

COMPOSICIONES SÓLIDAS QUE COMPRENDEN UN INHIBIDOR DE PCSK9 Y UNA SAL DE ÁCIDO N-(8-(2-HIDROXIBENZOIL)AMINO)CAPRÍLICO

CAMPO TÉCNICO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a composiciones sólidas que comprenden un inhibidor de PCSK9 y una sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico, su método de preparación y su uso en la medicina.

INCORPORACIÓN DEL LISTADO DE SECUENCIAS COMO REFERENCIA

El listado de secuencias, titulado "LISTADO DE SECUENCIAS", tiene 52 KB y fue creado el 4 de noviembre de 2020 y se incorpora en la presente descripción como referencia.

ANTECEDENTES

Los niveles altos de LDL-C (colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad) y la dislipidemia son promotores reconocidos de una enfermedad cardiovascular.

Se han aprobado estatinas para el tratamiento de la dislipidemia durante 25 años. Esta clase ha demostrado una reducción sustancial y consistente de eventos cardiovasculares con un perfil de seguridad aceptable. La estatina más vendida, atorvastatina (LipitorTM) fue el fármaco más vendido del mundo en todo momento, con más de 125 mil millones USD en ventas del 1996 al 2012.

A pesar de la disponibilidad y el amplio uso de las estatinas y otros agentes reductores de lípidos, muchos pacientes no logran sus niveles objetivos de LDL-C y mantienen un riesgo alto de desarrollar una enfermedad cardiovascular. La PCSK9 (Proteína Convertasa Subtilisina/Kexina tipo 9) promueve la degradación del LDL-R (receptor de LDL) hepático, lo que reduce de esta manera la expresión superficial del LDL-R hepático y, en consecuencia, la eliminación de las partículas de LDL. Por el contrario, el bloqueo de PCSK9 aumenta la eliminación de LDL-C así como también otras lipoproteínas aterogénicas. De hecho, los receptores de LDL contribuyen a la eliminación de lipoproteínas aterogénicas diferentes de LDL, tales como lipoproteínas de densidad intermedia y partículas remanentes. El aumento de la eliminación de las lipoproteínas de densidad intermedia y de partículas remanentes puede tener beneficios terapéuticos más allá de los proporcionados por la reducción de LDL.

Las estatinas aumentan la expresión tanto de LDL-R como de PCSK9 mediante el factor de transcripción SREBP2. El aumento de la expresión de PCSK9 puede disminuir el efecto de las estatinas en la eliminación de LDL-C de la circulación.

Al inhibir la unión de PCSK9 al LDL-R y prevenir de esta manera la degradación de LDL-R se mejora la eficacia de las estatinas. En conjunto, la inhibición de PCSK9 ofrece un enfoque novedoso para el manejo de lípidos.

Dos anticuerpos anti-PCSK9, alirocumab/Praluent[®] y evolocumab/Repatha[®], se han aprobado para el tratamiento de niveles altos de LDL-C. Estos se administran mediante inyecciones subcutáneas de 1 ml cada dos semanas.

La secuencia de EGF(A) (dominio A similar al factor de crecimiento epidérmico) (40 aminoácidos) del LDL-R (LDL-R-(293-332)) es bien reconocida como el sitio para la unión a PCSK9. Se ha demostrado que el péptido de EGF(A) de tipo silvestre aislado inhibe la unión de PCSK9 al LDL-R con una IC₅₀ en el intervalo bajo en μM (Biochemical and Biophysical Research Communications 375 (2008) 69–73). Esta potencia pobre ha impedido un uso farmacéutico práctico del péptido de EGF(A). Además, puede esperarse que la vida media de tales péptidos sea demasiado corta para ser de uso terapéutico.

El documento WO2012177741 y J. Mol. Biol. (2012) 422, 685-696 describen análogos del EGF(A) y su fusión a Fc.

En el documento WO2017/121850 se han descrito inhibidores de PCSK9 basados en péptidos de EGF(A) alternativos con una vida media extendida. Para aumentar la capacidad de uso de tales fármacos es de interés desarrollar una formulación oral adecuada. La administración oral de péptidos terapéuticos es desafiante debido a la degradación rápida de tales péptidos en el sistema gastrointestinal.

La biodisponibilidad oral de los compuestos peptídicos generalmente se encuentra limitada pero se han obtenido resultados útiles para el semaglutida como se describió en los documentos WO 2012/080471 y WO 2013/139694.

SUMARIO

En un aspecto, la presente invención se refiere a una composición que comprende un inhibidor de PCSK9 y un potenciador de la absorción o agente de suministro y un hidrótrofo. La composición de acuerdo con la invención comprende cantidades equilibradas del agente de suministro y del hidrótrofo. Las composiciones proporcionadas presentan una disolución acelerada, lo que posibilita la captación rápida y eficiente del ingrediente farmacéutico activo.

En la presente descripción se describen composiciones farmacéuticas que demuestran una disolución acelerada y, por lo tanto, una mejor exposición del inhibidor de PCSK9 mediante la administración oral dentro de los 15-30 minutos después de la administración. Los inventores han descubierto que la disolución y la absorción de una composición de inhibidor de PCSK9 se produce más rápido cuando la composición se prepara con un hidrótrofo.

Un aspecto de la invención se refiere a una composición que comprende

- i) un inhibidor de PCSK9
- ii) una sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico (NAC) y
- iii) un hidrótrofo,

en donde el hidrótrofo es capaz de aumentar la solubilidad de SNAC al menos 2 veces, tal como 5 veces o tal como al menos 10 veces.

En una modalidad la composición comprende:

- i) 0,1-100 mg del inhibidor de PCSK9,
- ii) 50-600 mg de sal del ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico (NAC), tal como la sal de sodio de NAC (SNAC) y
- iii) 20-400 mg de nicotinamida o resorcinol y
- iv) 0-10 mg de lubricante.

En modalidades adicionales, la composición incluye además un lubricante.

Un aspecto adicional se refiere a un método para producir una composición farmacéutica sólida que comprende las etapas de;

- a) obtener una sal de NAC y un hidrótrofo,
- b) coprocesar la sal de NAC e hidrótrofo de a) y
- c) preparar dicha composición farmacéutica sólida mediante el uso del producto de b).

En un aspecto adicional, la invención se refiere a una composición o a un gránulo como se define en la presente descripción para su uso en medicina, tal como para mejorar los parámetros lipídicos y/o prevenir y/o tratar enfermedades cardiovasculares.

En un aspecto adicional la invención se refiere a un método para mejorar los parámetros lipídicos y/o prevenir y/o tratar enfermedades cardiovasculares que comprende administrar la composición como se define en la presente descripción a un paciente que lo necesita, en donde dicha composición es una tableta y se administra oralmente.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 muestra el efecto dependiente de la dosis de nicotinamida (A) y resorcinol (B) sobre la solubilidad de SNAC a pH 6.

La Figura 2 muestra la disolución de las composiciones de prueba 1, 3, 5, 6 y 7.

DESCRIPCIÓN

Un aspecto de la invención se refiere a una composición que comprende un inhibidor de PCSK9 y un potenciador de la absorción o agente de suministro y un hidrótrofo. La composición puede estar en la forma adecuada para la administración oral, tal como una tableta, sobre o cápsula. En una modalidad la composición es una composición oral, o una composición farmacéutica, tal como una composición farmacéutica oral.

Las composiciones proporcionadas presentan una disolución acelerada y, de esta manera, posibilitan una rápida captación del ingrediente farmacéutico activo.

Inhibidor de PCSK9

El término “inhibidor de PCSK9” como se usa en la presente se refiere a un compuesto, que impide que PCSK9 se una completa o parcialmente al receptor de lipoproteína de baja densidad humano (LDL-R).

El péptido de EGF(A) LDL-R(293-332) se une a PCSK9, pero no se considera un inhibidor de PCSK9 debido a que es una unión relativamente débil a PCSK9. El potencial de un análogo de EGF(A) para inhibir PCSK9 puede medirse en un ensayo ELISA (tal como el

Ensayo I en la presente descripción) que proporciona la afinidad aparente del análogo de EGF(A) o un compuesto que comprende un análogo de EGF(A) informada como K_i . Una K_i baja es, por lo tanto, característica de compuestos con una fuerte función inhibitoria como se describió en el documento WO2017/121850. Basado en su capacidad para inhibir la interacción de PCSK9 con LDL-R, tales compuestos se denominan inhibidores de PCSK9. Basado en los hallazgos descritos en el documento WO2017/121850 un inhibidor de PCSK9 adecuado tiene una K_i más abajo de 8 nM, tal como más abajo de 5 nM. En una modalidad el inhibidor de PCSK9 tiene una K_i de aproximadamente 0,5-8 nM, o tal como 0,5-5 nM o tal como 1,0-4 nM. Un ensayo adecuado para determinar la K_i se describe en el Ensayo I en la presente descripción.

En una modalidad el inhibidor de PCSK9 tiene una función inhibitoria al menos comparable con EGF(A) 301L. En una modalidad el inhibidor de PCSK9 tiene una función inhibitoria de PCSK9 comparable con EGF(A) 301L. En un ensayo dado, tal como el Ensayo I descrito en la presente descripción, la relación $\frac{K_i(\text{inhibidor de PCSK9})}{K_i(\text{EGF(A)301L})}$ está por lo

tanto preferentemente más abajo de 2, tal como más abajo de 1,5, tal como más abajo de 1,2. En una modalidad, la relación es a lo máximo 1,0, tal como a lo máximo 0,8, tal como a lo máximo 0,7, tal como a lo máximo 0,6 o tal como a lo máximo 0,5. En una modalidad $\frac{K_i(\text{inhibidor de PCSK9})}{K_i(\text{EGF(A)301L})}$ la relación es 2,0-0,2, tal como 1,5-0,5 o tal como 1,2-0,8.

En una modalidad donde el inhibidor de PCSK9 tiene una función inhibitoria comparable con EGF(A) 301L. En una modalidad el inhibidor de PCSK9 tiene una función inhibitoria de PCSK9 mejorada comparada con EGF(A) 301L, 309R, 310K. En un ensayo dado, tal como el Ensayo I descrito en la presente descripción, la relación $\frac{K_i(\text{inhibidor de PCSK9})}{K_i(\text{EGF(A)301L,309R,312E})}$ está

por lo tanto preferentemente más abajo de 2, tal como más abajo de 1,5, tal como más abajo de 1,2. En una modalidad, la relación es a lo máximo 1,0, tal como a lo máximo 0,8, tal como a lo máximo 0,7, tal como a lo máximo 0,6 o tal como a lo máximo 0,5. En una modalidad $\frac{K_i(\text{inhibidor de PCSK9})}{K_i(\text{EGF(A)301L})}$ la relación es 2,0-0,2, tal como 1,5-0,5 o tal como 1,2-0,8.

En una modalidad el inhibidor de PCSK9 comprende un análogo peptídico de EGF(A) como se describe en más detalle más abajo.

Compuesto de EGF(A)

El término "compuesto de EGF(A)" se usa en la presente descripción para referirse generalmente a un compuesto que comprende un péptido de EGF(A), que abarca el LDL-R(293-332) en peso como se define por la SEQ ID NO: 1 y análogos de los mismos. El término compuesto de EGF(A) abarca derivados del péptido de EGF(A) y análogos de los mismos, es decir, los análogos peptídicos de EGF(A) con un sustituyente como se describió en la presente descripción, es un ejemplo típico de un compuesto de EGF(A).

Péptidos de EGF(A)

El término “péptido”, como se usa, por ejemplo, en el contexto de la invención, se refiere a un compuesto que comprende una serie de aminoácidos interconectados mediante enlaces amida (o peptídicos). En una modalidad particular el péptido consiste en aminoácidos interconectados mediante enlaces peptídicos.

El péptido de la invención comprende al menos 35, tal como 36, 37, 38, 39 o al menos 40 aminoácidos. En una modalidad particular el péptido está compuesto por 36, tal como 38 o 40 aminoácidos. En una modalidad particular adicional, el péptido consiste en 35, 36, 37, 38, 39 o 40 aminoácidos.

En presencia de adiciones de aminoácidos, denominadas en la presente descripción como alargamientos N-terminal y C-terminal, el péptido de la invención puede comprender hasta 140 aminoácidos. En una modalidad, el péptido de la invención puede comprender o consistir en residuos de 41 aminoácidos. En una modalidad particular, el péptido comprende 40-140, 40-120, 40-100, 40-80, 40-60 o 40-50 aminoácidos.

Las expresiones “dominio EGF(A) del LDL-R”, “LDL-R (293-332)”, “LDL-R nativo (293-332)”, “EGF(A) (293-332)”, “EGF(A) de tipo silvestre”, “EGF(A) en peso” o “EGF(A) nativo” como se usan en la presente, se refieren a un péptido que consiste de la secuencia SEQ ID NO: 1.

La SEQ ID NO: 1 es :

Gly-Thr-Asn-Glu-Cys-Leu-Asp-Asn-Asn-Gly-Gly-Cys-Ser-His-Val-Cys-Asn-Asp-Leu-Lys-Ile-Gly-Tyr-Glu-Cys-Leu-Cys-Pro-Asp-Gly-Phe-Gln-Leu-Val-Ala-Gln-Arg-Arg-Cys-Glu.

En esta fórmula la numeración de los residuos de aminoácidos sigue la numeración para el dominio EGF(A) del LDL-R (LDL-R-(293-332)), en donde el primer residuo de aminoácido (N-terminal) se numera o se concede la posición núm. 293, y los residuos de aminoácidos subsecuentes hacia el extremo C se numeran 294, 295, 296 y así sucesivamente, hasta el último residuo de aminoácido (C-terminal), que en el dominio EGF(A) del LDL-R es Glu con el número 332.

La numeración se realiza de manera diferente en el listado de secuencias, donde el primer residuo de aminoácido de SEQ ID NO: 1 (Gly) se asigna núm. 1 y el último (Glu) núm. 40. Lo mismo se aplica para las otras secuencias del listado de secuencias, es decir, el aminoácido N-terminal asignado es el núm. 1 independientemente de su posición con relación a 293Gly o el residuo de aminoácido que sustituye el 293 con referencia a LDL-R(293-332). Sin embargo, en la presente descripción la numeración de las posiciones de aminoácidos es con referencia a LDL-R(293-332), como se explicó anteriormente.

La presente invención se refiere a análogos peptídicos de EGF(A) identificados por la SEQ ID NO:1 y derivados de tales análogos peptídicos de EGF(A) del dominio EGF(A) de tipo silvestre de LDLR definido por la SEQ ID NO: 1.

El término “análogo” generalmente se refiere a un péptido, cuya secuencia tiene uno o más cambios de aminoácidos cuando se compara con una secuencia de aminoácidos de referencia.

Las expresiones “análogo de la invención”, “análogo peptídico de la invención”, “análogo de LDL-R(293-332)”, “análogo de EGF(A)” o “análogo de SEQ ID NO: 1” como se usan en la presente pueden referirse como un péptido, cuya secuencia comprende sustituciones de aminoácidos, es decir, reemplazos de aminoácidos con relación a la secuencia SEQ ID NO: 1. Un “análogo” también puede incluir alargamientos de aminoácidos en las posiciones N-terminal y/o C-terminal y/o truncamientos en las posiciones N-terminal y/o C-terminal.

