

FORMULACIONES FARMACÉUTICAS QUE COMPRENDEN UNA CICLODEXTRINA

CAMPO TÉCNICO

La presente invención se refiere a una formulación farmacéutica que es una coformulación de un agonista del receptor de GLP-1 y un agonista del receptor de amilina. Dicha formulación farmacéutica puede usarse para el tratamiento médico de sujetos con sobrepeso u obesidad, con o sin una o más comorbilidades asociadas; diabetes, con o sin una o más comorbilidades asociadas; una o más enfermedades cardiovasculares; esteatohepatitis no alcohólica (NASH); y/o deterioro cognitivo, tal como el que provoca la enfermedad de Alzheimer.

ANTECEDENTES

La semaglutida es un agonista del receptor del péptido similar al glucagón 1 (GLP-1) y es el ingrediente farmacéutico activo en el Ozempic®. El Ozempic® se indica (i) como un complemento de la dieta y el ejercicio para mejorar el control glucémico en adultos con diabetes mellitus tipo 2 y (ii) para reducir el riesgo de eventos cardiovasculares adversos importantes en adultos con diabetes mellitus tipo 2 y enfermedad cardiovascular establecida.

La semaglutida también es el ingrediente farmacéutico activo de Wegovy®. Wegovy® se indica como un complemento de una dieta reducida en calorías y aumento de la actividad física para el control crónico del peso en pacientes adultos con un índice de masa corporal (IMC) inicial mayor o igual a 30 kg/m² o mayor que 27 kg/m², en presencia de al menos una comorbilidad relacionada con el peso.

Ozempic® y Wegovy® son formulaciones farmacéuticas líquidas que comprenden fosfato 8 mM y tienen un pH de aproximadamente 7.4.

Una combinación de dosis fija de un agonista del receptor de amilina, cagrilintida, y el agonista del receptor de GLP-1, semaglutida, se ha investigado para el tratamiento del sobrepeso y la obesidad (Lancet 2021; 397: 1736–48). Los productos farmacéuticos investigados estaban en forma de formulaciones farmacéuticas líquidas separadas para uso subcutáneo que comprende ya sea cagrilintida o semaglutida.

Hasta el momento, no se consideró posible coformular la semaglutida y la cagrilintida, debido a las diferentes propiedades fisicoquímicas de estos ingredientes farmacéuticos activos. La semaglutida, un agonista del receptor de GLP-1, tiene un punto isoeléctrico que es incompatible con el pH óptimo de cagrilintida, un agonista del receptor de amilina. La semaglutida es óptimamente estable

a pH 7.4 y anteriormente ha sido necesario formularla en una solución neutra a ligeramente básica de pH 7-8, para garantizar su solubilidad en solución acuosa. La cagrilintida es óptimamente estable a un pH de 4.0 y ha sido necesario formularla en una solución ácida, lo que aumenta el pH y acelera la velocidad de su degradación química. Las diferentes propiedades fisicoquímicas de cagrilintida y semaglutida impiden una mezcla simple de estos dos péptidos. Lo mismo se aplica a otras combinaciones de agonista del receptor de GLP-1 y agonista del receptor de amilina cuando los dos tienen intervalos de pH óptimos incompatibles.

Persiste la necesidad en la técnica de un medio simple de coadministración de un agonista del receptor de GLP-1 tal como semaglutida y un agonista del receptor de amilina tal como cagrilintida.

RESUMEN DE LA INVENCION

En la presente descripción se describe un medio para coformular un agonista del receptor de amilina y un agonista del receptor de GLP-1. En la presente descripción se describe una formulación farmacéutica líquida que comprende un agonista del receptor de amilina, un agonista del receptor de GLP-1 y una ciclodextrina que comprende sustituciones químicas hidrófilas tales como sustituciones de hidroxipropilo. La ciclodextrina puede ser del tipo alfa sustituido con hidroxipropilo, que comprende seis unidades de glucosa dispuestas en anillos. La ciclodextrina puede ser del tipo beta sustituido con hidroxipropilo, que comprende siete unidades de glucosa dispuestas en anillos. La formulación farmacéutica puede comprender además un tampón tal como histidina, un agente de tonicidad tal como sorbitol y/o un surfactante tal como polisorbato 20 y/u 80; y tener un pH de aproximadamente 5.5-6.5, tal como un pH de 5.6-6.0. La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede administrarse mediante inyección parenteral, preferentemente, inyección subcutánea.

La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede usarse para el tratamiento médico de sujetos con: sobrepeso u obesidad, con o sin comorbilidades asociadas; diabetes, con o sin una o más comorbilidades asociadas; diabetes, con o sin una o más enfermedades cardiovasculares; esteatohepatitis no alcohólica (NASH); y/o deterioro cognitivo, tal como el que provoca la enfermedad de Alzheimer. La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede mejorar la comodidad, el cumplimiento del tratamiento y, en última instancia, mejorar el resultado clínico en dichos pacientes.

DESCRIPCIÓN

La presente invención es una formulación farmacéutica líquida que comprende un agonista del receptor de amilina, un agonista del receptor de GLP-1 y una ciclodextrina que comprende sustituciones de hidroxipropilo.

- 5 La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender dos ingredientes farmacéuticos activos, específicamente un agonista del receptor de GLP-1 y un agonista del receptor de amilina.

En la presente descripción se describe un medio para coformular un agonista del receptor de amilina y un agonista del receptor de GLP-1, en donde el agonista del receptor de GLP-1 tiene un
10 punto isoelectrico que excluye su coformulación en el intervalo de pH lo que permite la estabilidad química del agonista del receptor de amilina. En la presente descripción se describe un medio para coformular un agonista del receptor de GLP-1 que tiene un punto isoelectrico (pI) de menos de 6.5, preferentemente menos de 6.0, tal como 3.5-6.0, tal como 3.0-5.0, tal como 4.0-6.0 y un agonista del receptor de amilina.

- 15 El pH óptimo del agonista del receptor de amilina es el pH al que es, química y físicamente, el más estable. El experto en la técnica puede encontrar fácilmente el pH óptimo del agonista del receptor de amilina al probar su estabilidad química y física, en una solución acuosa que consiste esencialmente en el agonista del receptor de amilina, un tampón y agua para inyección, a través del intervalo de pH.

- 20 El pH óptimo del agonista del receptor de GLP-1 es el pH al que es, química y físicamente, el más estable. El experto en la técnica puede encontrar fácilmente el pH óptimo del agonista del receptor de GLP-1 al probar su estabilidad química y física, en una solución acuosa que consiste esencialmente en el agonista del receptor de GLP-1, un tampón y agua para inyección, a través del intervalo de pH. La estabilidad física del agonista del receptor de GLP-1 puede ser un reflejo de su
25 punto isoelectrico, que puede coincidir con el pH donde podría esperarse una estabilidad física más deficiente.

- Como será evidente para el experto en la técnica, la estabilidad química y pureza de cualquier agonista del receptor de GLP-1 y/o cualquier agonista del receptor de amilina en cualquier formulación líquida pueden cuantificarse por medio de, por ejemplo, cromatografía líquida de alto
30 rendimiento de fase inversa (ultra) (RP-UHPLC o RP-HPLC) y/o midiendo el porcentaje de proteína de alto peso molecular (% de HMWP) por medio de, por ejemplo, cromatografía de exclusión por tamaño (SEC).

Como será evidente para los expertos en la técnica, la estabilidad física de un agonista del receptor de GLP-1 y/o cualquier agonista del receptor de amilina en cualquier formulación líquida puede cuantificarse mediante la medición de la formación y/o fibrilación de partículas por medio de imágenes de microflujo (MFI) o un ensayo de estrés de fluorescencia de tioflavina T (ThT),
5 respectivamente.

Se describe aquí un medio para formular un agonista del receptor de amilina y un agonista del receptor de GLP-1 cuyos pH óptimos difieren en al menos aproximadamente dos unidades de pH, tales como 2-5 unidades de pH, tales como 2-4 unidades de pH, tales como 3-5 unidades de pH.

El agonista del receptor de GLP-1 puede ser semaglutida. El agonista del receptor de amilina
10 puede ser cagrilintida o un metabolito biológicamente activo o un producto de degradación de cagrilintida. La composición de la formulación descrita en la presente descripción conserva/mejora la estabilidad química y física de los ingredientes farmacéuticos activos, incluso cuando se coformula a pH 5.5-6.5, tal como pH 5.6-6.0; conserva los perfiles de pK de los ingredientes farmacéuticos activos en términos de su bioactividad y exposición; y presenta una tolerancia local
15 aceptable tras la inyección subcutánea.

Los términos “formulación farmacéutica”, “coformulación” y “producto farmacéutico” pueden usarse indistintamente en la presente descripción para referirse a una formulación farmacéutica líquida que comprende un agonista del receptor de GLP-1 y un agonista del receptor de amilina.

La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción es adecuada para la inyección
20 parenteral, preferentemente, inyección subcutánea.

Amilina

El término “amilina” en la presente descripción se refiere a un polipéptido que tiene la misma secuencia de aminoácidos que una amilina endógena, tal como amilina humana.

Receptor de amilina

25 Un agonista del receptor de amilina puede unirse y activar el receptor de calcitonina (CTR) y/o los receptores de amilina (AMYR). El último consiste de heterodímeros de dos componentes: el receptor de calcitonina (CTR) y una de las tres proteínas modificadoras de la actividad del receptor (RAMP1-3), lo que da como resultado tres posibles complejos, AMYR1-3.

Agonistas del receptor de amilina

30 Las formulaciones farmacéuticas descritas en la presente descripción comprenden un agonista del receptor de amilina. Un “agonista del receptor de amilina” puede definirse como una entidad química que es capaz de unirse al receptor de amilina y es capaz de activarlo o “antagonizarlo”. En

el contexto de la invención actual, el agonista del receptor de amilina es capaz de unirse y activar al menos el receptor de amilina 3 (AMYR3). El agonista del receptor de amilina también puede ser capaz de agonizar el receptor de calcitonina, el receptor de amilina 1 (AMYR1) y/o el receptor de amilina 2 (AMYR2).

- 5 Ejemplos de agonistas endógenos del receptor de amilina son la amilina humana y la calcitonina humana. Los ejemplos de agonistas exógenos del receptor de amilina son cagrilintida y pramlintida (el ingrediente farmacéutico activo en Symlin®).

El agonista del receptor de amilina es capaz de activar el receptor de amilina; en otras palabras, es “potente” en el receptor de amilina. La potencia *in vitro* del agonista del receptor de amilina en el
10 receptor de amilina 3 puede medirse como se describe en el Ensayo 2 del documento WO/2022129526. La potencia del compuesto puede describirse por medio de su valor de EC₅₀, en donde EC₅₀ representa la concentración del compuesto sobre el cual se observa el 50 % de su efecto máximo. Cuanto menor sea el valor de EC₅₀, más potente será el compuesto.

Cuando se prueba como se describió en el Ensayo 2 del documento WO/2022129526, el agonista
15 del receptor de amilina descrito en la presente descripción puede tener un valor de EC₅₀ de menos de 300 pM, tal como menos de 200 pM, tal como menos de 150 pM, preferentemente, menos de 100 pM, tal como menos de 75 pM, preferentemente, menos de 50 pM, tal como menos de 40 pM, tal como menos de 30 pM, tal como menos de 20 pM, tal como menos de 10 pM.

Cagrilintida

- 20 El agonista del receptor de amilina en la formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede ser cagrilintida o un metabolito biológicamente activo o producto de degradación de cagrilintida.

La cagrilintida, también conocida como AM833, es el compuesto del Ejemplo 53 en el documento WO2012/168432:
25 N-alfa-[(S)-4-carboxi-4-(19-carboxinonadecanoilamino)butiril]-[Glu14,Arg17,Pro37]-pramlintida. La cagrilintida puede prepararse como se describió en el documento WO2012/168432, páginas 153-155.

La cagrilintida puede estar en forma de sal, preferentemente, una sal farmacéuticamente aceptable. Un metabolito o producto de degradación biológicamente activo de cagrilintida puede tener un aspartato (Asp) en la posición 21 o 22. Un metabolito o producto de degradación biológicamente
30 activo de cagrilintida puede tener un isoaspartato (iso-Asp) en la posición 21 o 22.

Cuando la potencia de cagrilintida se probó mediante el uso del procedimiento descrito en el Ensayo 2 del documento WO/2022129526, la cagrilintida tenía un valor de EC_{50} de aproximadamente 11 pM (WO/2022/129526, Tablas 4b y 4c).

La concentración de cagrilintida en la formulación farmacéutica que se describe en la presente descripción puede ser de aproximadamente 0.25 mg/ml a aproximadamente 22 mg/ml.

La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender cagrilintida en una concentración de aproximadamente 0.33-18 mg/ml; tal como 0.25-0.5 mg/ml, tal como aproximadamente 0.33 mg/ml; tal como 0.5-1.0 mg/ml, tal como aproximadamente 0.67 mg/ml; tal como 1.0-1.5 mg/ml, tal como aproximadamente 1.33 mg/ml; tal como 1.5-2.0 mg/ml, tal como aproximadamente 1.5 mg/ml; tal como 2.0-2.5 mg/ml; tal como 2.5-3.0 mg/ml; tal como 3.0-3.5 mg/ml; tal como aproximadamente 3.2 mg/ml; tal como 3.5-4.0 mg/ml; tal como 4.0-5.0 mg/ml; tal como 5.0-6.0 mg/ml; tal como 6.0-7.0 mg/ml, tal como 7.0-8.0 mg/ml, tal como 8.0-9.0 mg/ml, tal como 9.0-10.0 mg/ml, tal como aproximadamente 9.6 mg/ml; tal como 10-11 mg/ml, tal como 11.0-12.0 mg/ml, tal como 11-13 mg/ml; tal como 13-22 mg/ml, tal como aproximadamente 18 mg/ml; tal como aproximadamente 20-22 mg/ml.

La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender no más de 22 mg/ml de cagrilintida. La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender no más de 12 mg/ml de cagrilintida.

GLP-1

El término “GLP-1” o “GLP-1 nativo” en la presente descripción se refiere al péptido similar a glucagón 1 humano (GLP-1(7-37)).

Agonista del receptor de GLP-1

Las formulaciones farmacéuticas descritas en la presente descripción comprenden un agonista del receptor de GLP-1. Un “agonista del receptor de GLP-1” puede definirse como un ligando que es capaz de unirse al receptor de GLP-1 y producir una respuesta biológica similar a la del ligando endógeno, el péptido similar al glucagón 1 (GLP-1(7-37)). Un agonista del receptor de GLP-1 "completo" puede definirse como un agonista del receptor de GLP-1 que es capaz de provocar una respuesta biológica de la misma magnitud que GLP-1(7-37).

Los ejemplos de agonistas exógenos del receptor de GLP-1 incluyen semaglutida (el ingrediente farmacéutico activo en Ozempic®, Rybelsus® y Wegovy®), liraglutida (el ingrediente farmacéutico activo en Victoza® y Saxenda®), tirzepatida (el ingrediente farmacéutico activo en Mounjaro®) y dulaglutida (el ingrediente farmacéutico activo en Trulicity®).

El agonista del receptor de GLP-1 es capaz de unirse y activar, o “agonizar” el receptor de GLP-1; en otras palabras, es “potente” en el receptor de GLP-1. La potencia *in vitro* del agonista del receptor de GLP-1 en el receptor de GLP-1 puede medirse como se describe en el ensayo 1 del documento WO/2022/129526. La potencia del compuesto puede describirse por medio de sus valores de EC₅₀, en donde EC₅₀ representa la concentración del compuesto sobre el cual se observa el 50 % de su efecto máximo. Cuanto menor sea el valor de EC₅₀, más potente será el compuesto.

Cuando se prueba como se describió en el Ensayo 1 del documento WO/2022/129526, el agonista del receptor de GLP-1 descrito en la presente descripción puede tener un valor de EC₅₀ de menos de 300 pM, tal como menos de 200 pM, tal como menos de 150 pM, preferentemente menos de 100 pM, tal como menos de 75 pM, aún con mayor preferencia menos de 50 pM, tal como menos de 40 pM, tal como menos de 30 pM, tal como menos de 20 pM, tal como menos de 10 pM.

Semaglutida

La semaglutida es un agonista del receptor de GLP-1 también conocida como N^{6,26}-{18-[N-(17-carboxiheptadecanoil)-L-γ-glutamyl]-10-oxo-3,6,12,15-tetraoxa-9,18-diazaodecanoil}-[8-(ácido 2-amino-2-propanoico),34-L-arginina]péptido similar al glucagón 1(7-37) humano. La semaglutida se describió en el documento WO2006/097537 y en J. Med. Chem. 2015, 58, 18, 7370–7380 y pueden fabricarse mediante el uso de métodos bien conocidos por los expertos en la técnica, tales como los descritos brevemente en el Ejemplo 4 del documento WO2006/097537.

La semaglutida puede estar presente en la formulación farmacéutica actual en su forma total o parcialmente ionizada; por ejemplo, uno o más grupos de ácido carboxílico (-COOH) pueden desprotonarse en el grupo carboxilato (-COO⁻) y/o uno o más grupos amino (-NH₂) pueden protonarse en el grupo -NH₃⁺.

La semaglutida puede estar en forma de sal, preferentemente, una sal farmacéuticamente aceptable. Cuando la potencia de semaglutida se probó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ensayo 1 del documento WO/2022/129526, la semaglutida tenía un valor de EC₅₀ de aproximadamente 5.5 pM (ver el documento WO/2022/129526, Tablas 4b y 4c).

La concentración de semaglutida en la formulación farmacéutica que se describe en la presente descripción puede ser de aproximadamente 0.25 mg/ml a aproximadamente 22 mg/ml.

La formulación farmacéutica puede comprender semaglutida en una concentración de aproximadamente 0.33-18 mg/ml; tal como 0.25-0.5 mg/ml, tal como aproximadamente 0.33 mg/ml; tal como 0.5-1.0 mg/ml, tal como aproximadamente 0.67 mg/ml; tal como 1.0-1.5 mg/ml, tal como aproximadamente 1.33 mg/ml; tal como 1.5-2.0 mg/ml, tal como aproximadamente 1.5

mg/ml; tal como 2.0-2.5 mg/ml; tal como aproximadamente 2.2 mg/ml, tal como 2.5-3.0 mg/ml; tal como 3.0-3.5 mg/ml; tal como aproximadamente 3.2 mg/ml; tal como 3.5-4.0 mg/ml; tal como 4.0-5.0 mg/ml; tal como aproximadamente 4.8 mg/ml; tal como 5.0-6.0 mg/ml; tal como 6.0-7.0 mg/ml, tal como aproximadamente 6.4 mg/ml; tal como 7.0-8.0 mg/ml, tal como aproximadamente 8.0 mg/ml; tal como 8.0-9.0 mg/ml, tal como 9.0-10.0 mg/ml, tal como aproximadamente 9.6 mg/ml; tal como 10-11 mg/ml, tal como aproximadamente 10.7 mg/ml; tal como 11.0-12.0 mg/ml, tal como 11-13 mg/ml; tal como aproximadamente 12.8 mg/ml; tal como 13-22 mg/ml, tal como aproximadamente 16 mg/ml; tal como aproximadamente 18 mg/ml; tal como aproximadamente 20-22 mg/ml.

- 10 La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender no más de 22 mg/ml de semaglutida. La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender no más de 12 mg/ml de semaglutida.

Métodos de fabricación

- 15 El agonista del receptor de GLP-1 y/o el agonista del receptor de amilina en la formulación farmacéutica descrita en la presente descripción, por ejemplo, pueden producirse, mediante síntesis clásica de péptidos, por ejemplo, síntesis de péptidos de fase sólida mediante el uso de las química t-Boc o Fmoc, u otras técnicas bien establecidas, ver, por ejemplo, Greene y Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley & Sons, 1999, Florencio Zaragoza Dörwald, "Organic Synthesis on Solid Phase", Wiley-VCH Verlag GmbH, 2000; y "Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis", Editado por W.C. Chan y P.D. White, Oxford University Press, 2000.

- 20 Alternativamente, los compuestos pueden producirse por métodos recombinantes, por ejemplo, mediante el cultivo de una célula hospedadora que contiene una secuencia de ADN que codifica la secuencia del péptido y es capaz de expresar el péptido, en un medio de nutrientes adecuado bajo condiciones que permiten la expresión del péptido. Los ejemplos no limitantes de células huésped
25 adecuadas para la expresión de estos péptidos son Escherichia coli, Saccharomyces cerevisiae y líneas celulares de BHK o CHO de mamíferos.

Punto isoelectrico

- El punto isoelectrico (pI) de una molécula es el pH en el que la molécula no lleva carga neta. El pI de un péptido puede calcularse teóricamente a partir de los valores de pK de sus aminoácidos y de
30 los grupos amina y carboxilo terminal y puede usarse para predecir la solubilidad del péptido a un pH dado.

El punto isoeléctrico calculado teóricamente del agonista del receptor de GLP-1 puede estar en el intervalo de 3.5-6.5, tal como 3.5-6.0, tal como 4.0-6.0, tal como 3.8-4.9, tal como 4.0-4.5. La semaglutida tiene un punto isoeléctrico calculado teóricamente de aproximadamente 4.37.

