

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 664 624**

51 Int. Cl.:

A61K 38/57 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.02.2007 E 13195301 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.02.2018 EP 2740487**

54 Título: **Alfa-I antitripsina para tratar episodios de exacerbación de enfermedades pulmonares**

30 Prioridad:

09.02.2006 US 771465 P

16.02.2006 US 773654 P

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

20.04.2018

73 Titular/es:

KAMADA LTD. (100.0%)

7 Sapir Street, Kiryat Weizmann Science Park

74140 Ness-Ziona, IL

72 Inventor/es:

BAUER, SHABTAI

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 664 624 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).

Alfa-1 antitripsina para tratar episodios de exacerbación de enfermedades pulmonares**Descripción****5 CAMPO DE LA INVENCION**

La presente invención se refiere a la administración de alfa-1 antitripsina (AAT) de origen natural purificada para la preparación de un medicamento para el tratamiento de una exacerbación de una enfermedad pulmonar, en donde el medicamento debe administrarse por inhalación a los pulmones del sujeto durante la exacerbación.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCIONEnfermedades Pulmonares Obstructivas Crónicas (EPOC)

15 Una enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) es un estado de enfermedad caracterizado por la limitación del flujo de aire que no es completamente reversible. La limitación del flujo de aire es habitualmente progresiva y se asocia con una respuesta inflamatoria anormal del pulmón a partículas o gases nocivos. Los síntomas, anomalías funcionales y complicaciones de la EPOC pueden atribuirse a este fenómeno subyacente de respuesta inflamatoria anormal y a los procesos relacionados con la misma.

20

Las limitaciones del flujo de aire crónicas características de la EPOC son provocadas por una mezcla de enfermedad de las vías aéreas pequeñas (bronquiolitis obstructiva) y destrucción parenquimatosa (enfisema), la contribución relativa de cada una varía de persona a persona. La inflamación crónica provoca la remodelación y el estrechamiento de las vías aéreas pequeñas. La destrucción del parénquima pulmonar, también por procesos inflamatorios, lleva a la pérdida de las uniones alveolares en las vías aéreas pequeñas y disminuye el retroceso elástico del pulmón; estos cambios disminuyen la capacidad de las vías aéreas de permanecer abiertas durante la espiración.

25

Además de la inflamación, se piensa que otros dos procesos son importantes en la patogénesis de la EPOC: desequilibrio de proteinasas y antiproteinazas en el pulmón, y estrés oxidativo. Estos procesos pueden ser ellos mismos consecuencias de la inflamación, o pueden surgir de factores ambientales (por ejemplo, compuestos oxidantes en el humo del cigarrillo) o genéticos (por ejemplo, deficiencia de alfa-1 antitripsina).

30

El curso progresivo de la EPOC se complica por episodios de exacerbación que tienen muchas causas y tienen lugar con frecuencia creciente a medida que progresa la enfermedad. Las causas más comunes de una exacerbación son la infección del árbol traqueobronquial y la contaminación del aire, pero la causa de alrededor de un tercio de las exacerbaciones graves monitorizadas no se puede identificar. El efecto de las exacerbaciones puede ser más evidente en pacientes con enfermedad leve a moderada y se ha demostrado que un número creciente de exacerbaciones se correlaciona con la disminución en la transferencia de gas durante la espiración. Las exacerbaciones se pueden tratar en el hogar, pero muy a menudo requieren intervención médica y hospitalización. La mortalidad hospitalaria de los pacientes ingresados por una exacerbación de la EPOC es de aproximadamente el 10% y la supervivencia a lo largo del año es pobre. La mortalidad alcanza el 40% en un año, y las tasas son incluso más altas (hasta el 59%) para pacientes mayores de 65 años (estrategia global GOLD para diagnóstico, gestión, y prevención de EPOC, actualizado en el 2004).

35

40

45

Alpha-1 Antitripsina y Enfermedades Pulmonares

La alfa-1 antitripsina (AAT), también conocida como inhibidor de Alfa-1-Proteinasa (API) e inhibidor de Serina Proteasa, es una proteína derivada del plasma que pertenece a la familia de los inhibidores de la serina proteinasa. La AAT se sintetiza principalmente en el hígado y, en menor medida en otras células, incluyendo macrófagos, células epiteliales intestinales y células de Paneth intestinales. En el hígado, la AAT se sintetiza inicialmente como una proteína precursora de 52 kD que posteriormente se somete a glicosilación pos-traducciona en tres residuos de asparagina, así como a ulfonación de tirosina. La proteína resultante se secreta como una glucoproteína de cadena sencilla nativa de 55 kD. La AAT tiene un papel en el control de la destrucción del tejido por serina proteinasas endógenas, y es el inhibidor de la serina proteinasa más prevalente en el plasma sanguíneo. La AAT inhibe, entre otros, tripsina, quimotripsina, varios tipos de elastasas, colagenasa de la piel, renina, uroquinasa y proteasas de linfocitos polimorfonucleares

50

55

La deficiencia de AAT es una afección genética que aumenta el riesgo de desarrollar una variedad de enfermedades, incluyendo enfisema pulmonar (Laurell y Eriksson Scand J Clin lab Inves 1963. 15:132-140). Está provocado por mutaciones en el gen que codifica AAT (gen inhibidor de proteinasas (Pi)). Se han reconocido más de 100 variantes alélicas diferentes del genotipo Pi, de las cuales 34 se descubrió que estaban asociadas con una deficiencia cuantitativa o funcional de la AAT circulante. Actualmente no hay una explicación completamente aceptada para esta variación genética del gen Pi (Sandhaus RA Thorax 2004. 59:904-909).

60

65

Una de los papeles endógenos de la AAT es regular la actividad de la elastasa neutrófila, que descompone proteínas extrañas presentes en el pulmón. En ausencia de cantidades suficientes de AAT, la elastasa descompone el tejido pulmonar, que a lo largo del tiempo da como resultado un daño del tejido pulmonar crónico y enfisema. La consecuencia de los niveles bajos de AAT en el fluido del revestimiento epitelial del tracto respiratorio inferior de individuos con deficiencia de AAT es una pantalla protectora de elastasa antineutrófila insuficiente del pulmón, de manera que la elastasa neutrófila es capaz de actuar sin impedimentos para atacar y destruir las estructuras alveolares. El daño pulmonar resultante se acelera enormemente por fumar cigarrillos, y es irreversible.

Basándose en la patología de la deficiencia de AAT, se ha postulado que un desequilibrio entre proteinasas y anti-proteinasas da como resultado destrucción pulmonar, en donde el desequilibrio puede implicar o producción o actividad de proteinasas incrementadas, o inactivación o producción de anti-proteinasas reducidas. En sujetos con actividad de AAT normal, el desequilibrio puede ser una consecuencia de la inflamación inducida por la exposición por inhalación a sustancias nocivas, estrés oxidativo y posiblemente otros factores de riesgo de EPOC.

Se ha sugerido que el daño sostenido al tejido pulmonar debido al desequilibrio entre proteinasas y anti-proteinasas, incluso si es modesto, lleva al fallo de los tejidos del pulmón para eliminar la infección y engendra un ciclo de exacerbaciones repetidas y daño incremental. Este curso de eventos enfatiza la importancia de evitar las exacerbaciones repetidas, incluso de inflamación pulmonar menor. Needham y Stockley (Thorax 2004. 59:441-445) descubrieron que el 54% de los 254 pacientes con deficiencia de AAT estudiados mostraron uno o más episodios de exacerbación en 12 meses. La mayoría de los pacientes con AAT asociados con EPOC tienen de dos a tres períodos de exacerbación por año, un tercio de los cuales están asociados con infecciones virales (Anthonisen N R. N 2002. Engl J Med. 347(7):526-527; Needham, 2004, supra). Se ha demostrado que los períodos de exacerbación están correlacionados con el deterioro de la función pulmonar. Este fenómeno es totalmente consistente con el cuadro clínico observado en muchos sujetos con deficiencia de AAT, que muestran episodios repetidos de exacerbaciones del tracto respiratorio superior, infecciones pulmonares y deterioro de la función pulmonar a lo largo del tiempo.