El nivel de identidad con la SEQ ID NO: 1 puede calcularse mediante la determinación del número de aminoácidos que no se cambian con relación a la SEQ ID NO 1. La SEQ ID NO: 1 consiste en 40 residuos de aminoácidos y si se introducen tres sustituciones de aminoácidos el nivel de identidad es $37/40 \times 100 = 92,5 \%$. Si se cambian 5 residuos de aminoácidos el nivel de identidad es $87,5 \%$. Si el péptido se alarga en dirección N-terminal o C-terminal esa parte usualmente no se incluye en la comparación, mientras que una delección de uno o más aminoácidos acorta el comparador. Por ejemplo, en los ejemplos anteriores, si el aminoácido N-terminal se elimina el nivel de identidad se reduce ligeramente a $36/39 \times 100 \%$ y $34/39 \times 100 \%$, respectivamente. Al analizar la identidad de la secuencia de la cadena principal de un derivado del residuo de aminoácido del sustituyente, por ejemplo, el residuo al cual se une el sustituyente, también denominado el residuo de aminoácido del sustituyente, puede ser un aminoácido ya sea de tipo silvestre (wt) o sustituido. Si el residuo de aminoácido del sustituyente es un residuo de tipo silvestre, tal como la Gly N-terminal o 312K este residuo se incluye en el cálculo del nivel de identidad, mientras que una Lys en cualquier otra posición de 293 a 332 sería una sustitución de aminoácidos y no se incluye cuando se calcula la identidad de aminoácidos con la SEQ ID NO:1.

En una modalidad el análogo peptídico de EGF(A) tiene 1-15 sustituciones de aminoácidos en comparación con la SEQ ID NO: 1. En una modalidad el análogo peptídico de EGF(A) tiene 1-10 sustituciones de aminoácidos en comparación con la SEQ ID NO: 1. En una modalidad, el análogo peptídico de EGF(A) tiene 1-8 sustituciones de aminoácidos en comparación con la SEQ ID NO: 1, tal como 1-7, 1-6, 1-5 sustituciones de aminoácidos en comparación con la SEQ ID NO: 1. En una modalidad particular, pueden estar presentes hasta 7 sustituciones de aminoácidos, por ejemplo hasta 6, 5, 4, 3, 2 o 1 sustituciones de aminoácidos en el análogo peptídico de EGF-1.

En una modalidad el análogo de la invención tiene al menos un 75 % de identidad, tal como 80 %, tal como 85, tal como 90 o incluso 95 % de identidad con la SEQ ID NO:1 lo que se corresponde con hasta 10, 8, 6, 4 y 2 sustituciones de aminoácidos con relación a la SEQ ID NO 1, respectivamente en caso de no truncamiento.

Cada uno de los análogos peptídicos de la invención pueden describirse como referencia i) al número del residuo de aminoácido en EGF(A) nativo (LDL-R(293-332)) que corresponde al residuo de aminoácido que se cambia (es decir, la posición correspondiente en el EGF(A) LDL-R(293-332)) nativo, y ii) al cambio real.

En otras palabras, los análogos peptídicos de la invención pueden describirse como referencia al péptido de EGF(A) LDL-R(293-332) nativo, específicamente como una variante del mismo, en el cual se ha cambiado una cantidad de residuos de aminoácidos cuando se compara con el EGF(A) LDL-R(293-332) nativo (SEQ ID NO: 1). Estos cambios pueden representar, independientemente, una o más sustituciones de aminoácidos.

Los siguientes son ejemplos no limitantes de la nomenclatura adecuada de los análogos:

El péptido de EGF(A) incorporado en el derivado del Ejemplo 2 en el documento WO2017/121850 se denomina por lo tanto como el siguiente análogo de EGF(A) LDL-R(293-332): (301Leu, 309Arg) LDL-R(293-332) EGF(A), o (Leu301, Arg309)-LDL-R(293-332) EGF(A) o (301L,309R) LDL-R(293-332) o (L301,R309) LDL-R(293-332). Esto significa que cuando este análogo se alinea con el LDL-R(293-332) nativo, tiene i) una Leu en la posición en el análogo que corresponde, de acuerdo con la alineación, a la posición 301 en el EGF(A) LDL-R(293-332) nativo, ii) una Arg en la posición en el análogo que corresponde a la posición 309 en el EGF(A) LDL-R(293-332) nativo.

Los análogos “que comprenden” determinados cambios especificados pueden comprender otros cambios, cuando se comparan con la SEQ ID NO: 1.

En una modalidad particular, el análogo “tiene” o “comprende” los cambios especificados.

En una modalidad particular, el análogo “consiste en” los cambios. Cuando el término “consiste” o “que consiste” se usa en relación con un análogo, por ejemplo, un análogo consiste o que consiste de un grupo de sustituciones de aminoácidos especificadas, debe entenderse que las sustituciones de aminoácidos especificadas son las únicas sustituciones de aminoácidos en el análogo peptídico. Por el contrario un análogo “que comprende” un grupo de sustituciones de aminoácidos especificadas puede tener sustituciones adicionales.

Como es evidente a partir de los ejemplos anteriores, los residuos de aminoácidos pueden identificarse por su nombre completo, su código de una letra y/o su código de tres letras. Estas tres maneras son completamente equivalentes.

Las expresiones “una posición equivalente a” o “posición correspondiente” pueden usarse para caracterizar el sitio de cambio en una variante de secuencia de EGF(A) LDL-R(293-332) en referencia a la secuencia de referencia nativa de EGF(A) LDL-R(293-332) (SEQ ID NO: 1). Las posiciones equivalentes o correspondientes, así como también la cantidad de cambios, se deducen fácilmente, por ejemplo mediante simple escritura e inspección visual; y/o puede usarse un programa estándar de alineamiento de proteínas o péptidos, tal como “align” que se basa en un algoritmo de Needleman-Wunsch.

En lo que sigue, puede ocurrir que se defina una fórmula química de manera que dos grupos químicos subsecuentes puedan seleccionarse para ser “un enlace”. En tales casos, los dos grupos químicos subsecuentes realmente estarían ausentes, y solo un enlace conectaría los grupos químicos circundantes.

Los aminoácidos son moléculas que contienen un grupo amino y un grupo ácido carboxílico y, opcionalmente, uno o más grupos adicionales, frecuentemente denominados cadena lateral.

El término "aminoácido" incluye aminoácidos proteinogénicos (o naturales) (entre ellos los 20 aminoácidos estándar), así como también aminoácidos no proteinogénicos (o no naturales). Los aminoácidos proteinogénicos son aquellos que se incorporan naturalmente en las proteínas. Los aminoácidos estándar son los codificados por el código genético. Los aminoácidos no proteinogénicos o no se encuentran en proteínas, o no se producen por la maquinaria celular estándar (por ejemplo, pueden haberse sometido a modificación postraducciona). Los ejemplos no limitantes de aminoácidos no proteinogénicos son Aib (ácido α -aminoisobutírico, o ácido 2-aminoisobutírico), norleucina, norvalina, así como también los isómeros D de los aminoácidos proteinogénicos.

En lo que sigue, cada aminoácido de los péptidos de la invención para los cuales no se indica el isómero óptico debe entenderse que se refiere al isómero L (a menos que se especifique de cualquier otra manera).

Análogos peptídicos de EGF(A)

Un aspecto de la invención se refiere a un análogo de un péptido de SEQ ID NO: 1. Los análogos peptídicos de la invención pueden definirse como péptidos que comprenden una secuencia de aminoácidos que es un análogo de la SEQ ID NO: 1. Los análogos peptídicos de la invención tienen la capacidad de unirse a PCSK9. En una modalidad específica, los análogos de la invención tienen una capacidad mejorada de unirse a PCSK9, por ejemplo en comparación con el LDL-R(293-332) nativo (EGF-(A) nativo) o con otros compuestos de unión a PCSK9.

Los análogos peptídicos de la invención tienen la capacidad de inhibir la unión de PCSK9 al LDL-R. En una modalidad el péptido es un inhibidor de PCSK9. En una modalidad el péptido inhibe la unión de PCSK9 al receptor humano de la lipoproteína de baja densidad (LDL-R). Tal unión puede evaluarse mediante el uso del ensayo descrito en el Ensayo I en la presente descripción. En una modalidad los análogos peptídicos y los derivados peptídicos de la invención son péptidos inhibidores de PCSK9 o simplemente inhibidores de PCSK9. En una modalidad la invención se refiere a un análogo peptídico de SEQ ID NO:1, en donde el análogo peptídico es capaz de inhibir la unión de PCSK9 al receptor humano de la lipoproteína de baja densidad (LDL-R).

En una modalidad los análogos peptídicos, compuestos o inhibidores de PCSK9 de la invención tienen una capacidad mejorada de unirse a PCSK9 en comparación con EGF(A) LDL-R(293-332) (SEQ ID 1).

Como se describió anteriormente, los análogos de péptidos de EGF(A) o compuestos que comprenden tales se consideran inhibidores de PCSK9 cuando tales moléculas tienen la capacidad de inhibir la unión de PCSK9 a LDL-R, al tener y mejorar la unión a PCSK9 en comparación con EGF(A) LDL-R(293-332) (SEQ ID 1).

En una modalidad, la K_i de los análogos peptídicos, compuestos o inhibidores de PCSK9 como se describió en la presente descripción tal como se mide en el ensayo de ELISA competitivo de unión de PCSK9-LDL-R (Ensayo I) está más abajo de 10 nM, tal como más abajo de 8 nM o tal como más abajo de 5 nM.

La funcionalidad de los análogos de EGF-(A) y derivados de los mismos pueden caracterizarse adicionalmente por sus capacidades para mejorar la captación de LDL, tal como se describió en el documento WO2017/121850 Ejemplo D1,2. En una modalidad, los análogos peptídicos, compuestos o inhibidores de PCSK9 de la invención aumentan la captación de LDL en presencia de PCSK9. En una modalidad, los análogos peptídicos, compuestos o inhibidores de PCSK9 de la invención son capaces de revertir o reducir la reducción de la captación de LDL mediada por PCSK9.

En una modalidad, los análogos peptídicos, compuestos o inhibidores de PCSK9 de la invención tienen una EC50 según se mide en el ensayo de captación de LDL, más abajo de 1500 nM, tal como más abajo de 1000 nM o tal como más abajo de 500 nM.

En una modalidad, un análogo peptídico de la invención puede definirse como que comprende al menos 1 sustitución de aminoácidos en comparación con la SEQ ID NO: 1, y opcionalmente un alargamiento. En una modalidad, un análogo peptídico de la invención puede definirse como que comprende hasta 15, hasta 14, hasta 13, hasta 12, hasta 11, hasta 10, hasta 9, hasta 8, hasta 7, hasta 6, hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución(ciones) de aminoácido(s) en comparación con la SEQ ID NO: 1, y opcionalmente un alargamiento. Esto significa que un péptido que comprende un alargamiento en el N-terminal y/o en el C-terminal puede comprender hasta 15 sustituciones de aminoácidos en las posiciones 293 a 332 además de dicho alargamiento.

Un “alargamiento” de aminoácidos puede denominarse además “extensión”. En una modalidad, los análogos peptídicos de la invención comprenden un alargamiento. Dicho alargamiento puede ser una adición de hasta 50 residuos de aminoácidos en la posición N-terminal de la SEQ ID NO: 1 o un análogo de la misma, denominado además un alargamiento N-terminal, lo que significa que un péptido de la invención puede comprender hasta 50 aminoácidos desde la posición 292 hacia abajo, por ejemplo, la posición 242. Adicionalmente o alternativamente, dicho alargamiento puede ser una adición de hasta 50 residuos de aminoácidos en la posición C-terminal de la SEQ ID NO: 1 o un análogo de la misma, denominado además un alargamiento C-terminal, lo que significa que un péptido de la invención puede comprender hasta 50 aminoácidos desde la posición 333 hacia arriba, por ejemplo, la posición 383.

Dicho alargamiento puede estar presente ya sea en el N-terminal, en el C-terminal o ambos. Dicho alargamiento puede ser también de cualquier longitud entre 0 y 50 aminoácidos en cada lado, independientemente entre sí. En una modalidad, los análogos peptídicos de la invención comprenden un alargamiento N-terminal de 1-50, 1-40, 10-40, 1-30, 10-30, 20-30, 20-40, 20-50, 30-50, 1-10, 11-20, 21-30, 31-40 o 41-50 de residuos de aminoácidos o de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 o 50 residuos de aminoácidos. Además o alternativamente, los análogos peptídicos de la invención pueden comprender un alargamiento del C-terminal de 1-50, 1-40, 10-40, 1-30, 10-30, 20-30, 20-40, 20-50, 30-50, 1-10, 11-20, 21-30, 31-40 o 41-50 residuos de

aminoácidos o de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 o 50 residuos de aminoácidos.

Un alargamiento puede referirse, en alguna situación, a una sustitución a medida que se introduce un nuevo residuo de aminoácido, tal como el 292A, 292Lys o 333Lys ejemplificado en la presente descripción.

Los truncamientos menores en el N-terminal y/o C-terminal del péptido de EGF(A) pueden estar presentes en el análogo peptídico de EGF(A).

En una modalidad el péptido de EGF(A) comprende al menos 35 residuos de aminoácidos, tal como 36 residuos de aminoácidos, tal como 37 residuos de aminoácidos, tal como 38 residuos de aminoácidos o tal como 39 residuos de aminoácidos. En una modalidad el análogo peptídico de EGF(A) de acuerdo con, comprende un truncamiento N-terminal de 1-2 residuos de aminoácidos. En una modalidad se eliminan uno o dos residuos de aminoácidos en el N-terminal. En modalidades adicionales el análogo peptídico de EGF(A) comprende en consecuencia un truncamiento N-terminal que elimina al menos o específicamente el aminoácido 293Gly.

En modalidades adicionales el análogo peptídico de EGF(A) comprende un truncamiento N-terminal que elimina al menos o específicamente 293Gly-294Thr.

En una modalidad el análogo peptídico de EGF(A) comprende un truncamiento C-terminal de 1 residuo de aminoácido. En una modalidad se elimina un único residuo de aminoácido C-terminal. En una modalidad el análogo peptídico comprende un truncamiento C-terminal que elimina específicamente el aminoácido 332Glu.

Además o alternativamente, un análogo peptídico de la invención puede comprender al menos un alargamiento de aminoácidos en el N-terminal o el C-terminal por ejemplo en la posición 292 y/o 333.

El análogo peptídico de EGF(A) de la invención comprende la sustitución de aminoácidos del residuo de aminoácido 301 de Asn por Leu, descrita además como Asn301Leu, o simplemente 301Leu. En una modalidad específica, el análogo peptídico de EGF(A) comprende la sustitución 301Leu.

Además, o alternativamente el análogo peptídico de EGF(A) comprende los residuos de aminoácidos 297Cys, 304Cys, 308Cys, 317Cys, 319Cys y 331Cys. Esos residuos de Cys son residuos de tipo silvestre que pueden estar acoplados en puentes disulfuro, tales como los puentes disulfuro entre 297Cys y 308Cys, entre 304Cys y 317Cys y entre 319Cys y 331Cys.

En una modalidad, el análogo peptídico de EGF(A) comprende 301Leu y una cantidad de sustituciones de aminoácidos adicionales, como se describió anteriormente.

En una modalidad el análogo peptídico de EGF(A) comprende 301Leu, 310Asp y una sustitución de aminoácidos de 312Lys.

En una modalidad, el análogo peptídico de EGF(A) comprende 301Leu y 310Asp y en donde el análogo peptídico no tiene una sustitución de 299Asp por Glu, Val o His.

En una modalidad el análogo peptídico de EGF(A) comprende 301Leu, 309Arg y 312Glu.

En una modalidad el análogo peptídico de EGF(A) comprende 301Leu y 309Arg con la condición de que el análogo peptídico no tenga una sustitución de 310Asp por 310Lys o

En una modalidad el análogo peptídico de EGF(A) comprende 301Leu y 309Arg con la condición de que el análogo peptídico no tenga una sustitución de 299Asp por Glu, Val o His.

En una modalidad adicional el análogo peptídico no tiene ninguna de las sustituciones D310K, D310N, D310Q, D310R y D310A o incluso cualquier sustitución de 310Asp.

En una modalidad el análogo peptídico de EGF(A) comprende uno, dos, tres o los cuatro residuos de tipo silvestre: 295Asn, 296Glu, 298Leu y 302Gly.

