actividad enzimática mediante el uso de 4-MUG, con y sin Con A. Los niveles de proteína α -Gal A se medirán con Western blot con el uso del anticuerpo Gal A antihumano.

15

Niveles de α -Gal A en WBC. Los niveles de α -Gal A en WBC se determinarán en las muestras de sangre con un ensayo validado que mide la actividad enzimática mediante el uso de 4-MUG, con y sin Con A. Los niveles de proteína α -Gal A se medirán con Western blot con el uso del anticuerpo Gal A antihumano.

Liso-GB3 en plasma. Las mediciones de liso-GB3 en plasma se realizarán sobre una base exploratoria para obtener datos en pacientes que reciben ERT sola y ERT junto con la administración de clorhidrato de migalastat. Las concentraciones de liso-GB3 se medirán en plasma mediante el uso de un ensayo validado.

- 5 **GL-3 y Liso-GB3 en orina.** Se recolectará la primera orina de la mañana de cada individuo para el análisis de la excreción urinaria de GL-3 y liso-GB3 en el día 1 y en el día 14 de los períodos 1 y 2. Los individuos recolectarán la orina en la mañana de los días 1 y 14. El GL-3 urinario y el Liso-GB3 urinario se expresarán en función de la concentración de creatinina urinaria.

Valor de anticuerpos. Se recolectarán las muestras de sangre y se medirán los valores de anticuerpos IgG en cada muestra de sangre.

- 10 **Parámetros de seguridad.** Se evaluarán los parámetros de seguridad mediante la revisión de cambios en los resultados de los exámenes físicos, signos vitales, cambios de ECG con el tiempo, análisis clínicos de laboratorio y eventos adversos.

- 15 **Signos vitales, peso y altura.** La temperatura corporal y la respiración se medirán durante el análisis e ingreso en el estudio. Para controlar la seguridad, se medirá la temperatura corporal, respiración, presión sanguínea y ritmo cardíaco antes de la dosificación y aproximadamente 1, 2, 3, 4 y 6 horas después de la administración de agalsidasa (período 1) o clorhidrato de migalastat (períodos 2 y 3) en los días 2, 7 y 14. Cuando el tiempo del control de los signos vitales coincide con una extracción de sangre, la extracción de sangre tiene prioridad y los signos vitales se ajustarán en consecuencia.

Control de ECG. Se realizará un control de ECG con un electrocardiograma de 12 derivaciones.

- 20 **Pruebas clínicas de laboratorio.** Las muestras de sangre para las pruebas clínicas de laboratorio (hematología, química de la sangre) y uroanálisis se recolectarán en cada visita y se analizarán en el laboratorio central. Las pruebas de hematología incluyen los conteos diferenciales totales de hemoglobina, hematocritos, eritrocitos, plaquetas y leucocitos.

- La coagulación (análisis únicamente) incluye INR y aPTT.

- 25 • La química de la sangre incluye mediciones de AST, ALT, fosfatasa alcalina, bilirrubina total, creatinina, urea, glucosa, calcio, sodio, potasio, magnesio, proteínas totales, albúmina, bicarbonato, LDH, nitrógeno ureico en sangre, cloruro y fosfato. La medición de creatinina sérica se realizará mediante el uso de reactivos que se calibraron mediante el uso de un método de referencia de espectrometría de masas por dilución isotópica (IDMS).

- 30 • El uroanálisis incluye color, aspecto, gravedad específica, pH, proteína, glucosa, cetonas, sangre, estearasa leucocitaria, nitrito, bilirrubina, urobilinógeno y microscopía de sedimentos.

- 35 **Parámetros farmacocinéticos.** Los parámetros farmacocinéticos no compartimentales de AUC_{0-t} , $AUC_{infinito}$, $C_{máx}$, $t_{máx}$, K_{el} y la vida media se calculará a partir de las concentraciones de clorhidrato de migalastat en plasma y de los niveles de enzimas de α -Gal A. Los parámetros farmacocinéticos se resumirán por tratamiento mediante el uso de estadísticas descriptivas. Se calcularán las relaciones de AUC_{0-t} , $AUC_{infinito}$ para cada compuesto solo con respecto al compuesto en combinación. Los datos farmacocinéticos y farmacodinámicos para los individuos que reciben agalsidasa alfa y agalsidasa beta se analizarán por separado.

- 40 **Análisis estadístico.** Las estadísticas descriptivas (N, media, desviación estándar y coeficiente de variación, error estándar, mediana, mínimo y máximo) se proporcionarán según corresponda. El efecto de un compuesto sobre el compuesto coadministrado se evaluará mediante el cálculo de las relaciones individuales de AUC y $C_{máx}$ (por individuo) en la siguiente forma:

$$\text{Relación de AUC} = \frac{AUC_{infinito} (\text{combinación})}{AUC_{infinito} (\text{solo})}$$

45
$$\text{Relación de } C_{máx} = \frac{C_{máx} (\text{combinación})}{C_{máx} (\text{solo})}$$

- 50 Las relaciones de AUC y $C_{máx}$ se expresarán como una media de las relaciones individuales y un intervalo de confianza del 90% para la media. Los datos farmacocinéticos y farmacodinámicos para los individuos que reciben agalsidasa alfa y agalsidasa beta se analizarán por separado. Los resultados se presentarán en formas tabulares y gráficas, según corresponda. Todos los individuos a los que se les administre la medicación de estudio y presenten datos suficientes para generar parámetros farmacocinéticos confiables se incluirán en el análisis de seguridad y farmacocinético.

EJEMPLO 2: Régimen de dosificación para el tratamiento de la enfermedad de Fabry con el uso de clorhidrato de migalastat y agalsidasa

El HCl de migalastat es una chaperona farmacológica para α -galactosidasa A (α -Gal A) lo que aumenta la estabilidad de la enzima y el pliegue adecuado. El migalastat puede actuar mediante la prevención de la inactivación de α -Gal A a través de la estabilización de la enzima en las condiciones de pH/temperatura de la sangre. El objetivo de este estudio fue caracterizar los efectos de 150 mg y 450 mg de migalastat administrado 2 horas antes de la administración de agalsidasa sobre la seguridad y la farmacocinética en plasma de agalsidasa en individuos con enfermedad de Fabry. El objetivo de este estudio también fue caracterizar los efectos de 150 mg y 450 mg sobre el plasma, la piel y la farmacocinética de las células mononucleares de sangre periférica humana (PBMC) de agalsidasa en pacientes que padecen enfermedad de Fabry; caracterizar el efecto de la agalsidasa en plasma sobre la farmacocinética en plasma de migalastat; evaluar GL-3 en orina y liso-GB3 en plasma y orina antes y 14 días después de la infusión de agalsidasa; y evaluar el valor de anticuerpos antes de la infusión de agalsidasa.

Métodos. El estudio se llevó a cabo de conformidad con los métodos descritos en el ejemplo 1. Específicamente, este fue un estudio de etiqueta abierta, de una única dosis, no aleatorio, de secuencia fija, de 2 etapas. Etapa 1 compuesta por 3 períodos:

(1) monoterapia de reemplazo de enzimas (ERT) con 0.5 mg/kg o 1.0 mg/kg de agalsidasa beta (infusión durante aproximadamente 2 horas) o 0.2 mg/kg de agalsidasa alfa (infusión durante aproximadamente 40 minutos);

(2) coadministración de ERT + comprimido oral de 150 mg de migalastat (dosis unitaria), migalastat administrado 2 horas antes de la ERT; y

(3) monoterapia con 150 mg de migalastat.

La etapa 2 consistió en 2 períodos en la misma secuencia que la etapa 1 (es decir, los períodos (1) y (2)) pero con coadministración de 3 comprimidos orales de 150 mg de migalastat en el período 2 (es decir, 450 mg de migalastat). Etapa 2 compuesta por los siguientes 2 períodos:

(1) monoterapia de reemplazo de enzimas (ERT) con 0.5 mg/kg o 1.0 mg/kg de agalsidasa beta (infusión durante aproximadamente 2 horas) o 0.2 mg/kg de agalsidasa alfa (infusión durante aproximadamente 40 minutos); y

(2) Coadministración de ERT + comprimidos orales de 450 mg de migalastat. Migalastat administrado 2 horas antes de la ERT.

Los períodos de tratamiento se separaron por un período de descanso farmacológico de un mínimo de 14 días. α -Gal A cataliza la etapa inicial en la descomposición del sustrato de GL-3 *in vivo*. α -Gal A también actúa sobre otros sustratos con el mismo enlace α como el sustrato fluorescente de bajo peso molecular, 4-MUG. La actividad de α -Gal A sobre 4-MUG se midió *in vitro* a partir de muestras de plasma, piel y PBMC después de diluciones en serie para disociar el migalastat.

Se evaluaron 6 pacientes con actividad de α -galactosidasa A en plasma, piel y PBMC de la etapa 1, período 1 y 2. Cuatro pacientes recibieron ERT con 0.5 mg/kg de agalsidasa beta y 2 pacientes recibieron ERT con 1.0 mg/kg de agalsidasa beta durante el período 1 y se les coadministró 150 mg de migalastat 2 horas antes del inicio de la ERT con la misma dosis durante el período 2. La duración de la infusión fue de 2 horas para ambos períodos con una excepción: un paciente que recibió 0.5 mg/kg de agalsidasa beta tuvo una infusión desequilibrada, donde el paciente recibió una infusión durante 2 horas y 40 minutos durante el período 2, pero recibió una infusión durante solamente 2 horas en el período 1.

Resultados:

La actividad de α -Gal-A en plasma aumenta con la coadministración de migalastat

Para la coadministración con migalastat (período 2) con respecto a la ERT sola (período 1), los siguientes Aumentos medio se observaron en la AUC (área debajo de la curva) de la actividad de α -Gal A en plasma.

Aumentos medio para la infusión de 0.5 mg/kg de agalsidasa beta:

* 3.0 veces para 0.5 mg/kg de agalsidasa beta (N=4)

• Aumentos en pacientes individuales: 2.0-, 2.2-, 3.4- y 4.2 veces.

• Aumento medio sin incluir el paciente de 2 veces con la duración de infusión desequilibrada: 3.3 veces.

Aumentos medio para la infusión de 1.0 mg/kg de agalsidasa beta:

* 1.9 veces para 1.0 mg/kg de agalsidasa beta (N=2)

• Aumentos en pacientes individuales: 1.6 y 2.2 veces

La actividad de α -Gal A en plasma de los compuestos de los seis pacientes para los períodos 1 y 2 se muestran en la figura 1. Los aumentos de AUC de actividad de α -Gal A en plasma para todos los pacientes después de la

coadministración con migalastat se muestran en la figura 2. La figura 3 muestra la AUC parcial para cada tiempo de muestreo que mostró una actividad superior de α -Gal A en plasma con la coadministración de 0.5 mg/kg o 1.0 mg/kg de agalsidasa beta y 150 mg de migalastat.