5 El punto isoeléctrico calculado teóricamente del agonista del receptor de amilina puede tener un punto isoeléctrico (pI) en el intervalo de 8-12, tal como 8-9. La cagrilintida tiene un punto isoeléctrico calculado teóricamente de aproximadamente 8.56.

Ciclodextrina

La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción comprende una ciclodextrina que comprende sustituciones de hidroxipropilo.

10 La formulación farmacéutica puede comprender aproximadamente 10-25 % p/v de una ciclodextrina que comprende sustituciones de hidroxipropilo. La formulación farmacéutica puede comprender más del 10 % p/v de una ciclodextrina que comprende sustituciones de hidroxipropilo. La formulación farmacéutica puede comprender menos del 22 % p/v de una ciclodextrina que comprende sustituciones de hidroxipropilo. La formulación farmacéutica puede comprender
15 aproximadamente 10-20 % p/v, aproximadamente 15-25 % p/v, aproximadamente 12-18 % p/v, aproximadamente 10-17.5 % p/v, aproximadamente 11.25-15 %, tal como aproximadamente 15 % p/v de una ciclodextrina que comprende sustituciones de hidroxipropilo.

Las ciclodextrinas son derivados de oligosacáridos de almidón que consisten en 6, 7 u 8 unidades de glucopiranososa (glucosa) unidas a α -(1,4) dispuestas cíclicamente y se denominan del tipo alfa,
20 beta o gamma, respectivamente. Las ciclodextrinas tienen una amplia gama de aplicaciones entre otras como excipientes farmacéuticos [P. Breen & S. S. Jambhekar, Cyclodextrins in pharmaceutical formulations II: solubilization, binding constant, and complexation efficiency, Drug Discovery Today, volumen 21, número 2, febrero de 2016]. Las directrices sobre su uso como excipientes farmacéuticos se describieron por la Agencia Europea de Medicamentos
25 [Background review for cyclodextrins used as excipients, 2014, EMA/CHMP/333892/2013, Committee for Human Medicinal Products (CHMP)], [Cyclodextrins used as excipients, 2017, EMA/CHMP/333892/2013, Committee for Human Medicinal Products (CHMP)]. Los tipos de ciclodextrina que no llevan sustituciones hidrófilas tienen poca solubilidad y rara vez se usan para productos farmacéuticos parenterales.

30 Para mejorar la solubilidad de las ciclodextrinas, los grupos hidroxilo de las unidades de glucosa de las ciclodextrinas pueden sustituirse por un número variable de sustituciones químicas hidrófilas, por ejemplo, por grupos hidroxipropilo, lo que da lugar a diferencias en el grado de

sustitución que pueden describirse ya sea como el número promedio de hidroxipropilo por molécula de ciclodextrina (abreviado DS) o como un grado de sustitución molar correspondiente al número promedio de hidroxipropilo por unidades de glucosa presentes en la ciclodextrina en cuestión (abreviado MS). El valor de hidroxipropilo por ciclodextrina puede lograrse al multiplicar el grado de sustitución molar por el número de unidades de glucosa comprendidas en la ciclodextrina en cuestión. La diferencia en el grado de sustitución puede dar como resultado a alteraciones en las propiedades fisicoquímicas, tales como la actividad superficial y la capacidad de formación de complejos. Los grupos hidroxilo también pueden sustituirse químicamente por grupos de sulfobutiléter. Estas modificaciones más hidrófilas han producido derivados de ciclodextrina muy adecuados para la administración parenteral [Cyclodextrins used as excipients, 2017, EMA/CHMP/333892/2013, Committee for Human Medicinal Products (CHMP)]. Las ciclodextrinas que comprenden sustituciones de hidroxipropilo se abrevian comúnmente HP-CD mientras que las ciclodextrinas que comprenden sustituciones de sulfobutiléter se abrevian SBE-CD.

Las ciclodextrinas que comprenden sustituciones hidrófilas adoptan lo que puede describirse como formas en forma de cono que tienen una cavidad interior hidrófoba y una superficie exterior hidrófila formada por muchas sustituciones hidrófilas capaces de formar uniones de hidrógeno con moléculas de agua vecinas, de esta manera se mejora la solubilidad en agua [T. Loftsson, Cyclodextrins in Parenteral Formulations, Journal of Pharmaceutical Sciences, 2020, 1-11].

Su microambiente hidrófobo dentro de la cavidad de estas estructuras en forma de cono les permite formar fármaco para complejos de ciclodextrina principalmente a través de interacciones hidrófobas [T. Loftsson, Cyclodextrins in Parenteral Formulations, Journal of Pharmaceutical Sciences, 2020, 1-11]. A medida que se forma un complejo entre la ciclodextrina y una molécula de fármaco que lleva una o más regiones hidrófobas, estas, así como también la cavidad hidrófoba de la ciclodextrina quedan protegidas del agua, lo que de esta manera aumenta la solubilidad del complejo en comparación con la solubilidad de los constituyentes individuales. Además, una vez que se forma el complejo entre la ciclodextrina y las moléculas peptídicas, se deterioran las interacciones intermoleculares que típicamente conducen a la agregación [T. Loftsson, Cyclodextrins in Parenteral Formulations, Journal of Pharmaceutical Sciences, 2020, 1-11].

La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción comprende preferentemente una ciclodextrina del tipo alfa sustituido con hidroxipropilo y/o una ciclodextrina del tipo beta sustituido con hidroxipropilo.

Inesperadamente, se encontró que tal ciclodextrina que porta sustituciones de hidroxipropilo es superior en su capacidad de estabilizar una coformulación de cagrilintida y semaglutida que el mismo tipo de ciclodextrina que porta sustituciones de sulfobutiléter.

- La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender una
- 5 ciclodextrina del tipo alfa sustituido con hidroxipropilo, que comprende seis unidades de glucosa que se disponen en anillos. La ciclodextrina sustituida con hidroxipropilo del tipo alfa se abrevia HP-A-CD. Las hidroxipropil-alfa-ciclodextrinas (CAS: 128446-33-3/99241-24-4) están disponibles comercialmente, con una sustitución molar (MS) promedio de 0.8 y un intervalo de sustitución molar de 0.5-0.9.
- 10 La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender hidroxipropil-alfa-ciclodextrina que tiene un mínimo de aproximadamente 0.4 hidroxipropilos por unidad de glucosa. La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender hidroxipropil-alfa-ciclodextrina que tiene un máximo de aproximadamente 1.0 hidroxipropilos por unidad de glucosa.
- 15 La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender hidroxipropil-alfa-ciclodextrina que tiene un intervalo de sustitución molar de 0.5-0.9 hidroxipropilos por unidad de glucosa. La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender hidroxipropil-alfa-ciclodextrina que tiene una sustitución molar (MS) promedio de aproximadamente 0.8 hidroxipropilos por unidad de glucosa.
- 20 La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender una ciclodextrina del tipo beta sustituida con hidroxipropilo, que comprende siete unidades de glucosa que se disponen en anillos.
- La ciclodextrina sustituida con hidroxipropilo del tipo beta se abrevia HP-B-CD.
- Las hidroxipropil-beta-ciclodextrinas son excipientes farmacéuticos bien conocidos, típicamente
- 25 usados en formulaciones farmacéuticas de molécula pequeña, principalmente para aumentar la solubilidad y la biodisponibilidad [T. Loftsson, Cyclodextrins in Parenteral Formulations, Journal of Pharmaceutical Sciences, 2020, 1-11]. Hasta ahora, el uso de ciclodextrinas y derivados sustituidos con ciclodextrina en formulaciones farmacéuticas basadas en proteínas y péptidos es limitado.
- 30 Los grados de sustitución (DS) de hidroxipropilo comercialmente disponible para hidroxipropil-beta-ciclodextrinas como excipientes farmacéuticos oscilan entre 2.8 y 10.5 de acuerdo con las farmacopeas europea y estadounidense [USP 38 NF 33, Pharm Eur 8, según se estima por los

métodos descritos en USP < 761 > /Pharm. EUR. 2.2.33] y que corresponde a 0.4-1.5 hidroxipropilos por unidad de glucosa (MS). Las ciclodextrinas disponibles comercialmente, tales como hidroxipropil-beta-ciclodextrinas, generalmente se describen por medio de las sustituciones molares promedio (MS) de sus intervalos de sustitución molar.

- 5 Las hidroxipropil-beta-ciclodextrinas (CAS: 128446-35-5/94035-02-6) están disponibles comercialmente para su uso como excipientes, con sustituciones molares (MS) promedio que incluyen: MS: 0.62 con un intervalo de sustitución molar de 0.58-0.68; MS: 0.67 con un intervalo de sustitución molar de (0.6-0.9); MS: 0.68 con un intervalo de sustitución molar de (0.58-0.72); MS: 0.84 con un intervalo de sustitución molar de (0.8-1.0); MS: 0.92 con un intervalo de sustitución molar de (0.81-0.99); MS: 1.08 con un intervalo de sustitución molar de (0.86-1.14);
10 donde cada valor describe el número de hidroxipropilos por unidad de glucosa.

La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender hidroxipropil-beta-ciclodextrina que tiene un mínimo de aproximadamente 0.4 hidroxipropilos por unidad de glucosa. La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender
15 hidroxipropil-beta-ciclodextrina que tiene un máximo de aproximadamente 1.0 hidroxipropilos por unidad de glucosa.

La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender hidroxipropil-beta-ciclodextrina que tiene un intervalo de sustitución molar de 0.58-1.0 hidroxipropilos por unidad de glucosa. La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede
20 comprender hidroxipropil-beta-ciclodextrina que tiene un intervalo de sustitución molar (MS) promedio de aproximadamente 0.62-0.92 hidroxipropilos por unidad de glucosa.

La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender hidroxipropil-beta-ciclodextrina que tiene una sustitución molar (MS) promedio de aproximadamente 0.62-0.84 hidroxipropilos por unidad de glucosa.

- 25 La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender hidroxipropil-beta-ciclodextrina que tiene aproximadamente 0.4-0.75 hidroxipropilos por unidad de glucosa.

La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender hidroxipropil-beta-ciclodextrina que tiene aproximadamente 0.75 hidroxipropilos por unidad de glucosa.

La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender hidroxipropil-beta-ciclodextrina que tiene una sustitución molar (MS) promedio de aproximadamente 0.62. La
30 formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender hidroxipropil-beta-ciclodextrina que tiene aproximadamente 0.58-0.68 hidroxipropilos por unidad de glucosa.

La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender hidroxipropil-beta-ciclodextrina que tiene una sustitución molar (MS) promedio de aproximadamente 0.68. La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender hidroxipropil-beta-ciclodextrina que tiene aproximadamente 0.58-0.72 hidroxipropilos por unidad de glucosa.

- 5 La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender hidroxipropil-beta-ciclodextrina que tiene una sustitución molar (MS) promedio de aproximadamente 0.67. La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender hidroxipropil-beta-ciclodextrina que tiene aproximadamente 0.6-0.9 hidroxipropilos por unidad de glucosa.

- 10 La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender hidroxipropil-beta-ciclodextrina que tiene una sustitución molar (MS) promedio de aproximadamente 0.84. La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender hidroxipropil-beta-ciclodextrina que tiene aproximadamente 0.8-1.0 hidroxipropilos por unidad de glucosa.

- 15 La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender hidroxipropil-beta-ciclodextrina que tiene una sustitución molar (MS) promedio de aproximadamente 0.92. La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender hidroxipropil-beta-ciclodextrina que tiene aproximadamente 0.81-0.99 hidroxipropilos por unidad de glucosa.

- 20 La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender 10-25 % p/v, tal como más de 10 % y menos de 22 % p/v, tal como aproximadamente 10-20 % p/v, tal como aproximadamente 12-18 % p/v, tal como aproximadamente 10-17.5 % p/v, tal como aproximadamente 11.25-15 %, tal como aproximadamente 15 % p/v de hidroxipropil-beta-ciclodextrina que tiene un mínimo de aproximadamente 0.4 hidroxipropilos por unidad de glucosa y un máximo de aproximadamente 1.0 hidroxipropilos por unidad de glucosa; tal como un promedio de 0.62-0.92 hidroxipropilos por unidad de glucosa, tal como aproximadamente 0.75 hidroxipropilos por unidad de glucosa tal como un promedio de 0.62-0.84 hidroxipropilos por
- 25 unidad de glucosa, tal como aproximadamente 0.4-0.75 hidroxipropilos por unidad de glucosa, tal como un promedio de 0.62 hidroxipropilos por unidad de glucosa, tal como aproximadamente 0.58-0.68 hidroxipropilos por unidad de glucosa.

Excipientes adicionales

- 30 La formulación farmacéutica puede comprender un tampón. El uso de un tampón en las formulaciones farmacéuticas se conoce bien por los expertos en la técnica. Por conveniencia, se hace referencia a Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20^a edición, 2000.

El pH puede medirse a “temperatura ambiente”, típicamente definido como 15-25 °C o 15-20 °C. El pH se mide preferentemente a aproximadamente 20 °C.

La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede comprender un tampón que tiene un pKa cerca del pH deseado de la solución. La formulación farmacéutica puede comprender un tampón que tiene al menos una pKa de aproximadamente 5.0-7.0. La formulación farmacéutica puede comprender un tampón que tiene una pKa de aproximadamente 5.0-7.0. La formulación farmacéutica puede comprender un tampón seleccionado del grupo que consiste en histidina, citrato y/o fosfato. El tampón puede ser citrato, en una concentración de 3-30 mM. El tampón puede ser histidina, en una concentración de 3-30 mM. El tampón puede ser fosfato, en una concentración de 3-30 mM.

La formulación farmacéutica puede comprender además uno o más agentes para ajustar el pH, tal como NaOH y/o HCl.

El pH deseado de la formulación farmacéutica puede ser aproximadamente 5.5-6.5. El pH es preferentemente 5.6-6.0. El pH puede ser aproximadamente 5.6, tal como aproximadamente 5.7, tal como aproximadamente pH 5.8, tal como aproximadamente 5.9, tal como aproximadamente 6.0.

La formulación farmacéutica puede comprender un agente de tonicidad. El uso de un agente de tonicidad en las formulaciones farmacéuticas se conoce bien por los expertos en la técnica. Por conveniencia, se hace referencia a Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20^a edición, 2000.

El propósito del agente de tonicidad es proteger el tejido vivo cuando la formulación se inyecta en el cuerpo. El agente de tonicidad puede seleccionarse del grupo que consiste en manitol, sorbitol o trehalosa, o una de sus combinaciones. En algunas modalidades, el agente de tonicidad es manitol. En algunas modalidades, el agente de tonicidad es sorbitol. En algunas modalidades, el agente de tonicidad es trehalosa.

La concentración del agente de tonicidad es de manera que hace que la formulación sea isotónica. Cuando el agente de tonicidad es manitol, puede estar presente en una concentración de 16.5-37.5 mg/ml, tal como aproximadamente 20 mg/ml. Cuando el agente de tonicidad es sorbitol, puede estar presente en una concentración de aproximadamente 10-40 mg/ml; tal como aproximadamente 16.5-37.5 mg/ml; tal como aproximadamente 10-30 mg/ml; tal como aproximadamente 16-28 mg/ml, tal como aproximadamente 16.5-25 mg/ml, tal como aproximadamente 16-26 mg/ml; tal como aproximadamente 16-24 mg/ml; tal como aproximadamente 26 mg/ml, tal como aproximadamente 24 mg/ml, tal como aproximadamente 22 mg/ml, tal como aproximadamente 20

mg/ml, tal como aproximadamente 18 mg/ml, tal como aproximadamente 16 mg/ml, tal como aproximadamente 12 mg/ml. Cuando el agente de tonicidad es trehalosa, puede estar presente en una concentración de 33-75 mg/ml, tal como aproximadamente 38 mg/ml.

La formulación farmacéutica puede comprender un surfactante. El surfactante puede aumentar además la estabilidad física y robustez de una formulación durante su fabricación, almacenamiento y uso como un medicamento; por ejemplo, conservar la estabilidad de una formulación cuando se expone al aire dentro de un recipiente. El uso de surfactantes en formulaciones farmacéuticas se conoce bien por el experto en la técnica. Por conveniencia, se hace referencia a Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20^a edición, 2000.

El surfactante puede seleccionarse del grupo que consiste en polisorbato 20 y/o polisorbato 80. El surfactante puede ser polisorbato 20. El surfactante puede ser polisorbato 80.

La formulación farmacéutica puede comprender 0.01 mg/ml o más de polisorbato 20 y hasta 2.0, tal como hasta 1.5 mg/ml de polisorbato 20, tal como aproximadamente 0.01-1.0 mg/ml de polisorbato 20, tal como aproximadamente 0.05 mg/ml de polisorbato 20.

La formulación farmacéutica puede comprender 0.01 mg/ml o más de polisorbato 80 y hasta 2.0, tal como hasta 1.5 mg/ml de polisorbato 80, tal como aproximadamente 0.01-1.0 mg/ml de polisorbato 80, tal como aproximadamente 0.05 mg/ml de polisorbato 80.

La formulación farmacéutica comprende agua para inyección (WFI). La formulación farmacéutica puede comprender más del 75 % p/p de agua, tal como 80 % p/p de agua, tal como aproximadamente 85 % p/p de agua, tal como hasta 90 % p/p de agua.

La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede no comprender un conservante.

Utilidad médica

Las formulaciones farmacéuticas descritas en la presente descripción pueden ser para su uso médico.

La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede administrarse mediante inyección parenteral. La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede administrarse mediante inyección subcutánea.

El término “tratamiento”, como se usa en la presente descripción, se refiere a la terapia médica de cualquier ser humano u otro sujeto vertebrado que necesite del mismo. Se espera que dicho sujeto se sometiera a un examen físico por parte de un profesional médico, o un profesional médico veterinario, que diera un diagnóstico tentativo o definitivo que indicaría que el uso de dicho

tratamiento específico es beneficioso para la salud de dicho humano u otro vertebrado. El momento y el propósito de dicho tratamiento pueden variar de una persona a otra, de acuerdo con el status quo de la salud del sujeto. Por tanto, dicho tratamiento puede ser profiláctico (preventivo), paliativo, sintomático y/o curativo.

- 5 La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede administrarse a un sujeto humano.

La formulación farmacéutica descrita en la presente descripción puede usarse en:

- (i) la prevención y/o tratamiento de cualquier forma de diabetes y síntomas asociados, tales como hiperglucemia, diabetes tipo 2, tolerancia a la glucosa alterada, diabetes tipo 1, diabetes no dependiente de insulina, diabetes de aparición en la madurez del joven (MODY), diabetes gestacional y/o para la reducción de HbA1c;
- 10 (ii) el retardo o prevención de la progresión de la enfermedad diabética, tal como la progresión en la diabetes tipo 2, el retardo de la progresión de la tolerancia alterada a la glucosa (IGT) a diabetes tipo 2 que requiere insulina, y/o el retardo de la progresión de la diabetes tipo 2 que no requiere
- 15 insulina a diabetes tipo 2 que requiere insulina;
- (iii) la prevención y/o tratamiento de trastornos alimentarios, tales como obesidad, por ejemplo, mediante la disminución de la ingestión de alimentos, supresión del apetito, inducción de saciedad, reducción del peso corporal; tratamiento o prevención del trastorno de atracón, la ansiedad por comer, la bulimia nerviosa y/u obesidad inducida por la administración de un antipsicótico o un
- 20 esteroide; reducción de la motilidad gástrica; y/o retardo del vaciamiento gástrico;
- (iv) la prevención y/o tratamiento de enfermedades cardiovasculares, tales como el retardo o la reducción del desarrollo de un evento cardiovascular adverso importante (MACE) seleccionado del grupo que consiste en muerte cardiovascular, infarto de miocardio no fatal, accidente cerebrovascular no fatal, revascularización, hospitalización por angina de pecho inestable y
- 25 hospitalización por insuficiencia cardíaca;
- (v) la prevención y/o tratamiento de la enfermedad de hígado graso no alcohólico (NAFLD) y/o la esteatohepatitis no alcohólica (NASH);
- (vi) la prevención y/o tratamiento de trastornos cognitivos tales como la enfermedad de Alzheimer.
- En algunas modalidades, la indicación es (i). En algunas modalidades, la indicación es (ii). Aún en un aspecto particular adicional la indicación es (iii). Aún en un aspecto particular adicional, la
- 30 indicación es (iv). En aún otro aspecto particular, la indicación es (v). Aún en un aspecto particular

adicional, la indicación es (vi). En algunas modalidades, la indicación es diabetes tipo 2 y/u obesidad.

Generalmente, todos los sujetos que padecen de obesidad también se considera que padecen de sobrepeso. En la presente descripción se describe un método para el tratamiento o la prevención de la obesidad. En la presente descripción se describe el uso de las formulaciones que se describen en la presente descripción para el tratamiento o la prevención de la obesidad. En algunas modalidades, el sujeto que padece de obesidad es humano, tal como un ser humano adulto o un ser humano pediátrico (lo que incluye lactantes, niños, y adolescentes).

El índice de Masa Corporal (IMC) es una medida de la grasa del cuerpo basada en la altura y el peso. La fórmula para su cálculo es $IMC = \text{peso en kilogramos} / \text{altura en metros}^2$. Un sujeto humano que padece de obesidad puede tener un IMC de 30 kg/m^2 o más; este sujeto también puede referirse como que es obeso. En algunas modalidades, el sujeto humano que padece de obesidad puede tener un IMC de ≥ 35 o un IMC en el intervalo de ≥ 30 a < 40 . En algunas modalidades, la obesidad es obesidad severa u obesidad mórbida, en donde el sujeto humano puede tener un IMC de ≥ 40 .