En una modalidad el análogo peptídico de EGF(A) comprende uno, dos, tres, cuatro o los cinco residuos de tipo silvestre: 295Asn, 296Glu, 298Leu, 302Gly y 310Asp.

En una modalidad el péptido tiene 295Asn.

En una modalidad el análogo peptídico tiene 296Glu. En una modalidad el análogo peptídico tiene 298Leu. En una modalidad el análogo peptídico tiene 302Gly. En una modalidad el análogo peptídico tiene 310Asp.

En una modalidad el análogo peptídico tiene dos o más de 310Asp, 295Asn y 296Glu. En una modalidad el análogo peptídico tiene los tres de 310Asp, 295Asn y 296Glu.

El análogo peptídico de EGF(A) puede comprender sustituciones de aminoácidos adicionales como se describió en la presente descripción. En una modalidad el análogo de la invención puede comprender además una o más sustituciones de aminoácidos en una(s) posición(ciones) seleccionada(s) del grupo de posiciones: 293, 294, 296, 299, 300, 303, 305, 306, 309, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 318, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 328, 329, 330 y 332.

En una modalidad el análogo de la invención puede comprender además una o más sustituciones de aminoácidos en una(s) posición(ciones) seleccionada(s) del grupo de posiciones: 293, 294, 299, 300, 303, 305, 306, 309, 311, 312, 313, 314, 316, 318, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 328, 329, 330, 331 y 332.

En una modalidad el análogo de la invención puede comprender además una o más sustituciones de aminoácidos en una(s) posición(ciones) seleccionada(s) de 294, 299, 300, 303, 309, 312, 313, 314, 316, 318, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 328, 329, 330 y 332.

En una modalidad el análogo de la invención puede comprender además una o más sustituciones de aminoácidos en una(s) posición(ciones) seleccionada(s) de 299, 300, 309, 313, 316, 318, 321, 322, 323, 324, 326, 328, 329, 330 y 332.

En una modalidad el análogo de la invención puede comprender además una o más sustituciones de aminoácidos adicionales en una(s) posición(ciones) seleccionada(s) del grupo de posiciones: 309, 312, 313, 321, 324, 328 y 332.

En una modalidad adicional el análogo peptídico comprende ya sea el residuo de aminoácido wt o un residuo diferente, es decir, una sustitución de aminoácidos, en

determinados posiciones específicas además de los residuos de aminoácidos especificados anteriormente en la presente descripción.

En una modalidad tal el análogo de la invención comprende el residuo de aminoácido Gly(G) o Asn(N) en la posición 293.

En una modalidad tal el análogo de la invención comprende el residuo de aminoácido Trp (W), Thr(T) o Gly(G) en la posición 294.

En una modalidad tal el análogo de la invención comprende el residuo de aminoácido Asp(D), Gly(G), Pro(P), Arg(R), Lys(K), Ser(S), Thr(T), Asn(N), Gln(Q), Ala(A), Ile(I), Leu(L), Met(M), Phe(F), Tyr(Y) o Trp(W) en la posición 299.

En una modalidad tal el análogo de la invención comprende el residuo de aminoácido Asp(D), Gly(G), Pro (P), Arg(R), Lys(K), Ser(S), Thr(T), Asn(N), Gln(Q), Ala(A), Met(M), Phe(F), Tyr(Y) o Trp(W) en la posición 299.

En una modalidad tal el análogo de la invención comprende el residuo de aminoácido Asp(D), Ser (S), Arg(R), Leu (L), Ala (A), Lys(K) o Tyr(Y) en la posición 299.

En una modalidad tal el análogo de la invención comprende el residuo de aminoácido Asp(D) o Ala(A) en la posición 299.

En una modalidad tal el análogo de la invención comprende el residuo de aminoácido His(H) o Asn(N) en la posición 300.

En una modalidad tal el análogo de la invención comprende el residuo de aminoácido Val(V), Ser(S), Thr (T) o Ile (I) en la posición 307.

En una modalidad tal el análogo de la invención comprende el residuo de aminoácido Val(V), o Ile (I) en la posición 307.

En una modalidad tal el análogo de la invención comprende Ser(S), Thr (T) o Ile (I) en la posición 307.

En una modalidad tal el análogo de la invención comprende Ile (I) en la posición 307.

En una modalidad tal el análogo de la invención comprende el residuo de aminoácido Asn(N), Glu (E), His (H,) Arg (R), Ser (S) o Lys (K) en la posición 309.

En una modalidad tal el análogo de la invención comprende el residuo de aminoácido Asn(N), Arg (R), Ser (S) o Lys (K) en la posición 309.

En una modalidad tal el análogo de la invención comprende el residuo de aminoácido Asn(N), Arg (R), o Ser (S) en la posición 309.

En una modalidad tal el análogo de la invención comprende el residuo de aminoácido Asn(N) o Arg (R) en la posición 309.

En una modalidad tal el análogo de la invención comprende el residuo de aminoácido Lys(K) o Arg (R) en la posición 309.

El análogo peptídico de EGF(A) puede comprender varias sustituciones de aminoácidos como se describió en la presente descripción, tal como una o más sustituciones de aminoácidos seleccionadas del grupo de: 299Ala, 307Ile y 321Glu.

En modalidades adicionales, el análogo peptídico de EGF(A) comprende el residuo de aminoácido Asp(D), Lys (K) o Glu(E) en la posición 321.

En modalidades adicionales, el análogo peptídico de EGF(A) comprende el residuo de aminoácido Asp(D) o Glu(E) en la posición 321.

En modalidades adicionales, el análogo peptídico de EGF(A) comprende el residuo de aminoácido Glu(E) en la posición 321.

En modalidades adicionales, el análogo peptídico de EGF(A) comprende el residuo de aminoácido Gln (Q) o Gly (G) en la posición 324.

En modalidades adicionales, el análogo peptídico de EGF(A) comprende el residuo de aminoácido Arg (R) o His (H) en la posición 329.

En modalidades adicionales, el análogo peptídico de EGF(A) no tiene una sustitución de 300Asn(N) por Pro(P).

El dominio EGF(A) de LDL-R incluye una Lisina en la posición 312 que puede usarse para la sustitución como se describió en la presente descripción. En modalidades donde la unión del sustituyente a 312 no se desea 312Lys puede sustituirse por otro aminoácido como se describió en la presente descripción.

En una modalidad, la Lys en la posición 312 se sustituye por un residuo de aminoácido seleccionado de: Gly, Pro, Asp, Glu, Arg, His, Ser, Thr, Asn, Gln, Ala, Val, Ile, Leu, Met, Phe y Tyr. En una modalidad, la Lys en la posición 312 se sustituye por un residuo de aminoácido seleccionado de: Gly, Asp, Glu, Ser, Thr, Asn, Ala, Val, Ile, Leu, Phe y Tyr. En una modalidad, la Lys en la posición 312 se sustituye por un residuo de aminoácido seleccionado de: Asp, Glu, Thr, Asn, Ile, Leu, Phe y Tyr. En una modalidad, 312Lys se sustituye por 312Asp, 312Glu, 312Thr, 312Asn, 312Ile o 312Phe. En una modalidad, 312Lys se sustituye por 312Glu, 312Asp, 312Gln o 312Arg.

En una modalidad, 312Lys se sustituye por 312Glu, 312Thr, 312Asn, 312Ile, 312Phe o 312Tyr. En una modalidad, 312Lys se sustituye por 312Glu, 312Asn o 312Ile,

En una modalidad, 312Lys se sustituye por 312Glu o 312Arg. En una modalidad, 312Lys se sustituye por 312Arg. En una modalidad, 312Lys se sustituye por 312Glu.

Para incluir una opción para unir el sustituyente en diversas posiciones (ver en detalle más abajo), una Lys puede introducirse por la sustitución de aminoácidos de un residuo de tipo silvestre de SEQ ID NO: 1 o por un alargamiento peptídico de SEQ ID NO: 1, tal como una 292Lys o una 333Lys.

En los casos donde se desea más de un sustituyente, uno puede ser por medio de 312Lys mientras que el segundo es por medio de una Lys introducida por alargamiento o sustitución peptídica en la SEQ ID NO: 1.

En una modalidad el análogo peptídico de SEQ ID NO: 1 comprende al menos un residuo de Lys en una posición seleccionada del grupo de: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 296Lys, 299Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys y 333Lys.

En una modalidad el análogo peptídico de SEQ ID NO: 1 comprende al menos un residuo de Lys en una posición seleccionada del grupo de: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 299Lys,

300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys y 333Lys.

En una modalidad el análogo peptídico de SEQ ID NO: 1 comprende al menos un residuo de Lys en una posición seleccionada del grupo de: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 316Lys, 318Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys y 333Lys.

En una modalidad el análogo peptídico de SEQ ID NO: 1 comprende al menos un residuo de Lys en una posición seleccionada del grupo de: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 316Lys, 318Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys y 333Lys.

En una modalidad el análogo peptídico de SEQ ID NO: 1 comprende al menos un residuo de Lys en una posición seleccionada del grupo de: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 316Lys, 318Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys y 333Lys.

Además o alternativamente, el análogo peptídico de la invención comprende al menos una sustitución de aminoácidos seleccionada de 292Lys, 293Lys, 294Lys, 295Lys, 296Lys, 298Lys, 299Lys, 301Lys, 302Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 307Lys, 309Lys, 310Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys y 333Lys.

En una modalidad adicional, el análogo peptídico de EGF(A) de la invención comprende al menos una sustitución de aminoácidos seleccionada de: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 295Lys, 296Lys, 298Lys, 299Lys, 302Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 307Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys y 333Lys.

En una modalidad adicional, el análogo peptídico de EGF(A) de la invención comprende al menos una sustitución de aminoácidos seleccionada de 292Lys, 293Lys, 294Lys, 295Lys, 296Lys, 298Lys, 299Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys y 333Lys.

En una modalidad adicional, el análogo peptídico de EGF(A) de la invención comprende al menos una sustitución de aminoácidos seleccionada de 292Lys, 293Lys, 294Lys, 295Lys, 296Lys, 299Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys y 333Lys.

En una modalidad adicional, el análogo peptídico de EGF(A) de la invención comprende al menos una sustitución de aminoácidos seleccionada de 292Lys, 293Lys, 294Lys, 296Lys, 299Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys,

318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys y 333Lys.

En una modalidad adicional, el análogo peptídico de EGF(A) de la invención comprende al menos una sustitución de aminoácidos seleccionada de 292Lys, 293Lys, 294Lys, 299Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys y 333Lys.

En una modalidad adicional, el análogo peptídico de EGF(A) de la invención comprende al menos una sustitución de aminoácidos seleccionada de 292Lys, 293Lys, 294Lys, 299Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys y 333Lys.

En una modalidad adicional, el análogo peptídico de EGF(A) de la invención comprende al menos una sustitución de aminoácidos seleccionada de 292Lys, 293Lys, 294Lys, 299Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 310Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys y 333Lys.

En una modalidad adicional, el análogo peptídico de EGF(A) de la invención comprende al menos una sustitución de aminoácidos seleccionada de 292Lys, 293Lys, 294Lys, 299Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 310Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys y 333Lys.

En una modalidad adicional, el análogo peptídico de EGF(A) de la invención comprende al menos una sustitución de aminoácidos seleccionada de 292Lys, 293Lys, 294Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 310Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys y 333Lys. En una modalidad, los análogos peptídicos de la invención no comprenden ninguna de las siguientes sustituciones: 296K, 298K, 301K, 302K y 307K.

En una modalidad, los análogos peptídicos de la invención no comprenden ninguna de las siguientes sustituciones: 296K, 298K, 301K, 302K, 307K y 310K.

En una modalidad, los análogos peptídicos de la invención no comprenden ninguna de las siguientes sustituciones: 296K, 298K, 301K, 302K, 307, y 295K.

En una modalidad, los análogos peptídicos de la invención no comprenden ninguna de las siguientes sustituciones: 296K, 298K, 301K, 302K, 307K y 295D.

En una modalidad particular, el análogo peptídico de la invención comprende 1 o 2, de tales sustituciones de Lys.

Además o alternativamente, el péptido de la invención puede comprender 312Lys.

En una modalidad el análogo peptídico de la invención comprende dos residuos de Lys. En una modalidad el análogo peptídico de la invención comprende dos residuos de Lys seleccionados de los pares que consisten en:

i. 293K y 294K	xiv. 313K y 321K
ii. 293K y 312K	xv. 313K y 324K
iii. 293K y 333K	xvi. 313K y 328K
iv. 309K y 313K	xvii. 313K y 332K
v. 309K y 324K	xviii. 313K y 333K
vi. 309K y 328K	xix. 314K y 333K
vii. 309K y 332K	xx. 321K y 332K
viii. 309K y 333K	xxi. 321K y 333K
ix. 311K y 313K	xxii. 324K y 333K
x. 312K y 333K	xxiii. 324K y 328K
xi. 312K y 313K	xxiv. 328K y 333K
xii. 312K y 314K	xxv. 330K y 333K y
xiii. 313K y 314K	xxvi. 332K y 333K.

Como se observa en la presente descripción anteriormente, se proporcionan diversos análogos peptídicos por la presente invención. En una modalidad adicional el análogo peptídico de EGF(A) de acuerdo con la invención comprende al menos dos sustituciones de aminoácidos identificadas por cualquiera de los grupos i)-xxiv) mostrados más abajo en comparación con la SEQ ID NO:1.

En aún una modalidad adicional, el análogo peptídico de EGF(A) de la invención consiste en las sustituciones de aminoácidos identificadas por cualquiera de los grupos i)-xxiv) mostrados más abajo.

En una modalidad adicional el análogo peptídico de EGF(A) de acuerdo con la invención comprende al menos dos sustituciones de aminoácidos identificadas por cualquiera de los grupos i)-xvi) mostrados más abajo en comparación con la SEQ ID NO.:1.

En aún una modalidad adicional, el análogo peptídico de EGF(A) de la invención consiste en las sustituciones de aminoácidos identificadas por cualquiera de los grupos i)-xvi) mostrados más abajo.

- i) 301Leu y 309Arg
- ii) 301Leu, 309Arg, 312Glu
- iii) 301Leu, 307Ile y 309Arg
- iv) 301Leu, 307Ile, 309Arg y 312Glu
- v) 301Leu, 309Arg y 321Glu
- vi) 301Leu, 309Arg, 321Glu y 312Glu
- vii) 301Leu, 307Ile, 309Arg y 299Ala
- viii) 301Leu, 307Ile, 309Arg, 299Ala y 312Glu
- ix) 301Leu y 309Arg y al menos una sustitución de Lys
- x) 301Leu, 309Arg, 312Glu y al menos una sustitución de Lys
- xi) 301Leu, 307Ile y 309Arg y al menos una sustitución de Lys
- xii) 301Leu, 307Ile, 309Arg y 312Glu y al menos una sustitución de Lys
- xiii) 301Leu, 309Arg y 321Glu y al menos una sustitución de Lys

- xiv) 301Leu, 309Arg, 321Glu y 312Glu y al menos una sustitución de Lys
- xv) 301Leu, 307Ile, 309Arg y 299Ala y al menos una sustitución de Lys o
- xvi) 301Leu, 307Ile, 309Arg, 299Ala y 312Glu y al menos una sustitución de Lys.

En una modalidad adicional el análogo peptídico de EGF(A) de acuerdo con la invención comprende al menos dos sustituciones de aminoácidos identificadas por cualquiera de los grupos xvii)-xx) mostrados más abajo en comparación con la SEQ ID NO: 1.

En aún una modalidad adicional, el análogo peptídico de EGF(A) de la invención consiste en las sustituciones de aminoácidos identificadas por cualquiera de los grupos xvii)-xx) mostrados más abajo.

xvii) 301Leu y 309Lys

xviii) 301Leu, 309Lys y 312Glu

xix) 301Leu y 309Lys y al menos una sustitución de Lys adicional

xx) 301Leu, 309Lys y 312Glu y al menos una sustitución de Lys adicional.