Uso terapéutico de AAT

La AAT se utiliza actualmente terapéuticamente para el tratamiento del enfisema pulmonar en pacientes con deficiencia de AAT. La AAT purificada ha sido aprobada para terapia de reemplazo (también conocida como "terapia de aumento") en dichos pacientes.

La AAT en vía en forma de aerosol también se ha propuesto como un tratamiento para pacientes con fibrosis quística (FQ) que padecen de infecciones endobronquiales recurrentes y sinusitis. La causa principal de morbilidad y mortalidad entre pacientes con FQ son las enfermedades pulmonares. Los pacientes con FQ tienen una mutación en el gen CFTR, lo que da como resultado un mal funcionamiento de la proteína CFTR, agua defectuosa y transporte de sal y las consiguientes secreciones espesas en el pulmón. El defecto de la membrana provocado por la mutación CFTR lleva a inflamación e infección pulmonar crónica. En individuos normales, la elastasa secretada por neutrófilos en respuesta a la infección es neutralizada por la AAT. Se sabe que la AAT penetra en el tejido pulmonar y ejerce su actividad dentro de este tejido. En pacientes con FQ, sin embargo, la respuesta inflamatoria no regulada sobrepasa el equilibrio de proteasa (elastasa)/antiproteinasa (AAT) normal. El ciclo anormal se auto-perpetúa destructivamente y lleva a la acumulación de elastasa en el pulmón y, en última instancia, a daño de los tejidos, destrucción de la arquitectura pulmonar, disfunción pulmonar severa y, en última instancia, la muerte. La AAT suplementaria puede reducir los efectos nocivos asociados con cantidades excesivas de elastasa. Se ha demostrado recientemente que la inhalación de AAT por pacientes con FQ aumentó los niveles de AAT y disminuyó los niveles de actividad de elastasa, neutrófilos, citoquinas proinflamatorias y números de Pseudomonas, pero no tuvo efecto sobre la función pulmonar (La AAT suplementaria puede reducir los efectos nocivos asociados con cantidades excesivas de elastasa. Se ha demostrado recientemente que la inhalación de AAT por pacientes con FQ aumentó los niveles de AAT y los niveles de actividad de elastasa, neutrófilos, citoquinas proinflamatorias y números de Pseudomonas, pero no tuvo efecto sobre la función pulmonar (Matthias G. et al., ERJ Express. 2006. DOI: 10.1183/09031936.00047306).

La solicitud internacional WO 2005/027821 del solicitante de la presente invención enseña una nueva composición de alfa-1 antitripsina (AAT) purificada, estable, activa para administración intravenosa e inhalación, un proceso para su preparación y su uso para tratar enfermedades pulmonares, incluyendo enfisema pulmonar y pulmón enfermedad o trastorno pulmonar asociado a FQ.

La AAT se administra actualmente de manera intravenosa. Por ejemplo, Aralast®, Zemaira®, Prolastin®, Trypsone® y Alfalastinbrands de AAT humana son formulaciones intravenosas indicadas para la terapia de aumento en pacientes que tienen deficiencia congénita de AAT con enfisema clínicamente evidente.

La WO 2005/048985 divulga composiciones que comprenden API, y métodos de uso de las composiciones para tratar una variedad de enfermedades pulmonares. Las composiciones comprenden, además de API, un carbohidrato estabilizante, un surfactante y un antioxidante para estabilizar la API para uso como un agente

terapéutico. Las formulaciones se pueden preparar tanto como líquidos como sólidos y se administran por nebulización de la formulación líquida o por conversión de la formulación de polvo seco en un aerosol.

5 La WO 2005/086915 abarca métodos y composiciones para el tratamiento y prevención de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) o enfisema, típicamente enfisema inducido por fumar. Se divulga el tratamiento y la prevención de EPOC o enfisema por inhalación de alfa-1-antitripsina (ATT).

10 Hubbard et al. (1989, Annals of Internal Medicine, 111(3): 206-212) examinaron la administración en aerosol a corto plazo de API purificada de plasma humano a pacientes con deficiencia de API. Se demostró que la administración de API en aerosol es segura y da como resultado un regreso a la normalidad de las defensas anti-neutrófilo-elastasa en el tracto respiratorio inferior. Hubbard et al. concluyeron que el enfoque de aerosol merece una evaluación a largo plazo sería como una alternativa a otras formas parenterales de administración de proteínas terapéuticas.

15 Brand et al. (2002; Exp. Lung. Res. 28(1)39-54) examinan el depósito regional de partículas de aerosol. Se usaron las técnicas de depósito regional derivado de la depuración (CRD) y depósito regional de respiración única (SBRD) para medir el depósito torácico y diferenciar entre depósito crónico y alveolar. El depósito se midió en pacientes con deficiencia de AAT y síntomas de enfermedades pulmonares obstructivas crónicas (EPOC) moderadas a graves.

20 Hansen et al. (1995; Respiration 62(3): 117-124) examinaron el potencial terapéutico del inhibidor de alfa-1 proteinasa, administrado por inhalación, en el tratamiento de la fibrosis quística (FQ). Las interacciones *in vitro* del inhibidor de la alfa-1 proteinasa exógena con muestras de esputo de FQ se midieron cuantitativamente con respecto a las actividades de la elastasa de los neutrófilos (NE) y los inhibidores de alfa-1 proteinasas. Se concluyó que la inhalación del inhibidor de alfa-1 proteinasa podría inhibir eficazmente tanto la actividad del NE como la hipersecreción de la glándula de las vías aéreas en las vías aéreas de la FQ.

25 Brand et al. (2003; Eur Respir J22(2): 263-267) compararon la eficacia de cuatro dispositivos de inhalación comerciales diferentes en la administración de API para el pulmón de pacientes con deficiencia de API hereditaria. Los cuatro dispositivos se usaron con una preparación de API comercial (Prolastin). Se observaron diferencias significativas en el tiempo requerido para depositar 50 mg de prolantina (5% de solución) en la periferia del pulmón.

35 Aunque el uso de la terapia de aumento ha contribuido indudablemente al bienestar y la calidad de vida mejorada de los sujetos con deficiencia de AAT, aún existen serios problemas en la gestión de la enfermedad. Además de la incertidumbre de la eficacia de la terapia, existe una disponibilidad limitada de AAT, particularmente dado que el uso del reemplazo intravenoso requiere cantidades relativamente grandes de la proteína. La terapia de aumento puede dar como resultado una reducción de la frecuencia y la gravedad de los períodos de exacerbación como resultado de moderar la disminución de la función pulmonar en ciertos pacientes; sin embargo, no proporciona los medios adecuados para tratar pacientes con deficiencia de AAT durante el período de exacerbación.

40 Se ha demostrado que en la mayoría de los casos la morbilidad que experimentan los pacientes con deficiencia de AAT es principalmente el resultado de la exacerbación en lugar de la misma enfermedad. Por lo tanto, hay una considerable necesidad clínica de un tratamiento que pueda proporcionar una respuesta adecuada a la afección del paciente, en lugar de simplemente proporcionar tratamiento sintomático y prevenir la disminución potencialmente acelerada de la salud de los pacientes debido a la exacerbación.

45 La organización GOLD (Global Initiative for Chronic, Obstructive, Lung Disease) ha emitido recomendaciones sobre la gestión de enfermedades de EPOC en general, que incluyen, entre otros, la prevención y el tratamiento de los episodios de exacerbación.

50 Por lo tanto, hay una necesidad no satisfecha, y sería muy ventajoso tener medios para tratar enfermedades pulmonares durante los períodos de exacerbación, en sujetos con deficiencia de AAT así como en sujetos que producen AAT normal.