La actividad de α -Gal-A en la piel aumenta con migalastat

- 5 Para la coadministración con migalastat (período 2) con respecto a la ERT sola (período 1), los siguientes Aumentos medio se observaron en la actividad de α -Gal A en la piel:

Aumentos medio para la infusión de 0.5 mg/kg de agalsidasa beta:

- 2.6 veces para 0.5 mg/kg agalsidasa beta en el día 2 (N=3, 1 paciente presentó una pérdida de muestra).
- Aumentos en pacientes individuales: 2.8-, 3.9 y 1.1 veces.

- 10 • No hubo cambios en la actividad en la piel en el día 7 del período 1.

Aumentos medio para la infusión de 1.0 mg/kg de agalsidasa beta:

- 1.9 y 1.5 veces para 1.0 mg/kg de agalsidasa beta en los días 2 y 7, respectivamente (N=2).
- Aumentos en pacientes individuales: 1.6 y 2.1 veces en el día 2, 1.7 y 1.2 en el día 7.

- 15 El aumento en la actividad de α -Gal A en la piel después de la coadministración de 0.5 mg/kg o 1.0 mg/kg de agalsidasa beta y 150 mg de migalastat se muestra en las figuras 4 a 6. La figura 5A muestra el aumento de la actividad de α -Gal A en la piel después de la coadministración de 0.5 mg/kg de agalsidasa beta y 150 mg de migalastat en el paciente que recibió una infusión de ERT de 40 minutos más durante el período 2 con respecto a los otros pacientes.

La actividad de α -Gal-A en las PBMC aumenta con migalastat

- 20 Para la coadministración con migalastat (período 2) con respecto a la ERT sola (período 1), los siguientes Aumentos medio se observaron en la actividad de α -Gal A en las PBMC:

Aumentos medio para la infusión de 0.5 mg/kg de agalsidasa beta:

- 2.3, 2.0 y 2.2 veces para 0.5 mg/kg de agalsidasa beta (N=4) en los días 2, 7 y 14 respectivamente.
- Intervalos de aumentos en pacientes individuales: 1.4 a 3.1, 1.4 a 2.3 y 1.7 a 2.8 veces en los días 2, 7 y 14, respectivamente.

- 25 • No hubo cambios en la actividad en la piel en el día 7 del período 1.

Aumentos medio para la infusión de 1,0 mg/kg de agalsidasa beta:

- 1.8, 4.8 y 3.5 veces para 1.0 mg/kg de agalsidasa beta (N=2) en los días 2, 7 y 14 respectivamente.
- Aumentos en pacientes individuales: 1.1 y 2.5-, 3.6 y 6.0 y 1.7 y 5.4 veces en los días 2, 7 y 14, respectivamente.

- 30 El aumento en la actividad de α -Gal A en las PBMC después de la coadministración de 0.5 mg/kg o 1.0 mg/kg de agalsidasa beta y 150 mg de migalastat se muestra en las figuras 7 a 9.

Conclusión:

La interacción de 150 mg de migalastat con 0.5 mg/kg y 1.0 mg/kg de agalsidasa beta resultó en aumentos en la actividad de α -Gal A para:

La AUC (N=6) de α -Gal A en plasma de todos los pacientes;

- 35 La α -Gal A en la piel de todos los pacientes en el día 2 (N=5), pero únicamente 3 de 5 pacientes en el día 7;

La α -Gal A en las PBMC de todos los pacientes en los días 2, 7 y 14 (N=6).

- 40 La interacción de 150 mg de migalastat con 0.5 mg/kg o 1.0 mg/kg de agalsidasa beta resultó en aumentos de 2 a 4 veces en la AUC de actividad de α -galactosidasa A, aumentos de 1.1 a 3.9 veces en la actividad de α -galactosidasa A en la piel en el día 2 y aumentos de 1.1 a 6.0 veces en la actividad de α -galactosidasa A en PBMC para los días 2, 7 y 14 con respecto a la agalsidasa beta sola. En el día 7, cuatro pacientes presentaban un aumento en la actividad de α -galactosidasa A en la piel después de la coadministración.

- 45 La dosis de 150 mg de migalastat aumentó la actividad enzimática de la dosis media de agalsidasa beta (0.5 mg/kg) mejor que la dosis completa (1.0 mg/kg) hasta 24 horas después de la dosis en el plasma, la piel y las PBMC; no obstante, la inversa fue verdadera (1.0 mg/kg > 0.5 mg/kg) a los 7 y 14 días después de la dosis en la piel y en las PBMC. En la figura 10 se muestra una tabla que resume los resultados.

Para la agalsidasa beta sola, todos los pacientes presentaron un aumento en la actividad de α -Gal A en las PBMC con respecto al punto de referencia en todos los intervalos de tiempo, no obstante, 2 pacientes presentaron una disminución en la actividad de α -Gal A en la piel en el día 2 con respecto al punto de referencia después de la infusión de 0.5 mg/kg.

5 **EJEMPLO 3: Régimen de dosificación para el tratamiento de la enfermedad de Fabry con el uso de clorhidrato de migalastat y agalsidasa**

El siguiente ejemplo es una actualización del estudio descrito en el ejemplo 2. El presente ejemplo incluye un individuo adicional para un total de siete individuos.

10 El objetivo del presente ejemplo es evaluar la seguridad y la farmacocinética de dos dosis de HCl de migalastat (150 mg y 450 mg) coadministrada con ERT (agalsidasa) en individuos masculinos a los que se les diagnosticó la enfermedad de Fabry.

Métodos. Este es un estudio en curso, etiqueta abierta, no aleatorio, de 2 etapas, de secuencia fija. Etapa 1 compuesta por 3 períodos:

- Período 1: IV infusión de ERT sola.
- 15 • Período 2: HCl de migalastat (150 mg) administrado oralmente 2 horas antes de la IV infusión de la ERT (en la misma dosis que en el período 1).
- Período 3: administración oral de 150 mg HCl de migalastat solo.

Pacientes seleccionados: Individuos masculinos de 18 a 65 años de edad que padecen enfermedad de Fabry.

Criterio de inclusión:

- 20 • Índice de masa corporal (BMI) entre 18 y 35.
- Iniciaron tratamiento con agalsidasa al menos 1 mes antes de la dosificación.
- Eliminación de creatinina estimada (CLcr) $\geq$ 50 mL/min en el análisis.

Criterio de exclusión:

- 25 • Ataque isquémico, accidente cerebrovascular isquémico, infarto de miocardio inestable transitorio documentado dentro de los 3 meses antes del análisis.
- Enfermedad clínica cardíaca inestable significativa.
- Sensibilidad a la terapia concomitante con iminoazúcares (por ejemplo, miglustat, miglitol).

30 Los individuos recibieron su dosis actual y el régimen de agalsidasa beta sola en una infusión (0.5 o 1.0 mg/kg durante aproximadamente 2 horas) seguido de 150 mg de HCl de migalastat oral administrado dos horas antes de agalsidasa beta en su próxima infusión.

Cinco de los siete individuos actuales recibieron 0.5 mg/kg cada dos semanas y dos de los siete individuos recibieron una dosis de 1.0 mg/kg cada cuatro semanas.

En la etapa 2, se estudiará una dosis de 450 mg de HCl de migalastat.

35 Las etapas 1 y 2 se repetirán en individuos únicos con una ERT de infusión de agalsidasa alfa (0.2 mg/kg durante aproximadamente 40 minutos).

Muestras:

40 Se tomaron muestras de sangre en serie hasta 24 horas después de la dosis para determinar los niveles de actividad de α -Gal A y de proteínas en cada período. Se tomaron muestras de sangre para determinar la actividad de α -Gal A en células mononucleares de sangre periférica (PBMC) antes de la dosis y en los días 1, 2, 7 y 14 de cada período. Se tomaron biopsias por punción para determinar la actividad de α -Gal A en la piel antes de la dosis en el período 1 y en los días 2 y 7 durante los períodos 1 y 2. Los parámetros farmacocinéticos de actividad de α -Gal A en plasma incluyen $C_{\text{máx}}$, $T_{\text{máx}}$, AUC_{0-t} , $AUC_{0-\text{inf}}$ y $t_{1/2}$.

Los parámetros farmacocinéticos se calculan mediante el uso de procedimientos no compartimentales estándar (WINNONLIN versión 5.0 o mayor).

45 Se midió la actividad de α -Gal A en lisados de plasma, piel y PBMC mediante un ensayo de ensayo enzimático de fluorescencia con el uso de 4-metilumbeliferil- α -D-galactopiranosida (4-MUG). Se midió la actividad de α -Gal A en 4 MUG in vitro después de las diluciones seriales para disociar el migalastato.

Se llevaron a cabo análisis Western blot de la proteína α -Gal A sobre las muestras de plasma mediante el uso del anticuerpo α -Gal A antihumano. Se realizó una curva estándar de rha-Gal A (agalsidasa) para calcular la concentración adecuada de proteína α -Gal en cada muestra.

Los parámetros de seguridad incluyeron eventos adversos (AE), signos vitales, pruebas clínicas de laboratorio (hematología, química de la sangre y uroanálisis), electrocardiogramas (ECG), exámenes físicos y uso de medicaciones concomitantes.

Resultados: Los resultados preliminares se encuentran disponibles para la etapa 1, períodos 1 y 2. *Disposición de los pacientes y demografía:* Se evaluaron siete pacientes con actividad de α -Gal A en plasma, piel y PBMC de la etapa 1, período 1 y 2.

• Todos los 7 pacientes recibieron agalsidasa beta sola durante el período 1; a todos los pacientes se les coadministró 150 mg de HCl de migalastat 2 horas antes del inicio de agalsidasa beta durante el período 2.

• Dos pacientes (identificados como individuos A y B) recibieron IV infusiones de 1.0 mg/kg de agalsidasa beta durante 2 horas.

• Cinco pacientes (identificados como individuos C, D, E, F y G) recibieron IV infusiones de 0.5 mg/kg de agalsidasa beta durante 2 horas con 1 excepción: Al individuo E se le administró una infusión durante 2 horas y 40 minutos en el período 2, pero recibió una infusión durante 2 en el período 1.

Todos los individuos eran macho con enfermedad de Fabry de 44-61 años de edad, con un índice de masa corporal (BMI) que oscila entre 20.9 y 29.1 kg/m². CLcr que se estimó en 54 a 88 mL/min. El genotipo para cada individuo se presenta en la figura 11.