En una modalidad adicional el análogo peptídico de EGF(A) de acuerdo con la invención comprende al menos dos sustituciones de aminoácidos identificadas por cualquiera de los grupos xxi)-xxiv) mostrados más abajo en comparación con la SEQ ID NO: 1.

En aún una modalidad adicional el análogo peptídico de EGF(A) de la invención consiste en las sustituciones de aminoácidos identificadas por cualquiera de los grupos xxi)-xxiv) mostrados más abajo

xxi) 301Leu y 307Ile,

xxii) 301Leu, 307Ile y 312Glu

xxiii) 301Leu y 307Ile y al menos una sustitución de Lys adicional y

xxiv) 301Leu, 307Ile y 312Glu y al menos una sustitución de Lys adicional.

En modalidades específicas adicionales el análogo peptídico o el análogo peptídico de los compuestos de acuerdo con la invención comprenden o consisten en cualquiera de las secuencias de aminoácidos identificadas por las SEQ ID 1 a 114.

En una modalidad el análogo peptídico comprende o consiste en cualquiera de las secuencias de aminoácidos identificadas por las SEQ ID NO: 2-114.

En una modalidad el análogo peptídico comprende o consiste en cualquiera de las secuencias de aminoácidos identificadas por las SEQ ID NO: 2-47 y 49-114.

En una modalidad el análogo peptídico comprende o consiste en cualquiera de las secuencias de aminoácidos identificadas por cualquiera de las secuencias de aminoácidos con SEQ ID NO: 2-44, 46, 47 y 49-114.

En una modalidad el análogo peptídico comprende o consiste en cualquiera de las secuencias de aminoácidos identificadas por las SEQ ID NO: 2-44, 46, 47, 49-53, 55, 58-114.

En una modalidad el análogo peptídico comprende o consiste en cualquiera de las secuencias de aminoácidos identificadas por las SEQ ID NO: 2-4, 6-44, 46, 47, 49-53, 55, 58-114.

En una modalidad el análogo peptídico comprende o consiste en cualquiera de las secuencias de aminoácidos identificadas por las SEQ ID NO: 2-4, 6-19, 21-44, 46, 47, 49-53, 55, 58-114.

En una modalidad el análogo peptídico comprende o consiste en cualquiera de las secuencias de aminoácidos identificadas por las SEQ ID NO: 2-4, 6-19, 21-44, 46, 47, 49-53, 55, 58-114.

En una modalidad el análogo peptídico comprende o consiste en cualquiera de las secuencias de aminoácidos identificadas por las SEQ ID NO: 3-114.

En una modalidad el análogo peptídico comprende o consiste en cualquiera de las secuencias de aminoácidos identificadas por las SEQ ID NO: 3-45 y 47-114.

En una modalidad el análogo peptídico comprende o consiste en cualquiera de las secuencias de aminoácidos identificadas por cualquiera de las secuencias de aminoácidos SEQ ID NO: 3-45, 47-53 y 55-114.

En una modalidad el análogo peptídico comprende o consiste en cualquiera de las secuencias de aminoácidos identificadas por las SEQ ID NO: 3-45, 47-55, 58-114.

En una modalidad el análogo peptídico comprende o consiste en cualquiera de las secuencias de aminoácidos identificadas por las SEQ ID NO: 3-4, 6-45, 47-53, 55, 58-114.

En una modalidad el análogo peptídico comprende o consiste en cualquiera de las secuencias de aminoácidos identificadas por las SEQ ID NO: 3-4, 6-19, 21-45, 47, 49-53, 55, 58-114.

En una modalidad el análogo peptídico comprende o consiste en cualquiera de las secuencias de aminoácidos identificadas por las SEQ ID NO: 3-4, 6-19, 21-45, 47, 49-53, 55, 58-114.

En una modalidad el análogo peptídico comprende o consiste en cualquiera de las secuencias de aminoácidos identificadas por las SEQ ID NO: 3-4, 6-19, 21-45, 47, 49-53, 55, 58-62, 64-114.

En una modalidad el análogo peptídico comprende o consiste en cualquiera de las secuencias de aminoácidos identificadas por las SEQ ID NO: 3, 6 y 81.

En una modalidad el análogo peptídico comprende o consiste en cualquiera de las secuencias de aminoácidos identificadas por las SEQ ID NO: 4, 8, 11, 15-19, 21, 22, 24, 31-42, 44, 51-53, 70-73, 77-78, 91, 94, 95, 97-102, 104-109, 112-114.

En una modalidad el análogo peptídico comprende o consiste en cualquiera de las secuencias de aminoácidos identificadas por las SEQ ID NO: 4, 6, 32, 72, 76, 78, 98, 104 y 105.

Compuestos intermedios

La presente invención también se refiere a análogos peptídicos que pueden incorporarse en los derivados de la invención. Tales análogos peptídicos pueden denominarse “producto intermedio” o “compuesto intermedio”. Están en forma de análogos de LDL-R(293-332) novedosos, que como se describió anteriormente pueden incorporarse en los derivados de

EGF(A) de la invención como se describe en más detalle más abajo. Tales análogos peptídicos son como se definió en la sección anterior.

Particularmente, un análogo peptídico, o péptido intermedio, de acuerdo con la presente invención puede denominarse un análogo peptídico de la secuencia SEQ ID NO: 1.

En un aspecto la invención se refiere a un análogo peptídico de EGF(A) como se describió en la presente descripción para su uso en la fabricación de un compuesto de EGF(A), tal como un derivado de EGF(A).

Otras características, definiciones, aspectos y modalidades descritas en la presente descripción en relación con los análogos peptídicos de la invención pueden aplicarse también a los productos intermedios de la invención.

Derivados de EGF(A)

Los análogos peptídicos de la invención pueden comprender además un sustituyente y de esta manera se convierten en compuestos derivados.

El término “derivado” generalmente se refiere a un compuesto que puede prepararse a partir de un péptido nativo o un análogo del mismo mediante modificación química, en particular mediante unión covalente de uno o dos sustituyentes.

Las expresiones “derivado de la invención”, “derivado de EGF(A)”, “derivado de EGF(A) o “derivado de LDL-R(293-332)” o “derivado de un análogo de LDL-R(293-332)” como se usa en la presente se refieren a un péptido al cual se unen uno o dos sustituyentes. Cada uno de estos puede denominarse, además o alternativamente, una cadena lateral. En otras palabras, un “derivado de la invención” comprende un péptido, es decir, una secuencia peptídica, que en la presente descripción es un análogo peptídico de EGF(A), y al menos uno, que incluye tal como uno o dos, sustituyente(s).

El término “sustituyente” se usa para describir un resto unido covalentemente al péptido de EGF(A), por ejemplo, el sustituyente es un resto que no es parte del péptido de EGF(A) en sí.

En una modalidad el uno o más sustituyente(s) está(n) unido(s) a un átomo de nitrógeno del análogo peptídico de EGF(A). En una modalidad el uno o más sustituyente(s) está(n) unido(s) a un grupo amino del análogo peptídico de EGF(A). En una modalidad el uno o más sustituyente(s) está(n) unido(s) al aminoácido N-terminal del análogo peptídico de EGF(A) o a un residuo de Lys del análogo peptídico de EGF(A). En una modalidad el uno o más sustituyente(s) está(n) unido(s) al aminoácido N-terminal del análogo peptídico de EGF(A). En una modalidad el uno o más sustituyente(s) está(n) unido(s) al alfa-nitrógeno del residuo de aminoácidos N-terminal del análogo peptídico de EGF(A). En una modalidad el uno o más sustituyente(s) está(n) unido(s) a un residuo de Lys en el análogo peptídico de EGF(A). En una modalidad el uno o más sustituyente(s) está(n) unido(s) al nitrógeno-épsilon de un residuo de Lys en el análogo peptídico de EGF(A).

Los ejemplos de sustituyentes son diversos y se describen en más detalle más abajo.

En un aspecto, la invención se refiere a un derivado de EGF(A) que comprende un análogo peptídico de EGF(A) y al menos un sustituyente. En una modalidad el sustituyente del

derivado comprende al menos un grupo de ácido graso. Para todas las modalidades la expresión derivado de EGF(A) abarca, además, cualquier sal, amida o éster farmacéuticamente aceptable del mismo.

Sustituyentes

Un sustituyente es un resto unido a un análogo peptídico de EGF(A). De acuerdo con la invención se prefiere que el resto, por ejemplo, el sustituyente no tenga efecto o tenga un efecto mínimo sobre la funcionalidad del péptido de EGF(A) mientras se añaden otras propiedades beneficiosas, tales como una semivida más larga y/o una mejor exposición después de la dosificación oral.

Sigue que los derivados, así como también los análogos de la invención descritos anteriormente, tienen la capacidad de unirse a PCSK9. Tal unión a PCSK9 inhibe la unión de PCSK9 a LDL-R, lo que previene de esta manera la degradación de LDL-R lo que aumenta la eliminación de LDL-C y lipoproteínas aterogénicas.

En una modalidad específica, los derivados y análogos de la invención tienen una capacidad mejorada para unirse a PCSK9, por ejemplo, en comparación con el LDL-R(293-332) nativo o con otros compuestos de unión a PCSK9. Los análogos y derivados de la invención pueden analizarse, por ejemplo, por su capacidad para inhibir la unión de PCSK9 a LDL-R mediante el uso del ensayo descrito en el Ensayo I en la presente descripción.

En una modalidad el sustituyente tiene como objetivo mejorar la funcionalidad de los péptidos.

En una modalidad el sustituyente aumenta la semivida del análogo peptídico de una manera que la semivida en plasma de un derivado que comprende un péptido de cadena principal y un sustituyente tienen un aumento de la semivida en comparación con la semivida de la cadena principal. Los métodos para determinar la semivida en diferentes especies se conocen bien en la técnica y se ejemplifican en el documento WO2017/121850 para ratones y perros (Sección D2 y D5).

En una modalidad el derivado de EGF(A) de acuerdo con la invención tiene una semivida más arriba de 4 horas.

En una modalidad el derivado de EGF(A) de acuerdo con la invención tiene una semivida más arriba de 6 horas, tal como más arriba de 8 horas o tal como más arriba de 10 horas en ratones medida después de una dosificación ya sea por vía subcutánea o intravenosa.

En una modalidad el derivado de EGF(A) de acuerdo con la invención tiene una semivida más arriba de 25 horas en perros.

En una modalidad el derivado de EGF(A) de acuerdo con la invención tiene una semivida más arriba de 50 horas, tal como más arriba de 100 horas o tal como más arriba de 150 horas en perros.

En una modalidad, un sustituyente de extensión de semivida es un resto proteico. En una modalidad tal adicional el resto proteico puede incluir albúmina humana, un dominio Fc o una extensión de proteína no estructurada. En una modalidad adicional el resto proteico puede fusionarse al análogo peptídico. En una modalidad adicional, el resto proteico es el

dominio Fc y el dominio Fc se fusiona al análogo peptídico. Cuando se prepara una fusión de Fc el compuesto resultante usualmente será divalente ya que dos polipéptidos Fc formarán un dominio Fc.

En una modalidad el sustituyente no es un resto proteico. En una modalidad el sustituyente no es un resto proteico fusionado al análogo peptídico de EGF(A). En una modalidad el resto proteico no es un dominio Fc.

En otra modalidad el sustituyente es un resto no proteico.

En una modalidad particular, el sustituyente es capaz de formar complejos no covalentes con albúmina, lo que promueve de esta manera la circulación del derivado dentro de la corriente sanguínea, y también tiene el efecto de prolongar el tiempo de acción del derivado. En una modalidad particular, el sustituyente es capaz de prolongar el tiempo de acción del compuesto EGF(A) sin reducir sustancialmente su capacidad de unión a PCSK9. En una modalidad el derivado de EGF(A) comprende un sustituyente de extensión de semivida. Varios sustituyentes de extensión de semivida se conocen bien en la técnica e incluyen en particular aglutinantes de albúmina que comprenden un grupo de ácido graso como se describió en más detalle más abajo, y tales aglutinantes de albúmina son sustituyentes no proteicos.

El sustituyente comprende al menos un grupo de ácido graso.

En una modalidad particular, el grupo de ácido graso comprende una cadena de carbono que contiene al menos 8 grupos $-\text{CH}_2-$ consecutivos. En una modalidad el grupo de ácido graso comprende al menos 10 grupos $-\text{CH}_2-$ consecutivos, tales como al menos 12 grupos $-\text{CH}_2-$ consecutivos, al menos 14 grupos $-\text{CH}_2-$ consecutivos, al menos 16 grupos $-\text{CH}_2-$ consecutivos, al menos 18 grupos $-\text{CH}_2-$ consecutivos.

En una modalidad el grupo de ácido graso comprende 8-20 grupos $-\text{CH}_2-$ consecutivos. En una modalidad el grupo de ácido graso comprende 10-18 grupos $-\text{CH}_2-$ consecutivos. En una modalidad el grupo de ácido graso comprende 12-18 grupos $-\text{CH}_2-$ consecutivos. En una modalidad el grupo de ácido graso comprende 14-18 grupos $-\text{CH}_2-$ consecutivos.

En situaciones donde el derivado comprende dos sustituyentes, puede obtenerse un aumento de la semivida con grupos de ácidos grasos más cortos, por lo tanto en una modalidad donde el derivado comprende dos sustituyentes, los grupos de ácido graso pueden comprender al menos 8 grupos $-\text{CH}_2-$ consecutivos, tal como al menos 10 grupos $-\text{CH}_2-$ consecutivos, tal como al menos 12 grupos $-\text{CH}_2-$ consecutivos, al menos 14 grupos $-\text{CH}_2-$ consecutivos, al menos 16 grupos $-\text{CH}_2-$ consecutivos.

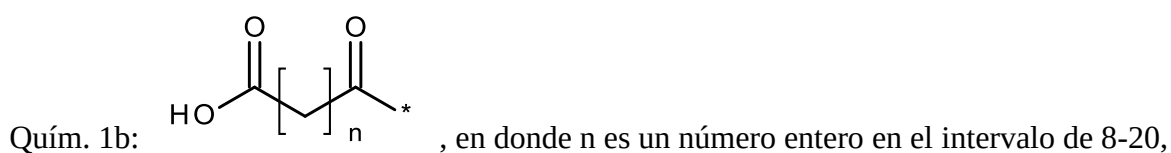
En una modalidad adicional donde el derivado comprende dos sustituyentes, cada uno de los sustituyentes comprende un grupo de ácido graso que comprende 8-18 grupos $-\text{CH}_2-$ consecutivos. En tales modalidades adicionales los grupos de ácido graso comprenden 10-18 grupos $-\text{CH}_2-$ consecutivos, tal como 12-18 grupos $-\text{CH}_2-$ consecutivos, tal como 14-18 grupos $-\text{CH}_2-$ consecutivos.

El término “grupo de ácido graso” como se usa en la presente puede referirse como grupo químico que comprende al menos un grupo funcional que es un ácido de Brønsted-Lowry

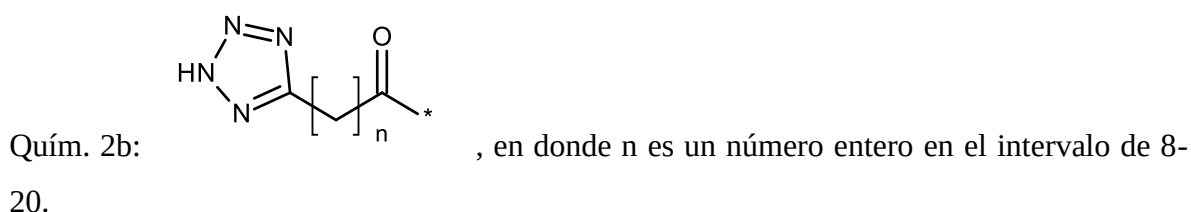
con un $pK_a < 7$. Los ejemplos no limitantes de tales grupos funcionales que son ácidos de Brønsted-Lowry incluyen un ácido carboxílico (que incluye además carboxifenoxi), un ácido sulfónico, un resto de tetrazol.