SUMARIO DE LA INVENCION

60 La presente invención se refiere al uso de una α -1 antitripsina (AAT) de origen natural purificada para la preparación de un medicamento para tratar una exacerbación de una enfermedad pulmonar, en donde el medicamento debe administrarse por inhalación a los pulmones del sujeto durante la exacerbación

65 La presente invención divulga por primera vez que los periodos de exacerbación de enfermedades pulmonares pueden tratarse eficazmente administrando a los pulmones de un sujeto con necesidad de ello una cantidad terapéuticamente eficaz de AAT, particularmente administrando la AAT por inhalación. La inhalación de

AAT puede administrarse como la única terapia, o adicionalmente a la terapia de aumento de AAT intravenosa.

5 Por lo tanto, de acuerdo con un aspecto, la presente invención proporciona el uso de una alfa-1 antitripsina (AAT) de origen natural purificada para la preparación de un medicamento para tratar una exacerbación de una enfermedad o trastorno pulmonar, en donde el medicamento debe administrarse a los pulmones del sujeto por inhalación durante la exacerbación.

10 De acuerdo con ciertas realizaciones, la enfermedad o trastorno pulmonar se selecciona del grupo que consiste en enfisema, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), bronquiectasias, (dilatación crónica de los tubos bronquiales), enfermedades o trastornos pulmonares parenquimatosos y fibróticos incluyendo fibrosis quística, fibrosis pulmonar intersticial y sarcoidosis, tuberculosis y enfermedades pulmonares secundarias al VIH.

15 De acuerdo con otras realizaciones, la enfermedad o trastorno pulmonar está asociado a la deficiencia de AAT. De acuerdo con una realización, la enfermedad pulmonar es enfisema congénito.

20 De acuerdo con ciertas realizaciones, la AAT se purifica a partir de una mezcla parcialmente purificada de proteínas por un proceso que comprende cromatografía en una pluralidad de resinas de intercambio iónico, como se divulga en la Solicitud Internacional WO 2005/027821 del solicitante de la presente invención. Como se divulga en esa invención, la AAT se purifica preferiblemente a partir de una mezcla parcialmente purificada de proteínas mediante un proceso que comprende cromatografía en por lo menos dos resinas de intercambio aniónico y por lo menos una resina de intercambio catiónico.

25 De acuerdo con una realización la AAT purificada tiene por lo menos un 90% de pureza. De acuerdo con realizaciones preferidas la AAT purificada es por lo menos un 95%, más preferiblemente por lo menos un 99% pura. De acuerdo con algunas realizaciones, por lo menos el 90% de la AAT está en su forma activa.

30 De acuerdo con ciertas realizaciones, la AAT se formula para formar una composición farmacéutica en la forma de una solución acuosa. De acuerdo con otra realización, la composición farmacéutica está en la forma de un polvo. De acuerdo con una realización adicional, la composición farmacéutica está desprovista de un estabilizador. De acuerdo con una realización actualmente preferida, la composición farmacéutica que comprende la AAT purificada está en la forma de una solución estéril acuosa lista para su uso. El pH de la composición puede estar en el intervalo de 6.5-7.5.

35 La presente invención se basa en parte en el descubrimiento de que la administración pulmonar de AAT es eficiente y efectiva para tratar enfermedades pulmonares en general, y exacerbaciones de los síntomas respiratorios en particular. Sin desear estar sujeto a ninguna teoría o mecanismo de acción en particular, esta eficacia puede atribuirse a la administración directa de AAT a su sitio de acción, de manera que se alcancen fácilmente cantidades efectivas de la AAT activa en este sitio para superar el desequilibrio agudo en la proporción de proteinasa/antiproteinasa desarrollada durante el período de exacerbación.

40 Para administrarse por inhalación, la AAT se administra convenientemente en forma de spray en aerosol, a partir de un paquete presurizado o un nebulizador. La formulación en forma de aerosol de AAT puede estar en forma de polvo seco, puede ser una solución, suspensión o lechada espesa para ser nebulizada, o puede estar en una mezcla con un propelente altamente volátil de bajo punto de ebullición, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano o dióxido de carbono. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse proporcionando un aparato que comprende una válvula para administrar una cantidad medida. La AAT puede administrarse en forma de un aerosol producido nebulizando una composición líquida esterilizada lista para su uso que comprende AAT activa, altamente pura.

50 Pueden usarse varios tipos de nebulizadores para formar un aerosol que contiene AAT, siempre que el nebulizador pueda administrar cantidades suficientemente altas de AAT activa para ejercer su actividad terapéutica.

55 Preferiblemente, la actividad de AAT después de la nebulización permanece por encima del 90% de su actividad antes de la nebulización y no se forman dímeros, oligómeros o agregados en el aerosol de AAT como resultado del proceso de nebulización. Adicionalmente, las gotitas de aerosol grandes tienden a depositarse principalmente en la laringe y las vías aéreas superiores. Para la captación máxima en las regiones pulmonares periféricas, incluyendo los alvéolos pulmonares, el diámetro del radián másico de las gotitas (calculado a partir de la distribución del tamaño de gotita determinada por mediciones de difracción láser), debe ser inferior a 5 µm.

60 La AAT activa purificada proporcionada por el Solicitante de la presente invención es altamente adecuada para su uso con medios de nebulización. Adicionalmente, una formulación líquida es conveniente y proporciona precisión de dosificación mejorada en comparación con los productos liofilizados.

65 De acuerdo con una realización, la composición farmacéutica líquida que contiene AAT es una composición líquida lista para su uso. La composición líquida puede obtenerse reconstituyendo una preparación en polvo de AAT

en un medio líquido. De acuerdo con una realización actualmente preferida, la composición líquida es una composición líquida lista para su uso, que comprende una AAT estable, purificada.

5 La concentración de AAT en la composición farmacéutica puede estar en el intervalo de 5 a 100 mg/ml (0,5-10% en peso/volumen, p/v). De acuerdo con realizaciones adicionales, por lo menos el 50% de la dosis nominal cargada de AAT puede administrarse al sujeto. Preferiblemente, se administra al sujeto el 60%, y más preferiblemente el 70% o más de la AAT.

10 De acuerdo con una realización, el sujeto es un sujeto humano. El sujeto humano puede ser un adulto, un niño o un bebé.

15 La frecuencia del tratamiento con AAT y la duración de cada inhalación dependerán tanto de las características del individuo tratado (edad, peso, etc.) así como de las características de la enfermedad pulmonar a ser tratada. La duración de la inhalación puede ser de aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 15 minutos, preferiblemente de aproximadamente 10 minutos. El tratamiento puede administrarse por lo menos una vez a la semana durante la exacerbación, por lo menos dos veces a la semana, preferiblemente por lo menos una vez al día, más preferiblemente por lo menos dos veces al día durante la exacerbación.

20 La AAT puede administrarse durante un episodio de exacerbación de acuerdo con las enseñanzas de la presente invención en combinación con por lo menos una terapia adicional. La terapia adicional puede seleccionarse del grupo que consiste de terapia con antibióticos, administración de broncodilatadores y terapia antiinflamatoria distinta a la terapia con AAT. Alternativamente, la terapia adicional es administración intravenosa de AAT.

25 Otras realizaciones de la presente invención se exponen en las reivindicaciones acompañantes.

Estos y otros objetos, características y ventajas de la presente invención quedarán claros a partir de la siguiente descripción.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

30 Definiciones

35 Como se usa en la presente, el término "Alfa-1 Antitripsina" (AAT) se refiere a una glicoproteína producida por el hígado y secretada en el sistema circulatorio. La AAT pertenece a la familia del Inhibidor de Serina Proteinasa (Serpín) de inhibidores proteolíticos. Esta glicoproteína consiste en una única cadena de polipéptidos que contiene un residuo de cisteína y un 12-13% del peso molecular total de carbohidratos. La AAT tiene tres sitios de N-glicosilación en los residuos de asparagina 46, 83 y 247, que están ocupados por mezclas de glucanos bi- y triantenarios complejos. Esto da lugar a múltiples isoformas de AAT, que tienen un punto isoelectrónico en el intervalo de 4,0 a 5,0. Los monosacáridos de glicano incluyen N-acetilglucosamina, manosa, galactosa, fucosa y ácido siálico. La AAT sirve como un pseudo-sustrato para la elastasa; La elastasa ataca el giro del centro reactivo de la molécula de AAT escindiendo el enlace entre los residuos de metionina³⁵⁸ - serina³⁵⁹ para formar un complejo AAT-elastasa. Este complejo se elimina rápidamente de la circulación sanguínea. La AAT también se conoce como "Inhibidor de la Alfa-1 Proteinasa " (API). El término "glicoproteína" como se usa en el presente documento se refiere a una proteína o péptido ligado covalentemente a un carbohidrato. El carbohidrato puede ser monomérico o estar compuesto de oligosacáridos.