Seguridad:

A la fecha, se informaron 12 eventos adversos (AE), uno de los cuales fue serio. Los eventos adversos (AE) serios fueron ataque isquémico (TIA) que ocurrió después de la visita de análisis, pero antes de la dosificación, fue moderado en la seriedad, requirió hospitalización y el investigador consideró que no estaba relacionado con el fármaco de estudio. El TIA se resolvió sin secuelas. Todos los demás AE fueron leves en cuanto a la seriedad, todos se consideraron no relacionados con el fármaco de estudio y la mayoría se resolvió sin tratamiento. Tres AE en tres individuos diferentes se encuentran en curso: contracciones atriales prematuras, aleteo auricular y edema de las extremidades inferiores, todos los cuales no estaban relacionados con el fármaco de estudio.

Actividad de α -Gal A en plasma:

La AUC (área bajo la curva) de la actividad de α -Gal A en plasma contra el tratamiento con 1.0 mg/kg de agalsidasa beta sola y los perfiles actividad-tiempo del tratamiento con 1.0 mg/kg de agalsidasa beta en combinación con 150 mg de HCl de migalastat (con medias insertadas y desviaciones estándar) se muestran en la figura 12 para los individuos A y B. El tratamiento combinado de 1.0 mg/kg de agalsidasa beta y 150 mg de HCl de migalastat resultó en aumentos en la actividad de α -Gal A de 2.2 y 1.6 veces para los individuos A y B, respectivamente, en comparación con el tratamiento con una monoterapia de 1.0 mg/kg de agalsidasa beta.

La AUC (área bajo la curva) de la actividad de α -Gal A en plasma contra el tratamiento con 0.5 mg/kg de agalsidasa beta sola y los perfiles actividad-tiempo del tratamiento con 0.5 mg/kg de agalsidasa beta en combinación con 150 mg de HCl de migalastat (con medias insertadas y desviaciones estándar) se muestran en la figura 13 para los individuos C a G. El tratamiento combinado de 0.5 mg/kg de agalsidasa beta y 150 mg de HCl de migalastat resultó en aumentos en la actividad de α -Gal A de 2.0 y 4.2 veces para los individuos en comparación con el tratamiento con una monoterapia de 0.5 mg/kg de agalsidasa beta.

La actividad de α -Gal A en plasma aumentó en todos los intervalos de tiempo para la mayoría de los individuos para la coadministración con respecto a la terapia de reemplazo de enzimas (ERT) sola con una excepción. El individuo E recibió una infusión desequilibrada, 40 minutos más prolongada durante el período 2 lo que causó una disminución relativa en la actividad enzimática durante la fase de infusión. No obstante, todos los intervalos de tiempo del individuo E después de la actividad pico aumentaron con respecto a la ERT sola. Asimismo, según Eng *et al.*, Am. J. Hum. Genet. 68:711-722 (2001), las exposiciones aumentaron en una forma no lineal para la actividad de α -Gal A.

Para la coadministración con HCl migalastat (período 2) con respecto a la ERT sola (período 1), todos los individuos presentaron un aumento en la AUC de actividad de α -Gal A como se muestra en las figuras 12 y 13. El Aumento medio en la AUC de actividad de α -Gal A en plasma fue de 3.0 veces para 0.5 mg/kg de agalsidasa beta. Excluyendo al paciente de 2.0 veces con una duración de infusión desequilibrada, el Aumento medio fue de 3.2 veces. El Aumento medio en la AUC de actividad de α -Gal A en plasma fue de 1.9 veces para 1.0 mg/kg de agalsidasa beta.

Actividad de α -Gal A en la piel

La figura 14 muestra que tratar a los individuos con 0.5 mg/kg o 1.0 mg/kg de agalsidasa beta en combinación con 150 mg de HCl de migalastat aumentó la actividad de α -Gal A en las muestras de piel del día 2 en comparación con

el tratamiento de monoterapia con enzimas solo. La figura 15 muestra la actividad de α -Gal A en las muestras de piel del día 7 después de la monoterapia y la terapia combinada con agalsidasa beta y 150 mg de HCl de migalastat. Se observaron los siguientes Aumentos medio en la actividad de α -Gal A en la piel: 2.6 veces y 1.4 veces en los días 2 y 7, respectivamente, para 0.5 mg/kg de agalsidasa beta (N=5) y 1.9 y 1.5 veces en los días 2 y 7, respectivamente, para 1.0 mg/kg de agalsidasa beta (N=2).

5

Actividad de α -Gal A en las PMBC

Se observaron los siguientes Aumentos medio en la actividad de α -Gal A en las PBMC: 2.4, 1.9 y 2.1 veces en los días 2, 7 y 14 respectivamente, para 0.5 mg/kg de agalsidasa beta (N=5) y 1.8, 4.8 y 3.5 veces para 1.0 mg/kg (N=2) de agalsidasa beta en los días 2, 7 y 14, respectivamente.

10

Análisis Western Blot

No se observó ningún cambio en la proteína α -Gal A en plasma con el análisis Western Blot de la relación de AUC del período 2 (coadministración)/ período 1 (ERT sola) en 5 de los 7 pacientes. No obstante, 2 individuos, (individuo C que recibió 0.5 mg/kg de agalsidasa beta y el individuo G que recibió 1.0 mg/kg de agalsidasa beta) presentaron aumentos del 20% en la cantidad de proteína después de la coadministración con respecto a la ERT sola (datos no mostrados).

15

Conclusión

La interacción de 150 mg de migalastat con 0.5 mg/kg y 1.0 mg/kg de agalsidasa beta resultó en aumentos en la actividad de α -Gal A en plasma, en la piel y en las PBMC. La coadministración de 150 mg de HCl de migalastat con agalsidasa beta fue generalmente segura y se toleró bien.

REIVINDICACIONES

1. 1-desoxigalactonojirimicina para su uso en el tratamiento de enfermedad de Fabry, en donde el tratamiento comprende administrar a un paciente desde aproximadamente 50 mg hasta 600 mg de 1-desoxigalactonojirimicina y una cantidad eficaz de terapia de reemplazo de enzimas con α -Gal A, en donde la 1-desoxigalactonojirimicina se administra hasta aproximadamente 4 horas antes, o simultáneamente con, la administración de la terapia de reemplazo de enzimas con α -Gal A.
2. 1-desoxigalactonojirimicina para su uso según la reivindicación 1, en donde la cantidad de 1-desoxigalactonojirimicina administrada es aproximadamente 150 mg a 450 mg.
3. 1-desoxigalactonojirimicina para su uso según la reivindicación 1, en donde la cantidad de 1-desoxigalactonojirimicina administrada se selecciona de aproximadamente 150 mg, aproximadamente 300 mg y aproximadamente 450 mg.
4. 1-desoxigalactonojirimicina para su uso según la reivindicación 1, en donde el paciente ayuna durante un periodo de tiempo que empieza aproximadamente 0,5 a aproximadamente 4 horas antes y que termina aproximadamente 0,5 a 4 horas después de la administración de 1-desoxigalactonojirimicina.
5. 1-desoxigalactonojirimicina para su uso según la reivindicación 4, en donde el paciente ayuna durante al menos 2 horas antes y al menos 2 horas después de la administración de 1-desoxigalactonojirimicina.
6. 1-desoxigalactonojirimicina para su uso según la reivindicación 1, en donde la 1-desoxigalactonojirimicina se administra aproximadamente 2 horas antes de la administración de la terapia de reemplazo de enzimas con α -Gal A.
7. 1-desoxigalactonojirimicina para su uso según la reivindicación 1, en donde la 1-desoxigalactonojirimicina es clorhidrato de migalastat.
8. 1-desoxigalactonojirimicina para su uso según la reivindicación 1, en donde la terapia de reemplazo de enzimas con α -Gal A se selecciona de agalsidasa alfa y agalsidasa beta.
9. 1-desoxigalactonojirimicina para su uso según la reivindicación 1, en donde la 1-desoxigalactonojirimicina se administra como un adyuvante a la terapia de reemplazo de enzimas con α -Gal A.
10. 1-desoxigalactonojirimicina para su uso según la reivindicación 1, en donde la 1-desoxigalactonojirimicina y la terapia de reemplazo de enzimas con α -Gal A se administran como una terapia de combinación.
11. 1-desoxigalactonojirimicina para su uso según la reivindicación 1, en donde se administra una segunda dosis de 1-desoxigalactonojirimicina entre la administración de la terapia de reemplazo de enzimas con α -Gal A y aproximadamente 4 horas a partir de entonces.
12. 1-desoxigalactonojirimicina para su uso según la reivindicación 6, en donde la 1-desoxigalactonojirimicina y la terapia de reemplazo de enzimas con α -Gal A se administran cada 1 a 4 semanas.
13. 1-desoxigalactonojirimicina para su uso según la reivindicación 12, en donde la 1-desoxigalactonojirimicina y la terapia de reemplazo de enzimas con α -Gal A se administran cada 2 semanas.

