



Recombinant Alpha-1 Antitrypsin as Dry Powder for Pulmonary Administration: A Formulative Proof of Concept

Bianchera A, Alomari E, Michielon A, Bazzoli G, Ronda N, Pighini G, Zanotti I, Giorgio C, Mozzarelli A, Bettini R, Bruno S

Pharmaceutics. 2022 Dec 8;14(12):2754. doi: 10.3390/pharmaceutics14122754

Autora del comentario: Dr. Francisco Casas Maldonado. Servicio de Neumología. Hospital Universitario Clínico San Cecilio de Granada.

Los pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y déficit de alfa-1 antitripsina (DAAT) grave, que cumplen criterios para ello, pueden beneficiarse del tratamiento de reposición con AAT por vía intravenosa (iv), mediante infusiones semanales de AAT humana purificada.

El tratamiento de reposición con AAT por vía iv plantea problemas relacionados con el suministro de plasma, la posible transmisión de patógenos, los costos de purificación y, además, la administración parenteral es invasiva y solo el 3 % de la AAT infundida llega a los pulmones.

Una estrategia de tratamiento no invasiva es la administración de AAT humana por vía inhalada, ya sea mediante nebulización o con inhaladores de polvo seco (DPI). Ambos métodos tienen ventajas y desventajas. En el caso de los aerosoles líquidos, la penetración de las partículas en las vías respiratorias, un requisito clave para el efecto terapéutico, puede ser un problema potencial. Además, durante la nebulización, las proteínas pueden desnaturalizarse e inactivarse por oxidación o agregación en la interfaz aire-líquido o por estrés mecánico y degradación térmica. Por otro lado, la producción de DPIs se lleva a cabo con frecuencia mediante procesos, como el secado por congelación o el secado por aspersión, que pueden exponer la proteína a estrés térmico y físico-químico, provocando una reducción de su actividad. Sin embargo, el uso de inhaladores de polvo seco es más aceptado, tiene una mayor adhesión al tratamiento por parte de los pacientes y, además, mejora la calidad de vida con respecto al uso de nebulizadores ya que el tiempo necesario para la administración se reduce drásticamente en comparación con la nebulización.

Existen diferentes procesos patentados para obtener DPIs con tamaño de partículas respirables adecuados para alcanzar la vía aérea. Más recientemente, Kamada (Rehovot, Israel) presentó una solicitud de patente (EP3565584) que detalla la preparación de un polvo de AAT humana inhalable mediante secado por aspersión. Sin embargo, hasta el momento, no se ha publicado ningún trabajo revisado por pares y no hay datos disponibles sobre la estabilidad y la actividad de la AAT humana en esta formulación. En particular, se sabe que la AAT humana puede ser inactivada por oxidación de la metionina en posición 342, hecho observado también en fumadores de cigarrillos con DAAT.



Los autores de este artículo investigan una estrategia alternativa del tratamiento de reposición con AAT recombinante (rAAT) de *Escherichia coli* en polvo seco producido mediante secado por aspersión, administrada por vía inhalada mediante DPI. Dado que el proceso de secado por aspersión puede ser una fuente de estrés que provoque la degradación o desnaturalización de la proteína, los investigadores han prestado especial atención al efecto de los parámetros de formulación sobre la estabilidad de la proteína, así como a los posibles mecanismos de degradación. Se produjo rAAT purificada, activa y libre de endotoxinas con altos rendimientos y se formuló utilizando L-leucina y manitol como excipientes después de identificar las condiciones de compromiso para la actividad de la proteína y el buen rendimiento aerodinámico.

La actividad de la proteína se comprobó en cada paso resuspendiendo los polvos en tampón fosfato salino (PBS), cuantificando la proteína soluble y realizando el ensayo de la enzima antielastasa. Para evitar la oxidación, la solución de proteínas se secó por aspersión usando nitrógeno como gas nebulizador. La temperatura de salida se verificó durante toda la duración del secado y se registró como 65 °C. Una atmósfera libre de oxígeno, tanto durante la formulación como durante el almacenamiento del polvo seco, ralentizó la oxidación específica de la metionina y la inactivación de la AAT.

Finalmente, para investigar el posible papel de los restos de glicano en la formulación, se aplicó el mismo enfoque de formulación a la AAT derivada de plasma y se comparó con la rAAT. La terapia de reposición mediante infusión parenteral tiene como objetivo alcanzar una concentración sérica de al menos 11 μ M, que se estima corresponde a una concentración en el líquido pulmonar epitelial de 1,7 M (8,8 mg/dL). Para conseguir dicha concentración se deben administrar unos 50 mg de polvo (2 cápsulas de 25 mg de la formulación).

Estos autores presentan un trabajo de investigación novedoso e innovador de tratamiento de reposición con rAAT de *Escherichia coli* administrada por vía inhalada mediante DPI, que podría representar una alternativa a los tratamientos actuales del DAAT, evitando su administración parenteral semanal, generalmente en hospital de día.