En una modalidad dicho grupo de ácido graso comprende un grupo funcional seleccionado de un ácido carboxílico, un ácido sulfónico, un resto de tetrazol, un resto de metilsulfonilcarbamoilamino (MSU) y un resto de 3-hidroxi-isoxazolisoxazol. En consecuencia, el sustituyente de extensión de semivida de la invención en una modalidad comprende un ácido carboxílico, un ácido sulfónico, un resto de tetrazol, un resto de metilsulfonilcarbamoilamino o un resto de hidroxi-isoxazolisoxazol que incluye además 8-20 grupos $-CH_2-$ consecutivos según se define por:

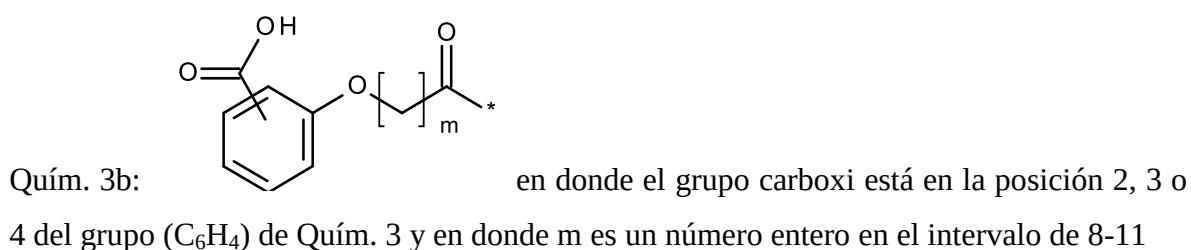
Quím. 1: $HOOC-(CH_2)_n-CO-^*$ en donde n es un número entero en el intervalo de 8-20, que puede denominarse además como un diácido $C(n+2)$ o como



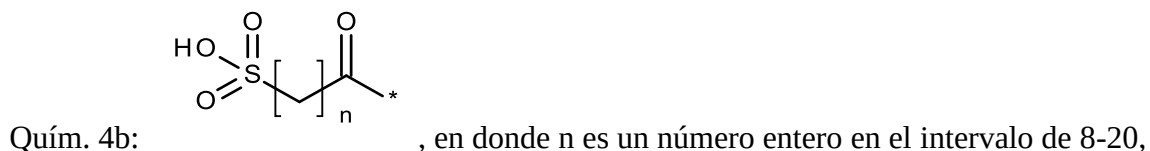
Quím. 2: 5-tetrazolil- $(CH_2)_n-CO-^*$ en donde n es un número entero en el intervalo de 8-20, que también puede denominarse



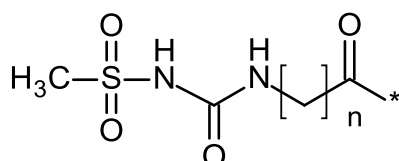
Quím. 3: $HOOC-(C_6H_4)-O-(CH_2)_m-CO-^*$ en donde n es un número entero en el intervalo de 8-20, que también puede denominarse



Quím. 4: $HO-S(O)_2-(CH_2)_n-CO-^*$ en donde n es un número entero en el intervalo de 8-20, que también puede denominarse

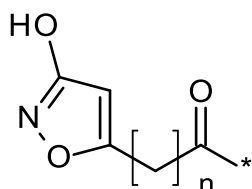


Quím. 5: $MeS(O)_2NH(CO)NH-(CH_2)_n-CO-^*$ en donde n es un número entero en el intervalo de 8-20, que también puede denominarse.



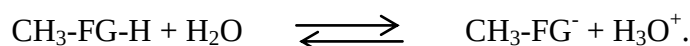
Quím. 5b: , en donde n es un número entero en el intervalo de 8-20,

Quím. 6: 3-HO-Isoxazol-(CH₂)_n-CO-* en donde n es un número entero en el intervalo de 8-20, que también puede denominarse



Quím. 6b: , en donde n es un número entero en el intervalo de 8-20.

El término grupo funcional en su forma ácida se denomina FG-H y su forma como base conjugada se denomina FG⁻. El término “grupo funcional con un pKa < 7” como se usa en la presente puede denominarse un ácido de Brønsted-Lowry que en la forma de su derivado de metilo (CH₃-FG-H) en solución acuosa tiene un pKa en equilibrio más abajo de 7, en donde el pKa es el -log de la constante de equilibrio (Ka) del equilibrio mostrado más abajo:



Los métodos para la determinación de pKa se conocen bien en la técnica. Un método tal, por ejemplo, fue descrito por Reijenga y otros en Anal Chem Insights 2013 (2013; 8:53–71).

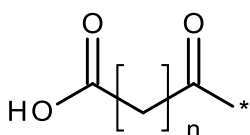
Los sustituyentes de acuerdo con la invención en una modalidad comprenden uno o más elementos enlazadores. Los elementos enlazadores pueden unirse al grupo de ácido graso por uniones amida y denominarse Z₂-Z₁₀. Como se define adicionalmente en la presente descripción más abajo, la cantidad de elementos enlazadores puede ser a lo máximo 10.

En una modalidad específica, el sustituyente es de la Fórmula I:

Z₁-Z₂-Z₃-Z₄-Z₅-Z₆-Z₇-Z₈-Z₉-Z₁₀- [I] en donde

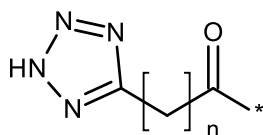
Z₁ se selecciona de:

Quím. 1: HOOC-(CH₂)_n-CO-* o



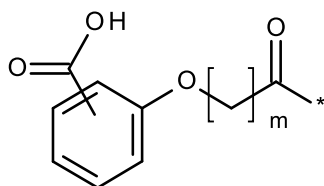
Quím. 1b: ,

Quím. 2: 5-tetrazolil-(CH₂)_n-CO-* o



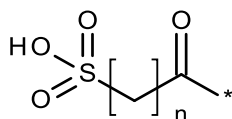
Quím. 2b: ,

Quím. 3: HOOC-(C₆H₄)-O-(CH₂)_m-CO-* o



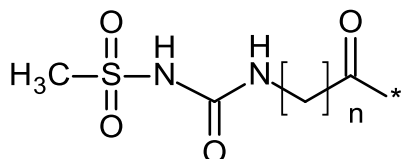
Quím. 3b: , en donde el grupo carboxi está en la posición 2, 3 o 4 de $-(C_6H_4)-$,

Quím. 4: $HOS(O)_2-(CH_2)_n-CO-*$ o



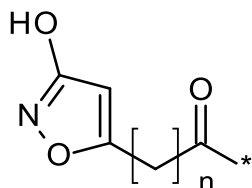
Quím. 4b: ,

Quím. 5: $MeS(O)_2NH_2N(CO)NHN-(CH_2)_n-CO-*$ o



Quím. 5b: y

Quím. 6: 3-HO-Isoxazole- $(CH_2)_n-CO-*$ o



Quím. 6b:

en donde n es un número entero en el intervalo de 8-20 y m es un entero en el intervalo de 8-11.

En una modalidad particular, n es 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 en Quím.

1 o 1b. En una modalidad particular, n es 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 en

Quím. 2 o 2b. En una modalidad particular, n es 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o

20 en Quím. 4 o 4b. En una modalidad particular, m es 8, 9, 10 u 11 en Quím. 3 o 3b.

En una modalidad particular, n es 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 en Quím.

5 o 5b.

En una modalidad particular, n es 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 en Quím.

6 o 6b.

En una modalidad particular, el símbolo * indica el punto de unión al nitrógeno en Z_2 . En otra modalidad, donde Z_2 es un enlace, el símbolo * indica el punto de unión al nitrógeno del elemento vecino Z.

El término “unión” como se usa en el contexto de la Fórmula I significa un enlace covalente. Cuando un componente de la Fórmula I (Z_1-Z_{10}) se define como un enlace, es equivalente a una fórmula I en donde dicho componente está ausente.

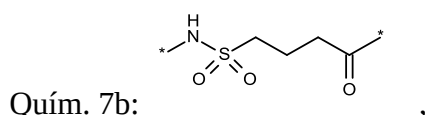
En la presente descripción más abajo se indica que cualquiera de Z_2-Z_{10} es un enlace y también puede leerse como que cualquiera de Z_2-Z_{10} está ausente. Lógicamente “un enlace” no puede seguir a “un enlace”. La indicación “un enlace” aquí significa, por lo tanto, que el

elemento Z anterior se une covalentemente al siguiente elemento Z que no es “un enlace” (o está ausente).

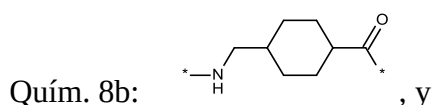
Los elementos enlazadores Z_2 - Z_{10} se seleccionan a partir de los restos químicos que son capaces de formar enlaces amida, que incluyen restos similares a aminoácidos, tales como Glu, γ Glu (denominada además Glu gammal o gGlu y definida por $^*\text{-NH-CH}(\text{COOH})\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CO-}^*$), Gly, Ser, Ala, Thr, Ado, Aeep, Aeep y TtdSuc y restos adicionales definidos a continuación.

Z_2 se selecciona de

Quím. 7: $^*\text{-NH-SO}_2\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-CO-}^*$ o



Quím. 8: $^*\text{-NH-CH}_2\text{-(C}_6\text{H}_{10}\text{)-CO-}^*$ o



un enlace.

Z_3 se selecciona de γ Glu, Glu, o un enlace.

Z_3 se selecciona de γ Glu, Glu, o un enlace cuando Z_2 es Quím. 7 o Quím. 7b.

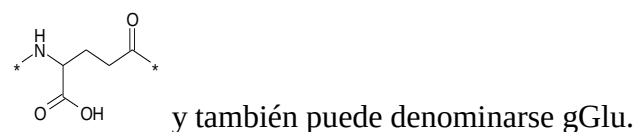
Z_3 se selecciona de γ Glu, Glu, o un enlace, siempre y cuando Z_3 se selecciona de γ Glu, Glu cuando Z_2 es Quím. 8.

Z_3 se selecciona de γ Glu y Glu cuando Z_2 es Quím. 8.

Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 , Z_9 se seleccionan, independientemente entre sí, de Glu, γ Glu, Gly, Ser, Ala, Thr, Ado, Aeep, Aeep, TtdSuc y un enlace.

Glu, Gly, Ser, Ala, Thr son residuos de aminoácidos conocidos en la técnica.

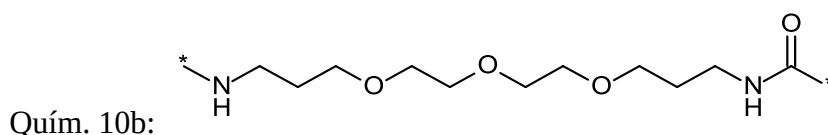
γ Glu es de la fórmula Quím. 9: $^*\text{-NH-CH}(\text{COOH})\text{-(CH}_2\text{)}_2\text{-CO-}^*$ que es el mismo que Quím. 9b:



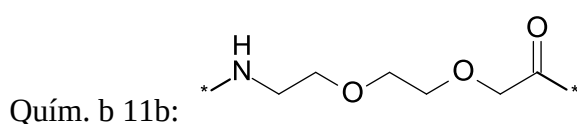
TtdSuc es de fórmula Quím. 10:

$^*\text{-NH-(CH}_2\text{)}_3\text{-O-(CH}_2\text{)}_2\text{-O-(CH}_2\text{)}_2\text{O-(CH}_2\text{)}_3\text{-NHCO}^*$ o

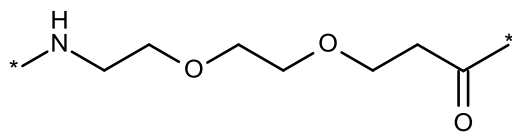
$^*\text{-NH-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCO}^*$ que es el mismo que



Ado es de fórmula Quím. 11: $^*\text{-NH-(CH}_2\text{)}_2\text{-O-(CH}_2\text{)}_2\text{-O-CH}_2\text{-CO-}^*$ también puede denominarse ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico y el cual es el mismo que

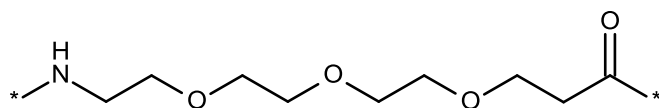


Aeep es de fórmula Quím. 12: $*NH-CH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2CO*$, que también puede denominarse



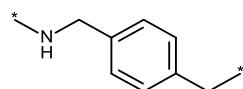
Quím. 12b:

Aeeep es de fórmula Quím. 13: $*NH-CH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2CO*$, que también puede denominarse



Quím. 13b:

Z_{10} se selecciona de un enlace, y Quím. 14: $*-NH-CH_2-(C_6H_4)-CH_2-*$, que también puede denominarse



Quím. 14b:

En una modalidad particular, cuando Z_{10} es Quím. 14, el sustituyente se une al grupo amino N-terminal de dicho péptido.

En otra modalidad, cuando Z_{10} es un enlace, dicho sustituyente se une a la posición épsilon de un residuo de Lys presente en dicho péptido o al residuo de aminoácido N-terminal de dicho péptido.

En una modalidad el derivado comprende dos sustituyentes. En una modalidad tal los dos sustituyentes son idénticos. En una modalidad tal los dos sustituyentes son diferentes. En una modalidad los dos sustituyentes se unen a átomos de nitrógeno del análogo peptídico de EGF(A). En una modalidad los dos sustituyentes están unidos a grupos amino del análogo peptídico de EGF(A). En una modalidad los dos sustituyentes están unidos al aminoácido N-terminal de EGF(A) y a un residuo de Lys del análogo peptídico de EGF(A). En una modalidad, un sustituyente está unido al nitrógeno alfa del residuo aminoacídico N-terminal del análogo peptídico de EGF(A) y un sustituyente está unido a un residuo de Lys del análogo peptídico de EGF(A). En una modalidad los dos sustituyentes están unidos a un aminoácido N-terminal del análogo peptídico de EGF(A). En una modalidad los dos sustituyentes están unidos a residuos de Lys diferentes del análogo peptídico de EGF(A). En una modalidad los dos sustituyentes están unidos a los nitrógenos épsilon de residuos de Lys diferentes del análogo peptídico de EGF(A).

En una modalidad donde están presentes dos sustituyentes, Z_{10} es Quím. 14 en un sustituyente que se une al grupo amino N-terminal de un análogo peptídico y Z_{10} es un enlace en el otro sustituyente que se une a la posición épsilon de un residuo de Lys presente en dicho análogo peptídico.

En otra modalidad donde están presentes dos sustituyentes, Z_{10} es un enlace en un sustituyente que se une al grupo amino N-terminal de un análogo peptídico y Z_{10} es un

enlace en el otro sustituyente que se une a la posición épsilon de un residuo de Lys presente en dicho análogo peptídico.

En otra modalidad donde están presentes dos sustituyentes, Z₁₀ es un enlace en ambos sustituyentes y cada uno de los dos sustituyentes se une a la posición épsilon de residuos de Lys diferentes presentes en un análogo peptídico.

En una modalidad particular, los derivados de la invención pueden prepararse a partir de un análogo peptídico de EGF(A) mediante la unión covalente de uno o dos sustituyente(s).

En una modalidad particular, los dos sustituyentes son de la Fórmula I: Z₁-Z₂-Z₃-Z₄-Z₅-Z₆-Z₇-Z₈-Z₉-Z₁₀- [I]. Z₁ a Z₁₀ son como se definió anteriormente. En una modalidad particular, los dos sustituyentes son de la fórmula I y son idénticos, lo que significa que los Z₁ a Z₁₀ seleccionados son iguales en ambos sustituyentes. En otra modalidad, los dos sustituyentes son de la fórmula I y son diferentes, lo que significa que uno o más de los Z₁ a Z₁₀ seleccionados son diferentes entre un sustituyente y el otro.