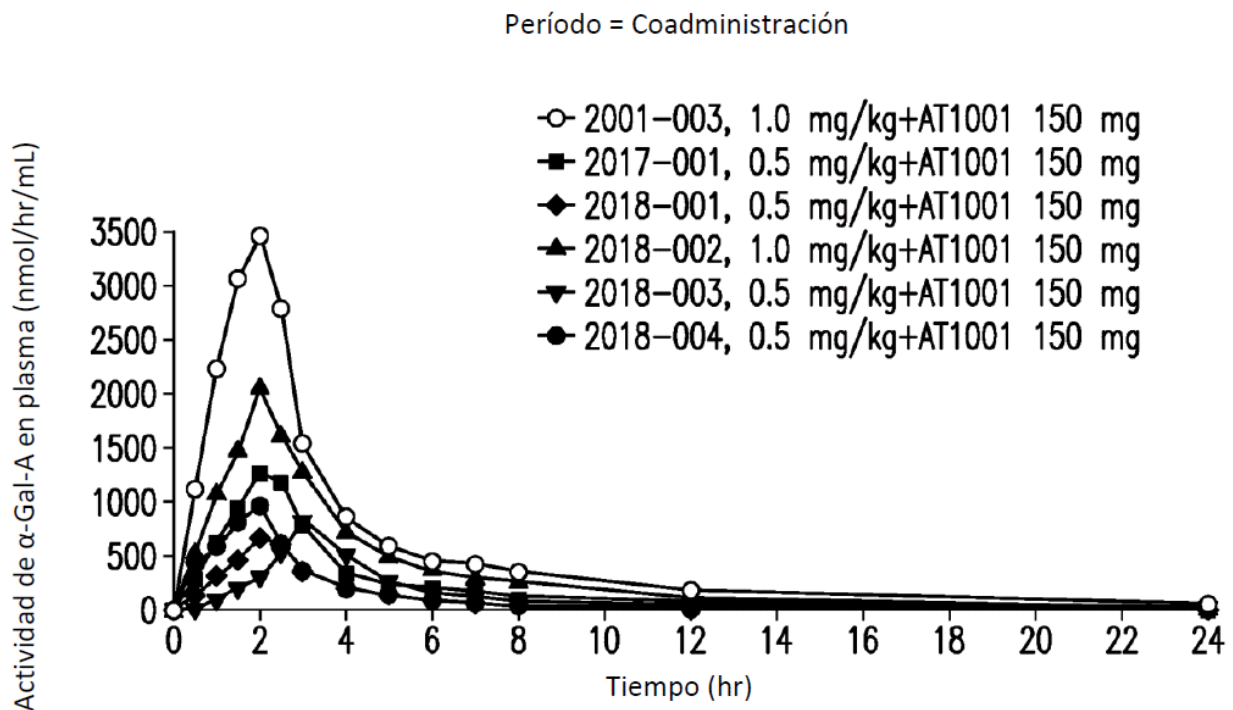
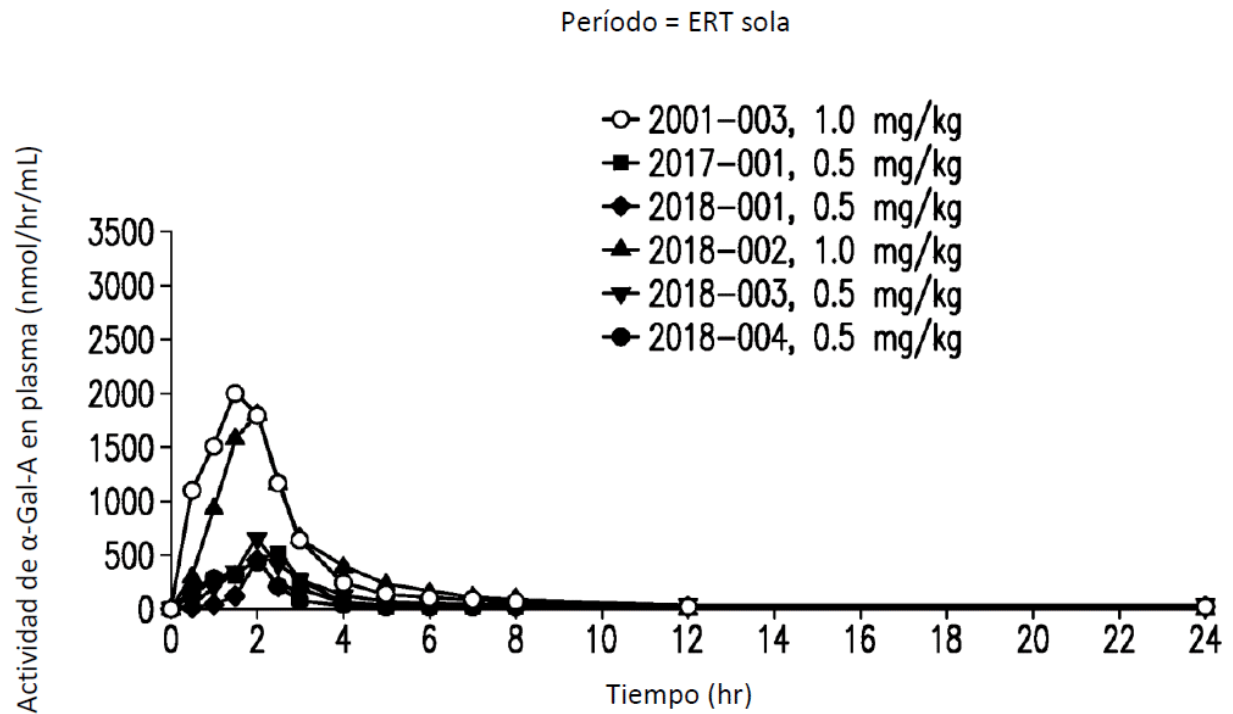


FIG. 1

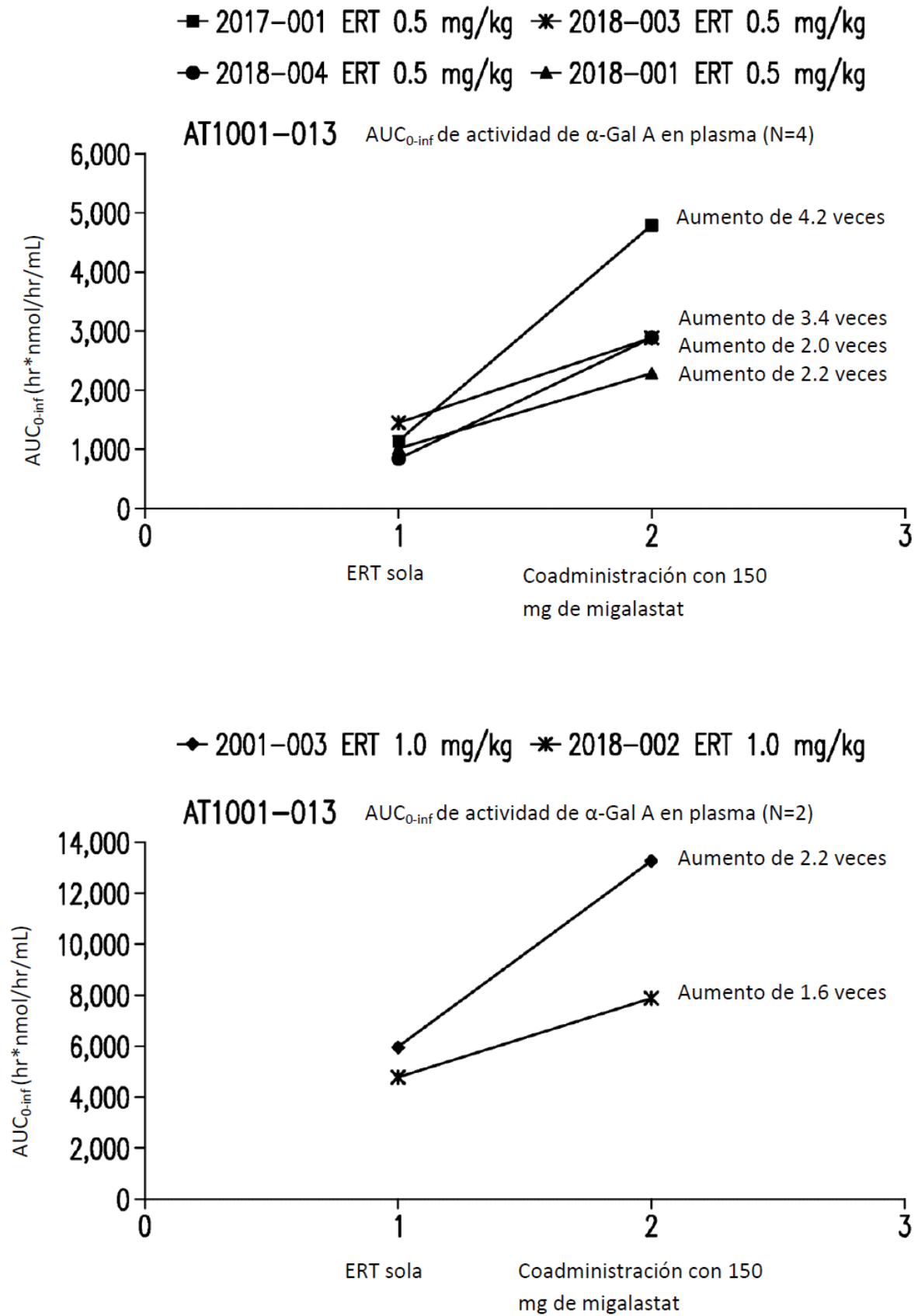


FIG. 2

Tratamientos: Período 1 = ERT sola. Período 2 = 150 mg de migalastat + coadministración de ERT (Duración de ERT de IV infusión = 2hr excepto donde se coloca *)												
Tiempo (hr.)	AUC parcial (hr*nmol/hr/mL)											
	Paciente 2018-001 Dosis 0.5 mg/kg		Paciente 2018-002 Dosis 1.0 mg/kg		Paciente 2018-003 Dosis 0.5 mg/kg		Paciente 2017-001 Dosis 0.5 mg/kg		Paciente 2018-004 Dosis 0.5 mg/kg		Paciente 2001-003 Dosis 1.0 mg/kg	
	Período 1	Período 2	Período 1	Período 2	Período 1	Período 2*	Período 1	Período 2	Período 1	Período 2	Período 1	Período 2
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
0.5	2.99	31.10	74.56	133.50	12.22	1.03	28.66	70.38	45.40	112.52	276.71	283.12
1	18.97	143.08	379.78	534.54	68.51	24.55	126.36	297.15	166.88	369.60	928.19	1123.82
1.5	62.30	341.48	1001.95	1169.00	198.69	96.83	273.80	687.24	329.60	714.57	1803.68	2447.60
2	207.93	627.19	1849.25	2045.65	447.96	224.16	461.73	1239.04	521.60	1158.43	2749.94	4076.81
2.5	375.63	950.41	2593.54	2958.40	715.92	435.62	700.30	1853.76	677.62	1555.41	3487.41	5637.51
3	473.45	1195.50	3050.36	3676.31	887.24	775.73	894.77	2343.62	750.26	1795.89	3938.29	6722.99
4	596.72	1477.60	3582.33	4666.40	1087.89	1446.48	1055.83	2906.90	806.64	2068.24	4383.67	7937.54
5	656.14	MS	3892.62	5278.38	1191.81	1834.86	1099.04	3196.58	823.78	2236.38	4582.71	8676.49
6	703.93	1778.28	4090.01	5714.58	1253.43	2045.17	1118.23	3416.14	831.55	2368.00	4703.49	9204.47
7	743.73	1868.55	4230.26	6045.67	1298.82	2173.06	1127.20	3605.26	837.35	2469.07	4797.74	9645.30
8	775.60	1939.88	4332.47	6324.18	1328.99	2256.24	1131.47	3755.69	840.95	2553.10	4880.92	10033.03
12	854.08	2098.10	4564.01	7079.30	1386.69	MS	1139.51	4211.63	845.21	2777.56	5119.90	11110.71
24	968.26	2249.06	4759.31	7823.54	1444.71	2862.96	1146.05	4780.19	847.97	2912.86	5555.68	12647.97

MS = Muestra faltante

* Duración de la infusión = 2hr. 40 min.