En la presente descripción se describe un método para el tratamiento o la prevención del sobrepeso, opcionalmente, en presencia de al menos una comorbilidad relacionada con el peso. En la presente descripción se describe el uso de las formulaciones que se describen en la presente descripción para el tratamiento o la prevención del sobrepeso, opcionalmente, en presencia de al menos una comorbilidad relacionada con el peso.

En algunas modalidades, el sujeto que padece de sobrepeso es un ser humano, tal como un ser humano adulto o un ser humano pediátrico (lo que incluye lactantes, niños, y adolescentes). En algunas modalidades un sujeto humano que padece de sobrepeso puede tener un IMC de 25 kg/m^2 o más, tal como un IMC de 27 kg/m^2 o más. En algunas modalidades, un sujeto humano que padece de sobrepeso tiene un IMC en el intervalo de 25 a < 30 o en el intervalo de 27 a < 30 .

Un IMC elevado aumenta el riesgo de que un individuo desarrolle cualquiera de una amplia gama de enfermedades o comorbilidades. La comorbilidad relacionada con el peso puede ser una, o una combinación de, las enfermedades que se mencionan anteriormente. En algunas modalidades, la comorbilidad relacionada con el peso se selecciona del grupo que consiste en hipertensión, diabetes (tal como diabetes tipo 2), dislipidemia, colesterol alto y apnea obstructiva del sueño.

En la presente descripción se describe un método para la disminución del peso corporal. Un ser humano que se somete a la reducción del peso corporal puede tener un IMC de 25 kg/m^2 o más, tal

como un IMC de 27 kg/m² o más (sobrepeso) o un IMC de 30 kg/m² o más (obesidad). En algunas modalidades el ser humano que se somete a una reducción del peso corporal puede tener un IMC de 35 kg/m² o más o un IMC de 40 kg/m² o más. El término “disminución del peso corporal” puede incluir tratamiento o prevención de la obesidad y/o sobrepeso.

- 5 En algunas modalidades, la administración de las formulaciones farmacéuticas de semaglutida y cagrilintida descritas en la presente descripción puede usarse como complemento de una dieta baja en calorías y un aumento de la actividad física para el control de peso crónico en pacientes adultos con un índice de masa corporal (IMC) inicial de 30 kg/m² o más (obesidad) o 27 kg/m² o más (sobrepeso) en presencia de al menos una comorbilidad relacionada con el peso (por ejemplo, hipertensión, diabetes mellitus tipo 2 o dislipidemia).

En algunas modalidades, la administración de las formulaciones farmacéuticas de semaglutida y cagrilintida descritas en la presente descripción puede dar como resultado >15 % de pérdida de peso, tal como >20 % de pérdida de peso, tal como >25 % de pérdida de peso, tal como >30 % de pérdida de peso, tal como aproximadamente 15-40 % de pérdida de peso, tal como aproximadamente 20-35 % de pérdida de peso, tal como aproximadamente 25-30 % de pérdida de peso, dentro de las 26 semanas posteriores al inicio del tratamiento.

En algunas modalidades, la administración de las formulaciones farmacéuticas de semaglutida y cagrilintida descritas en la presente descripción puede dar como resultado >15 % de pérdida de peso, tal como >20 % de pérdida de peso, tal como >25 % de pérdida de peso, tal como >30 % de pérdida de peso, tal como aproximadamente 15-40 % de pérdida de peso, tal como aproximadamente 20-35 % de pérdida de peso, tal como aproximadamente 25-30 % de pérdida de peso, dentro de las 26 semanas posteriores al inicio del tratamiento.

En algunas modalidades, la administración de las formulaciones farmacéuticas de semaglutida y cagrilintida descritas en la presente descripción da como resultado una reducción de HbA_{1c} más alta, en puntos porcentuales, en comparación con la que resulta del tratamiento tanto con semaglutida como único ingrediente activo o cagrilintida como único ingrediente activo.

Dosificaciones

La formulación farmacéutica de la invención comprende una concentración específica del agonista del receptor de amilina y una concentración específica del agonista del receptor de GLP-1. Por ejemplo, como se mencionó anteriormente, la formulación farmacéutica puede comprender de 0.25 a 22 mg/ml de cagrilintida y de 0.25 a 22 mg/ml de semaglutida. Las dosis del agonista del receptor de GLP y del agonista del receptor de amilina administradas en una única inyección

dependen de las concentraciones de estos ingredientes activos dentro de la formulación farmacéutica y del volumen de formulación farmacéutica administrada.

La formulación farmacéutica de la invención puede administrarse como una dosis única a intervalos predefinidos.

- 5 Una única dosis de la formulación farmacéutica que se describe en la presente descripción puede contener cualquiera de las siguientes dosis de un agonista del receptor de amilina, tal como cagrilintida, y un agonista del receptor de GLP-1, tal como semaglutida.

Puede administrarse una cantidad efectiva de un agonista del receptor de amilina, tal como cagrilintida, y un agonista del receptor de GLP-1, tal como semaglutida, a un individuo que lo
10 necesite.

En algunas modalidades, la dosis se administra aproximadamente una vez a la semana. En algunas modalidades, el intervalo entre dos dosis fijas puede ser aproximadamente 4 días, aproximadamente 5 días, aproximadamente 6 días, aproximadamente 7 días, aproximadamente 8 días, aproximadamente 9 días o aproximadamente 10 días. En una modalidad preferida, se
15 administra una dosis de mantenimiento fija aproximadamente una vez cada 7 días (una vez a la semana).

En algunas modalidades, la dosis se administra a un individuo que tiene una cualquiera o una combinación de las enfermedades o comorbilidades que se enumeran anteriormente. En algunas modalidades preferidas, la dosis se administra a un sujeto con obesidad (índice de masa corporal
20 $[IMC] \geq 30 \text{ kg/m}^2$). En algunas modalidades preferidas, la dosis se administra a individuos que tienen sobrepeso ($IMC \geq 27 \text{ kg/m}^2 - < 30 \text{ kg/m}^2$) y que tienen al menos una comorbilidad relacionada con el peso (por ejemplo, hipertensión, diabetes mellitus tipo 2 o dislipidemia).

En algunas modalidades, el tratamiento una vez a la semana da como resultado una disminución estadísticamente significativa, dependiente de la dosis, del peso corporal.

- 25 En algunas modalidades preferidas, la dosis se administra como complemento de la dieta y el ejercicio para mejorar el control de la glucemia en adultos con diabetes mellitus tipo 2.

Al iniciar el tratamiento, puede ser beneficioso administrar dosis crecientes de un agonista del receptor de amilina, tal como cagrilintida, y un agonista del receptor de GLP-1, tal como semaglutida, a las personas que necesiten del mismo. Una vez que el individuo se aclimata al
30 tratamiento, puede ser beneficioso administrar dosis de mantenimiento de un agonista del receptor de amilina, tal como cagrilintida, y un agonista del receptor de GLP-1, tal como semaglutida, a los individuos que necesiten del mismo.

En algunas modalidades, el tratamiento es una vez a la semana y el período de incremento escalonado de la dosis es 16 semanas.

En algunas modalidades, el tratamiento es una vez a la semana y el incremento escalonado de la dosis ocurre aproximadamente una vez a la semana.

- 5 En algunas modalidades, el tratamiento es una vez a la semana y el incremento escalonado de la dosis ocurre aproximadamente una vez cada dos semanas.

En algunas modalidades, el tratamiento es una vez a la semana y el incremento escalonado de la dosis ocurre aproximadamente una vez cada tres semanas.

- 10 En algunas modalidades, el tratamiento es una vez a la semana y el incremento escalonado de la dosis ocurre aproximadamente una vez cada cuatro semanas.

La dosis del agonista del receptor de amilina que se administra puede ser de aproximadamente 0.25-16 mg, tal como aproximadamente 0.25-9.0 mg, tal como aproximadamente 0.25-4.5 mg, tal como aproximadamente 0.25-2.4 mg.

- 15 La dosis de cagrilintida que se administra puede ser de aproximadamente 0.25-16 mg, tal como aproximadamente 0.25-9.0 mg, tal como aproximadamente 0.25-4.5 mg, tal como aproximadamente 0.25-2.4 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida administrada es de aproximadamente 0.25 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida administrada es de aproximadamente 0.5 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida administrada es de aproximadamente 1.0 mg.

- 20 En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida administrada es de aproximadamente 1.5 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida administrada es de aproximadamente 1.7 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida administrada es de aproximadamente 2.4 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida administrada es de aproximadamente 3.4 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida administrada es de aproximadamente 3.6 mg.

- 25 En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida administrada es de aproximadamente 4.5 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida administrada es de aproximadamente 7.2 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida administrada es de aproximadamente 8.0 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida administrada es de aproximadamente 9.0 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida administrada es de aproximadamente 16.0 mg.

- 30 La dosis del agonista del receptor de GLP-1 administrada puede ser de aproximadamente 0.25-16 mg, tal como aproximadamente 0.25-9.0 mg, tal como aproximadamente 0.25-4.5 mg, tal como aproximadamente 0.25-2.4 mg.

La dosis de semaglutida que se administra puede ser de aproximadamente 0.25-16 mg, tal como aproximadamente 0.25-9.0 mg, tal como aproximadamente 0.25-4.5 mg, tal como aproximadamente 0.25-2.4 mg.

En algunas modalidades, la dosis de semaglutida administrada es de aproximadamente 0.25 mg.

5 En algunas modalidades, la dosis de semaglutida administrada es de aproximadamente 0.5 mg.

En algunas modalidades, la dosis de semaglutida administrada es de aproximadamente 1.0 mg.

En algunas modalidades, la dosis de semaglutida administrada es de aproximadamente 1.5 mg.

En algunas modalidades, la dosis de semaglutida administrada es de aproximadamente 1.7 mg.

En algunas modalidades, la dosis de semaglutida administrada es de aproximadamente 2.4 mg.

10 En algunas modalidades, la dosis de semaglutida administrada es de aproximadamente 3.6 mg.

En algunas modalidades, la dosis de semaglutida administrada es de aproximadamente 4.5 mg.

En algunas modalidades, la dosis de semaglutida administrada es de aproximadamente 4.8 mg.

En algunas modalidades, la dosis de semaglutida administrada es de aproximadamente 6.0 mg.

En algunas modalidades, la dosis de semaglutida administrada es de aproximadamente 6.9 mg.

15 En algunas modalidades, la dosis de semaglutida administrada es de aproximadamente 7.2 mg.

En algunas modalidades, la dosis de semaglutida administrada es de aproximadamente 8.0 mg.

En algunas modalidades, la dosis de semaglutida administrada es de aproximadamente 9.0 mg.

En algunas modalidades, la dosis de semaglutida administrada es de aproximadamente 12 mg.

En algunas modalidades, la dosis de semaglutida administrada es de aproximadamente 16.0 mg. En

20 algunas modalidades, la dosis de semaglutida administrada es de aproximadamente 16.0 mg.

En algunas modalidades, la relación del agonista del receptor de amilina al agonista del receptor de GLP-1 es de aproximadamente 1:2. En algunas modalidades, la relación de cagrilintida a semaglutida es aproximadamente 1:2.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 0.125 mg y la dosis de
25 semaglutida es de aproximadamente 0.25 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 0.25 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 0.5 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 0.5 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 1.0 mg.

30 En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 0.75 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 1.5 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 0.85 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 1.7 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 1.2 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 2.4 mg.

- 5 En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 2.25 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 4.5 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 3.6 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 7.2 mg.

- 10 En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 4.0 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 8.0 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 7.2 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 14.4 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 8.0 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 16.0 mg.

- 15 En algunas modalidades, la dosis de mantenimiento de cagrilintida es de aproximadamente 1.2 mg y la dosis de mantenimiento de semaglutida es de aproximadamente 2.4 mg.

En algunas modalidades, la dosis de mantenimiento de cagrilintida es de aproximadamente 2.25 mg y la dosis de mantenimiento de semaglutida es de aproximadamente 4.5 mg.

- 20 En algunas modalidades, la dosis de mantenimiento de cagrilintida es de aproximadamente 4.0 mg y la dosis de mantenimiento de semaglutida es de aproximadamente 8.0 mg.

En algunas modalidades, la dosis de mantenimiento de cagrilintida es de aproximadamente 8.0 mg y la dosis de mantenimiento de semaglutida es de aproximadamente 16.0 mg.

- 25 En algunas modalidades, la relación del agonista del receptor de amilina al agonista del receptor de GLP-1 es de aproximadamente 1:1. En algunas modalidades, la relación de cagrilintida a semaglutida es aproximadamente 1:1.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 0.25 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 0.25 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 0.5 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 0.5 mg.

- 30 En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 1.0 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 1.0 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 1.7 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 1.7 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 2.4 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 2.4 mg.

- 5 En algunas modalidades, la dosis de mantenimiento de cagrilintida es de aproximadamente 2.4 mg y la dosis de mantenimiento de semaglutida es de aproximadamente 2.4 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 4.5 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 4.5 mg.

- 10 En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 8.0 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 8.0 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 16.0 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 16.0 mg.

En algunas modalidades, la relación del agonista del receptor de amilina con respecto al agonista del receptor de GLP-1 está entre 1:1 y 1:7.

- 15 En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 2.4 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 2.4 mg a 16.0 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 2.4 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 3.6 mg a 16.0 mg.

- 20 En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 2.4 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 2.4 mg a 13.5 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 2.4 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 3.6 mg a 13.5 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 2.4 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 3.6 mg.

- 25 En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 2.4 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 4.8 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 2.4 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 6.0 mg.

- 30 En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 2.4 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 6.9 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 2.4 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 7.2 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 2.4 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 8.0 mg.

En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 2.4 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 12 mg.

- 5 En algunas modalidades, la dosis de cagrilintida es de aproximadamente 3.4 mg y la dosis de semaglutida es de aproximadamente 13.5 mg.

En algunas modalidades, la cagrilintida y la semaglutida se administran una vez a la semana a una dosis inicial de 0.25 mg y después se incrementa escalonadamente a los niveles de dosificación posteriores de 0.5 mg, 1.0 mg, y 1.7 mg, hasta alcanzar la dosis diana/de mantenimiento de 2.4 mg una vez a la semana.

En algunas modalidades, se administran 0.25 mg de cagrilintida y de semaglutida una vez a la semana y se incrementa escalonadamente cada cuatro semanas hasta los niveles de dosificación posteriores de 0.5 mg, 1.0 mg y 1.7 mg, hasta alcanzar la dosis diana/de mantenimiento de 2.4 mg una vez a la semana.

- 15 En algunas modalidades, se administran 0.25 mg de cagrilintida y de semaglutida una vez a la semana y se incrementa escalonadamente cada cuatro semanas hasta los niveles de dosificación posteriores de 0.5 mg, 1.0 mg y 1.7 mg, hasta alcanzar la dosis diana/de mantenimiento de 2.4 mg una vez a la semana.

En algunas modalidades, se administran 0.25 mg de cagrilintida y 0.25 mg de semaglutida una vez a la semana durante cuatro semanas (semanas 0-3) y se incrementa escalonadamente cada cuatro semanas hasta los niveles de dosificación posteriores de 0.5 mg de cagrilintida y 0.5 de semaglutida (semanas 4-7), 1.0 mg de cagrilintida y 1.0 semaglutida (semanas 8-11) y 1.7 mg de cagrilintida y 1.7 mg de semaglutida (semanas 12-15), hasta alcanzar la dosis diana/de mantenimiento de 2.4 mg de cagrilintida y 2.4 mg de semaglutida una vez a la semana (semanas 16 y posteriores).

En algunas modalidades, la cagrilintida y la semaglutida se administran una vez a la semana a una dosis inicial de 0.25 mg y después se incrementa escalonadamente a los niveles de dosificación posteriores de 0.5 mg, 1.0 mg, 1.7 mg y 2.4 mg, hasta alcanzar la dosis diana/de mantenimiento de 4.5 mg una vez a la semana.

- 30 En algunas modalidades, la cagrilintida y la semaglutida se administran una vez a la semana a una dosis inicial de 0.25 mg y después se incrementa escalonadamente a los niveles de dosificación

posteriores de 0.5 mg, 1.0 mg, 1.7 mg, 2.4 mg, 3.6 mg y 4.5 mg, hasta alcanzar la dosis diana/de mantenimiento de 7.2 mg una vez a la semana.

En algunas modalidades, la cagrilintida y la semaglutida se administran una vez a la semana a una dosis inicial de 0.25 mg y después se incrementa escalonadamente a los niveles de dosificación

5 posteriores de 0.5 mg, 1.0 mg, 1.7 mg, 2.4 mg, 3.6 mg, 4.5 mg y 7.2 mg, hasta alcanzar la dosis diana/de mantenimiento de 8.0 mg una vez a la semana.

En algunas modalidades, la cagrilintida y la semaglutida se administran una vez a la semana a una dosis inicial de 0.25 mg y después se incrementa escalonadamente a los niveles de dosificación

10 posteriores de 0.5 mg, 1.0 mg, 1.7 mg, 2.4 mg, 3.6 mg, 4.5 mg, 7.2 mg y 8.0 mg, hasta alcanzar la dosis diana/de mantenimiento de 16.0 mg una vez a la semana.

En la presente descripción, los valores específicos que se dan en relación con números o intervalos pueden interpretarse como que son el valor específico o como el valor aproximado (tal como más o menos 10, 15 o 20 por ciento del valor específico, cuando las cantidades pueden proporcionarse en peso; tal como más o menos 0.4, cuando se mide el pH).

15 La siguiente es una lista no limitante de las modalidades de la presente invención.

Modalidades

1. Una formulación farmacéutica líquida que comprende un agonista del receptor de amilina, un agonista del receptor de GLP-1 y una ciclodextrina que comprende sustituciones de hidroxipropilo.

2. La formulación farmacéutica líquida de acuerdo con la modalidad 1, en donde el agonista del
20 receptor de GLP-1 tiene un punto isoeléctrico que es incompatible con el pH óptimo del agonista del receptor de amilina.

3. La formulación farmacéutica líquida de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el pH óptimo del agonista del receptor de GLP-1 y el agonista del receptor de amilina difiere en al menos aproximadamente dos unidades de pH, tales como 2-5 unidades de pH,
25 tales como 2-4 unidades de pH, tales como 3-5 unidades de pH.

4. La formulación farmacéutica líquida de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el pH óptimo del agonista del receptor de amilina es de 3.5-4.5, tal como de aproximadamente 4.0.

5. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en
30 donde dicho agonista del receptor de amilina es cagrilintida.

6. La formulación farmacéutica líquida de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho agonista del receptor de GLP-1 tiene un punto isoeléctrico menor que 6.5, tal como menor que 6.0, tal como 3.5-6.0, tal como 3.0-5.0, tal como 3.8-4.9.
7. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en
5 donde dicho agonista del receptor de GLP-1 es semaglutida.
8. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicha ciclodextrina es del tipo alfa sustituida con hidroxipropilo que comprende seis unidades de glucosa dispuestas en el anillo y/o del tipo beta sustituida con hidroxipropilo que comprende siete unidades de glucosa dispuestas en el anillo.
- 10 9. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicha ciclodextrina es del tipo alfa sustituida con hidroxipropilo que comprende seis unidades de glucosa dispuestas en anillos.
10. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicha ciclodextrina es del tipo beta sustituida con hidroxipropilo que comprende siete
15 unidades de glucosa dispuestas en anillos.
11. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicha ciclodextrina comprende un máximo de aproximadamente 1.0 hidroxipropilos por unidad de glucosa.
12. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en
20 donde dicha ciclodextrina comprende un máximo de aproximadamente 0.92 hidroxipropilos por unidad de glucosa.
13. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicha ciclodextrina comprende un máximo de aproximadamente 0.75 hidroxipropilos por unidad de glucosa.
- 25 14. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicha ciclodextrina comprende un máximo de aproximadamente 0.68 hidroxipropilos por unidad de glucosa.
15. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicha ciclodextrina comprende un mínimo de aproximadamente 0.4 hidroxipropilos por
30 unidad de glucosa.

16. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicha ciclodextrina comprende un mínimo de aproximadamente 0.58 hidroxipropilos por unidad de glucosa.
17. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicha ciclodextrina comprende aproximadamente 0.58-1.0 hidroxipropilos por unidad de glucosa.
18. La formulación farmacéutica de acuerdo con la modalidad 17, en donde dicha ciclodextrina comprende un promedio (MS) de 0.62-0.92 hidroxipropilos por unidad de glucosa.
19. La formulación farmacéutica de acuerdo con la modalidad 17, en donde dicha ciclodextrina comprende un promedio (MS) de aproximadamente 0.62-0.84 hidroxipropilos por unidad de glucosa.
20. La formulación farmacéutica de acuerdo con la modalidad 17, en donde dicha ciclodextrina comprende un promedio (MS) de aproximadamente 0.62 hidroxipropilos por unidad de glucosa.
21. La formulación farmacéutica de acuerdo con la modalidad 17, en donde dicha ciclodextrina comprende aproximadamente 0.4-0.75 hidroxipropilos por unidad de glucosa, tal como aproximadamente 0.58-0.68 hidroxipropilos por unidad de glucosa.
22. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende aproximadamente 10-25 % p/v de ciclodextrina.
23. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende más de 10 % p/v de ciclodextrina.
24. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende menos de 22 % p/v de ciclodextrina.
25. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende menos de 20 % p/v de ciclodextrina.
26. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende aproximadamente 10-20 % p/v de dicha ciclodextrina.
27. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende aproximadamente 10-17.5 % p/v de ciclodextrina.
28. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende aproximadamente 12-18 % p/v de ciclodextrina.
29. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende aproximadamente 11.25-15 % p/v de ciclodextrina.

30. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende aproximadamente 15 % p/v de ciclodextrina.
31. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende al menos aproximadamente 1 mg/ml de dicho agonista del receptor de GLP-1.
- 5 32. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende un máximo de aproximadamente 22 mg/ml de dicho agonista del receptor de GLP-1.
33. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende aproximadamente 1-12 mg/ml del agonista del receptor de GLP-1.
34. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que
10 comprende al menos aproximadamente 1 mg/ml de dicho agonista del receptor de amilina.
35. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende un máximo de aproximadamente 22 mg/ml del agonista del receptor de amilina.
36. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende aproximadamente 1-12 mg/ml del agonista del receptor de amilina.
- 15 37. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende 0.25-22 mg/ml de cagrilintida.
38. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende 0.25-22 mg/ml de semaglutida.
39. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que
20 comprende 0.25-22 mg/ml de cagrilintida y 0.25-22 mg/ml de semaglutida.
40. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende una cantidad efectiva de cagrilintida y semaglutida.
41. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende además un agente de tonicidad; con la condición de que el agente de tonicidad no sea
25 cloruro de sodio.
42. La formulación farmacéutica de acuerdo con la modalidad anterior, en donde dicho agente de tonicidad es manitol, sorbitol o trehalosa, o una combinación de los mismos.
43. La formulación farmacéutica de acuerdo con la modalidad anterior, en donde dicho agente de tonicidad es manitol.
- 30 44. La formulación farmacéutica de acuerdo con la modalidad anterior, que comprende manitol a una concentración de aproximadamente 16.5-37.5 mg/ml, tal como aproximadamente 20 mg/ml.

45. La formulación farmacéutica de acuerdo con la modalidad 41, en donde dicho agente de tonicidad es sorbitol.
46. La formulación farmacéutica de acuerdo con la modalidad anterior, que comprende sorbitol a una concentración de aproximadamente 10-40 mg/ml, tal como aproximadamente 10-30 mg/ml, tal como aproximadamente 16-28 mg/ml, tal como aproximadamente 16.5-37.5 mg/ml, tal como aproximadamente 16.5-25 mg/ml, tal como aproximadamente 16-24 mg/ml, tal como aproximadamente 24 mg/ml, tal como aproximadamente 20 mg/ml, tal como aproximadamente 16 mg/ml, tal como aproximadamente 12 mg/ml.
47. La formulación farmacéutica de acuerdo con la modalidad 41, en donde dicho agente de tonicidad es trehalosa.
48. La formulación farmacéutica de acuerdo con la modalidad anterior, que comprende trehalosa a una concentración de aproximadamente 33-75 mg/ml, tal como aproximadamente 33-45 mg/ml, tal como aproximadamente 38 mg/ml.
49. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende además un tampón que tiene al menos una pKa de aproximadamente 5.0-7.0.
50. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende además un tampón seleccionado del grupo que consiste en histidina, citrato y/o fosfato.
51. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende un máximo de 30 mM de tampón.
52. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende aproximadamente 3-30 mM de citrato.
53. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende aproximadamente 3-30 mM de histidina, tal como 3-15 mM de histidina, tal como 3-10 mM de histidina, tal como aproximadamente 6 mM de histidina.
54. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende aproximadamente 3-30 mM de fosfato.
55. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende además un surfactante.
56. La formulación farmacéutica de acuerdo con la modalidad anterior, en donde dicho surfactante es polisorbato 20 y/o polisorbato 80.
57. La formulación farmacéutica de acuerdo con la modalidad anterior, que comprende un máximo de aproximadamente 2.0 mg/ml de polisorbato 20 y/o polisorbato 80.

58. La formulación farmacéutica de acuerdo con la modalidad anterior, que comprende un máximo de aproximadamente 1.5 mg/ml de polisorbato 20 y/o polisorbato 80.
59. La formulación farmacéutica de acuerdo con la modalidad anterior, en donde dicho surfactante es polisorbato 80.
- 5 60. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el pH es de aproximadamente 5.5-6.5, preferentemente 5.6-6.0, tal como aproximadamente 5.7, tal como aproximadamente pH 5.8, tal como aproximadamente 5.9, tal como aproximadamente 6.0.
61. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que
10 comprende al menos 75 % p/p de agua, tal como aproximadamente 80 % p/p de agua, tal como aproximadamente 85 % p/p de agua, tal como hasta aproximadamente 90 % p/p de agua.
62. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que consiste esencialmente de: una cantidad efectiva de cagrilintida y semaglutida, una ciclodextrina del tipo alfa y/o beta sustituida con hidroxipropilo que comprende un mínimo de aproximadamente
15 0.4 hidroxipropilos por unidad de glucosa y un máximo de aproximadamente 1.0 hidroxipropilos por unidad de glucosa, histidina, sorbitol, polisorbato 20 y/u 80 y aproximadamente 75-90 % p/p de agua; y tiene un pH de 5.6-6.0.
63. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que consiste esencialmente de: una cantidad efectiva de cagrilintida y semaglutida; una ciclodextrina
20 del tipo alfa y/o beta sustituido con hidroxipropilo, que comprende 0.58-1.0 hidroxipropilos por unidad de glucosa, histidina, sorbitol, polisorbato 20 y/u 80 y aproximadamente 75-90 % p/p de agua; y tiene un pH de 5.6-6.0.
64. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que consiste esencialmente de: una cantidad efectiva de cagrilintida y semaglutida; una ciclodextrina
25 del tipo alfa y/u beta sustituida con hidroxipropilo, que comprende un promedio de 0.62-0.92 hidroxipropilos por unidad de glucosa, histidina, sorbitol, polisorbato 20 y/u 80 y aproximadamente 75-90 % p/p de agua; y tiene un pH de 5.6-6.0.
65. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que consiste esencialmente de: una cantidad efectiva de cagrilintida y semaglutida; una ciclodextrina
30 del tipo alfa y/u beta sustituida con hidroxipropilo, que comprende un promedio de 0.62-0.84 hidroxipropilos por unidad de glucosa, histidina y/o citrato, sorbitol, polisorbato 20 y/u 80 y aproximadamente 75-90 % p/p de agua; y tiene un pH de 5.6-6.0.

- 5 66. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que consiste esencialmente de: una cantidad efectiva de cagrilintida y semaglutida; una ciclodextrina del tipo alfa y/u beta sustituida con hidroxipropilo, que comprende un promedio de 0.62-0.68 hidroxipropilos por unidad de glucosa, histidina y/o citrato, sorbitol, polisorbato 20 y/u 80 y aproximadamente 75-90 % p/p de agua; y tiene un pH de 5.6-6.0.
- 10 67. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que consiste esencialmente de: una cantidad efectiva de cagrilintida y semaglutida; una ciclodextrina del tipo alfa y/u beta sustituida con hidroxipropilo, que comprende un promedio de 0.62 hidroxipropilos por unidad de glucosa, histidina y/o citrato, sorbitol, polisorbato 20 y/u 80 y aproximadamente 75-90 % p/p de agua; y tiene un pH de 5.6-6.0.
- 15 68. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que consiste esencialmente de: una cantidad efectiva de cagrilintida y semaglutida, una hidroxipropil beta ciclodextrina que comprende un máximo de aproximadamente 0.75 hidroxipropilos por unidad de glucosa, tal como aproximadamente 0.4-0.75 hidroxipropilos por unidad de glucosa, histidina, sorbitol, polisorbato 80 y aproximadamente 75-90 % p/p de agua; y que tiene un pH de 5.5-6.5.
- 20 69. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que consiste esencialmente de: una cantidad efectiva de cagrilintida y semaglutida, una hidroxipropil beta ciclodextrina que comprende un máximo de aproximadamente 0.75 hidroxipropilos por unidad de glucosa, tal como aproximadamente 0.4-0.75 hidroxipropilos por unidad de glucosa, histidina y/o citrato, sorbitol, polisorbato 20 y/u 80 y aproximadamente 75-90 % p/p de agua; y tiene un pH de 5.6-6.0.
- 25 70. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que consiste esencialmente de:
- una cantidad efectiva de cagrilintida y semaglutida,
 - más del 10 % p/v y menos del 22 % p/v, tal como 10-20 % p/v de ciclodextrina del tipo alfa y/o beta sustituida con hidroxipropilo (0.58-1.0 hidroxipropilos por unidad de glucosa),
 - aproximadamente 3-30 mM de histidina,
 - aproximadamente 10-40 mg/ml de sorbitol,
 - 30 - hasta 2.0 mg/ml de polisorbato 20 y/u 80,
 - pH 5.6-6.0, preferentemente pH 5.8,

- agua para inyección.

71. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que consiste esencialmente de:

- una cantidad efectiva de cagrilintida y semaglutida,

5 - más del 10 % p/v y menos del 22 % p/v, tal como 10-20 % p/v de ciclodextrina del tipo alfa y/o beta sustituida con hidroxipropilo, que comprende un promedio de 0.62-0.84 hidroxipropilos por unidad de glucosa,

- aproximadamente 3-30 mM de histidina y/o citrato,

- aproximadamente 10-40 mg/ml de sorbitol,

10 - hasta 2.0 mg/ml de polisorbato 20 y/o polisorbato 80,

- pH 5.6-6.0, preferentemente pH 5.8,

- agua para inyección.

72. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, que consiste esencialmente de:

- 15 - 0.25-22 mg/ml de cagrilintida,

- 0.25-22 mg/ml de semaglutida,

- más del 10 % p/v y menos del 22 % p/v, tal como 10-20 % p/v de ciclodextrina del tipo alfa y/o beta sustituida con hidroxipropilo (0.58-1.0 hidroxipropilos por unidad de glucosa),

- 20 - aproximadamente 6 mM de histidina,

- aproximadamente 10-40 mg/ml de sorbitol,

- hasta 2.0 mg/ml de polisorbato 20 y/u 80,

- pH 5.6-6.0, preferentemente pH 5.8,

- agua para inyección.

25 73. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores para su uso como un medicamento.

74. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-72 para su uso en el tratamiento de sujetos con un índice de masa corporal (IMC) inicial de 27 o más, tal como 30 o más.

30 75. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-72, para su uso en el tratamiento de sujetos con un índice de masa corporal (IMC) inicial de 27 o más y al menos una comorbilidad relacionada con el peso.

76. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-72, para su uso como complemento a una dieta reducida en calorías y actividad física aumentada para el control del peso crónico en sujetos adultos con un índice de masa corporal (IMC) inicial de 30 kg/m² o más (obesidad) o 27 kg/m² o más (sobrepeso) en presencia de al menos una comorbilidad relacionada con el peso.
77. Uso de acuerdo con cualquiera de las modalidades 73-76, en donde dicha comorbilidad es diabetes y/o una enfermedad cardiovascular y/o NASH.
78. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-72, para su uso en el tratamiento de sujetos con diabetes, tal como diabetes tipo II.
79. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-72, para su uso como complemento de la dieta y el ejercicio para mejorar el control glucémico en adultos con diabetes mellitus tipo 2.
80. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-72, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades cardiovasculares.
81. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-72, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de NASH.
82. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-72, para su uso en el tratamiento y/o la prevención del deterioro cognitivo, tal como el que provoca la enfermedad de Alzheimer.
83. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-72 para su uso de acuerdo con cualquiera de las modalidades 73-82, caracterizado porque la formulación se administra mediante inyección parenteral.
84. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-72 para su uso de acuerdo con cualquiera de las modalidades 73-82, caracterizado porque la formulación se administra mediante inyección subcutánea.
85. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-72 para su uso de acuerdo con cualquiera de las modalidades 73-84, caracterizado porque la formulación se administra aproximadamente una vez a la semana.
86. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-72 para su uso de acuerdo con cualquiera de las modalidades 73-85, en donde la relación de la dosis de cagrilintida administrada con respecto a la dosis de semaglutida administrada es de aproximadamente 1:1.

87. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-72 para su uso de acuerdo con cualquiera de las modalidades 73-85, en donde la relación de la dosis de cagrilintida administrada con respecto a la dosis de semaglutida administrada es de 1:1 a 1:7.

88. La formulación farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1-72 para su uso de acuerdo con cualquiera de las modalidades 73-85, en donde la relación de la dosis de cagrilintida administrada con respecto a la dosis de semaglutida administrada es de aproximadamente 1:2.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: efecto de la hidroxipropil-beta-ciclodextrina (hp-b-cd) sobre la estabilidad química de la cagrilintida

Este ejemplo demostró la capacidad de HP-B-CD para estabilizar químicamente la cagrilintida, la estabilidad química se mide en términos de pureza de cagrilintida y la proteína de alto peso molecular relacionada con cagrilintida (HMWP).

La cagrilintida es óptimamente estable a un pH de 4.0, y la velocidad de su degradación química se acelera típicamente con un aumento del pH. Sorprendentemente, se obtuvo una formulación estable de cagrilintida a pH 6 cuando se formuló con HP-B-CD.

Composición

Las composiciones de las formulaciones de cagrilintida 1, 2 y 3 se muestran en la tabla 1.

Tabla 1 Composición de las formulaciones de cagrilintida 1, 2 y 3

Ingrediente	Formulación de cagrilintida		
	1	2	3
Sustancia farmacológica cagrilintida (mg/ml)	18	18	18
HP-B-CD KLEPTOSE [®] (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.92, intervalo de MS: 0.81-0.99) ¹	0	0	25
Citrato, 1 H ₂ O ² (mM)	6.1	3.7	3.7
Hidrógenofosfato disódico, 2 H ₂ O ² (mM)	7.7	12.6	12.6
HCl	c.s.	c.s.	c.s.
NaOH	c.s.	c.s.	c.s.
Agua para inyección (WFI)	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml
pH	4.0	6.0	6.0

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

² Diferentes concentraciones de tampón en las formulaciones se usan para garantizar la amortiguación a diferentes pH

Proceso de preparación

Cada formulación de cagrilintida se preparó primero mediante la disolución de los excipientes en agua y después mediante la disolución de la sustancia farmacológica de cagrilintida en la solución del excipiente. Se ajusta el pH de la solución y se añade agua hasta alcanzar el volumen final deseado antes de esterilizarla mediante filtración a través de un filtro estéril de 0.22 µm. Después de la filtración, la formulación se cargó en una jeringa precargada de 1 ml.

Métodos

Las muestras se almacenaron a 37 °C durante un máximo de 21 días. Después de 14 días y 21 días, las muestras se analizaron para determinar el HMWP y los niveles de pureza de cagrilintida. Los niveles de HMWP que se unen covalentemente se cuantifican mediante el uso de cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). Las muestras se analizaron mediante el uso de una columna WATERS HMWP (7.8 x 300 mm) con una elución isocrática que consiste de 500 mM de cloruro de sodio, 10 mM de dihidrógenofosfato de sodio monohidratado, 5 mM de orto-fosfato y 50 % (v/v) de isopropanol. La cromatografía se realiza con detección UV (215 nm) a 50 °C mediante el uso de un volumen de inyección de 10 µl y un régimen de flujo de 0.5 ml/min. El HMWP se cuantifica como el área de todos los componentes que eluyen antes del pico principal dividido por el área del pico principal x 100 %. La pureza de la cagrilintida se determinó mediante el uso de cromatografía líquida de ultra alta resolución de fase inversa (RP-UHPLC). Las muestras se analizaron mediante el uso de una columna Kinetex C18, 1.7 µm, 100 Å (2.1 x 150 mm) con un gradiente de elución del eluyente A que consiste de una solución de fosfato 0.09 M al 90 % v/v, pH 3.6 y acetonitrilo al 10 % v/v, y eluyente B que consiste de acetonitrilo al 60 % v/v e isopropanol al 20 % v/v. La cromatografía se realizó con detección UV (215 nm) a 60 °C mediante el uso de un volumen de inyección de 2-7.5 µl y un régimen de flujo de 0.25 ml/min. La pureza se evaluó como el área del pico principal dividida por el área de todos los picos x 100 %.

Tabla 2 Pureza química (%) de cagrilintida a pH 4.0 y 6.0 con y sin HP-B-CD

Formulación de cagrilintida	pH	HP-B-CD (MS: 0.92) ¹	Niveles de HMWP (%) como una función del tiempo (días) a 37°C			Pureza (%) de la cagrilintida como una función del tiempo (días) a 37°C		
			0	14	21	0	14	21
1	4.0	0 % p/v	0.0 %	0.2 %	0.2 %	90.4 %	88.2 %	87.4 %
2	6.0	0 % p/v	0.1 %	7.7 %	9.8 %	90.1 %	74.0 %	67.1 %
3	6.0	25 % p/v	0.1 %	0.3 %	0.5 %	90.2 %	79.9 %	75.3 %

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

Comentarios concluyentes

La Tabla 2 muestra que cuando la cagrilintida se almacena a 37 °C y a un pH de 4.0, se formó muy poco HMWP y solo se observó una disminución menor en la pureza de cagrilintida. Por el contrario, cuando el pH fue 6.0, se aceleró la velocidad de formación de HMWP y la disminución de la pureza de la cagrilintida. Sorprendentemente, esta rápida degradación química se contrarrestó mediante la adición de HP-B-CD a la formulación, lo que hace posible formular cagrilintida a pH 6.

Ejemplo 2: efecto de hp-b-cd en la estabilidad física de la semaglutida

Este ejemplo demuestra la capacidad de HP-B-CD para estabilizar físicamente la semaglutida, que tiene una tendencia a formar fibrillas peptídicas. El efecto fue evidente cuando la semaglutida se formuló a pH subóptimo.

Composición

Las composiciones de las formulaciones de semaglutida 1, 2 y 3 se muestran en la tabla 3.

Tabla 3 Composición de las formulaciones de semaglutida 1, 2 y 3

Ingrediente	Formulación de semaglutida		
	1	2	3
Sustancia farmacológica semaglutida (mg/ml)	4.8	4.8	4.8
HP-B-CD KLEPTOSE [®] (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.92, intervalo de MS: 0.81-0.99) ¹	0	25	0
Citrato, 1 H ₂ O ² (mM)	3.7	3.7	0.9
Hidrógenofosfato disódico, 2 H ₂ O ² (mM)	12.6	12.6	18.2
HCl	c.s.	c.s.	c.s.
NaOH	c.s.	c.s.	c.s.
WFI	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml
pH	6.0	6.0	7.4

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

² Diferentes concentraciones de tampón en las formulaciones se usan para garantizar la amortiguación a diferentes pH

Proceso de preparación

Las formulaciones se prepararon como se describe en el Ejemplo 1.

Métodos

La propensión de la semaglutida a agregarse y formar fibrillas peptídicas, los parámetros usados para cuantificar la estabilidad física, se midieron mediante el uso de un ensayo de estrés por fluorescencia de tioflavina T (ThT). El análisis de la presencia de fibrillas peptídicas se basa en las características de fluorescencia de la sonda de ThT, que muestra una baja fluorescencia en el estado no unido/estado unido al péptido natural, pero una alta fluorescencia cuando se une a las fibrillas peptídicas, así como también un desplazamiento al rojo en la longitud de onda de máxima fluorescencia tras la unión a las fibrillas.

Se agrupan dos muestras y se agregan 1400 µl de muestra a 28 µl de solución madre de ThT 1 mM, de los cuales 200 µl se transfieren luego a 6 pocillos diferentes en una placa de microtitulación de 96 pocillos con una perla de vidrio adentro. El ensayo se realiza con agitación orbital doble y una velocidad de 300 rpm a 40 °C durante 169 horas en un lector de placas de fluorescencia BMG CLARIOstar que se equipa con monocromadores tanto para excitación como para emisión mediante el uso de 450 nm y 480 nm, respectivamente. El tiempo de retraso se mide desde el comienzo del experimento hasta que se produce la fibrilación, que se muestra como un aumento en la fluorescencia de ThT.

Tabla 4 Estabilidad física de semaglutida a pH 6.0 y 7.4

Formulación de semaglutida	pH	HP-B-CD (MS: 0.92) ³	Tiempo de retraso hasta la fibrilación
1	6.0	0 % p/v	2.35 horas ¹
2	6.0	25 % p/v	>169 horas ^{1,2}
3	7.4	0 % p/v	>169 horas ^{1,2}

¹ El resultado es la media de 6 réplicas

² No se observa fibrilación en ninguna de las 6 réplicas dentro de las 169 horas de duración del experimento

³ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

Comentarios concluyentes

Las formulaciones de semaglutida se sometieron a condiciones de inducción de estrés por cizallamiento y se midió la propensión de la semaglutida a formar fibrillas peptídicas. Sorprendentemente, se encontró que la presencia de HP-B-CD inhibe la formación de fibrillas peptídicas por semaglutida. Cuando se formuló semaglutida a pH 6 y en ausencia de HP-B-CD (formulación 1 de semaglutida), se produjo fibrilación después de 2.35 horas; es decir, la semaglutida no fue físicamente estable. Sin embargo, cuando se formuló semaglutida a pH 6 y en presencia de HP-B-CD (formulación 2 de semaglutida), no se observó fibrilación durante la

duración del experimento; es decir, la semaglutida fue físicamente estable. Además, la estabilidad física de la semaglutida, cuando se formula a pH 6 y en presencia de HP-B-CD (formulación 2 de semaglutida), se encontró comparable a la estabilidad física de la semaglutida cuando se formula en ausencia de HP-B-CD pero a sus condiciones de formulación óptima en términos de pH 7.4 (formulación 3 de semaglutida).