Sustituyentes específicos

Como se observa, diversos sustituyentes anteriores pueden prepararse por los expertos en la técnica. Los sustituyentes incluidos en la presente solicitud no deben considerarse limitantes de la invención.

En una modalidad el uno o dos sustituyente(s) se selecciona(n) del grupo de sustituyentes que consiste de:

HOOC-(CH ₂) ₁₈ -CO-gGlu-2xADO
HOOC-(CH ₂) ₁₈ -CO-NH-CH ₂ -(C ₆ H ₁₀)-CO-gGlu-2xADO
HOOC-(CH ₂) ₁₆ -CO-gGlu-2xADO
HOOC-(CH ₂) ₁₆ -CO-gGlu-2xADO-NH-CH ₂ -(C ₆ H ₄)-CH ₂
HOOC-(CH ₂) ₁₆ -CO-gGlu
HOOC-(CH ₂) ₁₆ -CO-NH-CH ₂ -(C ₆ H ₁₀)-CO-gGlu-2xADO
HOOC-(CH ₂) ₁₄ -CO-gGlu-2xADO
HOOC-(CH ₂) ₁₄ -CO-gGlu-
HOOC-(CH ₂) ₁₄ -CO-gGlu-2xADO-
HOOC-(CH ₂) ₁₂ -CO-gGlu-2xADO
4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₁₀ -CO-gGlu-2xADO
4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₁₀ -CO-gGlu-3xADO
4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₁₀ -CO-gGlu
4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₁₀ -CO-2xgGlu
4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₁₀ -CO-gGlu-3xGly
4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₁₀ -CO-2xgGlu-2xADO
4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₁₀ -CO-gGlu-TtdSuc
4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₉ -CO
4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₁₀ -CO-gGlu-4xADO
4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₁₀ -CO-NH-CH ₂ -(C ₆ H ₁₀)-CO-gGlu-2xADO
4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₉ -CO-gGlu-2xADO
3-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH ₂) ₉ -CO-gGlu-2xADO
3-HO-Isoxazol-(CH ₂) ₁₂ -CO-gGlu-2xADO
HOS(O)2-(CH ₂) ₁₅ -CO-gGlu-2xADO-NH-CH ₂ -(C ₆ H ₄)-CH ₂
HOS(O) ₂ -(CH ₂) ₁₃ -CO-gGlu-2xADO
Tetrazolil-(CH ₂) ₁₅ -CO-NH-SO ₂ -(CH ₂) ₃ -CO-ADO-ADO-NH-CH ₂ -(C ₆ H ₄)-CH ₂
Tetrazolil-(CH ₂) ₁₂ -CO-gGlu-2xADO

Tetrazolil-(CH ₂) ₁₅ -CO-gGlu-2xADO y
MeS(O) ₂ NH(CO)NH-(CH ₂) ₁₂ -CO-gGlu-2xADO.

En una modalidad, el sustituyente es de la Fórmula I en donde Z₁ es Quím. 1: HOOC-(CH₂)_n-CO-*, en donde n es 16; Z₂ es un enlace; Z₃ es γGlu; dos de Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈, Z₉ son Ado y los cuatro restantes son enlaces; Z₁₀ es Quím. 14: *-NH-CH₂-(C₆H₄)-CH₂-*.

En una modalidad, el sustituyente es de la Fórmula I en donde Z₁ es Quím. 1: HOOC-(CH₂)_n-CO-*, en donde n es 16; Z₂ es un enlace; Z₃ es γGlu; dos de Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈ y Z₉ son Ado y los cuatro restantes son enlaces; Z₁₀ es un enlace.

En una modalidad, el sustituyente es de la Fórmula I en donde Z₁ es Quím. 1: HOOC-(CH₂)_n-CO-*, en donde n es 14 o 16; Z₂ es un enlace; Z₃ es γGlu; y todos Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈ y Z₉ son enlaces; Z₁₀ es un enlace.

En una modalidad, el sustituyente es de la Fórmula I en donde Z₁ es Quím. 1: HOOC-(CH₂)_n-CO-*, en donde n es 16 o 18; Z₂ es Quím. 8 (Trx); Z₃ es γGlu; dos de Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈ y Z₉ son Ado y los cuatro restantes son enlaces; Z₁₀ es un enlace.

En una modalidad, el sustituyente es de la Fórmula I en donde Z₁ es Quím. 2: Tetrazolil-(CH₂)_n-CO-*, en donde n es 15; Z₂ es Quím. 7 (sulfonimida); Z₃ es un enlace; dos de Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈ y Z₉ son Ado y los cuatro restantes son enlaces; Z₁₀ es Quím. 14: *-NH-CH₂-(C₆H₄)-CH₂-*.

En una modalidad, el sustituyente es de la Fórmula I en donde Z₁ es Quím. 2: Tetrazolil-(CH₂)_n-CO-*, en donde n es 15; Z₂ es un enlace; Z₃ es γGlu; dos de Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈ y Z₉ son Ado y los cuatro restantes son enlaces; Z₁₀ es un enlace.

En una modalidad, el sustituyente es de la Fórmula I en donde Z₁ es Quím. 2: Tetrazolil-(CH₂)_n-CO-*, en donde n es 12; Z₂ es un enlace; Z₃ es γGlu; dos de Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈ y Z₉ son Ado y los cuatro restantes son enlaces; Z₁₀ es un enlace.

En una modalidad, el sustituyente es de la Fórmula I en donde Z₁ es Quím. 3: HOOC-(C₆H₄)-O-(CH₂)_m-CO-*, en donde m es 10; Z₂ es un enlace; Z₃ es un enlace; y todos de Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈ y Z₉ son enlaces; Z₁₀ es un enlace.

En una modalidad, el sustituyente es de la Fórmula I en donde Z₁ es Quím. 3: HOOC-(C₆H₄)-O-(CH₂)_m-CO-*, en donde m es 10; Z₂ es un enlace; Z₃ es una γGlu; y todos de Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈ y Z₉ son enlaces; Z₁₀ es un enlace.

En una modalidad, el sustituyente es de la Fórmula I en donde Z₁ es Quím. 3: HOOC-(C₆H₄)-O-(CH₂)_m-CO-*, en donde m es 10; Z₂ es un enlace; Z₃ es una γGlu; y uno de Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈ y Z₉ es una γGlu y los cinco restantes son enlaces; Z₁₀ es un enlace.

En una modalidad, el sustituyente es de la Fórmula I en donde Z₁ es Quím. 3: HOOC-(C₆H₄)-O-(CH₂)_m-CO-*, en donde m es 10; Z₂ es un enlace; Z₃ es una γGlu; y uno de Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈ y Z₉ es una γGlu y dos son Ado y los tres restantes son enlaces; Z₁₀ es un enlace.

En una modalidad, el sustituyente es de la Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}-^*$, en donde m es 10; Z_2 es un enlace; Z_3 es una γGlu ; y tres de Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 y Z_9 son Glu y los tres restantes son enlaces; Z_{10} es un enlace.

En una modalidad, el sustituyente es de la Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}-^*$, en donde m es 10; Z_2 es un enlace; Z_3 es una γGlu ; y dos de Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 y Z_9 son Ado y los cuatro restantes son enlaces; Z_{10} es un enlace.

En una modalidad, el sustituyente es de la Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}-^*$, en donde m es 10; Z_2 es un enlace; Z_3 es una γGlu ; y tres de Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 y Z_9 son Ado y los tres restantes son enlaces; Z_{10} es un enlace.

En una modalidad, el sustituyente es de la Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}-^*$, en donde m es 10; Z_2 es un enlace; Z_3 es una γGlu ; y cuatro de Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 y Z_9 son Ado y los dos restantes son enlaces; Z_{10} es un enlace.

En una modalidad, el sustituyente es de la Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}-^*$, en donde m es 10; Z_2 es un enlace; Z_3 es una γGlu ; y uno de Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 y Z_9 es un TtdSuc y los cinco restantes son enlaces; Z_{10} es un enlace.

En una modalidad, el sustituyente es de la Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}-^*$, en donde m es 10; Z_2 es Quím. 8 (Trx); ; Z_3 es una γGlu ; y dos de Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 y Z_9 son Ado y los cuatro restantes son enlaces; Z_{10} es un enlace.

En una modalidad, el sustituyente es de la Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}-^*$, en donde m es 9; Z_2 es un enlace; Z_3 es una γGlu ; y uno de Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 y Z_9 es un TtdSuc y los cinco restantes son enlaces; Z_{10} es un enlace.

En una modalidad, el sustituyente es de la Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}-^*$, en donde m es 10; Z_2 es un enlace; Z_3 es γGlu ; dos de Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 y Z_9 son Ado, los cuatro restantes son enlaces; Z_{10} es un enlace.

En una modalidad, el sustituyente es de la Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}-^*$, en donde m es 10; Z_2 es un enlace; Z_3 es γGlu ; dos de Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 y Z_9 son Ado, los cuatro restantes son enlaces; Z_{10} es un enlace.

En una modalidad, el sustituyente es de la Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 4: $\text{HO-S(O)}_2-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-^*$, en donde n es 15; Z_2 es un enlace; Z_3 es γGlu ; dos de Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 y Z_9 son Ado, los cuatro restantes son enlaces; Z_{10} es un enlace.

En una modalidad, el sustituyente es de la Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 4: $\text{HO-S(O)}_2-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-^*$, en donde n es 15; Z_2 es un enlace; Z_3 es γGlu ; dos de Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 y Z_9 son Ado, los cuatro restantes son enlaces; Z_{10} es Quím. 14: $^*-\text{NH}-\text{CH}_2-(\text{C}_6\text{H}_4)-\text{CH}_2-^*$.

En una modalidad, el sustituyente es de la Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 5: $\text{MeS(O)}_2\text{NH(CO)NH}-(\text{CH}_2)_n-\text{CO}-^*$, en donde n es 12; Z_2 es un enlace; Z_3 es γGlu ; dos de Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 y Z_9 son Ado, los cuatro restantes son enlaces; Z_{10} es un enlace.

En una modalidad, el sustituyente es de la Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 6: $3\text{-OH-Isoxazol}-(\text{CH}_2)_{12}-\text{CO}-^*$, en donde n es 12; Z_2 es un enlace; Z_3 es γGlu ; dos de Z_4 , Z_5 , Z_6 , Z_7 , Z_8 y Z_9 son Ado, los cuatro restantes son enlaces; Z_{10} es un enlace.

Combinaciones de sustituyentes específicos:

En una modalidad, el compuesto de la invención comprende o tiene dos sustituyentes de la Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n\text{-CO-}^*$, en donde n es 16; Z_2 es un enlace; Z_3 es γGlu ; dos de $Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9$ son Ado y los cuatro restantes son enlaces; Z_{10} es un enlace.

En una modalidad, el compuesto de la invención comprende o tiene dos sustituyentes de la Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n\text{-CO-}^*$, en donde n es 14; Z_2 es un enlace; Z_3 es γGlu ; dos de $Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9$ son Ado y los cuatro restantes son enlaces; Z_{10} es un enlace.

En una modalidad, el compuesto de la invención comprende o tiene dos sustituyentes de la Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n\text{-CO-}^*$, en donde n es 14; Z_2 es un enlace; Z_3 es γGlu ; los cuatro de $Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9$ son enlaces; Z_{10} es un enlace.

En una modalidad, el compuesto de la invención comprende o tiene dos sustituyentes de la Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)\text{-O}-(\text{CH}_2)_m\text{-CO-}^*$, en donde m es 10; Z_2 es un enlace; Z_3 es γGlu ; dos de Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 y Z_9 son Ado, los cuatro restantes son enlaces; Z_{10} es un enlace.

En una modalidad, el compuesto de la invención comprende o tiene dos sustituyentes, donde uno es de la Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n\text{-CO-}^*$, en donde n es 16; Z_2 es un enlace; Z_3 es γGlu ; dos de $Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9$ son Ado y los cuatro restantes son enlaces; Z_{10} es Quím. 14: $^*\text{-NH-CH}_2\text{-(C}_6\text{H}_4\text{)-CH}_2\text{-}^*$; donde el otro sustituyente es de Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n\text{-CO-}^*$, en donde n es 16; Z_2 es un enlace; Z_3 es γGlu ; dos de $Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9$ son Ado y los cuatro restantes son enlaces; Z_{10} es un enlace.

En una modalidad, el compuesto de la invención comprende o tiene dos sustituyentes, donde uno es de la Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n\text{-CO-}^*$, en donde n es 16; Z_2 es un enlace; Z_3 es γGlu ; dos de $Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9$ son Ado y los cuatro restantes son enlaces; Z_{10} es Quím. 14: $^*\text{-NH-CH}_2\text{-(C}_6\text{H}_4\text{)-CH}_2\text{-}^*$; donde el otro sustituyente es de Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)\text{-O}-(\text{CH}_2)_m\text{-CO-}^*$, en donde m es 10; Z_2 es un enlace; Z_3 es γGlu ; dos de Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 y Z_9 son Ado, los cuatro restantes son enlaces; Z_{10} es un enlace.

En una modalidad, el compuesto de la invención comprende o tiene dos sustituyentes, donde uno es de la Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n\text{-CO-}^*$, en donde n es 16; Z_2 es un enlace; Z_3 es γGlu ; dos de $Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9$ son Ado y los cuatro restantes son enlaces; Z_{10} es un enlace; donde el otro sustituyente es de la Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 3: $\text{HOOC}-(\text{C}_6\text{H}_4)\text{-O}-(\text{CH}_2)_m\text{-CO-}^*$, en donde m es 10; Z_2 es un enlace; Z_3 es γGlu ; dos de Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8 y Z_9 son Ado, los cuatro restantes son enlaces; Z_{10} es un enlace.

En una modalidad, el compuesto de la invención comprende o tiene dos sustituyentes, donde uno es de la Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 1: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n\text{-CO-}^*$, en donde n es 16; Z_2 es un enlace; Z_3 es γGlu ; dos de $Z_4, Z_5, Z_6, Z_7, Z_8, Z_9$ son Ado y los cuatro restantes son enlaces; Z_{10} es un enlace; y el otro sustituyente es de la Fórmula I en donde Z_1 es Quím. 4: $\text{HOS(O)}_2\text{-(CH}_2)_n\text{-CO-}^*$, en donde m es 15; Z_2 es un enlace; Z_3 es γGlu ; dos de $Z_4, Z_5, Z_6,$

Z₇, Z₈ y Z₉ son Ado, los cuatro restantes son enlaces; Z₁₀ es Quím. 14: *-NH-CH₂-(C₆H₄)-CH₂-*.

En una modalidad, el compuesto de la invención comprende o tiene dos sustituyentes, donde uno es de la Fórmula I en donde Z₁ es Quím. 3: HOOC-(C₆H₄)-O-(CH₂)_m-CO-*, en donde m es 10; Z₂ es un enlace; Z₃ es γGlu; dos de Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈ y Z₉ son Ado y los cuatro restantes son enlaces; Z₁₀ es un enlace; donde el otro sustituyente es de la Fórmula I en donde Z₁ es Quím. 4: HOS(O)₂-(CH₂)_n-CO-*, en donde m es 15; Z₂ es un enlace; Z₃ es γGlu; dos de Z₄, Z₅, Z₆, Z₇, Z₈ y Z₉ son Ado, los cuatro restantes son enlaces; Z₁₀ es Quím. 14: *-NH-CH₂-(C₆H₄)-CH₂-*.

Péptido y sitio de unión

Un derivado de EGF(A) o compuesto de acuerdo con la invención comprende un análogo peptídico de EGF(A) del dominio EGF(A) de LDL-R como se define por la SEQ ID NO: 1. Tal secuencia peptídica se describió anteriormente en detalles en la presente descripción y el péptido del derivado o compuesto de la invención puede describirse y definirse mediante términos idénticos. El derivado o compuesto de EGF(A) tiene además al menos un sustituyente como se describió en la presente descripción anteriormente que se une a la secuencia peptídica.