FIG. 3

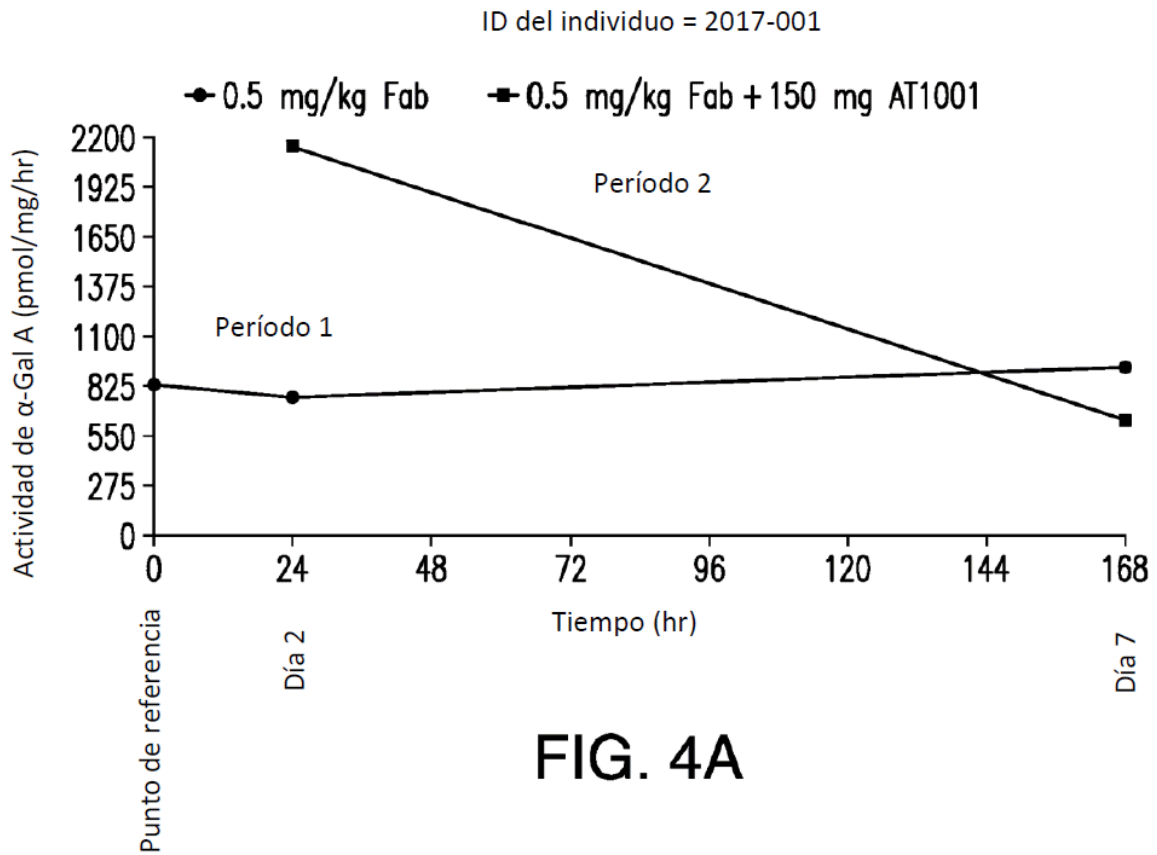


FIG. 4A

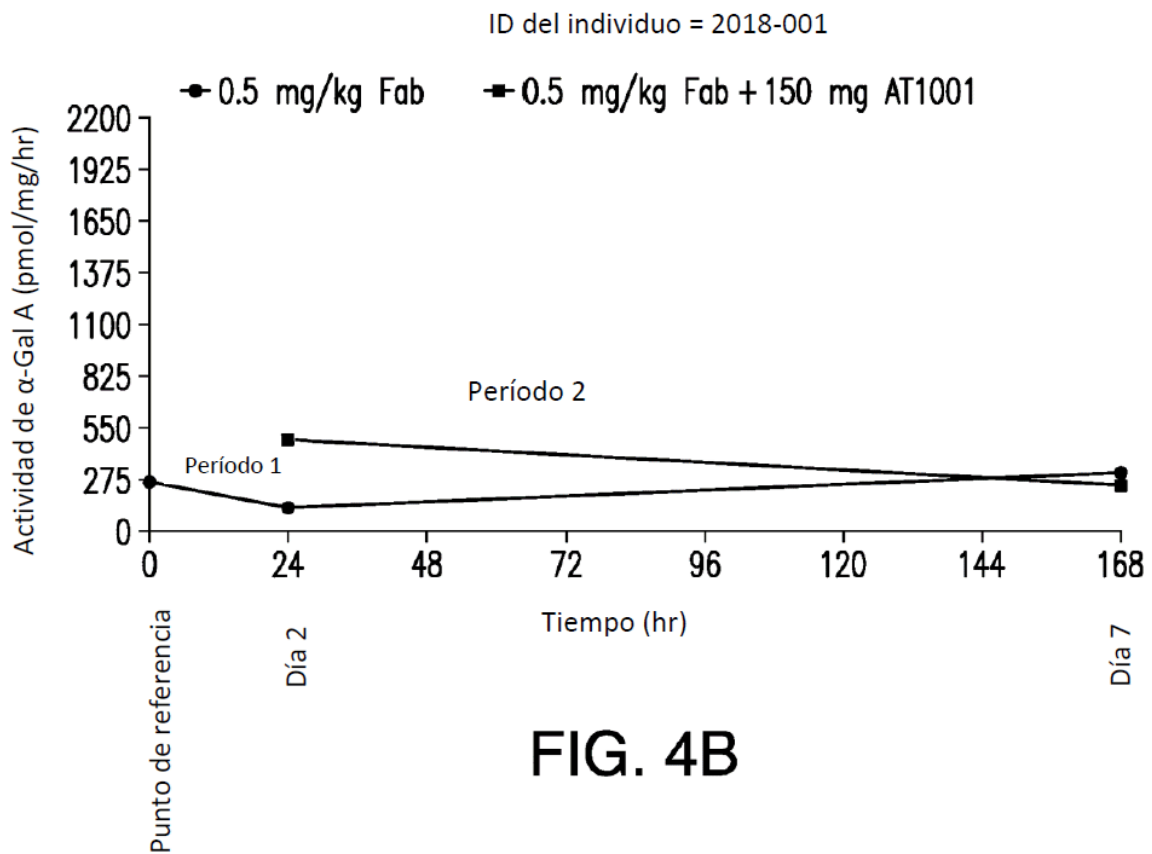


FIG. 4B

Período 2: 40 min. más extenso que la infusión de ERT; muestra del día 2 faltante