Ejemplo 3: efecto de hp-b-cd en la estabilidad química de la semaglutida

Este ejemplo demostró la capacidad de HP-B-CD para estabilizar químicamente la semaglutida, la estabilidad química se mide en términos de pureza de la semaglutida y la proteína de alto peso molecular relacionada con la semaglutida (HMWP).

Composición

Se usaron las mismas formulaciones que en el ejemplo 2.

Proceso de preparación

Las formulaciones se prepararon como se describe en el Ejemplo 1.

Métodos

Los niveles de HMWP y la pureza de la semaglutida se determinaron después de 0 días, 14 días y 21 días de almacenamiento a 37 °C.

La pureza de la semaglutida se determinó mediante cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa (RP-HPLC), donde las muestras se analizaron mediante el uso de una columna Kinetex C18, 2.6 μm (4.6 x 150 mm) con un gradiente de elución del eluyente A que consiste de solución de fosfato 0.09 M al 90 % v/v, pH 3.6 y acetonitrilo al 10 % v/v, y eluyente B que consiste en acetonitrilo al 60 % v/v e isopropanol al 20 % v/v. La cromatografía se realiza con detección UV (210 nm) a 30 °C mediante el uso de un volumen de inyección de 10-100 μl y un régimen de flujo de 0.7 ml/min. La pureza se cuantifica como el área del pico principal que se divide por el área de todos los picos x 100 %.

El nivel de HMWP que se une covalentemente se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). Las muestras se analizan mediante el uso de una columna Waters SEC de 1.7 μm (4.6 x 150 mm) con una elución isocrática que consiste de 300 mM de cloruro de sodio, 10 mM de dihidrógenofosfato de sodio, 5 mM de ortofosfato y 50 % v/v de 2-propanol. La cromatografía se realiza con detección UV (280 nm) a 50 °C mediante el uso de un volumen de inyección de 1-10 μl y un régimen de flujo de 0.3 ml/min. El HMWP se cuantifica como el área de todos los componentes que eluyen antes del pico principal que se divide por el área del pico principal x 100 %.

Tabla 5 Pureza de semaglutida a pH subóptimo y óptimo

Formulación de semaglutida	pH	HP-B-CD (MS: 0.92) ¹	Pureza (%) de semaglutida como una función del tiempo (días) a 37°C			Niveles de HMWP (%) como una función del tiempo (días) a 37°C		
			0	14	21	0	14	21
1	6.0	0 % p/v	96.89 %	94.58 %	93.48 %	0.12 %	0.25 %	0.35 %
2	6.0	25 % p/v	96.51 %	94.53 %	93.73 %	0.04 %	0.11 %	0.11 %
3	7.4	0 % p/v	96.82 %	95.56 %	94.81 %	0.12 %	0.32 %	0.40 %

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

Comentarios concluyentes

Los resultados de la tabla 5 muestran que la pureza química de la semaglutida disminuyó con el tiempo. La pureza química de la semaglutida disminuyó más rápidamente cuando se formuló a pH 6.0 (formulación 1 de semaglutida) que cuando se formuló a su pH óptimo 7.4 (formulación 3 de semaglutida). Sorprendentemente, HP-B-CD mejora la estabilidad química de semaglutida (en términos de disminución de la pureza y formación de HMWP) cuando se formula a pH 6.0 (formulación 2 de semaglutida).

Ejemplo 4: efecto de la sustitución molar de hp-b-cd en la estabilidad física de la coformulación de cagrilintida y semaglutida

Este ejemplo muestra el efecto de la sustitución molar de HP-B-CD sobre la estabilidad física de cagrilintida y semaglutida.

Composición

Las composiciones de la coformulación 1 y la coformulación 2 se muestran en la tabla 6.

Tabla 6 Composición de la coformulación 1 y la coformulación 2

Ingrediente	Coformulación	
	1	2
Sustancia farmacológica cagrilintida (mg/ml)	3.2	3.2
Sustancia farmacológica semaglutida (mg/ml)	3.2	3.2
HP-B-CD KLEPTOSE® (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.92, intervalo de MS: 0.81-0.99) ¹	25	-
HP-B-CD KLEPTOSE® (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.62, intervalo de MS: 0.58-0.68) ¹	-	25
Citrato, 1 H ₂ O (mM)	3	3
HCl	c.s.	c.s.
NaOH	c.s.	c.s.
WFI	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml
pH	5.7	5.7

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

Proceso de preparación

Las formulaciones se prepararon como se describe en el Ejemplo 1.

Métodos

5 Todas las muestras se almacenan en condiciones de estrés, se definen como:

- Duración: 28 días
 - Temperatura: 30 °C ± 2 °C
 - Condición de estrés: Durante el almacenamiento, las muestras se invierten 360° para simular el uso del paciente fuera del almacenamiento refrigerado. Las rotaciones se realizan 20 veces tres días
- 10 cada semana y 40 veces dos días cada semana.

El número de partículas subvisibles presentes cuantifica la estabilidad física de cagrilintida y semaglutida combinadas y se obtuvieron por medio de imágenes de microflujo (MFI, ver por ejemplo Sharma, D.K. y otros AAPS J. (2010), 12: 455-464 para los principios de la técnica MFI).

Se empleó el siguiente procedimiento para cada muestra de jeringa que se analiza: El experimento

15 se realizó a temperatura ambiente. El líquido de cada jeringa se extrae al retirar primero el émbolo y después pipetear el líquido en el contenedor de muestra. La muestra se transfirió a una placa de 96 pocillos profundos que se insertó en la unidad de manipulación de muestras (Bot1) de un aparato Protein Simple MFI™ 5200 equipado con una celda de flujo estándar de Protein Simple MFI™ de 100 µm. La muestra se analiza mediante la configuración estándar del sistema MFI, lo

20 que implica que el líquido se pipetea a un depósito que se conecta a una celda de flujo, el líquido se ilumina mediante una fuente de luz 10 LED (470 nm) y una cámara digital (a través de ópticas de aumento) se registra el contenido de la celda de flujo como imágenes de campo brillante a lo largo del experimento. La adquisición de datos se logró mediante el uso del software Protein Simple MVSS. La corriente de imágenes registradas de toda la corrida se procesa mediante el software

25 patentado de Novo Nordisk validado MFI Data Validator de manera que se obtuvo el número (normalizado a los recuentos por ml de líquido analizado) de partículas individuales y se presentó por tamaño; >5 µm, >10 µm y >25 µm que son intervalos de tamaño estándar para partículas subvisibles. Debe notarse que el número de partículas >5 µm incluye todas las partículas mayores que 5 µm de diámetro (>5 µm, >10 µm y >25 µm) y el número de partículas > 10 µm incluye todas

30 las partículas mayores que 10 µm de diámetro (>10 µm y >25 µm). El tamaño de partícula se define como el diámetro circular equivalente (ECD).

La presencia de fibrillas de péptido amiloide se analizó con un ensayo de fluorescencia de tioflavina-T (ThT). El experimento se realiza a 25 °C. El líquido de cada jeringa se extrae al retirar primero el émbolo trasero y después pipetear el líquido en el contenedor de muestra. Subsecuentemente, se mezclan 500 µl de la muestra con aproximadamente 9 µl de una solución madre de ThT en un contenedor de muestra separado, para dar una concentración de ThT final de 20 µM. La muestra se dejó incubar en la oscuridad durante 25 min a temperatura ambiente. Se transfirieron 200 µl de muestra a un pocillo en una placa de microtitulación de 96 pocillos. Las muestras se miden en un lector de placas de fluorescencia BMG CLARIOstar que se equipa con monocromadores tanto para excitación como para emisión mediante el uso de 440 nm y 470-550 nm, respectivamente.

La adquisición de datos se logró mediante el uso del software CLARIOstar Control. Se observó que la emisión máxima en el presente ensayo se produce a una longitud de onda de aproximadamente 485 nm; el resultado de cada análisis se informa, por lo tanto, como la fluorescencia de ThT a 485 nm, que se expresa en Unidades de Fluorescencia Relativa (RFU).

Tabla 8 Estabilidad física de la coformulación con HP-B-CD con una sustitución molar alta o media

Coformulación	Sustitución molar media de HP-B-CD	Número de partículas subvisibles como una función del tiempo (días)			
		0	14	21	28
Tamaño de partícula >5 µm					
1	HP-B-CD (MS: 0.92) ¹	459	334	1,754	22,433
2	HP-B-CD (MS: 0.62) ¹	256	379	715	245
Tamaño de partícula >10 µm					
1	HP-B-CD (MS: 0.92) ¹	52	27	602	10,598
2	HP-B-CD (MS: 0.62) ¹	39	39	132	122
Tamaño de partícula >25 µm					
1	HP-B-CD (MS: 0.92) ¹	0	0	2	644
2	HP-B-CD (MS: 0.62) ¹	6	0	8	4
Fluorescencia de ThT a 485 nm					
1	HP-B-CD (MS: 0.92) ¹	3,357	3,538	3,588	13,640
2	HP-B-CD (MS: 0.62) ¹	3,784	3,720	3,967	3,463

Los resultados del número de partículas subvisibles son la media de 3 réplicas y se han redondeado al valor entero más cercano

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

Comentarios concluyentes

Los resultados en la tabla 7 muestran que se generaron menos partículas en la coformulación 2 que contenía HP-B-CD (MS promedio: 0.62). Además, durante los 28 días que dura el experimento, no se observó ningún aumento en el número de partículas subvisibles o de fluorescencia de ThT en el caso de la coformulación 2.

- 5 Por el contrario, se observó un aumento en el recuento de partículas subvisibles después de 21 días, y un aumento en la fluorescencia de ThT después de 28 días, en el caso de la coformulación 1 que contenía HP-B-CD (MS promedio: 0.92).

En esta coformulación tamponada con citrato de semaglutida y cagrilintida de cualquier otra manera, la coformulación (2) que comprendía HP-B-CD (MS promedio: 0.62) fue más estable físicamente que la coformulación (1) que comprendía HP-B-CD (MS promedio: 0.92).

Ejemplo 5: efecto de la concentración de hidroxipropil-b-ciclodextrina sobre la estabilidad química de la semaglutida

Este ejemplo muestra el efecto dependiente de la concentración de HP-B-CD sobre la estabilidad química de la semaglutida.

15 Composición

La composición de la coformulación 3, coformulación 4, y coformulación 5 se muestran en la tabla 8.

Tabla 8 Composición de la coformulación 3, coformulación 4, y coformulación 5

Ingrediente	Coformulación		
	3	4	5
Sustancia farmacológica cagrilintida (mg/ml)	3.2	3.2	3.2
Sustancia farmacológica semaglutida (mg/ml)	3.2	3.2	3.2
HP-B-CD KLEPTOSE® (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.62, intervalo de MS: 0.58-0.68) ¹	11.25	12.5	15
L-Histidina (mM)	6	6	6
Sorbitol ² (mg/ml)	26	24	20
Polisorbato 80 (mg/ml)	0.05	0.05	0.05
HCl	c.s.	c.s.	c.s.
NaOH	c.s.	c.s.	c.s.
WFI	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml
pH	5.7	5.7	5.7

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

² Se necesitan diferentes concentraciones de sorbitol para obtener isotonicidad debido a las diferentes concentraciones de HP-B-CD probadas

Preparación

Las formulaciones se prepararon como se describe en el Ejemplo 1.

Método

Las muestras se almacenan a 37 °C durante 28 días, momento en el que se analizan las muestras para determinar la pureza química de la semaglutida después de 14, 21 y 28 días.

La pureza de la semaglutida se determinó mediante el uso de cromatografía líquida de ultra alta resolución de fase inversa (RP-UHPLC), donde las muestras se analizaron mediante el uso de una columna Waters Acquity de fenil-hexilo de 1.7 µm (2.1 x 150 mm) con un gradiente de elución del eluyente A que consiste de TFA al 0.09 % en agua MQ y el eluyente B que consiste de TFA al 0.09 % en agua MQ, TFA al 0.09 % en acetonitrilo al 80 % en agua MQ. La cromatografía se realizó con detección UV (215 nm) a 62 °C mediante el uso de un volumen de inyección de 2-14 µl y un régimen de flujo de 0.25 ml/min. La pureza se evaluó como el área del pico principal de semaglutida dividida por el área de todos los picos relacionados x 100 %.

Debe notarse que, en otros experimentos, se usó el mismo método para determinar la pureza de la cagrilintida.

Tabla 9 Pureza química (%) para la semaglutida con diferentes concentraciones de HP-B-CD

Coformulación	HP-B-CD (MS: 0.62) ¹	Pureza de semaglutida (%) como una función del tiempo (días) a 37 °C			
		0	14	21	28
3	11.25 % p/v	96.90 %	90.72 %	88.65 %	87.52 %
4	12.5 % p/v	96.87 %	92.90 %	91.25 %	89.81 %
5	15 % p/v	96.83 %	93.61 %	92.92 %	91.67 %

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

Comentarios concluyentes

Los resultados en la tabla 9 muestran que la estabilidad química y, por lo tanto, la pureza de la semaglutida también dependieron de la concentración de HP-B-CD. La semaglutida permaneció químicamente estable en todas las coformulaciones (que comprende 11.25-15 % p/v de HP-B-CD). Sin embargo, la estabilidad química de la semaglutida y, por lo tanto, la pureza fue más alta cuando la coformulación comprendió 15 % p/v de HP-B-CD.

Ejemplo 6: efecto de diferentes agentes de tonicidad en la estabilidad física de la coformulación

Este ejemplo muestra el efecto estabilizador de diferentes agentes de tonicidad sobre la estabilidad física de las coformulaciones de cagrilintida y semaglutida de cualquier otra manera idénticas.

Composición

Las composiciones de la coformulación 6 a la coformulación 12 se muestran en la tabla 10.

Tabla 10 Composición de la coformulación 6 a la coformulación 12

Ingrediente	Coformulación						
	6	7	8	9	10	11	12
5 Sustancia farmacológica cagrilintida (mg/ml)	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2
Sustancia farmacológica semaglutida (mg/ml)	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2
10 HP-B-CD KLEPTOSE® (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.62, intervalo de MS: 0.58-0.68) ¹	10	10	10	10	10	10	10
10 L-Histidina (mM)	6	6	6	6	6	6	6
Polisorbato 20 (mg/ml)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Glicerol (mg/ml)	-	16	-	-	-	-	-
Sorbitol (mg/ml)	-	-	34	-	-	-	-
Manitol (mg/ml)	-	-	-	34	-	-	-
Trehalosa (mg/ml)	-	-	-	-	63	-	-
15 Sacarosa (mg/ml)	-	-	-	-	-	63	-
15 NaCl (mg/ml)	-	-	-	-	-	-	6.0
HCl	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.
NaOH	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.
WFI	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml
20 pH	5.7	5.7	5.7	5.7	5.7	5.7	5.7

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

Proceso de preparación

Las formulaciones se prepararon como se describe en el Ejemplo 1.

Métodos

Todas las muestras se almacenan en condiciones de estrés que se definen como:

- Duración: 18 días
- Temperatura: 37 °C ± 2 °C
- Condición de estrés: Durante el almacenamiento, las muestras se invirtieron 360° para simular el uso del paciente fuera del almacenamiento refrigerado. Las rotaciones se realizaron 100 veces, cinco días cada semana.

El número de partículas subvisibles se cuantificó como se describió en el ejemplo 4.

Tabla 11 El efecto de diferentes agentes de tonicidad sobre la estabilidad física de la coformulación

	Coformulación	Agente de tonicidad	Número de partículas subvisibles como una función del tiempo (días)				
			0	7	11	14	18
5	Tamaño de partícula >5 µm						
	6	Ninguno	256	385	429	952	1,296
	7	Glicerol	292	241	292	466	691
	8	Sorbitol	212	341	340	517	345
	9	Manitol	94	438	177	245	360
	10	Trehalosa	121	155	213	504	472
	11	Sacarosa	59	104	140	539	749
	12	NaCl ¹	36	946	-	-	-
10	Tamaño de partícula >10 µm						
	6	Ninguno	4	27	96	216	377
	7	Glicerol	10	23	23	48	106
	8	Sorbitol	6	54	42	36	73
	9	Manitol	2	23	12	8	50
	10	Trehalosa	4	10	40	50	69
	11	Sacarosa	2	8	13	142	253
	12	NaCl ¹	2	403	-	-	-
15	Tamaño de partícula >25 µm						
	6	Ninguno	0	4	4	27	75
	7	Glicerol	0	0	4	6	4
	8	Sorbitol	0	0	2	4	0
	9	Manitol	0	0	0	0	0
	10	Trehalosa	0	0	0	0	4
	11	Sacarosa	0	0	2	15	55
	12	NaCl ¹	0	106	-	-	-
20							

Los resultados son la media de 2 réplicas y se redondearon al valor entero más cercano

(-) Muestreo no realizado

¹ Para la coformulación 12 con NaCl, el muestreo se interrumpió antes que para las otras formulaciones debido al rápido aumento en el contenido de partículas subvisibles.

Comentarios concluyentes

Los resultados en la tabla 11 muestran que el recuento de partículas subvisibles aumentó más rápidamente en la coformulación que comprende NaCl como agente de tonicidad (coformulación 12). Después de 7 días, el recuento de partículas supera ampliamente el recuento de partículas determinado a partir de las otras coformulaciones. Por lo tanto, el muestreo para el análisis del número de partículas subvisibles se interrumpió para la coformulación que contenía NaCl después de 7 días.

Después de 14 días se observó un aumento en el recuento de partículas subvisibles en las la coformulaciones que contenían glicerol y sacarosa y las dos coformulaciones se consideran comparables con respecto a la estabilidad física. El recuento de partículas permaneció más bajo en las coformulaciones que contenían manitol, sorbitol o trehalosa. En estas coformulaciones, virtualmente no se observó ningún aumento en el número de partículas subvisibles durante los 18 días en que las coformulaciones se almacenaron en condiciones estresadas.

De las coformulaciones probadas, las que comprenden manitol, sorbitol o trehalosa como agente de tonicidad permanecieron las más estables a lo largo del tiempo.

Ejemplo 7: efecto de diferentes surfactantes sobre la estabilidad física de la coformulación

Este ejemplo muestra el efecto de diferentes surfactantes sobre la estabilidad física de las coformulaciones de cagrilintida y semaglutida de cualquier otra manera idénticas.

Composición

Las composiciones de la coformulación 13, coformulación 14, y coformulación 15 se muestran en la tabla 12.

Tabla 12 Composición de la coformulación 13, coformulación 14, y coformulación 15

Ingrediente	Coformulación		
	13	14	15
Sustancia farmacológica cagrilintida (mg/ml)	3.2	3.2	3.2
Sustancia farmacológica semaglutida (mg/ml)	3.2	3.2	3.2
HP-B-CD KLEPTOSE® (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.62, intervalo de MS: 0.58-0.68) ¹	10	10	10
L-Histidina (mM)	6	6	6
Polisorbato 20 (mg/ml)	0.05	-	-
Polisorbato 80 (mg/ml)	-	0.05	-
Poloxámero 188 (mg/ml)	-	-	0.5
HCl	c.s.	c.s.	c.s.
NaOH	c.s.	c.s.	c.s.
WFI	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml
pH	5.7	5.7	5.7

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

Proceso de preparación

Las formulaciones se prepararon como se describe en el Ejemplo 1.

Métodos

Todas las muestras se almacenan en condiciones de estrés que se definen como:

- Duración: 17 días
- Temperatura: 37 °C ± 2 °C
- Condición de estrés: Durante el almacenamiento, las muestras se invirtieron 360° para simular el uso del paciente fuera del almacenamiento refrigerado. Las rotaciones se realizaron 100 veces, cinco días cada semana.

El número de partículas subvisibles se cuantificó como se describió en el ejemplo 4.

Tabla 13 El efecto de diferentes surfactantes sobre la estabilidad física de la coformulación

Coformulación	Surfactante	Número de partículas subvisibles como una función del punto de tiempo (días)				
		0	7	10	14	17
Tamaño de partícula >5 µm						
13	Polisorbato 20	464	304	396	772	2,803
14	Polisorbato 80	566	292	520	286 ¹	348
15	Poloxámero 188	1,235	1,278	2,783	940 ¹	1,704
Tamaño de partícula >10 µm						
13	Polisorbato 20	23	23	43	143	297
14	Polisorbato 80	19	31	76	57 ¹	48
15	Poloxámero 188	100	245	301	290 ¹	523
Tamaño de partícula >25 µm						
13	Polisorbato 20	0	2	6	11	13
14	Polisorbato 80	0	0	0	4 ¹	0
15	Poloxámero 188	0	13	17	61 ¹	52

Los resultados son la media de 2 réplicas y se redondearon al valor entero más cercano

¹ Solo se realiza una réplica

Comentarios concluyentes

La coformulación 14 contenía el número más bajo de partículas subvisibles cuando se almacenaban durante 17 días en condiciones estresadas. En la coformulación 13, que contenía polisorbato 20, se observó un aumento en las partículas subvisibles después de 14 días, mientras que en la coformulación 15 que contenía poloxámero 188 las partículas subvisibles se forman después de 7 días en condiciones estresadas. Es evidente que la coformulación que contenía polisorbato 80 fue la más estable y que la coformulación que contenía polisorbato 20 también fue aceptablemente estable.