50 Como se usa en la presente, los términos "exacerbación", "período de exacerbación" y "episodio de exacerbación" se usan indistintamente para describir un aumento en la gravedad de los síntomas durante el curso de una enfermedad, que se asocia principalmente con un empeoramiento de la calidad de vida. Las exacerbaciones son bastante frecuentes en pacientes con enfermedades pulmonares crónicas en general y en pacientes con deficiencia de AAT en particular. Por definición, las exacerbaciones están empeorando y/o aumentan la gravedad y/o la magnitud de los síntomas de la enfermedad pulmonar.

55 Como se usa en la presente, el término "enfermedad pulmonar obstructiva crónica" abreviada "EPOC", se refiere a un estado de enfermedad caracterizado por la limitación del flujo de aire que no es completamente reversible. La limitación del flujo de aire es habitualmente tanto progresiva como asociada a una respuesta inflamatoria anormal de los pulmones a partículas o gases nocivos. La EPOC es la cuarta causa de muerte en América, y cobró la vida de 120.000 americanos en el 2002, con el tabaquismo siendo un factor de riesgo principal. Se considera un diagnóstico de exacerbación de la EPOC cuando aumenta la disnea, aumenta el volumen de esputo y aumenta la purulencia del esputo. La gravedad de una exacerbación se puede cuantificar evaluando la magnitud de estos tres síntomas (Dewan NA 2002. Chest 122: 1118-1121).

65 Los términos "tratar" y "tratando" incluyen aliviar, mejorar, detener, restringir, ralentizar o revertir la progresión, o reducir la gravedad de las afecciones patológicas descritas anteriormente.

Los términos "administración pulmonar" y "administración respiratoria" se refieren a la administración de AAT a un sujeto por inhalación a través de la boca y a los pulmones.

5 Como se usa en la presente, los términos "fibrosis quística" o "FQ" se refieren a un trastorno recesivo autosómico heredado provocado por mutaciones en el gen que codifica el canal de cloruro del regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR).

10 El término "enfisema" como se usa en la presente se refiere a una afección patológica de los pulmones en la que hay una disminución de la función respiratoria y a menudo disnea debido a un aumento anormal en el tamaño de los espacios aéreos, provocado por la expansión irreversible de los alvéolos y/o por la destrucción de las paredes alveolares por la elastasa de los neutrófilos.

15 El término "bronquiectasia" se refiere a un trastorno congénito o adquirido asociado con una dilatación bronquial anormal con destrucción de la pared bronquial e inflamación transmural. El descubrimiento funcional más importante de la anatomía de las vías aéreas alteradas es la depuración severamente deteriorada de las secreciones del árbol bronquial.

20 Como se usa en la presente, el término "sarcoidosis" se refiere a una enfermedad caracterizada por la formación de lesiones granulomatosas que aparecen especialmente en el hígado, los pulmones, la piel y los ganglios linfáticos.

"Tuberculosis" o "TB" como se usa en la presente se refiere a la enfermedad provocada por la bacteria *Mycobacterium tuberculosis*. La TB es una infección bacteriana crónica, por vía aérea.

25 La presente invención se refiere al uso de alfa-1-antitripsina de origen natural purificada para la preparación de un medicamento para tratar episodios de exacerbación de enfermedades pulmonares, en donde el medicamento se va a administrar por inhalación a los pulmones de un sujeto durante la exacerbación. Como se describe en la presente, pueden tratarse las exacerbaciones de varias enfermedades pulmonares, que pueden estar asociadas o no con la deficiencia de AAT, teniendo cada una sus propios síntomas y características. Sin embargo, en la mayoría de los casos, los episodios de exacerbación están asociados con inflamación, que a su vez, puede provocar un desequilibrio entre las proteinasas y las anti-proteinasas, llevando a la destrucción de la matriz pulmonar. La AAT administrada directamente al pulmón de acuerdo con las enseñanzas de la presente invención puede superar el desequilibrio de proteinasa (elastasa)/antiproteinasa (AAT), evitando de esta manera el daño provocado a los pulmones. Tal desequilibrio puede ser el resultado de deficiencia congénita en AAT, o en sujetos no deficientes donde el desequilibrio se debe a una inflamación grave que puede regularse sólo por inserción externa de cantidades mayores de antiproteinasa (AAT).

Enfisema y deficiencia de AAT

40 El enfisema es una afección patológica de los pulmones marcada por un aumento anormal en el tamaño de los espacios aéreos, lo que da como resultado una respiración extenuante y una mayor susceptibilidad a la infección. Puede estar provocado por la expansión irreversible de los alvéolos o por la destrucción de las paredes alveolares. Debido al daño provocado al tejido pulmonar, se pierde la elasticidad del tejido, lo que lleva a aire atrapado en los alvéolos pulmonares y al deterioro en el intercambio de oxígeno y dióxido de carbono. A la luz del fallo de las paredes, se pierde el soporte de las vías aéreas, llevando a la obstrucción en el flujo de aire. El enfisema y la bronquitis crónica coexisten frecuentemente juntos para comprender la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). El enfisema congénito, también conocido como deficiencia de Alfa-1 Antitripsina (AAT) o enfisema hereditario es un trastorno genético que aumenta el riesgo de desarrollar una variedad de enfermedades incluyendo enfisema pulmonar y cirrosis hepática. Está provocado por una mutación en el gen que codifica la glicoproteína alfa-1-antitripsina de 52 kDa, el principal inhibidor de serina proteinasa del cuerpo o serpina. Este gen está localizado en el brazo largo del cromosoma 14 del genoma humano. La deficiencia genética puede dar como resultado una enfermedad hepática potencialmente mortal en niños y adultos o en enfermedad pulmonar en adultos. En su forma clásica, una mutación hereditaria del gen de AAT provoca una acumulación anormal de AAT dentro de los hepatocitos del hígado. El hígado es la principal fuente de AAT circulante y este problema de transporte lleva a niveles bajos de AAT en la sangre y el tejido. Existen varias mutaciones del gen de AAT, la mayoría de ellas están asociadas con la deficiencia en la AAT circulante. Algunos genotipos llevan a la producción de proteínas disfuncionales que aumentan el riesgo de enfisema, pero se liberan a un nivel normal a la circulación.

60 Se ha estimado que en los US solamente, hay aproximadamente 100.000 individuos severamente deficientes y aproximadamente 25 millones de portadores de por lo menos un gen deficiente para AAT, y se ha sugerido un número similar para la población europea (Sandhaus 2004, *supra*). El modelo de patogénesis de la proteinasa clásico del enfisema congénito se basó en la incapacidad del cuerpo para neutralizar la actividad enzimática relacionada con la elastasa, la elastasa siendo liberada de los leucocitos polimorfonucleares atraídos por los alvéolos pulmonares durante las infecciones. En base a la naturaleza del evento desencadenante y la fisiología celular de la AAT como un inhibidor de elastasa, se ha sugerido recientemente que la AAT también funciona como

un reactivo de fase aguda: durante períodos de exacerbación, particularmente exacerbaciones relacionadas con infecciones pulmonares, se requieren niveles más altos de inhibidores de enzimas circulantes, y estos se suministran por inducción de reactivos de fase aguda, entre los cuales la AAT es prominente.

5 Fibrosis quística

El defecto de la membrana provocado por la mutación de CFTR provoca inflamación e infección pulmonar crónica. La infección respiratoria inferior crónica provoca una respuesta inflamatoria persistente en las vías aéreas, dando como resultado una enfermedad obstructiva crónica. A medida que disminuyen las reservas pulmonares, los
10 pacientes con FQ se vuelven propensos a episodios de exacerbación, caracterizados por empeoramiento de los síntomas de infección respiratoria, particularmente por *Pseudomonas aeruginosa*, acompañados de una disminución aguda de la función pulmonar.