ID del individuo = 2018-003

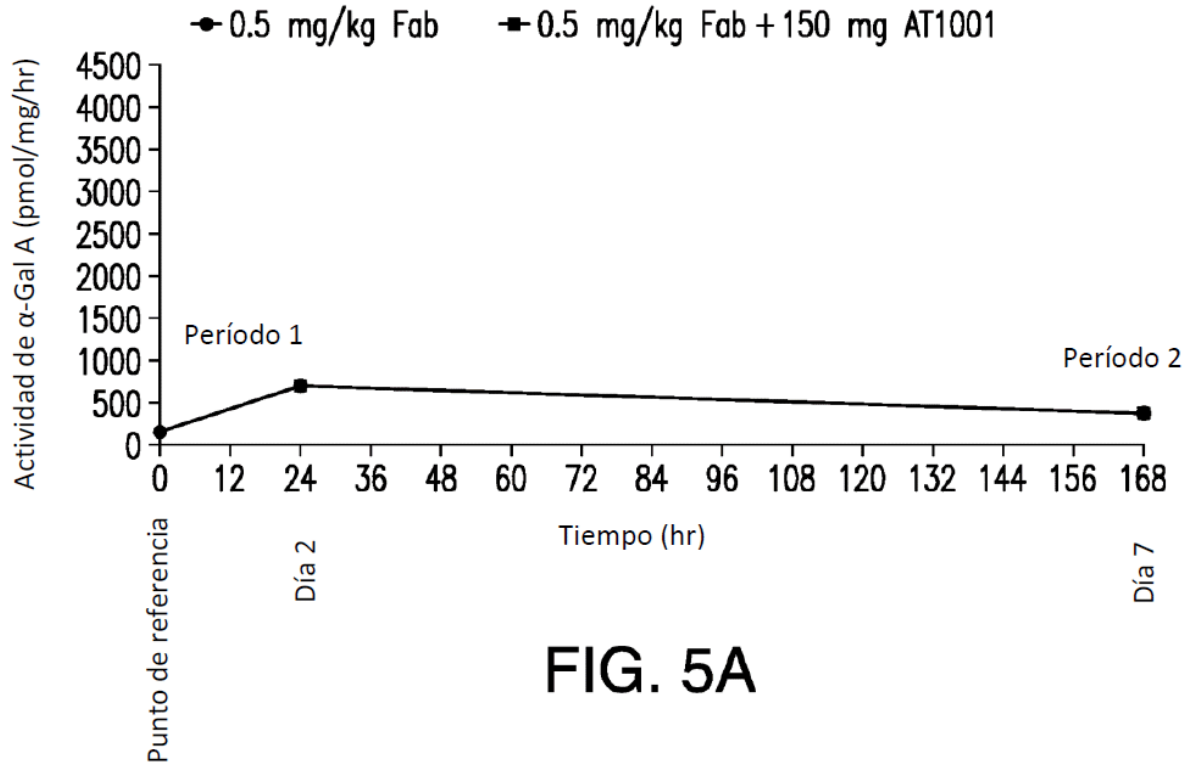


FIG. 5A

ID del individuo = 2018-004

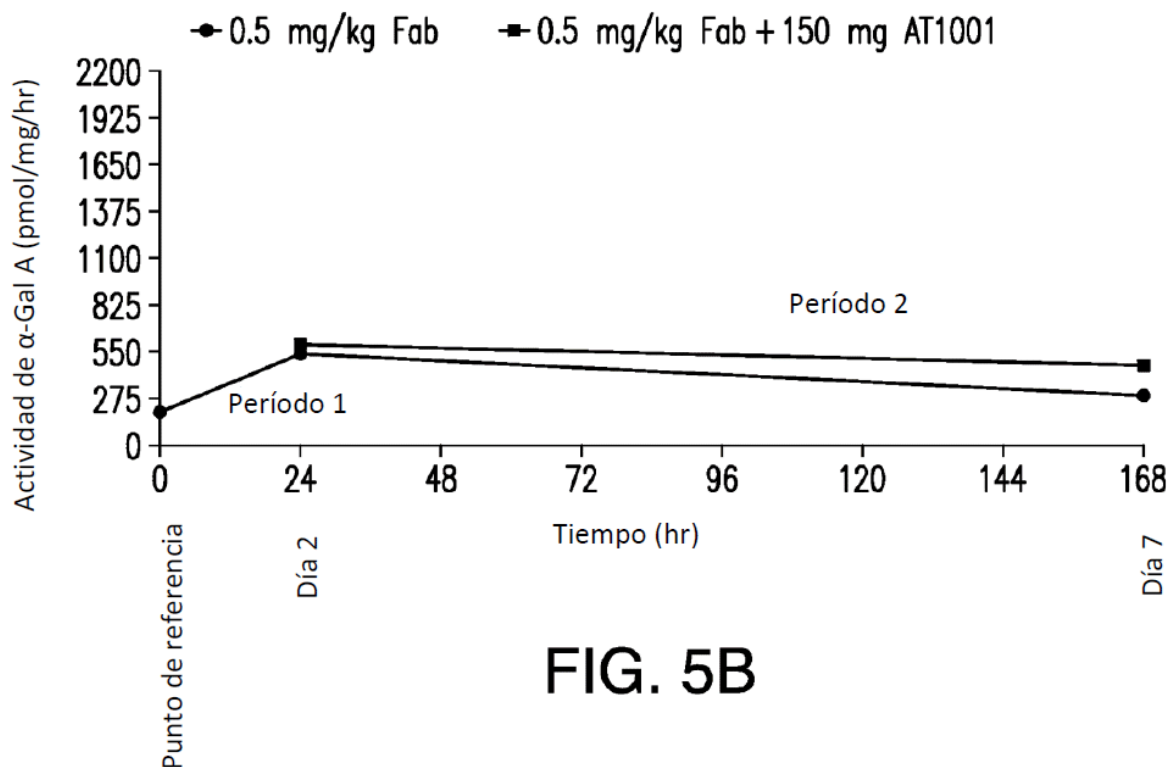


FIG. 5B

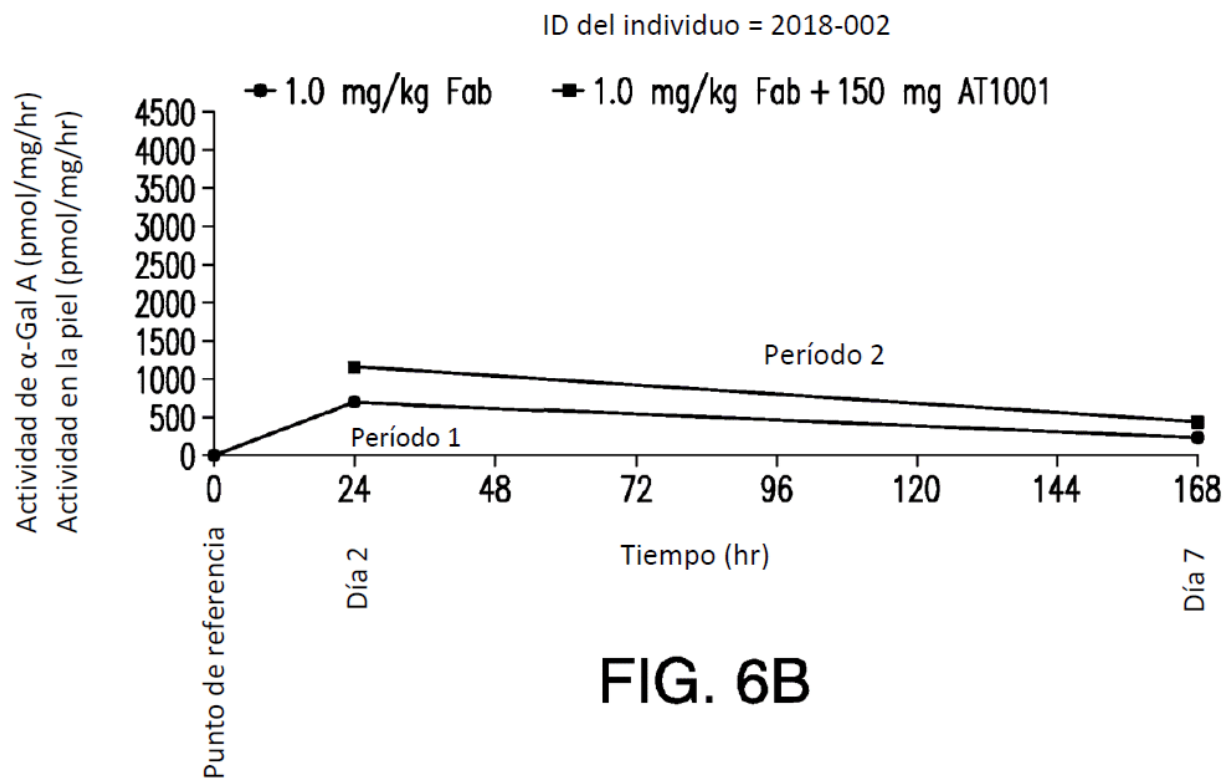
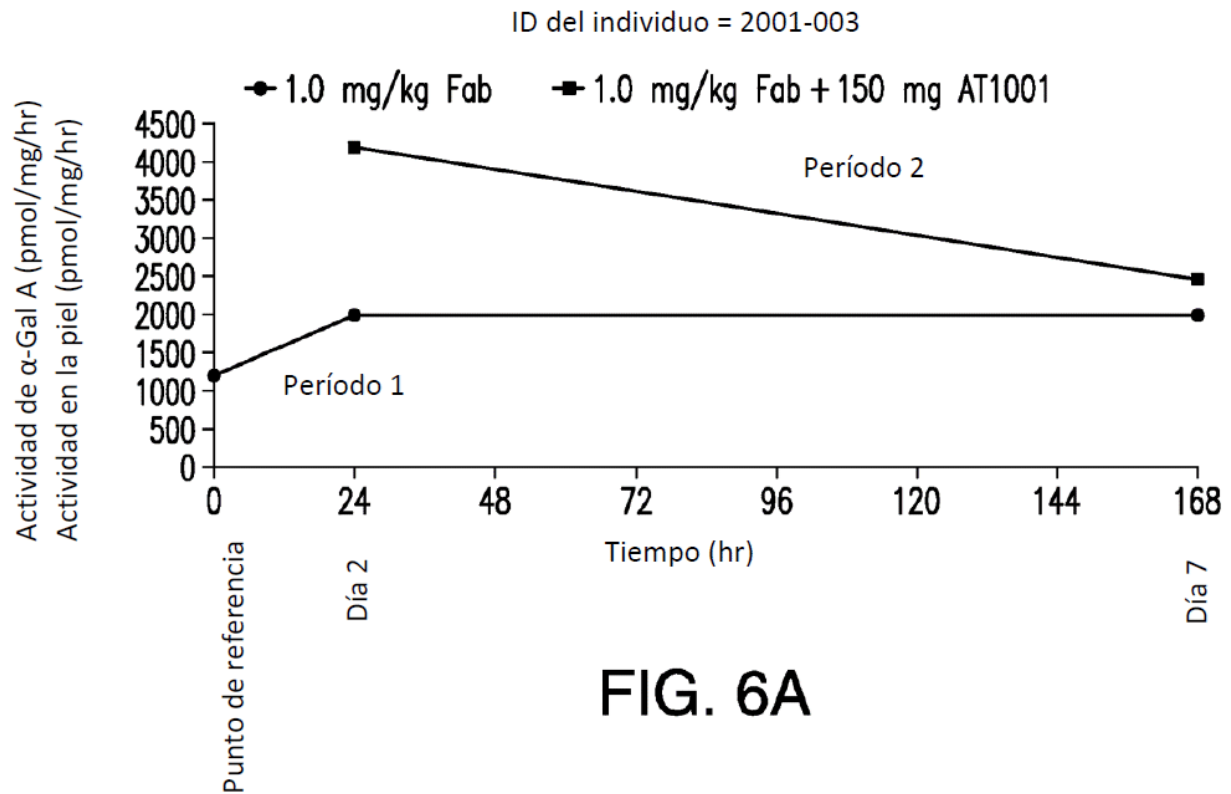