Ejemplo 8: efecto de diferentes sustancias tampón en la estabilidad física de la coformulación

Este ejemplo muestra que la sustancia tampón tiene un efecto sobre la estabilidad física de la coformulación de cagrilintida y semaglutida de cualquier otra manera idéntica.

Composición

Se muestra la composición de la coformulación 1 y la coformulación 16 en la tabla 14.

Tabla 14 Composición de la coformulación 1 y la coformulación 16

Ingrediente	Coformulación	
	1	16
Sustancia farmacológica cagrilintida (mg/ml)	3.2	3.2
Sustancia farmacológica semaglutida (mg/ml)	3.2	3.2
HP-B-CD KLEPTOSE® (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.92, intervalo de MS: 0.81-0.99) ¹	25	25
Citrato, 1 H ₂ O (mM)	3	-
L-Histidina (mM)	-	6
HCl	c.s.	c.s.
NaOH	c.s.	c.s.
WFI	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml
pH	5.7	5.7

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

Proceso de preparación

Las formulaciones se prepararon como se describe en el Ejemplo 1.

Métodos

Todas las muestras se almacenan en condiciones de estrés que se definen como:

- Duración: 21 días
- Temperatura: 37 °C ± 2 °C
- Condición de estrés: Durante el almacenamiento, las muestras se invirtieron 360° para simular el uso del paciente fuera del almacenamiento refrigerado. Las rotaciones se realizaron 100 veces, cinco días cada semana.

El número de partículas subvisibles se cuantificó como se describió en el ejemplo 4.

Tabla 15 El efecto de la sustancia tampón en la estabilidad física de la coformulación

Coformulación	Sustancia tampón	Número de partículas subvisibles como una función del tiempo (días)					
		0	7	11	14	18	21
Tamaño de partícula >5 µm							
1	Citrato	459	668	408	409	4,717	3,115
16	Histidina	386	752	569	571	2,495	2,392
Tamaño de partícula >10 µm							
1	Citrato	52	117	55	125	2,114	1,446
16	Histidina	68	80	103	151	969	760
Tamaño de partícula >25 µm							

1	Citrato	0	0	0	16	542	332
16	Histidina	2	0	4	13	162	117

Los resultados son la media de 2 réplicas y se redondearon al valor entero más cercano

Comentarios concluyentes

Hasta el día 14 de haberse almacenado en condiciones estresadas, la estabilidad física de las dos coformulaciones fue similar y aceptable. Sin embargo, después de 18 días, el número de partículas subvisibles en la coformulación tamponada con citrato (coformulación 1) fue mucho mayor que en la coformulación tamponada con histidina (coformulación 16). La coformulación tamponada con histidina 16 fue la más estable.

Ejemplo 9: efecto de diferentes concentraciones de tampones sobre la estabilidad química de la coformulación

Este ejemplo muestra el efecto de la concentración del tampón sobre la estabilidad química de coformulaciones de cualquier otra manera idénticas.

Composición

Las composiciones de la coformulación 17 y la coformulación 18 se muestran en la tabla 16.

Tabla 16 Composición de la coformulación 17 y la coformulación 18

Ingrediente	Coformulación	
	17	18
Sustancia farmacológica cagrilintida (mg/ml)	3.2	3.2
Sustancia farmacológica semaglutida (mg/ml)	3.2	3.2
HP-B-CD KLEPTOSE® (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.62, intervalo de MS: 0.58-0.68) ¹	10	10
L-Histidina (mM)	6	20
HCl	c.s.	c.s.
NaOH	c.s.	c.s.
WFI	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml
pH	5.7	5.7

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

Proceso de preparación

Las formulaciones se prepararon como se describe en el Ejemplo 1.

Métodos

Las muestras se almacenaron a 30 °C durante 21 días y se analizaron para determinar la pureza química de la cagrilintida después de 7, 14 y 21 días. La pureza de la cagrilintida se determinó como se describe en el ejemplo 5 (para semaglutida).

Tabla 17 El efecto de la concentración de tampón sobre la estabilidad química de la cagrilintida en la coformulación

Coformulación	Concentración de tampón	Pureza de cagrilintida (%) como una función del tiempo (días) a 30°C			
		0	7	14	21
17	6 mM de Histidina	89.2 %	88.2 %	86.5 %	84.2 %
18	20 mM de Histidina	89.2 %	87.9 %	86.0 %	83.5 %

Comentarios concluyentes

Los resultados en la tabla 17 muestran que ambas coformulaciones fueron estables. Sin embargo, la pureza química de la cagrilintida fue más alta en la coformulación 17. La pureza de la cagrilintida disminuyó más rápidamente con el tiempo cuando la concentración de histidina fue de 20 mM.

Ejemplo 10: efecto de diferentes concentraciones de tampones sobre la estabilidad física de la coformulación

Este ejemplo muestra el efecto de la concentración de tampón de histidina sobre la estabilidad física de la coformulación.

Composición

Las composiciones de las coformulaciones que se prueban son las que se muestran en la tabla 16

Proceso de preparación

Las formulaciones se prepararon como se describe en el Ejemplo 1.

Métodos

Todas las muestras se almacenan en condiciones de estrés que se definen como:

- Duración: 18 días
- Temperatura: 37 °C ± 2 °C
- Condición de estrés: Durante el almacenamiento, las muestras se invirtieron 360° para simular el uso del paciente fuera del almacenamiento refrigerado. Las rotaciones se realizaron 100 veces, cinco días cada semana.

El número de partículas subvisibles se cuantificó como se describió en el ejemplo 4.

Tabla 18 El efecto de la concentración de tampón sobre la estabilidad física de la coformulación

Coformulación	Concentración de tampón	Número de partículas subvisibles como una función del punto de tiempo (días)				
		0	7	10	14	18
Tamaño de partícula >5 µm						
17	6 mM de Histidina	239	392	165	189	266
18	20 mM de Histidina	50	262	197	1,029	926
Tamaño de partícula >10 µm						
17	6 mM de Histidina	4	8	15	17	46
18	20 mM de Histidina	2	17	17	461	423
Tamaño de partícula >25 µm						
17	6 mM de Histidina	0	0	2	0	2
18	20 mM de Histidina	0	0	0	120	104

Los resultados son la media de 2 réplicas y se redondearon al valor entero más cercano.

Comentarios concluyentes

La diferencia en la estabilidad física de las coformulaciones 17 y 18 se hizo más evidente después de 14 días. Los datos en la tabla 18 muestran que el número de partículas subvisibles observadas en la coformulación 18 (que contenía 20 mM de histidina) fue mayor que el número de partículas subvisibles observadas en la coformulación 17 (que contenía 6 mM de histidina). Es decir, la coformulación que comprende 6 mM de histidina es la más estable físicamente.

Ejemplo 11: efecto de la concentración de hp-b-cd sobre la tolerancia subcutánea tras la inyección subcutánea

Este ejemplo muestra el efecto dependiente de la concentración de HP-B-CD sobre el tejido subcutáneo tras la inyección subcutánea.

Composición

Las composiciones de los vehículos de la coformulación probados que se prepararon con concentraciones variables de HP-B-CD se muestran en la tabla 19.

Tabla 19 Composición de vehículos de la coformulación que contienen concentraciones variables de HP-B-CD

Ingrediente	Vehículo de la coformulación				
	1	2	3	4	5
HP-B-CD KLEPTOSE® (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.62, intervalo de MS: 0.58-0.68) ¹	10	12.5	15	17.5	20
L-Histidina (mM)	6	6	6	6	6
Sorbitol ² (mg/ml)	28	24	20	16	12
Polisorbato 80 (mg/ml)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
HCl	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.
NaOH	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.

WFI	Para 1 ml	Para 1 ml	Para 1 ml	Para 1 ml	Para 1 ml
pH	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa.

² La concentración de sorbitol varía con la concentración variable de HP-B-CD para mantener las condiciones isotónicas.

Proceso de preparación

Las formulaciones se prepararon como se describe en el ejemplo 1 excepto que se abstuvo de añadir ingredientes farmacéuticos activos.

Método

Se estudió la tolerancia local (subcutánea) tras la administración subcutánea de formulaciones que contenían HP-B-CD en 5 cerdos vivos Landrace×Yorkshire×Duroc (LYD) mediante la evaluación de las lesiones cutáneas resultantes 6 días (necropsia) después de la administración subcutánea de 600 µl en mediante el uso de jeringas equipadas con agujas de tamaño 25 G y tapones de 5 mm. Las muestras de piel de 2x2 cm de tamaño se recogieron en la necropsia, se fijaron en formalina tamponada neutra, se recortaron mediante el uso de cuchillas múltiples, se incrustaron en parafina, se cortaron en secciones delgadas de 4 µm, se montaron en portaobjetos de vidrio y subsecuentemente se tiñeron con hematoxilina-eosina (HE). El nivel de necrosis del tejido subcutáneo se evaluó mediante el uso de un microscopio óptico y se califica en una escala numérica, donde el código 1 refleja “sin necrosis” y el código 4 refleja “necrosis moderada”. Para cada vehículo de la coformulación, se realizan un total de 5 muestras de piel. Sin embargo, debido a la variación en el corte del tejido subcutáneo para una evaluación exitosa de la necrosis, no se pudo asignar una puntuación a todos los sitios de inyección:

1, sin necrosis

2, necrosis mínima

3, necrosis leve

4, necrosis moderada

Se evalúan las preparaciones isotónicas de vehículos de la coformulación que contienen de 10 % p/v al 20 % p/v de HP-B-CD para el nivel de necrosis subcutánea que provocan tras la inyección subcutánea. Los resultados se presentan en la Tabla 20.

Tabla 20 Puntuaciones de necrosis 6 días después de las inyecciones de necrosis de tejido subcutáneo para la necrosis de la coformulación para vehículos de la coformulación que varían en porcentaje de HP-B-CD

Vehículo de la coformulación	Concentración de HP-B-CD	Necrosis, subcutánea	Número de muestras de piel que se puntean con éxito del total
1	10 % p/v	2,2,2,2,3	5 de 5
2	12.5 % p/v	3,3	2 de 5
3	15 % p/v	2,2,3	3 de 5
4	17.5 % p/v	2,2,3	3 de 5
5	20 % p/v	2,3,3,4	4 de 5

Comentarios concluyentes

Se observó una correlación entre el aumento de la concentración de HP-B-CD en el vehículo de la coformulación y la necrosis en el lugar de la inyección. En un caso, el vehículo de coformulación que contenía 20 % p/v de HP-B-CD dio lugar a una necrosis subcutánea moderada en el lugar de la inyección. Todas las formulaciones que contienen menos del 20 % p/v de HP-B-CD dan lugar a una necrosis subcutánea leve o mínima en el lugar de la inyección. Todos los vehículos de la coformulación que contenían 10-20 % p/v de HP-B-CD se toleraron en un grado aceptable, donde las preferidas eran aquellas que contenían HP-B-CD al 10-17.5 % p/v.

Ejemplo 12: efecto de diferentes agentes de tonicidad sobre la tolerancia subcutánea tras inyección subcutánea

Este ejemplo muestra el efecto sobre la tolerancia local de cualquiera de los tres agentes de tonicidad diferentes (sorbitol, manitol y trehalosa) en vehículos de coformulaciones isotónicas de cualquiera manera idénticas.

Composición

Las composiciones de los vehículos de la coformulación probados se muestran en la tabla 21.

Tabla 21 Composición de vehículos isotónicos de la coformulación que se preparan con agentes de diferente tonicidad

Ingrediente	Vehículo de la coformulación		
	6	7	8
HP-B-CD KLEPTOSE® (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.62, intervalo de MS: 0.58-0.68) ¹	15	15	15
L-Histidina (mM)	6	6	6
Polisorbato 20 (mg/ml)	0.1	0.1	0.1
Sorbitol (mg/ml)	24	-	-
Manitol (mg/ml)	-	25	-
Trehalosa (mg/ml)	-	-	46
HCl	c.s.	c.s.	c.s.

NaOH	C.S.	C.S.	C.S.
WFI	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml
pH	6.0	6.0	6.0

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

5 Proceso de preparación

Las formulaciones se prepararon como se describe en el ejemplo 1 excepto que se abstuvo de añadir ingredientes farmacéuticos activos.

Método

Se estudió la tolerancia local de la administración subcutánea de preparaciones de vehículo isotónico que contenían HP-B-CD y tres agentes de tonicidad diferentes en 2 cerdos vivos Landrace×Yorkshire×Duroc (LYD) mediante la evaluación de las reacciones cutáneas que resultan de la administración subcutánea de 600 µl de preparación de vehículo. Las preparaciones se inyectaron mediante el uso de jeringas equipados con agujas de tamaño 25 G y tapones de 5 mm. Se realizó la necropsia aproximadamente 24 horas después de la inyección y las muestras de piel de 2x2 cm de tamaño se fijaron en formalina tamponada neutra y se recortaron en secciones de 4 µm mediante el uso de un cuchillo múltiple, se incrustaron en parafina y subsecuentemente se tiñeron con HE. Para las dos muestras, la gravedad de la necrosis de tejido subcutáneo, la infiltración de células inflamatorias y la distribución hemorrágica se evaluó por un toxicopatólogo formado mediante el uso de un microscopio óptico y puntuado en una escala numérica, donde el código 1 refleja “sin anomalía” y el código 3 refleja “gravedad leve”:

1, sin anomalías

2, gravedad mínima

3, gravedad leve

Tabla 22 Puntuaciones de gravedad 24 horas después de las inyecciones subcutáneas de necrosis del tejido subcutáneo, infiltración de células inflamatorias y distribución de hemorragia para vehículos de coformulaciones que contienen tres tipos de agentes de tonicidad

Vehículo de la coformulación	Agente de tonicidad	Necrosis	Infiltración de células inflamatorias	Distribución de la hemorragia
6	Sorbitol	2,1	2,1	1,1
7	Manitol	2,2	2,3	1,2
8	Trehalosa	1,1	2,2	1,2

Comentarios concluyentes

Los datos que se presentan en la tabla 22 muestran que, en general, el sorbitol es el agente de tonicidad que produce la necrosis, infiltración de células inflamatorias y hemorragia menos graves. Estas observaciones confirman que el sorbitol es el agente de tonicidad preferido para obtener una tolerabilidad subcutánea buena y aceptable de la coformulación que contiene los ingredientes farmacéuticos activos.

Ejemplo 13: confirmación del efecto del tipo de agente de tonicidad en la formulación tamponada con histidina y el efecto de la formulación tamponada con citrato en la tolerancia subcutánea tras la inyección subcutánea

Este experimento examina:

- (1) el efecto que tiene el tipo de agente de tonicidad sobre el perfil de tolerancia local, después de la inyección subcutánea, de una coformulación tamponada con histidina idéntica de cualquier otra manera; y
- (2) el efecto sobre el perfil de tolerancia local, después de la inyección subcutánea, de un vehículo de coformulación con una formulación tamponada con citrato y sin agente de tonicidad.

Composición

Las composiciones de las coformulaciones evaluadas se describen en la tabla 23a y 23b.

Tabla 23a Composición de las coformulaciones tamponadas con histidina isotónicas

Ingrediente	Coformulación	
	19	20
Sustancia farmacológica cagrilintida (mg/ml)	3.2	3.2
Sustancia farmacológica semaglutida (mg/ml)	3.2	3.2
HP-B-CD KLEPTOSE® (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.62, intervalo de MS: 0.58-0.68) ¹	15	15
L-Histidina (mM)	6	6
Trehalosa (mg/ml)	38.6	-
Sorbitol (mg/ml)	-	20
Polisorbato 80 (mg/ml)	0.05	0.05
HCl	c.s.	c.s.
NaOH	c.s.	c.s.
WFI	Para 1 ml	Para 1 ml
pH	6.0	6.0

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

Tabla 23b Composición del vehículo de coformulación tamponada con citrato isotónica

Ingrediente	Vehículo de la coformulación
	21
HP-B-CD KLEPTOSE® (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.92, intervalo de MS: 0.81-0.99) ¹	25
Citrato, 1 H ₂ O (mM)	3
HCl	c.s.
NaOH	c.s.
WFI	Para 1 ml
pH	5.7

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

Proceso de preparación

Las coformulaciones 19 y 21 se prepararon como se describe en el ejemplo 1. El vehículo de coformulación 21 se preparó como se describe en el ejemplo 1 excepto que se abstuvo de añadir ingredientes farmacéuticos activos.

Método

La tolerancia local tras la administración subcutánea de las coformulaciones descritas en la tabla 23 y 23b se estudió en 8 minicerdos vivos, mediante la evaluación de las lesiones cutáneas resultantes 6 días (necropsia) después de la administración subcutánea de tamaños de muestra de 750 µl mediante el uso de jeringas equipadas con agujas de tamaño 25 G y tapones de 5 mm. Las muestras de piel de 2x2 cm de tamaño se recogieron en la necropsia, se fijaron en formalina tamponada neutra, se recortaron mediante el uso de cuchillas múltiples, se incrustaron en parafina, se cortaron en secciones delgadas de 4 µm, se montaron en portaobjetos de vidrio y subsecuentemente se tiñeron con hematoxilina-eosina (HE). Para las muestras, la gravedad de la necrosis del tejido subcutáneo fue evaluada por un toxicopatólogo entrenado mediante el uso de un microscopio óptico y puntuada en una escala numérica, donde el código 1 refleja “sin anomalías” y el código 5 refleja “gravedad marcada”:

- 1, sin anomalías
- 2, gravedad mínima
- 3, gravedad leve
- 4, gravedad moderada
- 5, gravedad marcada

Los resultados de las puntuaciones de necrosis se muestran en la tabla 24a y tabla 24b.

Tabla 24a Puntuaciones de gravedad 6 días después de las inyecciones de necrosis de tejido subcutáneo para las coformulaciones tamponadas con histidina

Coformulación	Tampón	Agente de tonicidad	Puntuaciones de necrosis para cuatro muestras de piel
19	Histidina	Trehalosa	1,2,3,3
20	Histidina	Sorbitol	2,2,2,2

Tabla 24b Puntuaciones de gravedad 6 días después de las inyecciones de necrosis del tejido subcutáneo para vehículos de coformulaciones tamponadas con citrato

Vehículo de la coformulación	Tampón	Agente de tonicidad	Puntuaciones de necrosis para ocho muestras de piel
21	Citrato	Ninguno	3,4,4,4,4,5,5,5

Comentarios concluyentes

Los resultados presentados en la tabla 24a muestran que el tipo de agente de tonicidad incluido en la formulación afecta su tolerabilidad local *in vivo*. Existe una nucleación entre el agente de tonicidad y la necrosis subcutánea observada en el lugar de la inyección. La inyección subcutánea de la coformulación 19, que comprendía trehalosa, dio lugar a dos acontecimientos de necrosis leve (una puntuación de 3). La inyección subcutánea de la coformulación 20, que comprendía sorbitol, dio como resultado necrosis mínima solamente (una puntuación de 2), que es un mejor resultado. Estos resultados confirman que, en el caso de este vehículo de coformulación idéntica de cualquier otra manera, la coformulación que comprende 15 % p/v de HP-B-CD (MS promedio: 0.62) y sorbitol es mejor que la que comprende 15 % p/v de HP-B-CD (MS promedio: 0.62) y trehalosa.

Los resultados presentados en la tabla 24b muestran que se observaron tres eventos de necrosis marcada (una puntuación de 5) con el vehículo de coformulación 21 que comprende HP-B-CD al 25 % p/v (MS promedio: 0.92), citrato y ningún agente de tonicidad, lo que confirma la inadecuación de esta coformulación particular para la administración subcutánea.

Ejemplo 14: efecto de las ciclodextrinas sustituidas con hidroxipropilo de varios tipos sobre la estabilidad física y química de la coformulación de cagrilintida y semaglutida

Este ejemplo muestra el efecto de la hidroxipropil-alfa-ciclodextrina (HP-A-CD), hidroxipropil-beta-ciclodextrina (HP-B-CD), hidroxipropil-gamma-ciclodextrina (HP-G-CD), sobre la formación

de partículas subvisibles y degradación química de la cagrilintida en la coformulación de cagrilintida y semaglutida idéntica de cualquier otra manera.

Composición

Las composiciones de la coformulación 22, 23 y 24 se muestran en la tabla 25.