La pérdida de la función pulmonar es una causa principal de muerte en pacientes que padecen fibrosis
15 quística. Los pacientes con un Volumen Espiratorio Forzado en un segundo (FEV1) por debajo del 30% de su valor predicho tienen una mortalidad a los 2 años de más del 50%. La tasa de mortalidad actual es de 1,2 muertes por cada 100 pacientes por año; la supervivencia mediana es de 32 años. De las muertes en las que se especificó un caso, el 94% eran debidas a insuficiencia cardiorrespiratoria. La insuficiencia respiratoria se caracteriza por disnea aumentada, hipoxemia y elevación de PCO₂ arterial. Durante su vida, los pacientes con FQ están restringidos en sus
20 actividades diarias debido a función pulmonar reducida e infecciones pulmonares constantes como resultado de su afección.

Uno de los principales efectos secundarios de la infección crónica asociada a FQ es la presencia crónica de
25 neutrófilos fagocíticos en los pulmones en respuesta a infecciones bacterianas y la liberación de varios quimioatrayentes. Estos leucocitos secretan elastasa, que tiene el potencial de destruir el tejido elástico del pulmón. Adicionalmente, se ha demostrado que los neutrófilos de pacientes con FQ están en un estado de capacidad de respuesta aumentada y tienden a desgranularse más fácilmente, liberando elastasa que destruye los tejidos. Por tanto, los pacientes con FQ parecen tener un estado de respuesta inflamatoria no regulada, que supera el equilibrio de proteasa (elastasa)/antiproteasa (AAT) normal, lo que lleva a la acumulación de elastasa en el
30 pulmón y finalmente a daño tisular.

Estudios previos han demostrado que gran parte del daño pulmonar en la FQ es resultado de la presencia
35 de elastasa y otras proteasas no neutralizadas. El ciclo anormal se auto-perpetúa destructivamente y se expande por sí mismo: el aumento de elastasa conduce al reclutamiento de más neutrófilos al pulmón que a su vez secretan proteasas adicionales. Este ciclo supera aún más el equilibrio natural de la proteasa (elastasa) / antiproteasa que conduce a la destrucción de la arquitectura pulmonar, la disfunción pulmonar severa y finalmente la muerte. Se ha sugerido que el suplemento de AAT a pacientes con FQ puede reducir los efectos nocivos asociados con cantidades excesivas de elastasa. La AAT suplementaria es particularmente importante durante los episodios de exacerbación, que están asociados con síntomas de inflamación grave.

Preferiblemente, la AAT se administra a pacientes con FQ por la vía de inhalación. Se ha demostrado
40 anteriormente (McElvaney et al, 1991) que la alfa-antitripsina en forma de aerosol administrada a pacientes con fibrosis quística suprimió la elastasa de neutrófilos en el fluido del revestimiento epitelial respiratorio (ELF), restauró la capacidad de la elastasa anti-neutrófilos en el ELF e invirtió el efecto inhibidor del ELF sobre la capacidad de los neutrófilos de combatir eficazmente la infección por *Pseudomonas*. Ventajosamente, las formulaciones en aerosol pueden producirse fácilmente usando la preparación líquida de AAT divulgada por el solicitante de la presente invención. Además, la formulación en forma de aerosol de AAT administrada por inhalación es muy adecuada para el tratamiento de las exacerbaciones en la disfunción pulmonar asociada a FQ, ya que es rápida y fácil de aplicar.

50 Bronquiectasia

La bronquiectasia es una dilatación anormal e irreversible de los bronquios medianos proximales (>2 mm
55 de diámetro) provocada por la destrucción de los componentes musculares y elásticos de las paredes bronquiales. Puede ser congénita o adquirida.

La bronquiectasia congénita afecta habitualmente a bebés y niños y es el resultado del arresto del
60 desarrollo del árbol bronquial. Las formas más comúnmente adquiridas se presentan en adultos y niños mayores y están asociadas con un insulto infeccioso, deterioro del drenaje, obstrucción de las vías aéreas y/o un defecto en la defensa del huésped. El daño a los componentes musculares y elásticos de la pared bronquial es el resultado del agente infeccioso incitador y de la respuesta del huésped. La última puede estar mediada en parte por citoquinas inflamatorias, óxido nítrico y proteasas neutrofilas. Adicionalmente, puede dañarse el tejido alveolar peribronquial, lo que produce una fibrosis peribronquial difusa.

El resultado es una dilatación bronquial anormal con destrucción de la pared bronquial e inflamación
65 transmural. El descubrimiento funcional más importante de la anatomía de las vías aéreas alterada es la depuración

severamente deteriorada de las secreciones del árbol bronquial.

Las exacerbaciones frecuentes de bronquiectasia se asocian a menudo con infección y síntomas de disnea aumentada, resuellos y producción de esputo. Se ha sugerido que durante la exacerbación de la bronquiectasia, particularmente en episodios infecciosos, los neutrófilos son predominantes en las vías de necrosis, lo que puede llevar a niveles aumentados de agentes proteolíticos. Estos agentes participan en la destrucción de la matriz pulmonar y contribuyen al desarrollo de bronquiectasia. Por tanto, la administración de AAT por inhalación es muy adecuada para tratar períodos de exacerbación de bronquiectasia.

10 Tuberculosis

La tuberculosis (TB) ha resurgido recientemente como un problema de salud pública. La mayoría de las personas que están infectadas con *Mycobacterium tuberculosis* albergan la bacteria sin síntomas pero muchos desarrollan la enfermedad de TB activa. Cada año, 8 millones de personas en todo el mundo desarrollan TB activa y mueren 3 millones.

Los casos de tuberculosis disminuyeron rápidamente en las décadas de 1940 y 1950, cuando se introdujeron las primeras terapias antibióticas efectivas para TB. En 1985, el número de casos activos de TB en los Estados Unidos comenzó a aumentar nuevamente. Varias fuerzas, a menudo interrelacionadas, estaban detrás del resurgimiento de la TB. Por ejemplo, las personas con VIH/SIDA son particularmente vulnerables a la TB activa.

El problema de la resistencia a múltiples fármacos de la *M. tuberculosis* es otro factor en el resurgimiento de la enfermedad. La TB resistente a múltiples fármacos (MDR-TB) es mucho más difícil de curar. El tratamiento para la TB-MDR a menudo requiere el uso de fármacos para TB especiales, todos los cuales pueden producir efectos secundarios graves. Para curar la TB-MDR, los pacientes pueden tener que tomar varios antibióticos, por lo menos tres a los que la bacteria todavía responde, todos los días durante hasta dos años. Sin embargo, incluso con este tratamiento, aproximadamente el 40% de los TB-MDR morirán, que es la mismo que para los pacientes con TB estándar que no reciben tratamiento. Se necesita terapia paliativa para estos pacientes.

30 Preparación de AAT

La presente invención también divulga una composición estable purificada de AAT. Preferiblemente, se divulga una composición líquida de AAT purificada, estable. La solicitud internacional WO 2005/027821, del solicitante de la presente invención, proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden una AAT purificada, estable, activa en forma de una solución estéril lista para su uso. La WO 2005/027821 también proporciona un proceso, que combina la eliminación de sustancias contaminantes (es decir, lípidos, lipoproteínas y otras proteínas) y la separación de AAT activa de la inactiva mediante pasos de cromatografía secuencial. El proceso divulgado en esa invención es muy adecuado para una producción a gran escala de AAT, en el intervalo de decenas de kilogramos o más.

La mezcla de proteínas a partir de la cual se purifica la AAT es preferiblemente pasta Cohn Fracción IV-1, pero puede incluir otras fracciones Cohn, por separado o en combinación; plasma sanguíneo humano; fracciones de plasma; o cualquier preparación de proteínas que contenga AAT. Por ejemplo, el proceso es aplicable para la purificación de AAT recombinante humana a partir de la leche de animales transgénicos.