En los compuestos de la invención, el sustituyente se une covalentemente al péptido, lo que significa un residuo de aminoácido de la secuencia peptídica.

En una modalidad el derivado de EGF(A) de la invención, comprende un sustituyente que no se une a ninguna de las siguientes posiciones: 295, 296, 298, 301, 302 y 307. En una modalidad adicional el sustituyente no se une a ninguna de las siguientes posiciones: 295, 296, 298, 301, 302, 307 y 310. En tales modalidades adicionales, este no se une además a ninguna de las siguientes posiciones: 299 y 320.

En una modalidad particular un sustituyente se une a través de cualquier posición de 292 a 333 excepto en cualquiera de las posiciones 297, 304, 308, 317, 319 y 331.

En una modalidad particular un sustituyente se une a través de cualquier posición de 292 a 333 excepto en cualquiera de las posiciones 297, 298, 301, 302, 304, 307, 308, 317, 319 y 331.

En una modalidad particular un sustituyente se une a través de cualquier posición de 292 a 333 excepto en cualquiera de las posiciones 295, 296, 297, 298, 301, 302, 304, 307, 308, 317, 319 y 331. En una modalidad particular un sustituyente unido a través de cualquier posición de 292 a 333 excepto en cualquiera de las posiciones 295, 296, 297, 298, 301, 302, 304, 307, 308, 310, 317, 319, 320 y 331. En una modalidad particular un sustituyente unido a través de cualquier posición de 292 a 333 excepto en cualquiera de las posiciones 295, 296, 297, 298, 301, 302, 304, 307, 308, 309, 310, 317, 319, 320 y 331.

En una modalidad, el(los) sustituyente(s) se une(n) a cualquiera o dos de las posiciones 292, 293, 294, 299, 300, 303, 305, 306, 309, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 318, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 332 y 333 del análogo peptídico de EGF(A).

En una modalidad, la(s) sustitución(ciones) se une(n) a cualquiera o dos de las posiciones 292, 293, 294, 300, 303, 305, 306, 309, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 318, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 332 y 333 del análogo peptídico de EGF(A).

En una modalidad, la(s) sustitución(ciones) se une(n) a cualquiera o dos de las posiciones 292, 293, 294, 300, 303, 305, 306, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 318, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 332 y 333 del análogo peptídico de EGF(A).

En una modalidad, el sustituyente se une al aminoácido N-terminal de la secuencia peptídica. En una modalidad particular, el aminoácido N-terminal es Gly. En una modalidad particular, el aminoácido N-terminal es 293Gly. En una modalidad particular, el aminoácido N-terminal es 293Lys. En una modalidad particular, el aminoácido N-terminal es 292Lys. También puede ser una Lys o una Gly u otro residuo de aminoácido en la posición N-terminal que puede ser 293 o cualquier posición más lejos del extremo N, tal como 294Thr, 294Gly o 294Lys o 295Asn. En una modalidad particular, el sustituyente se une al nitrógeno alfa del residuo de aminoácido N-terminal del análogo peptídico. En otra modalidad, si el residuo de aminoácido N-terminal es Lys, el sustituyente puede enlazarse covalentemente al nitrógeno alfa o al grupo épsilon amino del residuo de lisina.

En una modalidad particular, el sustituyente se une al grupo ϵ -amino de un residuo de Lys presente en el péptido.

En otra modalidad, un sustituyente se une a una Lys en la posición C-terminal que puede ser la posición 332, 333 o cualquier posición hacia el extremo C.

En modalidades en donde los péptidos de la invención comprenden un alargamiento, ya sea en N-terminal o en C-terminal, el(los) sustituyente(s) puede(n) unirse a un residuo de aminoácido de dicho(s) alargamiento(s). En presencia de un alargamiento N-terminal, un sustituyente puede unirse al aminoácido N-terminal de dicho alargamiento o a una Lys presente dentro de la secuencia de alargamiento. En presencia de un alargamiento C-terminal, un sustituyente puede unirse a un residuo Lys en la posición C-terminal o a una Lys presente dentro de la secuencia de alargamiento.

Aún en otra modalidad, el sustituyente se une a un aminoácido presente en la secuencia peptídica. En una modalidad particular, el sustituyente se enlaza a un residuo de lisina presente en el péptido. En una modalidad particular, el sustituyente se enlaza al grupo épsilon amino de un residuo de lisina presente en el péptido. El residuo de lisina al que se enlaza el sustituyente puede localizarse en cualquier posición del análogo de EGF(A) LDL-R(293-332) que incluye la posición N-terminal o la posición C-terminal del péptido, cualquier posición dentro de o en el residuo del extremo N-terminal de un alargamiento N-terminal si está presente, cualquier posición dentro de o en el residuo del extremo C-terminal de un alargamiento C-terminal si está presente.

Como se describió anteriormente en la presente descripción el análogo peptídico de EGF(A) puede tener uno o más residuos de Lys; y esos residuos son útiles para la unión de los sustituyentes.

En una modalidad particular, la(s) lisina(s) a la(s) que se enlaza(n) el(los) sustituyente(s) se selecciona(n) del grupo de: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 299Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys y 333Lys.

En una modalidad particular, la(s) lisina(s) a la(s) que se enlaza(n) el(los) sustituyente(s) se selecciona(n) de 293Lys, 294Lys, 295Lys, 296Lys, 298Lys, 299Lys, 301Lys, 302Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 307Lys, 309Lys, 310Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys y 333Lys.

En una modalidad particular, la(s) lisina(s) a la(s) que se enlaza(n) el(los) sustituyente(s) se selecciona(n) de 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys y 333Lys.

En otra modalidad, la(s) lisina(s) a la(s) que se enlaza(n) el(los) sustituyente(s) se selecciona(n) de 293Lys, 294Lys, 298Lys, 299Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys y 333Lys.

En otra modalidad, la(s) lisina(s) a la(s) que se enlaza(n) el(los) sustituyente(s) se selecciona(n) de: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 299Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 315Lys, 316Lys, 318Lys, 320Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys y 333Lys.

En otra modalidad, la(s) lisina(s) a la(s) que se enlaza(n) el(los) sustituyente(s) se selecciona(n) de: 292Lys, 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 316Lys, 318Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys y 333Lys.

En otra modalidad, la(s) lisina(s) a la(s) que se enlaza(n) el(los) sustituyente(s) se selecciona(n) de: 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 309Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 316Lys, 318Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys y 333Lys.

En otra modalidad, la(s) lisina(s) a la(s) que se enlaza(n) el(los) sustituyente(s) se selecciona(n) de: 293Lys, 294Lys, 300Lys, 303Lys, 305Lys, 306Lys, 311Lys, 313Lys, 314Lys, 316Lys, 318Lys, 321Lys, 322Lys, 323Lys, 324Lys, 325Lys, 326Lys, 327Lys, 328Lys, 329Lys, 330Lys, 332Lys y 333Lys.

En modalidades donde el sustituyente se une a un alargamiento C-terminal, la lisina a la cual se enlaza el sustituyente puede seleccionarse de cualquiera de la posición 333Lys a 242Lys y/o a cualquiera de la posición 333Lys a 383Lys.

En modalidades donde los compuestos de la invención tienen dos sustituyentes, los sustituyentes pueden enlazarse independientemente entre sí como se definió anteriormente, lo que significa que cualquiera puede unirse al aminoácido N-terminal del péptido, al

aminoácido C-terminal del péptido, o a un aminoácido dentro de la secuencia de aminoácidos del péptido.

En modalidades donde una Lys está presente en la posición N-terminal, dos sustituyentes pueden estar ambos enlazados a la Lys N-terminal del péptido. Uno puede enlazarse a la amina alfa N-terminal de dicha Lys mientras que el otro puede enlazarse al nitrógeno épsilon de dicha Lys. Cuando dos sustituyentes están presentes, uno puede enlazarse al aminoácido N-terminal del péptido mientras que el otro sustituyente se enlaza a un aminoácido, tal como una Lys, dentro del péptido. Alternativamente, un sustituyente puede enlazarse a una Lys en la posición C-terminal del péptido mientras que el otro sustituyente se enlaza a un aminoácido, tal como una Lys, en el péptido. Alternativamente, un sustituyente puede enlazarse a un residuo de aminoácido, tal como una Lys, dentro del péptido, que incluye alargamientos, el otro sustituyente se une a otro residuo de aminoácido, tal como una Lys, dentro del péptido, que incluye alargamientos.

En una modalidad, los compuestos de la invención tienen un sustituyente, dicho sustituyente se enlaza al péptido en el N-terminal; o dicho sustituyente se enlaza al péptido en la posición 292Lys; o dicho sustituyente se enlaza al péptido en la posición 293Lys; o dicho sustituyente se enlaza al péptido en la posición 299Lys; o dicho sustituyente se enlaza al péptido en la posición 300Lys; o dicho sustituyente se enlaza al péptido en la posición 309Lys; o dicho sustituyente se enlaza al péptido en la posición 311Lys; o dicho sustituyente se enlaza al péptido en la posición 312Lys; o dicho sustituyente se enlaza al péptido en la posición 313Lys; o dicho sustituyente se enlaza al péptido en la posición 314Lys; o dicho sustituyente se enlaza al péptido en la posición 315Lys; o dicho sustituyente se enlaza al péptido en la posición 316Lys; o dicho sustituyente se enlaza al péptido en la posición 318Lys; o dicho sustituyente se enlaza al péptido en la posición 320Lys; o dicho sustituyente se enlaza al péptido en la posición 321Lys; o dicho sustituyente se enlaza al péptido en la posición 322Lys; o dicho sustituyente se enlaza al péptido en la posición 323Lys; o dicho sustituyente se enlaza al péptido en la posición 324Lys; o dicho sustituyente se enlaza al péptido en la posición 325Lys; o dicho sustituyente se enlaza al péptido en la posición 326Lys; o dicho sustituyente se enlaza al péptido en la posición 328Lys; o dicho sustituyente se enlaza al péptido en la posición 329Lys; o dicho sustituyente se enlaza al péptido en la posición 330Lys; o dicho sustituyente se enlaza al péptido en la posición 332Lys; o dicho sustituyente se enlaza al péptido en la posición 333Lys.

En una modalidad donde el derivado de la invención tiene dos sustituyentes, dichos sustituyentes pueden enlazarse al péptido a través del N-terminal y cualquiera de las posiciones de Lys mencionadas anteriormente, tales como 293Lys, 309Lys, 313Lys, 324Lys, 328Lys, 330Lys, 332Lys y 333Lys.

En modalidades adicionales donde el derivado comprende dos sustituyentes, estos pueden enlazarse a dos residuos de Lys diferentes, tales como cualquiera de los siguientes pares de residuos de Lys

i.	293K y 294K	xiv.	313K y 321K
ii.	293K y 312K	xv.	313K y 324K
iii.	293K y 333K	xvi.	313K y 328K
iv.	309K y 313K	xvii.	313K y 332K
v.	309K y 324K	xviii.	313K y 333K
vi.	309K y 328K	xix.	314K y 333K
vii.	309K y 332K	xx.	321K y 332K
viii.	309K y 333K	xxi.	321K y 333K
ix.	311K y 313K	xxii.	324K y 333K
x.	312K y 333K	xxiii.	324K y 328K
xi.	312K y 313K	xxiv.	328K y 333K
xii.	312K y 314K	xxv.	330K y 333K y
xiii.	313K y 314K	xxvi.	332K y 333K.

En una modalidad los dos sustituyentes se unen a través de 333Lys y una Lys seleccionada de 293Lys, 309Lys, 312Lys, 313Lys, 314Lys, 321Lys, 324Lys, 328Lys, 330Lys y 332Lys.

En una modalidad los dos sustituyentes se unen a través de 333Lys y una Lys seleccionada de 312Lys, 313Lys, 314Lys, 321Lys, 324Lys, 328Lys y 330Lys.

En una modalidad los dos sustituyentes se unen a través de 333Lys y una Lys seleccionada de 313Lys, 324Lys y 328Lys.

Como se describió anteriormente el péptido puede tener una o más sustituciones de aminoácidos que pueden combinarse con residuos de aminoácidos específicos en posiciones específicas como se describió en la presente descripción. Tales residuos de aminoácidos específicos pueden ser residuos de aminoácidos de tipo silvestre que deben mantenerse, tales como las cisteína que pueden en una serie de modalidades preferidas, por ejemplo, en combinación con otras características descritas en la presente descripción, estar presentes en el análogo peptídico. En tales modalidades el análogo peptídico comprende tres puentes disulfuro en las posiciones 297Cys-308Cys, 304Cys-317Cys y 319Cys-331Cys. En un ejemplo adicional de tales modalidades el análogo peptídico de un derivado peptídico comprende tres puentes disulfuro en las posiciones 297Cys-308Cys, 304Cys-317Cys y 319Cys-331Cys y al menos un sustituyente, en donde el(los) sustituyente(s) no se une(n) a una posición seleccionada de 295, 296, 298, 301, 302 y 307 de dicho análogo peptídico. El experto comprenderá que las combinaciones de la información de secuencia peptídica pueden combinarse con la información sobre la posición e identidad del sustituyente para definir diversas modalidades específicas de la presente invención.

En una modalidad, el análogo peptídico no comprende Lys en otras posiciones que las posiciones a las que se enlaza un sustituyente.

En una modalidad, los compuestos de la invención tienen un sustituyente, dicho sustituyente se enlaza ya sea en la posición N-terminal o a una Lys en cualquier posición, y el análogo peptídico no comprende Lys en todas las otras posiciones. En una modalidad, los compuestos de la invención tienen un sustituyente, dicho sustituyente se une a una Lys en

cualquier posición distinta de la posición 312, y el análogo peptídico comprende una Arg en la posición 312Arg.

En una modalidad, los compuestos de la invención tienen dos sustituyentes, y el análogo peptídico no comprende Lys en posiciones distintas de las posiciones a las que se enlazan los sustituyentes.

En una modalidad el derivado de EGF(A) de acuerdo con la invención se selecciona del grupo de derivado de EGF(A) que consiste de: Los ejemplos 1-47, 51-102 y 106-159 descritos en el documento WO2017/121850.

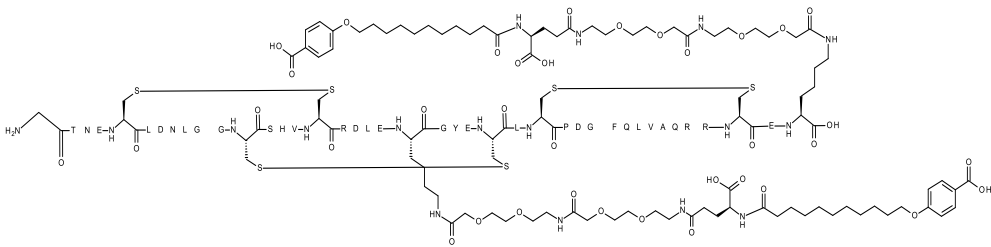
En modalidades adicionales el derivado de EGF(A) de acuerdo con la invención se selecciona individualmente del grupo de derivado de EGF(A) que consiste de: Los Ejemplos 1-47, 51-102 y 106-159 descritos en el documento WO2017/121850.

En una modalidad el derivado de EGF(A) de acuerdo con la invención se selecciona del grupo de derivado de EGF(A) que consiste de: Los ejemplos 1-44, 46-47, 51-55, 57, 60-64, 66-69, 71-102 y 106-159 descritos en el documento WO2017/121850.