5 Tabla 25 Composición de la coformulación 22, 23 y 24

Ingrediente	Coformulación		
	22	23	24
Sustancia farmacológica cagrilintida (mg/ml)	3.2	3.2	3.2
Sustancia farmacológica semaglutida (mg/ml)	3.2	3.2	3.2
HP-A-CD (CycloLab) (% p/v) (MS promedio: 0.8, intervalo de MS: 0.5-0.9) ¹	15	-	-
HP-B-CD KLEPTOSE® (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.62, intervalo de MS: 0.58-0.68) ¹	-	15	-
HP-G-CD (CycloLab) (% p/v) (MS promedio: 0.6, intervalo de MS: 0.4-0.7) ¹	-	-	15
L-Histidina (mM)	6	6	6
Sorbitol (mg/ml)	20	20	20
Polisorbato 80 (mg/ml)	0.05	0.05	0.05
HCl	c.s.	c.s.	c.s.
NaOH	c.s.	c.s.	c.s.
WFI	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml
pH	5.8	5.8	5.8

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

Proceso de preparación

Las formulaciones se prepararon como se describe en el Ejemplo 1.

Métodos

Las muestras usadas para determinar el recuento de partículas subvisibles se almacenaron en condiciones estresadas, definidas como:

- Duración: 42 días
- Temperatura: 30 °C ± 2 °C
- Condición de estrés: Durante el almacenamiento, las muestras se invierten 360° para simular el uso del paciente fuera del almacenamiento refrigerado. Las rotaciones se realizan 20 veces tres días cada semana y 40 veces dos días cada semana.

El número de partículas subvisibles se determinó como se describió en el ejemplo 4.

Las muestras usadas para determinar la pureza de la cagrilintida se almacenaron a 37 °C durante un máximo de 42 días. La pureza de la cagrilintida se determinó mediante el uso de cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa (RP-HPLC), donde las muestras se analizaron mediante el uso de una columna Kinetex C18, 2.6 µm (4.6 x 150 mm) con un gradiente de elución del eluyente A que consistía en solución de fosfato 0.09 M al 90 % v/v, pH 3.6 y acetonitrilo al 10 % v/v, y eluyente B que consistía en acetonitrilo al 60 % v/v e isopropanol al 20 % v/v. La cromatografía se realizó con detección UV (210 nm) a 30 °C mediante el uso de un volumen de inyección de 10-100 µl y un régimen de flujo de 0.7 ml/min. La pureza de la cagrilintida se cuantificó como el área del pico principal dividida por el área de todos los picos x 100 %.

El mismo método se usó para determinar la pureza de la semaglutida en otros experimentos.

Tabla 26 Estabilidad física de las coformulaciones de cagrilintida y semaglutida que se formulan con hidroxipropil ciclodextrinas de varios tipos

Coformulación	Tipo de ciclodextrina sustituida con hidroxipropilo	Número de partículas subvisibles como una función del tiempo (días)					
		0	14	21	28	35	42
Tamaño de partícula >5 µm							
22	HP-A-CD	65	196	270	441	523	690
23	HP-B-CD	49	122	61	245	324	503
24	HP-G-CD ¹	453,537	-	-	-	-	-
Tamaño de partícula >10 µm							
22	HP-A-CD	4	7	14	27	47	41
23	HP-B-CD	4	8	5	20	20	116
24	HP-G-CD ¹	107,013	-	-	-	-	-
Tamaño de partícula >25 µm							
22	HP-A-CD	0	0	0	1	3	0
23	HP-B-CD	0	1	1	1	4	15
24	HP-G-CD ¹	316	-	-	-	-	-

Los resultados del número de partículas subvisibles son la media de 3 réplicas y se han redondeado al valor entero más cercano

(-) Muestreo no realizado

¹ Para la coformulación 24 con HP-G-CD, el muestreo se interrumpió antes que para las otras formulaciones debido a los rápidos aumentos en los recuentos de partículas.

Tabla 27 Pureza química (%) de cagrilintida en coformulaciones de cagrilintida y semaglutida que se formulan con hidroxipropil ciclodextrinas de varios tipos

Coformulación	Tipo de hidroxipropil ciclodextrina	Pureza de cagrilintida (%) como una función del tiempo (días) a 37°C			
		0	14	28	42
22	HP-A-CD	94.0 %	87.2 %	79.0 %	71.1 %
23	HP-B-CD	96.8 %	88.9 %	81.9 %	75.0 %

5 Comentarios concluyentes

Los resultados presentados en la tabla 26 muestran que en la coformulación 24 (HP-G-CD), ya se observaron un altos números de partículas subvisibles en el tiempo cero, lo que impide el uso de HP-G-CD para coformular cagrilintida y semaglutida. El muestreo para el análisis de los recuentos de partículas subvisibles se interrumpió para la coformulación 24 que contenía HP-G-CD después del análisis inicial en el tiempo cero. Para la coformulación 22 (HP-A-CD) y la coformulación 23 (HP-B-CD) prácticamente no se observó ningún aumento en el número de partículas subvisibles.

Los resultados presentados en la tabla 27 para la pureza química de la cagrilintida con HP-A-CD o HP-B-CD, muestran una disminución ligeramente más rápida en la pureza de la cagrilintida en la coformulación 22 que contiene HP-A-CD, que en la coformulación 23 que contiene HP-B-CD.

Con base en los resultados de la tabla 26, HP-A-CD o HP-B-CD es aceptable para las coformulaciones de cagrilintida y semaglutida. Sin embargo, basado en los resultados en la tabla 27, se prefiere HP-B-CD en comparación con HP-A-CD para una coformulación de cagrilintida y semaglutida, debido a la pureza superior de la cagrilintida cuando se formula con HP-B-CD.

Ejemplo 15: efecto del grado de sustitución molar de hp-b-cd en la estabilidad física y química de las coformulaciones de cagrilintida y semaglutida

Este ejemplo muestra el efecto de la sustitución molar de HP-B-CD en la formación de partículas subvisibles, el nivel de HMWP y la pureza química de la semaglutida en coformulaciones de cagrilintida y semaglutida tamponada con citrato, idénticas de cualquier otra manera.

25 Composición

Las composiciones de las coformulaciones 25 a 32 se muestran en la tabla 28

Tabla 28 Composiciones de las coformulaciones de cagrilintida y semaglutida tamponadas con citrato que contienen excipientes de HP-B-CD de grado variable de sustitución molar de hidroxipropilo

Ingrediente	Coformulación							
	25	26	27	28	29	30	31	32
Sustancia farmacológica	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2

	cagrilintida (mg/ml)							
	Sustancia farmacológica semaglutida (mg/ml)	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2
5	HP-B-CD KLEPTOSE® (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.62, intervalo de MS: 0.58-0.68) ¹	15	-	25	-	-	-	-
10	HP-B-CD (CycloLab) (% p/v) (MS promedio: 0.67, intervalo de MS: 0.6-0.9) ¹	-	-	-	25	-	-	-
15	HP-B-CD Cavitron® (Ashland) (% p/v) (MS promedio: 0.68, intervalo de MS: 0.58-0.72) ¹	-	-	-	-	25	-	-
20	HP-B-CD Trappsol® (CTD, Inc.) (% p/v) (MS promedio: 0.84, intervalo de MS: 0.8-1.0) ¹	-	-	-	-	-	25	-
25	HP-B-CD KLEPTOSE® (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.92, intervalo de MS: 0.81-0.99) ¹	-	15	-	-	-	-	25
30	HP-B-CD Cavitron® (Ashland) (% p/v) (MS promedio: 1.08, intervalo de MS: 0.86-1.14) ¹	-	-	-	-	-	-	25
	Citrato, 1 H ₂ O (mM)	3	3	3	3	3	3	3
	HCl	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.
	NaOH	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.
	WFI	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml
	pH	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

Proceso de preparación

Las formulaciones se prepararon como se describe en el Ejemplo 1.

Métodos

Las muestras usadas para determinar el recuento de partículas subvisibles se almacenaron en condiciones estresadas, definidas como:

- 5 - Duración: 28 días
- Temperatura: 30 °C ± 2 °C
- Condición de estrés: Durante el almacenamiento, las muestras se invierten 360° para simular el uso del paciente fuera del almacenamiento refrigerado. Las rotaciones se realizan 20 veces tres días cada semana y 40 veces dos días cada semana.

10 El número de subvisibles se cuantificó como se describió en el ejemplo 4.

Las muestras usadas para determinar la pureza de la semaglutida y los niveles de HMWP se almacenan a 37 °C durante un máximo de 28 días. La pureza de la semaglutida se determinó como en el Ejemplo 14.

15 El nivel de HMWP que se une covalentemente se determina mediante cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). Las muestras se analizan mediante el uso de una columna Waters SEC de 1.7 µm (4.6 x 150 mm) con una elución isocrática que consiste de 185 mM de cloruro de sodio, 5 mM dihidrógeno fosfato de sodio monohidratado, 3 mM de ortofosfato e isopropanol al 47 % (v/v). La cromatografía se realiza con detección UV (215 nm) a 50 °C mediante el uso de un volumen de inyección de 1-8 µl y un régimen de flujo de 0.3 ml/min. El HMWP se cuantifica como el área de
20 todos los componentes que eluyen antes del pico principal que se divide por el área del pico principal x 100 %.

Tabla 29 Niveles de partículas subvisibles en coformulaciones de cagrilintida y semaglutida tamponadas con citrato que contienen excipientes de HP-B-CD de grado variable de sustitución molar de hidroxipropilo

25	Coformulación	Sustitución molar promedio de HP-B-CD1	Número de partículas subvisibles como una función del tiempo (días)			
			0	14	21	28
	Tamaño de partícula >5 µm					
	25	0.62	82	342	1,232	25,324
	26	0.92	89	10,108	13,381	49,863
	27	0.62	126	550	370	448
	28	0.67	59	356	191	887
	29	0.68	77	27	629	4,323
	30	0.84	97	374	381	7,031
	31	0.92	106	244	761	3,161

32	1.08	95	32,626	54,994	114,586
Tamaño de partícula >10 µm					
25	0.62	11	73	349	4,799
26	0.92	9	4,007	5,128	20,604
27	0.62	13	175	93	131
28	0.67	13	103	53	262
29	0.68	6	10	131	1,542
30	0.84	18	129	135	2,224
31	0.92	32	59	271	765
32	1.08	6	13,421	29,840	59,104
Tamaño de partícula >25 µm					
25	0.62	0	3	39	330
26	0.92	1	627	830	3,461
27	0.62	0	3	8	13
28	0.67	0	1	6	27
29	0.68	0	1	5	245
30	0.84	1	3	34	296
31	0.92	3	4	46	56
32	1.08	1	825	7,895	15,815

Los resultados del número de partículas subvisibles son la media de 3 réplicas y se han redondeado al valor entero más cercano

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

Tabla 30 Niveles de HMWP en coformulaciones de cagrilintida y semaglutida tamponadas con citrato que contienen excipientes de HP-B-CD de grado variable de sustitución molar de hidroxipropilo

Coformulación	Sustitución molar HP-B-CD ¹	Niveles de HMWP (%) como una función del tiempo (días) a 37°C			
		0	14	21	28
25	0.62	0.03 %	0.08 %	0.13 %	0.18 %
26	0.92	0.05 %	0.12 %	0.18 %	0.22 %
27	0.62	0.04 %	0.08 %	0.14 %	0.15 %
28	0.67	0.05 %	0.11 %	0.17 %	0.20 %
29	0.68	0.04 %	0.09 %	0.16 %	0.20 %
30	0.84	0.05 %	0.12 %	0.17 %	0.21 %
31	0.92	0.04 %	0.13 %	0.22 %	0.27 %
32	1.08	0.11 %	0.47 %	0.61 %	0.76 %

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

Tabla 31 Pureza química (%) de semaglutida en coformulaciones de cagrilintida y semaglutida tamponadas con citrato que contienen excipientes de HP-B-CD con grado variable de sustitución molar de hidroxipropilo

Coformulación	Sustitución molar HP-B-CD ¹	Pureza de semaglutida (%) como una función del tiempo (días) a 37 °C			
		0	14	21	28
25	0.62	97.0 %	95.3 %	94.4 %	93.8 %
26	0.92	97.0 %	95.1 %	93.9 %	93.4 %
27	0.62	97.0 %	95.2 %	94.3 %	93.4 %
28	0.67	96.9 %	95.0 %	94.1 %	93.5 %
29	0.68	97.0 %	95.3 %	94.4 %	93.5 %
30	0.84	97.1 %	95.4 %	94.6 %	93.8 %
31	0.92	96.9 %	94.4 %	93.4 %	92.3 %
32	1.08	96.6 %	91.4 %	89.1 %	87.5 %

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

Comentarios concluyentes

Los resultados presentados en las tablas 29, 30 y 31 muestran que la estabilidad física, la formación de HMWP y la pureza química de semaglutida dependen de la sustitución molar del HP-B-CD cuando se estudia en una coformulación de cagrilintida y semaglutida tamponada con citrato. Después de 28 días, los niveles de HMWP fueron más bajos y prácticamente no hubo aumento en el recuento de partículas en la coformulación 27, que contenía HP-B-CD al 25 % p/v (MS promedio: 0.62). Por el contrario, en la coformulación 32 que contenía HP-B-CD al 25 % p/v (MS promedio: 1.08), se observó un gran aumento en los recuentos de partículas subvisibles después de 14 días solamente y se observó también en esta formulación que los niveles más altos de HMWP se observan después de 28 días.

Todas las coformulaciones de cagrilintida y semaglutida tamponadas con citrato que contenían HP-B-CD al 25 % p/v (MS promedio: 0.92 o menos), fueron física y químicamente estables, aquellas que contenían HP-B-CD al 25 % p/v que tenían una MS promedio de 0.68 o menos siendo las más estables.

Después de solo 14 días, se observó un aumento en el recuento de partículas subvisibles en la coformulación 26, que contenía 15 % p/v de HP-B-CD (MS promedio: 0.92), lo que indica la inestabilidad física de esta coformulación particular.

La coformulación 25, que contiene 15 % p/v de HP-B-CD (MS promedio: 0.62), mostró una estabilidad química y física aceptable.

Sin embargo, las coformulaciones de cagrilintida y semaglutida tamponadas con histidina 33 a 37, que contienen 15 % p/v de HP-B-CD, se prefieren debido a su estabilidad física superior. Con histidina como tampón y sorbitol como agente de tonicidad, el intervalo de sustitución molar de HP-B-CD preferido se amplió a un promedio de 0.62-0.92 (o un total de 0.58-1.0).

Ejemplo 16: efecto del grado de sustitución molar de hp-b-cd sobre la estabilidad física de las coformulaciones de cagrilintida y semaglutida

Este ejemplo muestra el efecto del grado de sustitución molar de HP-B-CD en los niveles de partículas subvisibles en las coformulaciones de cagrilintida y semaglutida tamponadas con histidina idénticas de cualquier otra manera.

Composición

Las composiciones de la coformulación 33 a 38 se muestran en la tabla 32.

Tabla 32 Composiciones de la coformulación de cagrilintida y semaglutida tamponada con histidina 33 a 38 que contienen excipientes de HP-B-CD de grado variable de sustitución molar de hidroxipropilo

Ingrediente	Coformulación					
	33	34	35	36	37	38
Sustancia farmacológica cagrilintida (mg/ml)	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2
Sustancia farmacológica semaglutida (mg/ml)	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2
HP-B-CD KLEPTOSE® (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.62, intervalo de MS: 0.58-0.68) ¹	15	-	-	-	-	-
HP-B-CD (CycloLab) (% p/v) (MS promedio: 0.67, intervalo de MS: 0.6-0.9) ¹	-	15	-	-	-	-
HP-B-CD Cavitron® (Ashland) (% p/v) (MS promedio: 0.68, intervalo de MS: 0.58-0.72) ¹	-	-	15	-	-	-
HP-B-CD Trappsol® (CTD, Inc.) (% p/v) (MS promedio: 0.84, intervalo de MS: 0.8-1.0) ¹	-	-	-	15	-	-
HP-B-CD KLEPTOSE® (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.92, intervalo de MS: 0.81-0.99) ¹	-	-	-	-	15	-
HP-B-CD Cavitron® (Ashland) (% p/v) (MS promedio: 1.08, intervalo de MS: 0.86-1.14) ¹	-	-	-	-	-	15
L-Histidina (mM)	6	6	6	6	6	6
Sorbitol (mg/ml)	20	20	20	20	20	20
Polisorbato 80 (mg/ml)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
HCl	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.

NaOH	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.
WFI	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml	Para hacer 1 ml
pH	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

5

Proceso de preparación

Las formulaciones se prepararon como se describe en el Ejemplo 1.

Métodos

Las muestras usadas para determinar el número de partículas subvisibles se almacenaron en condiciones estresadas, definidas como:

10

- Duración: 28 días
- Temperatura: 30 °C ± 2 °C
- Condición de estrés: Durante el almacenamiento, las muestras se invierten 360° para simular el uso del paciente fuera del almacenamiento refrigerado. Las rotaciones se realizan 20 veces tres días cada semana y 40 veces dos días cada semana.

15

El número de partículas subvisibles se cuantificó como se describió en el ejemplo 4.

Tabla 33 Niveles de partículas subvisibles en coformulaciones de cagrilintida y semaglutida tamponadas con histidina que contienen HP-B-CD de grado variable de sustitución molar de hidroxipropilo

20

Coformulación	Sustitución molar HP-B- CD ¹	Número de partículas subvisibles como una función del tiempo (días)			
		0	14	21	28
Tamaño de partícula >5 µm					
33	0.62	19	300	252	460
34	0.67	37	176	220	66
35	0.68	22	175	453	290
36	0.84	17	270	221	112
37	0.92	51	873	804	473
38	1.08	71	1,311	1,765	1,621
Tamaño de partícula >10 µm					
33	0.62	1	14	6	61
34	0.67	6	9	6	4
35	0.68	1	5	23	56
36	0.84	1	13	0	6
37	0.92	3	45	24	117
38	1.08	4	143	416	579
Tamaño de partícula >25 µm					
33	0.62	0	0	0	3

25

30

34	0.67	0	0	0	0
35	0.68	0	3	0	1
36	0.84	0	0	0	4
37	0.92	0	1	1	20
38	1.08	1	0	14	27

Los resultados del número de partículas subvisibles son la media de 3 réplicas y se han redondeado al valor entero más cercano

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

Comentarios concluyentes

Los resultados presentados en la Tabla 33 muestran que las coformulaciones tamponadas con histidina 33-37, que comprendían HP-B-CD con un amplio intervalo de sustituciones molares (MS promedio: 0.62-0.92), permanecieron físicamente estables durante 28 días.

Por el contrario, en la coformulación 38, que comprendía HP-B-CD (MS promedio 1.08), no fue físicamente estable después de 14 días.

Los resultados indican un efecto sinérgico entre la ciclodextrina y los otros excipientes en la coformulación, ampliando el intervalo de sustitución molar preferido (MS promedio 0.62-0.92).

Ejemplo 17: efecto del tipo de sustitución de la beta-ciclodextrina sobre la estabilidad física de la coformulación

Este ejemplo muestra el efecto de la sulfobutiléter-B-ciclodextrina (SBE-B-CD) y la hidroxipropil-beta-ciclodextrina en la estabilidad física de coformulaciones de cagrilintida y semaglutida idénticas de cualquier otra manera.

Composición

Las composiciones de las coformulaciones 39 y 40 se muestran en la tabla 36.

Tabla 36 Composición de la coformulación que contiene HP-B-CD o SBE-B-CD

Ingrediente	Coformulación	
	39	40
Sustancia farmacológica cagrilintida (mg/ml)	3.2	3.2
Sustancia farmacológica semaglutida (mg/ml)	3.2	3.2
HP-B-CD KLEPTOSE® (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.62, intervalo de MS: 0.58-0.68) ¹	15	-
SBE-B-CD (CycloLab) (% p/v) (MS promedio: 0.87, intervalo de MS: 0.84-0.99) ¹	-	15
L-Histidina (mM)	6	6
Sorbitol (mg/ml)	20	20

Polisorbato 80 (mg/ml)	0.05	0.05
HCl	c.s.	c.s.
NaOH	c.s.	c.s.
WFI	Para 1 ml	Para 1 ml
pH	5.8	5.8

5 ¹ MS: sustitución molar, corresponde a éteres de sulfobutilo/hidroxipropilos por unidad de glucosa

Proceso de preparación

Las formulaciones se prepararon como se describe en el Ejemplo 1.

Métodos

10 Las muestras usadas para determinar el número de partículas subvisibles se almacenaron en condiciones estresadas, definidas como:

- Duración: 35 días
- Temperatura: 30 °C ± 2 °C
- Condición de estrés: Durante el almacenamiento, las muestras se invierten 360° para simular el uso del paciente fuera del almacenamiento refrigerado. Las rotaciones se realizan 20 veces tres días cada semana y 40 veces dos días cada semana.

15

El número de partículas subvisibles se cuantificó como se describió en el ejemplo 4.

Tabla 37 Niveles de partículas subvisibles en coformulaciones de cagrilintida y semaglutida que contienen HP-B-CD o SBE-B-CD

20	Coformulación	Tipo de sustitución	Número de partículas subvisibles como una función del tiempo (días)				
			0	14	21	28	35
25	Tamaño de partícula >5 µm						
	39	HP-B-CD	49	122	61	245	324
	40	SBE-B-CD	317	1,686	6,940	20,714	280,478
	Tamaño de partícula >10 µm						
	39	HP-B-CD	4	8	5	20	20
	40	SBE-B-CD	13	640	3,503	10,248	138,324
	Tamaño de partícula >25 µm						
	39	HP-B-CD	0	1	1	1	4
	40	SBE-B-CD	0	126	738	2,008	29,834

25

Los resultados del número de partículas subvisibles son la media de 3 réplicas y se han redondeado al valor entero más cercano

Comentarios concluyentes

30

Los resultados de la tabla 37 muestran que cuando se usa SBE-B-CD para coformular cagrilintida y semaglutida, se observa un gran aumento en el número de partículas subvisibles después de 14

días; es decir, la coformulación es físicamente inestable. Cuando se usa en su lugar un HP-B-CD, prácticamente no se observa ningún aumento durante los 35 días de duración del estudio; es decir, la coformulación es físicamente estable.