En esa solicitud, la mezcla de proteínas que comprenden AAT se dispersa en un medio acuoso, preferiblemente agua, en una proporción de aproximadamente 20 a aproximadamente 35 litros por aproximadamente 1 kg de material fuente, preferiblemente pasta Cohn Fracción IV-1. El pH de la dispersión se ajusta a un intervalo de pH de aproximadamente 8.0 a aproximadamente 9.5. El ajuste del pH estabiliza la AAT y promueve la disolución de la AAT en la dispersión, aumentando de este modo el rendimiento de producción. La dispersión puede tener lugar a una temperatura elevada de entre 30° C y 40° C, para un aumento adicional de la solubilidad de la AAT.

Una ventaja particular de ese proceso es la eliminación de contaminantes o subproductos que de otro modo comprometerían la eficiencia de los procesos de purificación de AAT. En particular, las preparaciones de pasta Cohn Fracción IV-1 contienen una cantidad significativa de la lipoproteína Apo A-1, que tiene el efecto de comprometer el flujo y la capacidad de la columna durante la purificación. Otras proteínas no deseadas como la albúmina y la transferrina también están presentes en la preparación de la pasta. La eliminación de una porción de tales contaminantes de acuerdo con la invención como se divulga en la WO 2005/-27821 se realiza en dos pasos: (a) eliminando los lípidos y lipoproteínas contaminantes mediante un agente de eliminación de lípidos y (b) precipitando una porción de proteína contaminante de la dispersión acuosa que contiene AAT. La eliminación de proteínas contaminantes, sin pérdida de AAT, permite una reducción significativa en la escala del equipo, por ejemplo, el tamaño de columna.

El precipitado que se forma puede separarse por medios convencionales como centrifugación o filtración, y

luego se descarta. El sobrenadante está listo para purificación adicional, por ejemplo, una resina de intercambio aniónico. El AAT se eluye luego de la columna. La solución se trata para reducir su contenido de agua y cambiar la composición iónica por medios convencionales como por diafiltración, ultrafiltración, liofilización, etc., o combinaciones de los mismos.

5 El efluente que contiene AAT obtenido después de la primera cromatografía de intercambio aniónico se puede concentrar por ultrafiltración. La fracción retenida se diafiltra luego contra agua pura para alcanzar una conductividad dentro del intervalo de aproximadamente 3,5 a aproximadamente 4,5 mS/cm.

10 Para purificar adicionalmente la solución que contiene AAT obtenida después de la primera cromatografía de intercambio aniónico, la solución se carga en una resina de intercambio catiónico con el mismo tipo de tampón utilizado para el paso de intercambio aniónico, teniendo pH y conductividad adecuados para permitir que la AAT pase y se lave con el tampón que fluye a través, mientras que las sustancias contaminantes se retienen en la resina de intercambio catiónico.

15 La solución que contiene AAT obtenida después de la cromatografía de intercambio catiónico puede tratarse para reducir su contenido de agua. La solución se puede concentrar por ultrafiltración.

20 La cromatografía de intercambio iónico también se usa para separar la AAT activa de la AAT inactiva. Se divulgan métodos para separar la AAT activa de otras sustancias contaminantes, incluyendo compuestos de solvente/detergente usados para la inactivación viral. Dicha separación se consigue mediante la segunda cromatografía de intercambio aniónico. El AAT eluido del segundo paso de cromatografía de intercambio aniónico no es por lo tanto solamente altamente activo, sino también altamente puro.

25 A lo largo del proceso, solo se utiliza un tipo de tampón, con ajuste de pH y conductividad según se requiera a lo largo de los varios pasos del proceso. El tampón puede ser cualquier combinación de ácido/sal adecuada que proporcione una capacidad tampón aceptable en los intervalos de pH requeridos a lo largo del proceso. El proceso puede usar un tampón que no sea tampón a base de citrato. Por ejemplo, el anión tampón es acetato.

30 El proceso como se divulga en la presente puede comprender además pasos de eliminación viral y/o inactivación viral. Los métodos para eliminación e inactivación viral son conocidos en la técnica.

35 Un método para la eliminación viral es la filtración, preferiblemente la nanofiltración, que elimina los virus con envoltura como sin envoltura. El paso de eliminación viral puede comprender filtración. El paso de eliminación del virus puede realizarse después de la cromatografía de intercambio catiónico. Típicamente, la solución de flujo de intercambio catiónico que contiene AAT se concentra y luego se nanofiltrar.

40 El método de inactivación viral empleado puede comprender un tratamiento de solvente/detergente (S/D). El paso de inactivación viral se realiza preferiblemente antes de cargar la solución en la segunda resina de intercambio aniónico. El detergente usado puede ser polisorbato y el solvente es Tri-n-Butil-fosfato (TnBP). El polisorbato puede ser polisorbato 80. El polisorbato 80 puede añadirse de aproximadamente el 0,8% a aproximadamente el 1,3% en volumen por peso (v/p) de la mezcla resultante y el TnBP puede añadirse de aproximadamente el 0,2% a aproximadamente el 0,4% en peso por peso del mezcla resultante.

45 La solución que contiene AAT purificada, activa obtenida después de la segunda cromatografía de intercambio aniónico puede procesarse adicionalmente para obtener una composición farmacéutica para uso terapéutico, diagnóstico u otros usos. Para preparar el producto para la administración terapéutica, el proceso comprende además los pasos de cambiar la composición iónica de la solución que contiene AAT activa, purificada para que contenga un ion fisiológicamente compatible y esterilizar la solución resultante.

50 La AAT purificada obtenida por el proceso divulgado es altamente estable.

55 La composición farmacéutica puede comprender ATT por lo menos 90% pura, preferiblemente 95% pura, más preferiblemente 99% pura. De acuerdo con una realización, por lo menos el 90% de la AAT está en su forma activa.

Composiciones Farmacéuticas y Métodos de Tratamiento

60 El término "composición farmacéutica" se pretende que se use en la presente en su sentido más amplio para incluir preparaciones que contienen una composición de proteínas usada para fines terapéuticos. La composición farmacéutica destinada a uso terapéutico debería contener una cantidad terapéutica de AAT, es decir, la cantidad necesaria para medidas de salud preventivas o curativas.

65 Como se usa en la presente, el término "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a una cantidad de

una formulación o composición de proteínas que es eficaz para tratar una afección en un organismo vivo al que se va a administrar durante un período de tiempo.

5 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden fabricarse mediante procedimientos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, por medio de procesos convencionales de mezclado, disolución, granulación, trituración, pulverización, fabricación de grageas, levigación, emulsión, encapsulación, atrapamiento o liofilización.

10 Las composiciones farmacéuticas para su uso de acuerdo con la presente invención pueden por tanto formularse de manera convencional usando uno o más diluyentes o portadores aceptables que comprenden excipientes y auxiliares, que facilitan el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones, que pueden usarse farmacéuticamente. La formulación apropiada depende de la vía de administración elegida. Las composiciones farmacéuticas pueden formularse en una forma adecuada para inhalación.

15 Las composiciones farmacéuticas que contienen AAT divulgadas en la WO 2005/027821 del Solicitante de la presente invención son ventajosas respecto a las preparaciones que contienen AAT hasta ahora conocidas, ya que la AAT también es altamente estable cuando la composición se mantiene en una forma líquida. Por lo tanto, no es necesario liofilizar la preparación de AAT para el almacenamiento estable en forma de un polvo. Posteriormente, no hay necesidad de restablecer el polvo a un líquido antes de su uso para administración parenteral o para inhalación.

20 Se ha estimado que solo el 2% de la dosis de AAT administrada intravenosamente llega al pulmón (Hubbard y Crystal, 1990. Lung 168 Suppl:565-78, 1990). Esta es una gran desventaja en el tratamiento de enfermedades pulmonares en general, y en el tratamiento de episodios de exacerbación en particular.