Figura 7

Período 1 en rojo, período 2 en azul

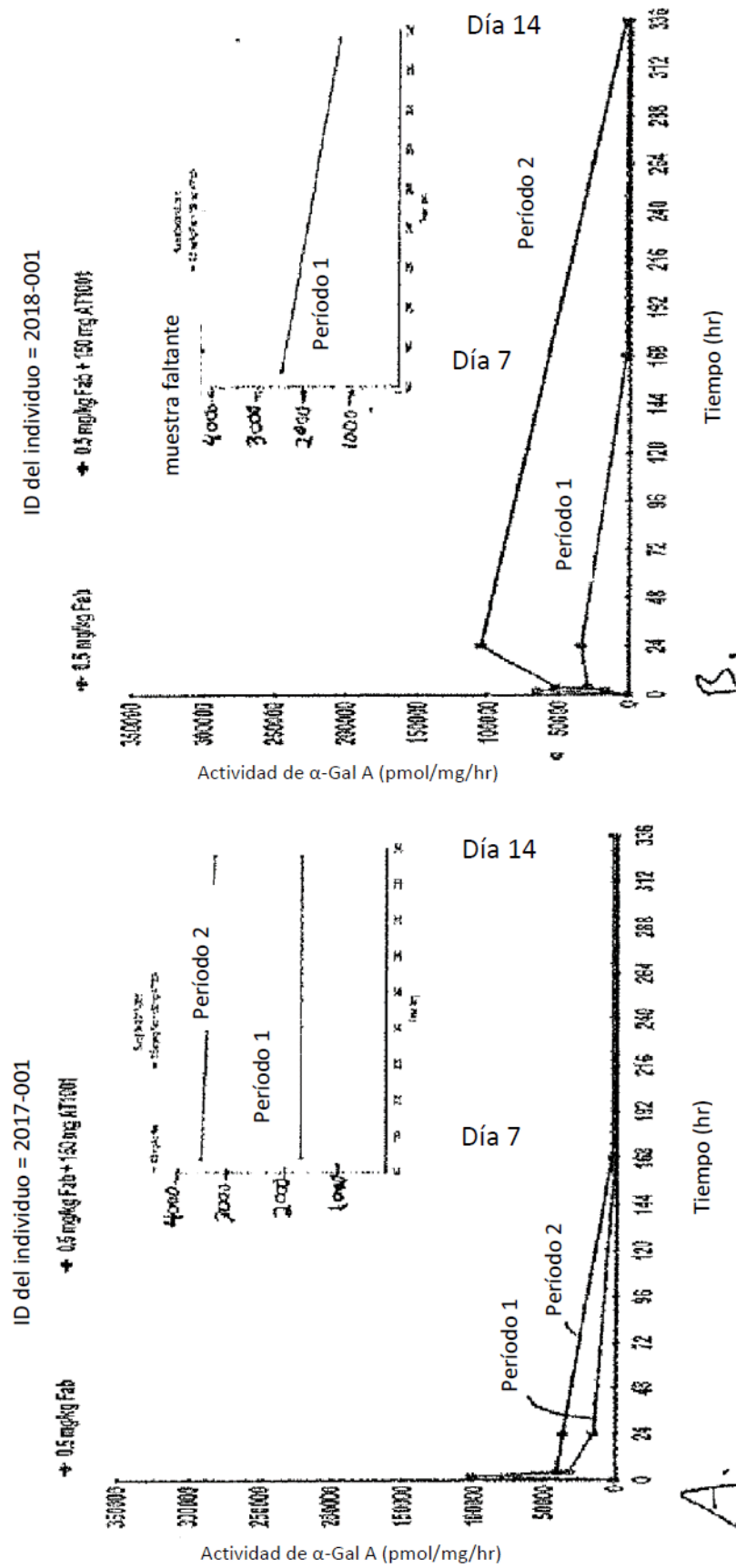


Figura 8

Período 1 en rojo, período 2 en azul

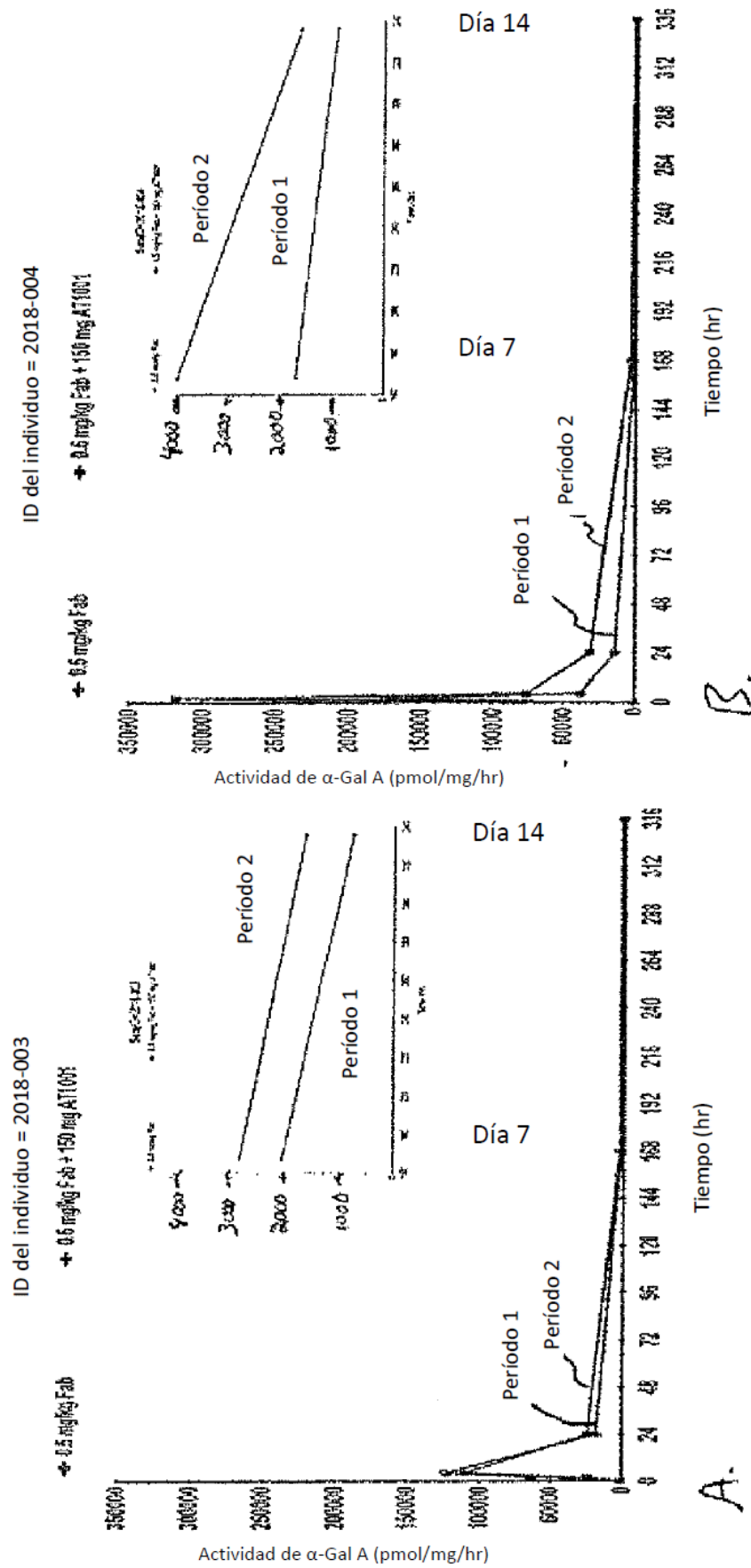
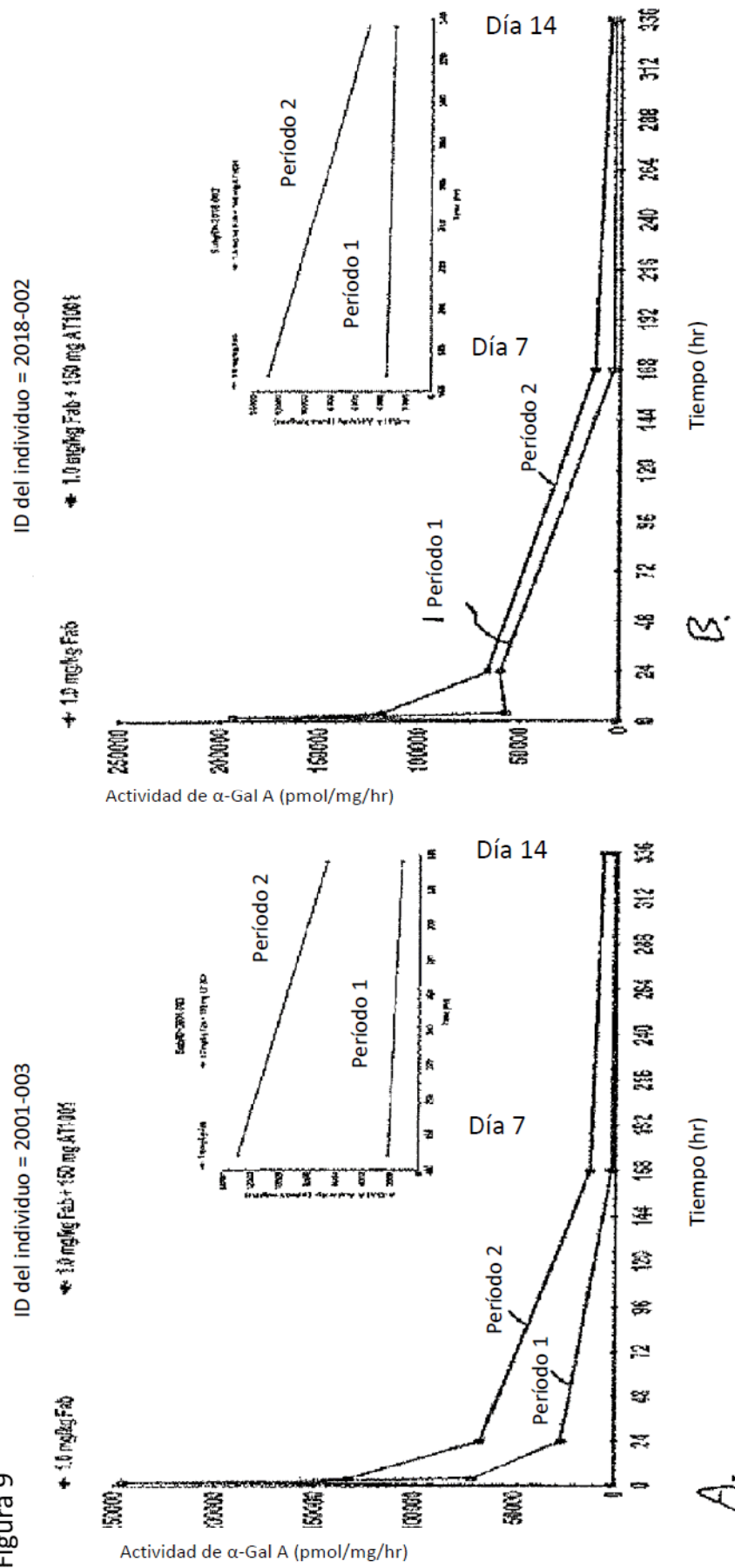


Figura 9



AT1001-013 Resumen de actividad de α-Gal A para los primeros 6 pacientes						
Día de estudio	Relación = Período 2 / Período 1 ^a					
	Relación AUC media en plasma (intervalo)		Relación α-Gal A media en la piel (intervalo)		Relación α-Gal A media en PBMC (intervalo)	
	0.5 mg/kg	1.0 mg/kg	0.5 mg/kg	1.0 mg/kg	0.5 mg/kg	1.0 mg/kg
Día 1 (0-24 hr)	3.0 (2.0-4.2)	1.9 (1.6-2.2)	-	-	-	-
Día 2 (24 hr)	-	-	2.6 (1.1-3.9)	1.9 (1.6-2.1)	2.3 (1.4-3.1)	1.8 (1.1-2.5)
Día 7 (168 hr)	-	-	1.0 (0.68-1.6)	1.5 (1.2-1.7)	2.0 (1.4-2.3)	4.8 (3.6-6.0)
Día 14 (336 hr)	-	-	-	-	2.2 (1.7-2.8)	3.5 (1.7-5.4)

Período 1 = monoterapia con agalsidasa β, período 2 = agalsidasa β + coadministración de 150 mg de AT1001