Por el contrario a lo que se ha mostrado para la hidroxipropil-beta-ciclodextrina, estos resultados demuestran que la sulfobutiléter-B-ciclodextrina (SBE-B-CD) no es una ciclodextrina adecuada para usar en la coformulación de cagrilintida y semaglutida.

Ejemplo 18: efecto del pH sobre la estabilidad física y química de la coformulación

Este ejemplo muestra el efecto del pH sobre la estabilidad física y química de la cagrilintida en coformulaciones de cagrilintida y semaglutida idénticas de cualquier otra manera.

Composición

Las composiciones de la coformulación 41 a 45 se muestran en la tabla 38.

Tabla 38 Composición de la coformulación con pH variable

Ingrediente	Coformulación				
	41	42	43	44	45
Sustancia farmacológica cagrilintida (mg/ml)	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2
Sustancia farmacológica semaglutida (mg/ml)	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2
HP-B-CD KLEPTOSE® (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.62, intervalo de MS: 0.58-0.68) ¹	15	15	15	15	15
L-Histidina (mM)	6	6	6	6	6
Sorbitol (mg/ml)	20	20	20	20	20
Polisorbato 80 (mg/ml)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
HCl	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.
NaOH	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.
WFI (ml)	Para 1	Para 1	Para 1	Para 1	Para 1
pH	5.5	5.6	5.7	5.8	6.0

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

Proceso de preparación

Las formulaciones se prepararon como se describe en el Ejemplo 1.

Métodos

Las muestras usadas para determinar el número de partículas subvisibles se almacenaron en condiciones estresadas, definidas como:

- Duración: 28 días
- Temperatura: 30 °C ± 2 °C

- Condición de estrés: Durante el almacenamiento, las muestras se invierten 360° para simular el uso del paciente fuera del almacenamiento refrigerado. Las rotaciones se realizan 20 veces tres días cada semana y 40 veces dos días cada semana.

El número de partículas subvisibles se cuantificó como se describió en el ejemplo 4.

- 5 Las muestras que se usan para determinar la pureza de la cagrilintida se almacenan a 37 °C durante un máximo de 28 días. La pureza de la cagrilintida se determinó como se describe en el ejemplo 14.

Tabla 39 Estabilidad física de las coformulaciones de cagrilintida y semaglutida con pH variable dentro del intervalo de pH de 5.5 a 6.0

Coformulación	pH	Número de partículas subvisibles como una función del tiempo (días)				
		0	14	21	28	
10	Tamaño de partícula >5 µm					
	41	5.5	70	6,594	-	523,259
	42	5.6	69	174	730	1,355
	43	5.7	120	117	232	297
	44	5.8	49	122	61	245
	45	6.0	33	178	133	60
	Tamaño de partícula >10 µm					
	41	5.5	6	851	-	385,284
	42	5.6	6	9	200	476
	43	5.7	3	5	8	18
15	44	5.8	4	8	5	20
	45	6.0	4	6	3	9
	Tamaño de partícula >25 µm					
	41	5.5	1	4	-	190,781
	42	5.6	0	0	18	64
	43	5.7	0	0	0	0
	44	5.8	0	1	1	1
	45	6.0	1	0	0	1

Los resultados del número de partículas subvisibles son la media de 3 réplicas y se han redondeado

al valor entero más cercano

(-) muestreo no realizado

Tabla 40 Pureza química (%) de cagrilintida en las coformulaciones de cagrilintida y semaglutida con pH variable dentro del intervalo de pH de 5.5 a 6.0

Coformulación	pH	Pureza de cagrilintida (%) como una función del tiempo (días) a 37°C		
		0	14	28
41	5.5	97.1 %	92.1 %	85.9 %
42	5.6	97.1 %	91.6 %	85.0 %

43	5.7	97.0 %	90.6 %	83.2 %
44	5.8	96.9 %	88.9 %	81.9 %
45	6.0	96.9 %	88.2 %	78.3 %

Comentarios concluyentes

- 5 Los resultados presentados en las tablas 39 y 40 muestran que la estabilidad física y química de semaglutida y cagrilintida depende del pH de la formulación: a mayor pH da como resultado en una menor pureza de cagrilintida después de 28 días a 37 °C; el pH más bajo da como resultado un aumento en el número de partículas subvisibles después de 14 días. Basado en estos resultados de estabilidad física y química, el intervalo de pH preferido para esta coformulación particular de cagrilintida y semaglutida es 5.6-6.0, mientras que el pH de 5.5 no dio como resultado una coformulación de estabilidad física aceptable.

Ejemplo 19: efecto de las relaciones de concentración de cagrilintida y semaglutida en la estabilidad física de la coformulación

- Este ejemplo muestra el efecto de diferentes relaciones de concentración de cagrilintida y semaglutida en los niveles de partículas subvisibles que se observan en la formulación conjunta.

Composición

La composición de las coformulaciones tamponadas con histidina 46 a 50 se muestra en la tabla 41, y la composición de las coformulaciones tamponadas con histidina 51 a 61 se muestra en la tabla 42.

- 20 Tabla 41 Composición de las coformulaciones tamponadas con histidina con relaciones variables de concentración de cagrilintida y semaglutida

Ingrediente	Coformulación				
	46	47	48	49	50
Sustancia farmacológica cagrilintida (mg/ml)	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2
Sustancia farmacológica semaglutida (mg/ml)	3.2	4.8	6.4	8.0	9.6
HP-B-CD KLEPTOSE® (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.62, intervalo de MS: 0.58-0.68) ¹	15	15	15	15	15
L-Histidina (mM)	6	6	6	6	6
Sorbitol (mg/ml)	20	20	20	20	20
Polisorbato 80 (mg/ml)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05

HCl	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.
NaOH	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.
WFI	Para 1 ml	Para 1 ml	Para 1 ml	Para 1 ml	Para 1 ml
pH	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

Tabla 42 Composición de las coformulaciones tamponadas con histidina con una composición modificada con relaciones variables de concentración de cagrilintida y semaglutida

Ingrediente	Coformulación										
	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61
Sustancia farmacológica cagrilintida (mg/ml)	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2
Sustancia farmacológica semaglutida (mg/ml)	3.2	4.8	6.4	8.0	9.6	9.6	9.6	9.6	10.7	12.8	16
HP-B-CD KLEPTOSE® (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.62, intervalo de MS: 0.58-0.68) ¹	20	20	20	20	15	20	20	20	20	20	20
L-Histidina (mM)	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Sorbitol (mg/ml)	35	35	35	35	35	20	35	35	35	35	35
Polisorbato 80 (mg/ml)	1.78	1.78	1.78	1.78	0.05	0.05	0.05	1.78	1.78	1.78	1.78
HCl	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.
NaOH	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.
WFI	Para 1 ml	Para 1 ml	Para 1 ml	Para 1 ml	Para 1 ml	Para 1 ml	Para 1 ml	Para 1 ml	Para 1 ml	Para 1 ml	Para 1 ml
pH	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8	5.8

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

Proceso de preparación

Las formulaciones se prepararon como se describe en el Ejemplo 1.

Métodos

Las muestras usadas para determinar el número de partículas subvisibles se almacenaron en condiciones estresadas, definidas como:

- Duración: 28 días
- Temperatura: 30 °C ± 2 °C
- Condición de estrés: Durante el almacenamiento, las muestras se invierten 360° para simular el uso del paciente fuera del almacenamiento refrigerado. Las rotaciones se realizan 20 veces tres días cada semana y 40 veces dos días cada semana.

El número de partículas subvisibles se cuantificó como se describió en el ejemplo 4.

Tabla 43 Niveles de partículas subvisibles en la coformulación que contiene diferentes relaciones de concentración de cagrilintida y semaglutida

Coformulación	Concentración de cagrilintida/semaglutida (relación)	Número de partículas subvisibles como una función del tiempo (días)			
		0	14	21	28
Tamaño de partícula >5 µm					
46	3.2 / 3.2 mg/ml (1:1)	207	214	542	341
47	3.2 / 4.8 mg/ml (1:1.5)	65	133	214	591
48	3.2 / 6.4 mg/ml (1:2)	55	76	198	134
49	3.2 / 8.0 mg/ml (1:2.5)	44	86	262	139
50	3.2 / 9.6 mg/ml (1:3)	56	184	137	540
51	3.2 / 3.2 mg/ml (1:1)	297	467	650	11,684
52	3.2 / 4.8 mg/ml (1:1.5)	377	541	331	14,453
53	3.2 / 6.4 mg/ml (1:2)	588	501	980	45,916
54	3.2 / 8.0 mg/ml (1:2.5)	452	341	712	13,108
55	3.2 / 9.6 mg/ml (1:3)	37	226	121	161
56	3.2 / 9.6 mg/ml (1:3)	55	77	290	315
57	3.2 / 9.6 mg/ml (1:3)	41	181	273	368
58	3.2 / 9.6 mg/ml (1:3)	312	457	445	25,494
59	3.2 / 10.7 mg/ml (1:3.33)	1,240	594	1,043	53,301
60	3.2 / 12.8 mg/ml (1:4)	1,459	549	320	77,697
61	3.2 / 16 mg/ml (1:5)	1,025	568	877	5,202
Tamaño de partícula >10 µm					
46	3.2 / 3.2 mg/ml (1:1)	18	31	25	51
47	3.2 / 4.8 mg/ml (1:1.5)	5	9	22	106
48	3.2 / 6.4 mg/ml (1:2)	3	9	18	24
49	3.2 / 8.0 mg/ml (1:2.5)	10	9	13	13
50	3.2 / 9.6 mg/ml (1:3)	1	9	8	130
51	3.2 / 3.2 mg/ml (1:1)	38	45	79	1,146
52	3.2 / 4.8 mg/ml (1:1.5)	69	94	80	2,053
53	3.2 / 6.4 mg/ml (1:2)	74	81	171	7,608
54	3.2 / 8.0 mg/ml (1:2.5)	78	57	118	1,651
55	3.2 / 9.6 mg/ml (1:3)	5	9	5	14
56	3.2 / 9.6 mg/ml (1:3)	4	8	22	59
57	3.2 / 9.6 mg/ml (1:3)	0	15	27	61
58	3.2 / 9.6 mg/ml (1:3)	50	79	74	3,233

59	3.2 / 10.7 mg/ml (1:3.33)	147	72	165	6,793
60	3.2 / 12.8 mg/ml (1:4)	155	84	51	10,270
61	3.2 / 16 mg/ml (1:5)	80	99	189	382
Tamaño de partícula >25 µm					
46	3.2 / 3.2 mg/ml (1:1)	1	0	4	1
47	3.2 / 4.8 mg/ml (1:1.5)	0	1	0	6
48	3.2 / 6.4 mg/ml (1:2)	0	1	3	3
49	3.2 / 8.0 mg/ml (1:2.5)	1	0	3	3
50	3.2 / 9.6 mg/ml (1:3)	0	1	0	9
51	3.2 / 3.2 mg/ml (1:1)	0	0	1	13
52	3.2 / 4.8 mg/ml (1:1.5)	4	0	3	60
53	3.2 / 6.4 mg/ml (1:2)	8	4	6	157
54	3.2 / 8.0 mg/ml (1:2.5)	8	3	3	25
55	3.2 / 9.6 mg/ml (1:3)	0	0	1	0
56	3.2 / 9.6 mg/ml (1:3)	3	0	0	3
57	3.2 / 9.6 mg/ml (1:3)	0	0	4	0
58	3.2 / 9.6 mg/ml (1:3)	1	5	0	42
59	3.2 / 10.7 mg/ml (1:3.33)	1	0	5	97
60	3.2 / 12.8 mg/ml (1:4)	3	3	1	68
61	3.2 / 16 mg/ml (1:5)	8	4	26	8

Los resultados del número de partículas subvisibles son la media de 3 réplicas y se han redondeado al valor entero más cercano

Comentarios concluyentes

Los resultados presentados en las tablas 43 muestran que después de 21 días, prácticamente no se observó ningún aumento en el recuento de partículas subvisibles en la coformulación 46-60 que contenía 3.2 mg/ml de cagrilintida y hasta 12 mg/ml de semaglutida.

Después de 14, se observó un aumento en el recuento de partículas subvisibles para la coformulación 61 que contenía 3.2 mg/ml de cagrilintida y 16 mg/ml de semaglutida.

Todas las coformulaciones tamponadas con histidina 46 a 61 que comprenden 3.2 mg/ml de cagrilintida y hasta 16 mg/ml de semaglutida fueron físicamente estables.

Ejemplo 20: efecto de la concentración de hp-b-cd sobre la estabilidad física de la coformulación
Este ejemplo muestra el efecto de la concentración de HP-B-CD sobre la estabilidad física de la coformulación de cagrilintida y semaglutida, cuando la coformulación se expone al estrés físico.

Composición

La composición de la coformulación 62 a 65 con la composición tamponada con histidina se muestra en la tabla 44.

Tabla 44 Composición de la coformulación con concentraciones variables de HP-B-CD

Ingrediente	Coformulación			
	62	63	64	65
Sustancia farmacológica cagrilintida (mg/ml)	3.2	3.2	3.2	3.2
Sustancia farmacológica semaglutida (mg/ml)	3.2	3.2	3.2	3.2
HP-B-CD KLEPTOSE® (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.62, intervalo de MS: 0.58-0.68) ¹	7.5	10	12.5	15
L-Histidina (mM)	6	6	6	6
Sorbitol (mg/ml)	20	20	20	20
Polisorbato 80 (mg/ml)	0.05	0.05	0.05	0.05
HCl	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.
NaOH	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.
WFI	Para 1 ml	Para 1 ml	Para 1 ml	Para 1 ml
pH	5.8	5.8	5.8	5.8

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

Proceso de preparación

Las formulaciones se prepararon como se describe en el Ejemplo 1.

Método

La propensión de la cagrilintida y semaglutida a agregarse y formar fibrillas peptídicas se midió mediante el uso de un ensayo de estrés por fluorescencia de tioflavina T (ThT) como se describe en el ejemplo 2.

Tabla 45 Estabilidad física para la coformulación de cagrilintida y semaglutida con concentraciones variables de HP-B-CD

Coformulación	HP-B-CD (MS: 0.62) ²	Tiempo de retraso hasta la fibrilación
62	7.5 % p/v	17.66 horas ¹
63	10 % p/v	28.06 horas ¹
64	12.5 % p/v	70.97 horas ¹
65	15 % p/v	119.0 horas ¹

¹ El resultado es la media de 6 réplicas

² MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

Comentarios concluyentes

Los resultados presentados en la tabla 45 muestran que la estabilidad física de la coformulación de cagrilintida y semaglutida depende de la concentración de HP-B-CD, con concentraciones más bajas que dan como resultado un tiempo de retraso más corto hasta que se produce la fibrilación.

La coformulación que comprendía HP-B-CD al 7.5 % p/v fue la menos estable. La coformulación que comprendía 15 % p/v de HP-B-CD fue la más estable.

Ejemplo 21: tolerancia local, en cerdos, de formulaciones de vehículos inyectados subcutáneamente que varían en el contenido de hp-b-cd y el grado de sustitución molar, así como

5 también en la composición tampón general

Este experimento examinó:

(1) el efecto que tuvieron la concentración de HP-B-CD y la MS promedio (0.62 frente a 0.92) en el perfil de tolerancia local, tras la inyección subcutánea.

(2) el efecto que el vehículo de la formulación tiene sobre el perfil de tolerancia local en presencia
10 de HP-B-CD, tras la inyección subcutánea.

Composición

Las composiciones de los vehículos de la coformulación probados se muestran en la tabla 46.

Tabla 46 Composición de vehículos de la coformulación que varían en el contenido de HP-B-CD y el grado de sustitución molar, así como también en la composición tampón general

Ingrediente	Vehículos de la coformulación							
	9	10	11	12	13	14	15	16
HP-B-CD KLEPTOSE® (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.62, intervalo de MS: 0.58- 0.68) ¹	15	20	22	22	25	20	22	-
HP-B-CD KLEPTOSE® (Roquette) (% p/v) (MS promedio: 0.92, intervalo de MS: 0.81- 0.99) ¹	-	-	-	-	-	-	-	22
L-Histidina (mM)	6	6	6	6	6	-	-	-
Citrato, 1 H ₂ O (mM)	-	-	-	-	-	3	3	3
Sorbitol (mg/ml)	20	20	20	35	20	-	-	-
Polisorbato 80 (mg/ml)	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
HCl	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.
NaOH	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.
WFI	Para 1 ml	Para 1 ml	Para 1 ml	Para 1 ml	Para 1 ml	Para 1 ml	Para 1 ml	Para 1 ml
pH	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0

¹ MS: sustitución molar, corresponde a hidroxipropilos por unidad de glucosa

Proceso de preparación

Las formulaciones se prepararon como se describe en el ejemplo 1 excepto que no se añadieron ingredientes farmacéuticos activos.

Método

- 5 Se estudió la tolerancia local (subcutánea) tras la administración subcutánea de formulaciones que contenían HP-B-CD en 4 cerdos vivos Landrace×Yorkshire×Duroc (LYD) mediante la evaluación de las lesiones cutáneas resultantes 5 días (necropsia) después de la administración subcutánea de muestras de 200 µl mediante el uso de NovoPen 4 con agujas NovoFine Plus (32 G/4 mm). Las muestras de piel de 2x2 cm de tamaño se recogieron en la necropsia, se fijaron en formalina
- 10 tamponada neutra, se recortaron mediante el uso de cuchillas múltiples, se incrustaron en parafina, se cortaron en secciones delgadas de 4 µm, se montaron en portaobjetos de vidrio y subsecuentemente se tiñeron con hematoxilina-eosina (HE). Para las cuatro muestras, la gravedad de la necrosis tisular subcutánea y la infiltración de células inflamatorias fueron evaluadas por un toxicopatólogo entrenado mediante el uso de un microscopio óptico y se puntuó en una escala
- 15 numérica, donde el código 1 refleja “no se detectó anomalía” y el código 5 refleja “gravedad marcada”:

1, no se detectó anomalía

2, gravedad mínima

3, gravedad leve

- 20 4, gravedad moderada

5, gravedad marcada

Los vehículos de la coformulación se evaluaron para determinar el nivel de necrosis de tejido subcutáneo y la infiltración de células inflamatorias que provocan tras la inyección subcutánea.

Los resultados se presentan en la tabla 47.

- 25 Tabla 47 Puntuaciones de gravedad: gravedad de la necrosis del tejido subcutáneo y la infiltración de células inflamatorias 5 días después de la inyección, para vehículos de la coformulación que varían en el contenido de HP-B-CD y el grado de sustitución molar, así como también en la composición tampón general

30

Vehículo de la coformulación	Necrosis	Infiltración de células inflamatorias, granulomatosis
9	1,1,1,1	2,2,2,2
10	1,1,2,2	2,2,2,3
11	2,3,4,4	3,3,4,4

12	2,4,4,4	3,3,4,4
13	3,4,4,4	3,3,4,5
14	1,3,3,3	1,3,3,3
15	3,4,5,5	4,4,4,5
16	1,5,4,5	2,4,4,5

5 Comentarios concluyentes

Los resultados en la tabla 47 muestran que la tolerabilidad subcutánea local *in vivo* dependió de la concentración de HP-B-CD y la composición tampón general. Los vehículos de la coformulación que comprenden histidina y sorbitol mostraron una mejor tolerabilidad que los que comprenden citrato.

10 Los vehículos de la coformulación que comprenden 20 % p/v de HP-B-CD o menos resultaron principalmente en necrosis o infiltración de células inflamatorias nula o mínima (puntuaciones de 1 o 2) y una única observación de infiltración de células inflamatorias leves (una puntuación de 3). Los vehículos de la coformulación que comprenden HP-B-CD al 22 % p/v o más dieron como resultado necrosis e infiltración de células inflamatorias de mínima a moderada (puntuaciones de hasta 4). Basado en estos resultados, las coformulaciones que contienen menos del 22 % de HP-B-CD parecen adecuadas para uso subcutáneo.

15 Los vehículos de la coformulación que contenían 20 % p/v de HP-B-CD y 22 % p/v y citrato (vehículos de la coformulación 14 y 15) dieron como resultado necrosis e infiltración de células inflamatorias marcadas (puntuaciones de hasta 5). Sorprendentemente, los vehículos de la coformulación que contenían 20 % p/v de HP-B-CD y 22 % p/v, histidina y sorbitol (vehículos de la coformulación 10 y 11) se toleraron más bien, lo que dio como resultado necrosis e infiltración de células inflamatorias moderadas (puntuaciones de hasta 4).

20 Aunque ciertas características de la invención se ilustraron y describieron en la presente descripción, ahora se les ocurrirán muchas modificaciones, sustituciones, cambios, y equivalentes a los expertos en la técnica. Por lo tanto, debe entenderse que las reivindicaciones anexas pretenden cubrir todas esas modificaciones y cambios siempre que caigan dentro del verdadero espíritu de la invención.

30