25 Por lo tanto, la administración de AAT por vía de inhalación puede ser más beneficiosa ya que llega directamente al tracto respiratorio inferior. La vía de inhalación también requiere dosis terapéuticas más bajas de AAT y, por tanto, el escaso suministro de AAT derivado de plasma humano, que actualmente es la única fuente de AAT, estaría disponible para el tratamiento de más pacientes. Esta vía de administración también puede ser más eficaz para neutralizar la elastasa de neutrófilos y para corregir el desequilibrio entre proteinasas y anti-proteínas en los tejidos pulmonares, y es por tanto muy adecuada para tratar enfermedades pulmonares en períodos de exacerbación. Adicionalmente, la administración por inhalación es más simple y menos estresante para el paciente que la vía intravenosa y reduciría la carga en el sistema de cuidado de la salud local (al requerir menos aporte clínico).

30 Las formulaciones de composiciones farmacéuticas para la administración por vía de inhalación son conocidas en la técnica, así como los sistemas y dispositivos inhaladores. En general, para la administración por inhalación, los ingredientes activos se administran en la forma de un spray en aerosol desde un inhalador de dosis medida presurizado con el uso de un propelente adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano o dióxido de carbono. El ingrediente activo en el spray en aerosol puede estar en una forma de polvo administrada usando un inhalador de polvo seco, o en forma de aerosol líquido acuoso usando un nebulizador.

35 Los inhaladores de polvo están diseñados para ser usados hasta que se agota una carga determinada de material activo del dispositivo. La carga cargada en el dispositivo se formulará en consecuencia para contener la cantidad de dosis de inhalación apropiada de AAT para su administración en una sola administración. (Ver en general, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª Edición, 1990, Mack Publishing Co., Easton, PA, Capítulo 92 para información relativa a la administración de aerosoles).

40 Los nebulizadores para administración de aerosoles líquidos pueden clasificarse como nebulizadores a chorro operados por un flujo de aire presurizado usando un compresor portátil o un suministro de aire central en un hospital, nebulizadores ultrasónicos que incorporan un piezo-cristal para proporcionar la energía para generar el aerosol fuera de una fuente ultrasónica, y nebulizadores electrónicos basados en el principio de una membrana vibrante perforada.

45 Se pueden usar cualquiera de una variedad de inhaladores y nebulizadores de polvo conocidos en la técnica para la administración de AAT de acuerdo con las enseñanzas de la presente invención.

50 Por ejemplo, la Patente U.S. Nº 6.655.379 divulga métodos y dispositivos para administrar una formulación de agente activo al pulmón de un paciente humano. La formulación de agente activo puede estar en forma de polvo seco, puede nebulizarse o puede estar mezclada con un propelente. De acuerdo con las enseñanzas de esa patente, la formulación de agente activo, particularmente insulina, se administra a un paciente a un caudal inspiratorio de menos de 17 litros por minuto.

55 Los métodos con respecto a la administración de formulaciones de AAT usando nebulizadores se tratan,

por ejemplo, en las Patentes U.S. Nº 5.093.316, 5.618.786 y 5.780.440 .

5 El solicitante de la presente invención y sus colaboradores divulgaron el uso del nebulizador eFlow®, divulgado en la Solicitud de Patente Internacional WO 01/34232 , para la administración de AAT al pulmón. El nebulizador eFlow® proporciona una cantidad aumentada de aerosol durante la inhalación a la vez que minimiza tanto las pérdidas del aerosol durante la exhalación como el fármaco residual en el depósito del nebulizador. El nebulizador incluye un generador de aerosol que atomiza el líquido a través de un diafragma vibratorio en tamaños de partículas que se administran eficientemente a los pulmones.

10 Las condiciones de funcionamiento para la administración de una dosis de inhalación adecuada variarán de acuerdo con el tipo de dispositivo mecánico empleado. Para algunos sistemas de administración de aerosol, como nebulizadores, la frecuencia de administración y el período de funcionamiento estarán dictados principalmente por la cantidad de composición activa (AAT de acuerdo con la presente invención) por unidad de volumen en el aerosol. Típicamente, cuanto mayor sea la concentración de la proteína en la solución del nebulizador, más corto
15 será el período de funcionamiento. Algunos dispositivos, como los inhaladores de dosis medidas, pueden producir concentraciones de aerosol más altas que otros y, por tanto, se harán funcionar durante periodos más cortos para dar el resultado deseado.

20 De acuerdo con las enseñanzas de la presente invención, puede emplearse un nebulizador que comprende una solución de inhalación lista para su uso que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de AAT.

25 La composición farmacéutica líquida lista para su uso puede envasarse en viales unitarios pre-esterilizados que contienen 0,25 ml - 10 ml, preferiblemente de 0,25 ml a 5 ml, comúnmente usados para soluciones de inhalación listas para su uso. El vial puede estar hecho de vidrio o materiales poliméricos o el líquido puede llenarse en viales de polietileno o cualquier otro polímero adecuado fabricado, por ejemplo, mediante un proceso de sellado por soplado.

30 Por lo menos el 60% de la dosis nebulizada puede disolverse en gotitas que tienen un diámetro de 5 µm o menos. Dicho tamaño de gotita mejora la administración de AAT a las regiones alveolares, donde su actividad es mayormente requerida. De acuerdo con ciertas realizaciones, por lo menos el 50%, preferiblemente el 60% y más preferiblemente el 70% o más de la dosis nominal cargada de AAT puede administrarse al sujeto.

35 De acuerdo con las enseñanzas de la presente invención, la AAT se administra durante episodios de exacerbación de diversas enfermedades pulmonares. Como se ha descrito en la presente con anterioridad anteriormente, la enfermedad pulmonar puede estar asociada con una deficiencia heredada en AAT, en tal caso los pacientes reciben típicamente terapia de aumento intravenosa de AAT. Por tanto, de acuerdo con las enseñanzas de la presente invención, la AAT puede administrarse a un sujeto con necesidad de ello mediante inhalación en combinación con administración de AAT por vía intravenosa.

40 Típicamente, durante los períodos de exacerbación, la AAT inhalada se administra durante periodos de tiempo relativamente cortos. El tiempo de inhalación puede estar entre aproximadamente 5-15 minutos, preferiblemente aproximadamente 10 minutos. La AAT puede administrarse una vez a la semana o la administración puede repetirse por lo menos dos veces a la semana, cada día o incluso dos veces al día.

45 El curso progresivo de la EPOC se complica por exacerbaciones que tienen muchas causas y tienen lugar con mayor frecuencia a medida que progresa la enfermedad. Durante los episodios de exacerbación hay un aumento en la gravedad de los síntomas de la enfermedad pulmonar, que se asocian con un empeoramiento de la calidad de vida, particularmente en pacientes con deficiencia de AAT. Las exacerbaciones de EPOC se caracterizan por disnea aumentada, que es resultado de la obstrucción de las vías aéreas del paciente acompañada de aumentos
50 por disnea aumentada, que es resultado de la obstrucción de las vías aéreas del paciente acompañada de aumentos en la tos, la producción de esputo, la purulencia y los resuellos. Las exacerbaciones están bien correlacionadas con el deterioro a largo plazo de la función pulmonar, que es otra característica de la EPOC.

55 La proteína AAT es una proteína reactiva de fase aguda y, como tal, su síntesis se amplifica durante episodios de inflamación o estrés (Sandhaus RA. Deficiencia de α 1-antitripsina * 6: New and emerging treatments for α 1-antitrypsin deficiency. Thorax 59:904-909, 2004), que tiene lugar particularmente en períodos de exacerbación. Los pacientes con deficiencia de AAT corren el riesgo de daño pulmonar grave durante los períodos de exacerbación, debido a la incapacidad de montar una elevación de AAT de la fase aguda eficaz. Durante los períodos de exacerbación aguda dicha escasez de AAT también puede tener lugar en individuos normales, dando como resultado un exceso de elastasa de neutrófilos que lleva a la destrucción de los tejidos pulmonares. La adición
60 de una cantidad terapéuticamente significativa de AAT directamente al tejido pulmonar como se divulga en la presente invención satisface la necesidad clínica de un tratamiento que proporcione una respuesta adecuada a la condición del paciente y prevenga el potencial declive acelerado en el estado de enfermedad debido a la exacerbación.