FIG. 10

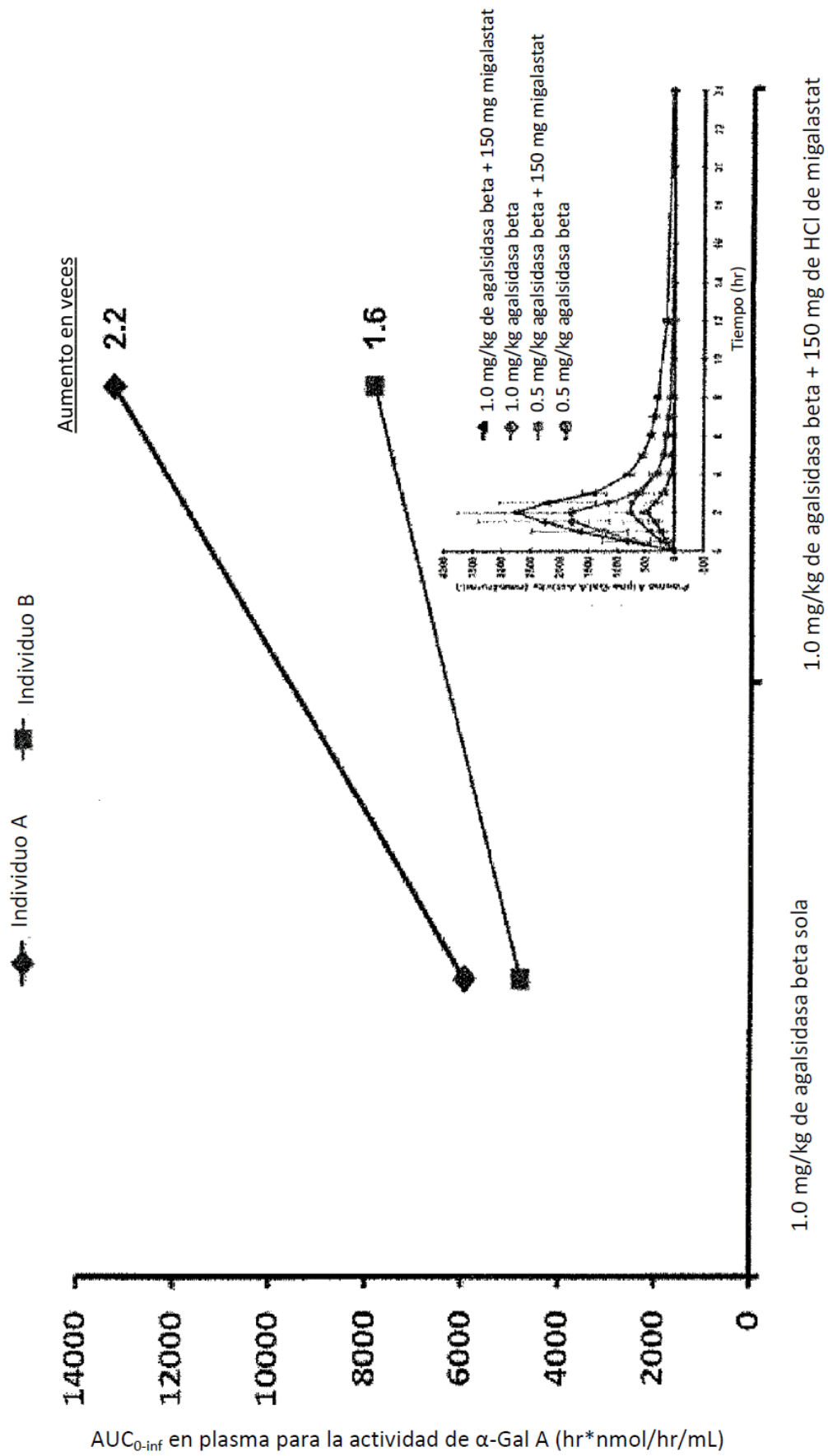
Tabla 1. Genotipos de GLA

ID del individuo	Genotipo
Individuo A	N298S
Individuo B	717delAA
Individuo C	N/A
Individuo D	Q221X
Individuo E	W236X
Individuo F	R227X
Individuo G	R227X

N/A = No disponible

FIG. 11

Figura 12



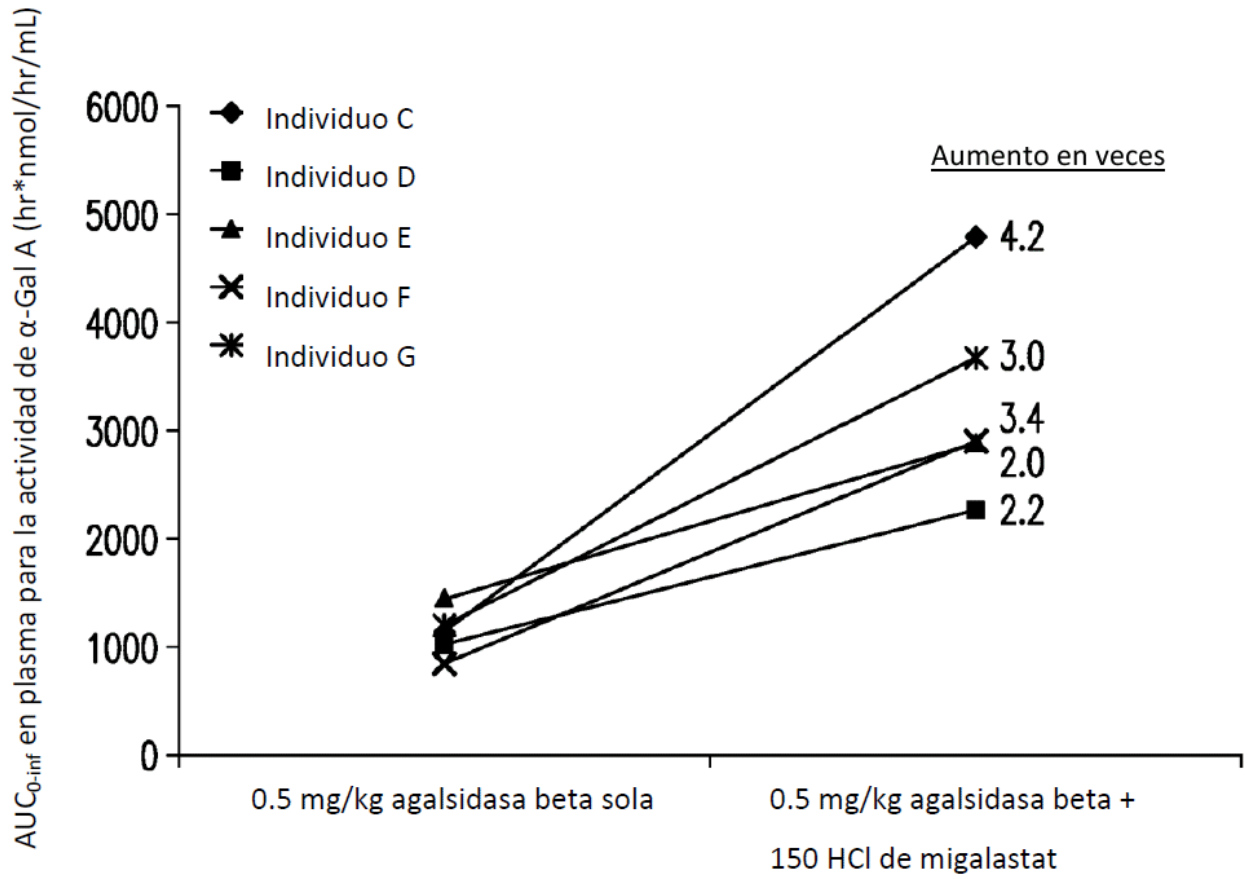
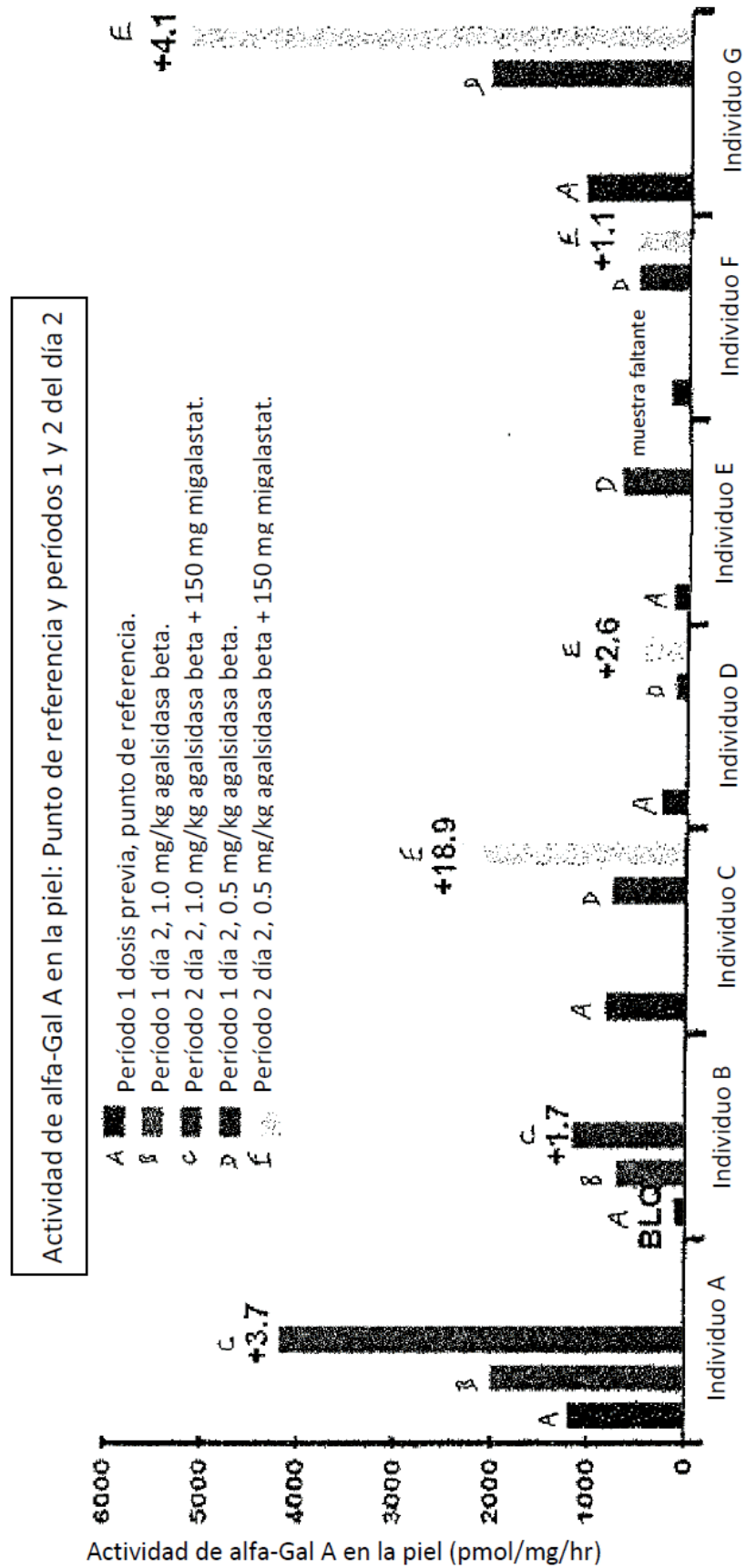


FIG. 13

Figura 14



BLQ = Debajo del límite de cuantificación; el límite inferior del intervalo analítico se utilizó como el valor del punto de referencia para el Individuo B

Figura 15