65 Los principios de la invención pueden comprenderse mejor con referencia a los ejemplos no limitativos a

continuación.

EJEMPLOS

5 **Ejemplo 1: Tratamiento de Pacientes con Deficiencia de AAT Durante Periodos de enfermedad**

Exacerbaciones

10 Este ejemplo describe un ensayo controlado con placebo, doble ciego, aleatorizado, multicéntrico de AAT inhalada, nebulizada. El objetivo del ensayo es evaluar la seguridad y eficacia de la AAT inhalada en el tratamiento de enfisema secundario para la enfermedad pulmonar mediante la evaluación de los períodos de exacerbaciones en comparación con los períodos de estado estable sin exacerbaciones.

15 La AAT se administra como terapia complementaria durante las exacerbaciones a sujetos que padecen de EPOC, que pueden ser sujetos con deficiencia de AAT o AAT normal. La AAT aplicada es AAT humana, derivada de plasma, producida por el solicitante de la presente invención, Kamada Ltd. (Israel). La AAT se administra usando un nebulizador, por ejemplo, un nebulizador dedicado electrónico de tamaño pequeño que forma aerosoles de medicamentos líquidos a través de una membrana vibratoria perforada.

20 Se inscribieron 100-250 sujetos en el estudio de dos brazos, asignados al azar para recibir AAT o placebo, respectivamente. La duración esperada del estudio es de alrededor de 12-36 meses. Los sujetos incluidos en el estudio pueden ser pacientes con deficiencia de AAT con los genotipos Pi ZZ, Z nulo u otros genotipos gravemente deficientes que tienen niveles de AAT de referencia de $<11 \mu\text{M}$ o pacientes que padecen EPOC que no son deficientes en AAT.

25 Solo se ingresan en el estudio los pacientes que cumplen todos los criterios principales de inclusión siguientes:

- 30
1. Capaz y dispuesto a firmar el consentimiento informado.
 2. Por lo menos 18 años de edad.
 3. Tener Volumen Espiratorio Forzado en un segundo (FEV1) $\leq 80\%$ del valor predicho después del broncodilatador.
 5. Capaz de cumplir con los procedimientos de estudio.
 6. Dispuesto a cumplir con el tratamiento estandarizado de las exacerbaciones de la enfermedad pulmonar.

35 Los sujetos se excluyen del estudio de acuerdo con los siguientes criterios:

- 40
1. FEV1 $<20\%$ del valor predicho después del broncodilatador.
 2. Tener historial de trasplante de pulmón.
 3. Experimentar una cirugía pulmonar en los últimos 2 años.
 4. Estar en cualquier lista de espera de cirugía torácica.
 5. Tener una enfermedad hepática clínicamente significativa.
 6. Tener una enfermedad concomitante grave (enfermedad maligna grave, insuficiencia cardíaca congestiva NYHA III / IV, fibrosis pulmonar clínicamente significativa).
 - 45 7. Experimentar infección/exacerbación pulmonar activa en el último mes.
 8. Ser fumadores activos durante los últimos 6 meses o los valores de CO en la sangre son indicativos de un hábito continuo de fumar.
 9. Estar embarazada o lactando.
 10. Mujeres en edad fértil que no toman la anticoncepción adecuada.
 - 50 11. Tener cualquier afección médica que el investigador considere que impediría el paciente completar el ensayo.
 12. Participar en otro ensayo clínico dentro de los 30 días previos a la inclusión al inicio del estudio.

55 Los sujetos reciben la dosis predeterminada de AAT inhalado o volumen equivalente de placebo durante un período predeterminado, comenzando dentro de un intervalo establecido de la aparición de las exacerbaciones de la enfermedad pulmonar.

El producto de investigación y el producto de control se administran por inhalación.

60 El punto final principal del estudio se selecciona de los siguientes: progresión de enfisema como se determina por la densidad pulmonar de TC y pruebas de función pulmonar, frecuencia de exacerbación/año, gravedad de la exacerbación, tiempo de duración de las exacerbaciones y puntuación del cuestionario.

65 Los puntos finales secundarios incluyen datos de seguridad, efectos adversos, evaluación de la inflamación de las vías aéreas por análisis de esputo, funciones pulmonares, calidad de vida (QoL), Desmosina en orina.

Reivindicaciones

- 5 **1.** El uso de una alfa-1 antitripsina (AAT) de origen natural purificada para la preparación de un medicamento para tratar una exacerbación de una enfermedad o trastorno pulmonar, en donde el medicamento se va a administrar por inhalación a los pulmones del sujeto durante la exacerbación.
- 10 **2.** El uso de acuerdo con la reivindicación 1,
 en donde la enfermedad o trastorno pulmonar se selecciona del grupo que consiste de enfisema; enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC); bronquiectasia; enfermedades o trastornos pulmonares parenquimáticos y fibróticos: fibrosis quística, fibrosis pulmonar intersticial y sarcoidosis; tuberculosis y enfermedades y trastornos pulmonares secundarios al VIH; o
 en donde la enfermedad o trastorno pulmonar se selecciona del grupo que consiste de EPOC y enfisema; o
 15 en donde la enfermedad o trastorno pulmonar está asociado con deficiencia de AAT, preferiblemente en donde la enfermedad pulmonar es enfisema congénito; o
 en donde el sujeto es un sujeto humano.
- 20 **3.** El uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la AAT se purifica a partir de una mezcla no purificada de proteínas mediante un proceso que comprende cromatografía en una pluralidad de resinas de intercambio iónico.
- 4.** El uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la AAT se purifica a partir de una mezcla no purificada de proteínas mediante un proceso que comprende cromatografía en por lo menos dos resinas de intercambio aniónico y por lo menos una resina de intercambio catiónico.
- 25 **5.** El uso de acuerdo con la reivindicación 4, en donde la AAT purificada es por lo menos un 90% pura, preferiblemente en donde por lo menos el 90% de la AAT está en su forma activa.
- 30 **6.** El uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la AAT se formula para formar una composición farmacéutica en una forma seleccionada del grupo que consiste de una forma líquida y una forma en polvo.
- 7.** El uso de acuerdo con la reivindicación 6, en donde la composición farmacéutica está desprovista de un estabilizante, preferiblemente en donde dicha composición farmacéutica es una solución acuosa estéril, lista para su uso.
- 35 **8.** El uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la AAT se administra en forma de un spray de aerosol.
- 9.** El uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde la AAT está en una forma de una composición farmacéutica líquida y el aerosol se produce mediante un nebulizador.
- 40 **10.** El uso de acuerdo con la reivindicación 9,
 en donde la composición farmacéutica es una solución estéril, lista para su uso, preferiblemente en donde la composición farmacéutica está desprovista de un estabilizador; o
 en donde la actividad de la AAT en forma de aerosol permanece por encima del 90% de la actividad de AAT antes de la formación del aerosol; o
 45 en donde el diámetro medio de masa de las gotitas de aerosol es inferior a 5 µm; o
 en donde la concentración de AAT en la solución a formar en aerosol es del 0,5% al 10% p/v.
- 11.** El uso de acuerdo con la reivindicación 9,
 en donde por lo menos el 50% de la dosis nominal cargada de AAT se administra al sujeto; o
 50 en donde por lo menos el 60% de la dosis nominal cargada de AAT se administra al sujeto; o
 en donde por lo menos el 70% de la dosis nominal cargada de AAT se administra al sujeto.
- 12.** El uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la AAT se va a administrar en un régimen seleccionado del grupo que consiste de por lo menos una vez a la semana, por lo menos dos veces a la semana y por lo menos una vez al día.
- 55 **13.** El uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la AAT se va a administrar en combinación con por lo menos una terapia adicional, preferiblemente en donde la terapia adicional se selecciona del grupo que consiste de una terapia con antibióticos, administración de broncodilatadores y terapia antiinflamatoria diferente a terapia con AAT, o
 60 alternativamente preferiblemente en donde la terapia adicional es administración intravenosa de AAT.
- 65