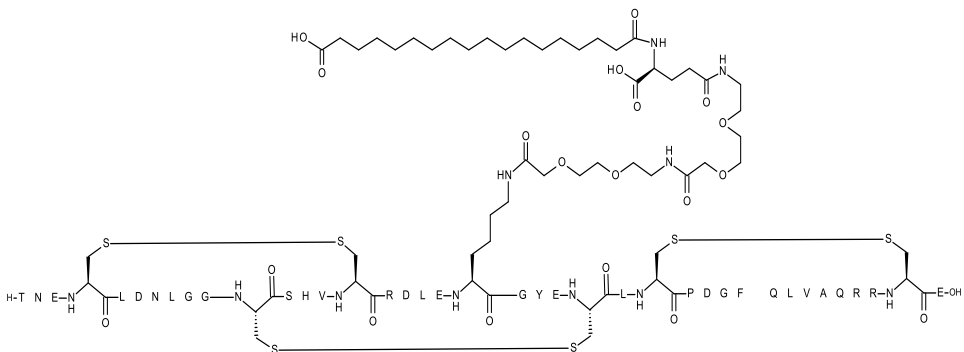
En una modalidad el derivado de EGF(A) de acuerdo con la invención se selecciona del grupo de derivado de EGF(A) que consiste de: Los ejemplos 31, 95, 128, 133, 143, 144, 150, 151, 152 y 153 descritos en el documento WO2017/121850 con la estructura mostrada más abajo.

Estructura

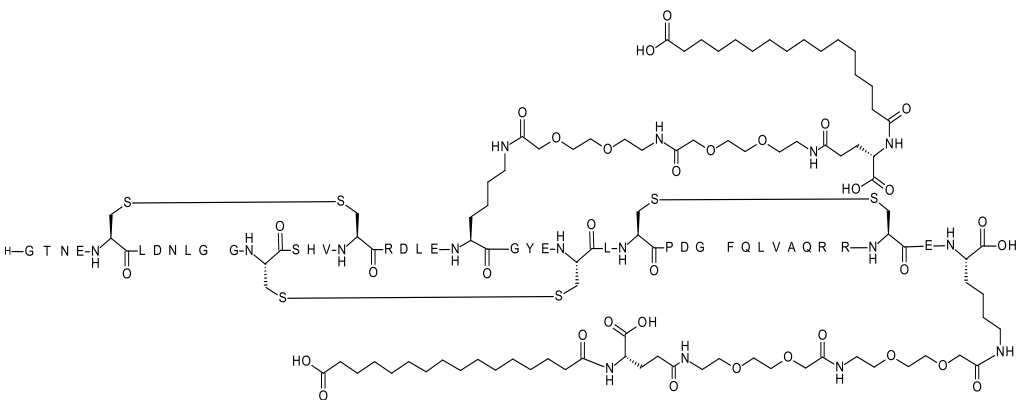
31



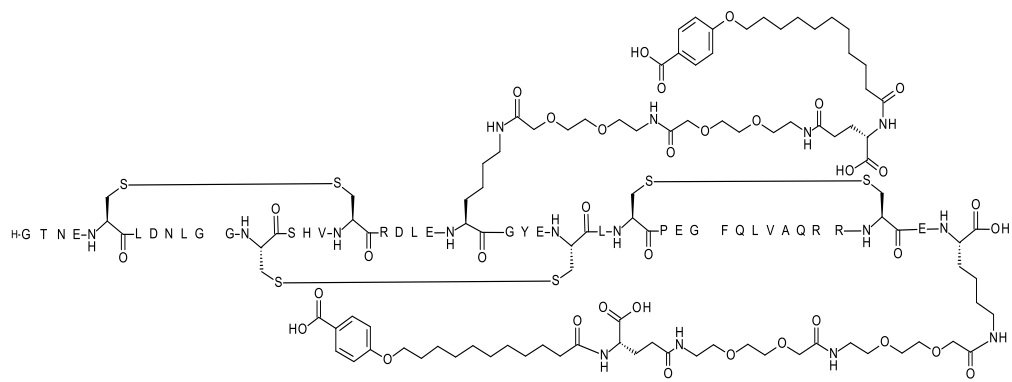
95



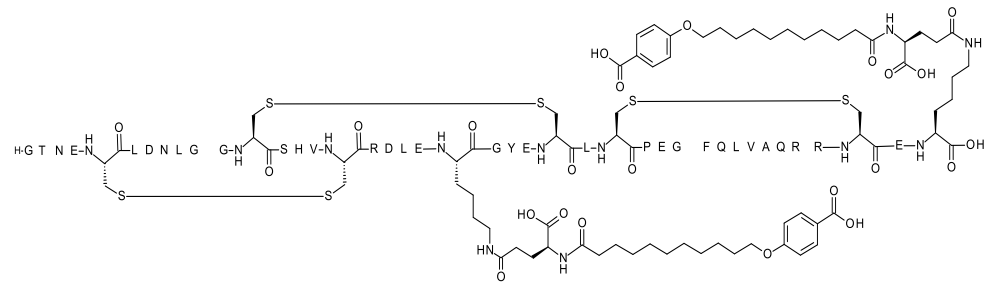
128



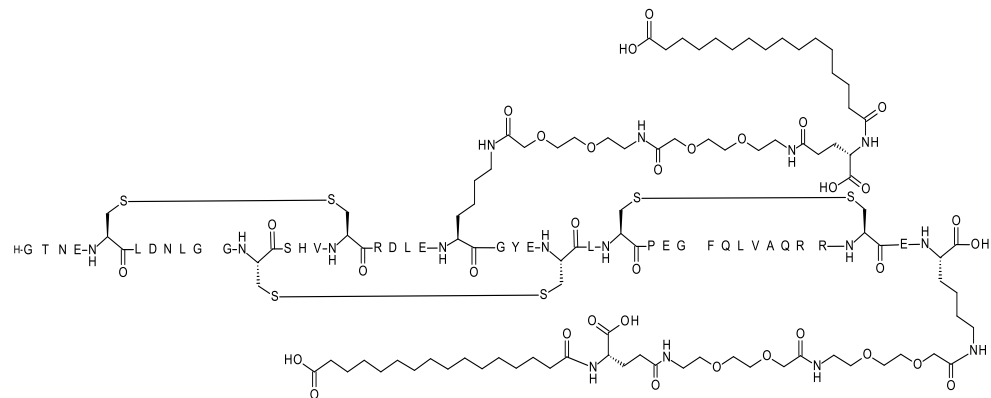
Estructura
133



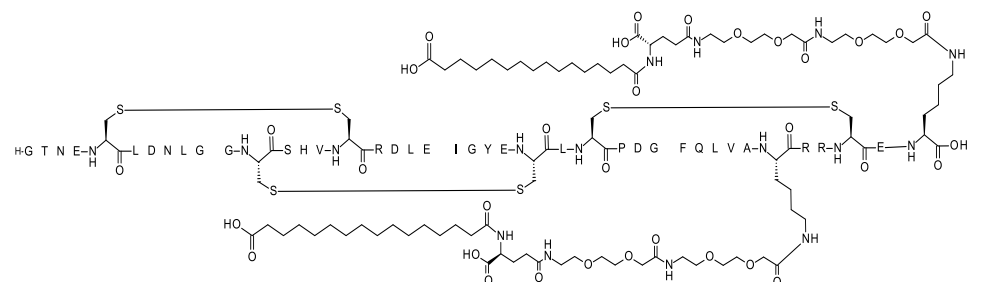
143



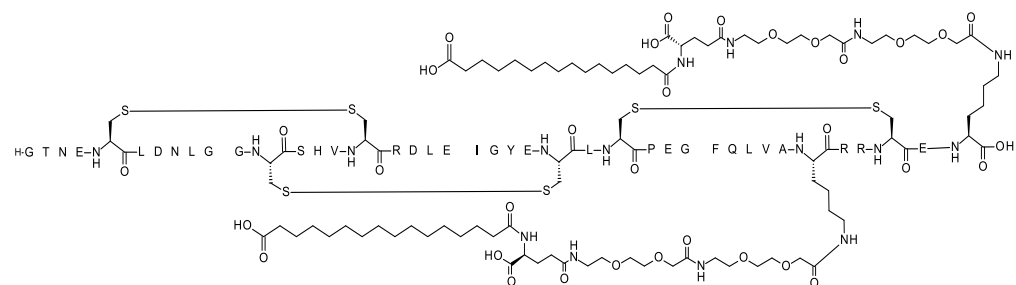
144



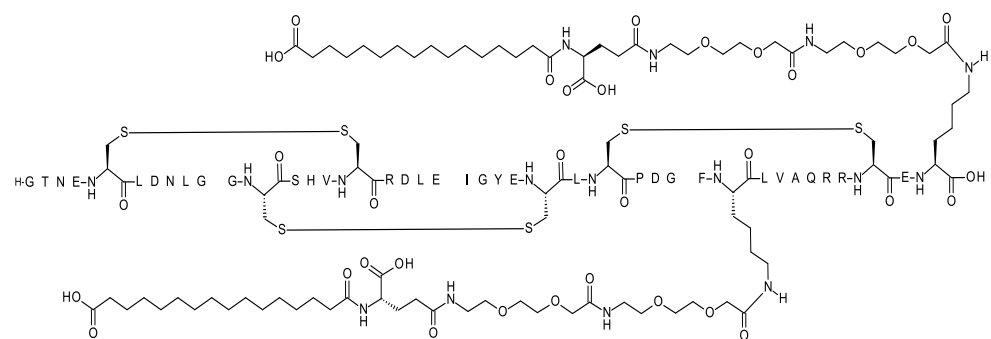
150



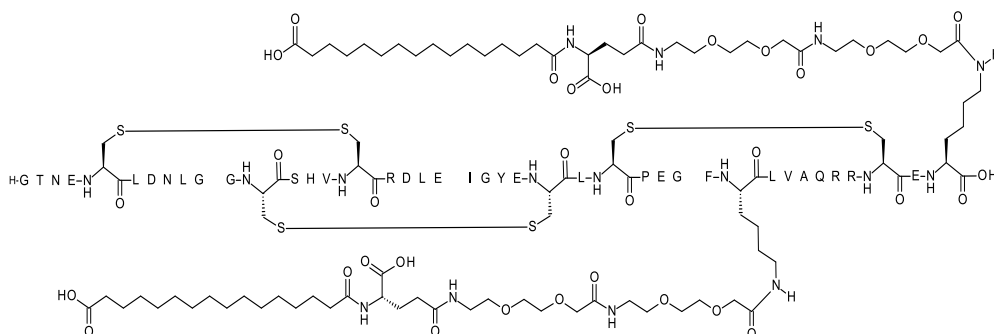
151



152



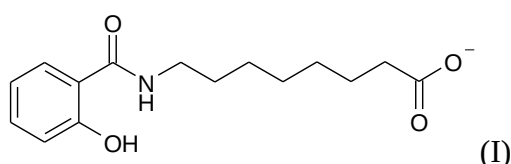
Estructura
153



Agente de suministro

Sal del ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico

El agente de suministro usado en la presente invención es una sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico (NAC). La fórmula estructural de N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprilato se muestra en la Fórmula (I).



En algunas modalidades la sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico comprende un catión monovalente, dos cationes monovalentes o un catión divalente. En algunas modalidades la sal del ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico se selecciona del grupo que consiste en sal de sodio, sal de potasio y/o sal de calcio del ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico. En una modalidad, la sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico se selecciona del grupo que consiste en la sal de sodio, la sal de potasio y/o la sal de amonio. En una modalidad la sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico es la sal de sodio o la sal de potasio. En una modalidad la sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico se selecciona del grupo que consiste en la sal de sodio y la sal de amonio. Las sales de N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprilato pueden prepararse mediante el uso del método descrito en, por ejemplo, los documentos WO96/030036, WO00/046182, WO01/092206 o WO2008/028859.

La sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico puede ser cristalina y/o amorfa. En algunas modalidades el agente de suministro comprende el anhidrato, monohidrato, dihidrato, trihidrato, un solvato o un tercio de un hidrato de la sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico, así como también sus combinaciones. En algunas modalidades el agente de suministro es una sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico como se describió en el documento WO2007/121318.

En algunas modalidades el agente de suministro es el N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprilato de sodio (denominado “SNAC” en la presente descripción), conocido también como el 8-(saliciloilamino)octanoato de sodio.

Composición

La composición o la composición farmacéutica de la presente invención es una composición sólida o seca adecuada para la administración por la vía oral como se describió en más detalle en la presente descripción, más abajo.

En algunas modalidades la composición comprende al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. El término "excipiente" como se usa en la presente se refiere de manera amplia a cualquier componente distinto del(de los) ingrediente(s) terapéutico(s) activo(s) o del(de los) ingrediente(s) farmacéutico(s) activo(s) (API). Un excipiente puede ser una sustancia farmacéuticamente inerte, una sustancia inactiva y/o una sustancia terapéutica o medicinalmente no activa.

Los excipientes pueden servir para diversos propósitos, por ejemplo, como portador, vehículo, relleno, aglutinante, lubricante, deslizante, desintegrante, agente de control de flujo, inhibidores de la cristalización, solubilizante, estabilizante, agente colorante, agente aromatizante, surfactante, emulsionante, agente de suministro, hidrótrofo o combinaciones de los mismos y/o para mejorar la administración, y/o la absorción de la(s) sustancia(s) terapéuticamente activa(s) o ingrediente(s) farmacéutico(s) activo(s). Como se describe en la presente descripción la sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico es un excipiente que actúa como agente de suministro. La cantidad de cada excipiente usado puede variar dentro de los intervalos convencionales en la técnica. Las técnicas y excipientes que pueden usarse para formular formas de dosificación orales se describen en Handbook of Pharmaceutical Excipients, 8va edición, Sheskey y otros, Eds., American Pharmaceuticals Association and the Pharmaceutical Press, publicaciones del departamento de la Royal Pharmaceutical Society de Gran Bretaña (2017); y Remington: the Science and Practice of Pharmacy, 22a edición, Remington y Allen, Eds., Pharmaceutical Press (2013).

En algunas modalidades los excipientes pueden seleccionarse de aglutinantes, tal como la polivinilpirrolidona (povidona), etc.; rellenos tales como polvo de celulosa, celulosa microcristalina, derivados de celulosa como hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa, fosfato de calcio dibásico, almidón de maíz, almidón pregelatinizado, etc.; lubricantes y/o deslizantes tales como ácido esteárico, estearato de magnesio, estearil fumarato de sodio, tribehenato de glicerol, etc.; agentes para controlar el flujo tales como sílice coloidal, talco, etc.; inhibidores de la cristalización tal como povidona, etc.; solubilizantes tales como plurónico, povidona, etc.; agentes colorantes, que incluyen los tintes y los pigmentos tales como óxido de hierro rojo o amarillo, dióxido de titanio, talco, etc.; agentes para controlar el pH tales como ácido cítrico, ácido tartárico, ácido fumárico, citrato de sodio, fosfato de calcio dibásico, fosfato de sodio dibásico, etc.; surfactantes y emulsionantes tales como plurónico, polietilenglicoles, carboximetilcelulosa de sodio, aceite de castor polietoxilado e hidrogenado, etc.; y mezclas de dos o más de estos excipiente y/o adyuvantes.

La composición puede comprender un aglutinante, tal como povidona; almidones; celulosas y derivados de las mismas, tales como celulosa microcristalina, por ejemplo, Avicel PH de FMC (Filadelfia, PA), hidroxipropil celulosa hidroxietil celulosa e hidroxilpropilmetil celulosa METHOCEL de Dow Chemical Corp. (Midland, MI); sacarosa; dextrosa; jarabe de maíz; polisacáridos; y gelatina. El aglutinante puede seleccionarse del grupo que consiste en aglutinantes secos y/o aglutinantes para la granulación en húmedo. Los

aglutinantes secos adecuados son, por ejemplo, polvo de celulosa y celulosa microcristalina, tales como Avicel PH 102 y Avicel PH 200. En algunas modalidades, la composición comprende Avicel, tal como Avicel PH 102. Los aglutinantes adecuados para la granulación en húmedo o la granulación en seco son almidón de maíz, polivinilpirrolidona (povidona), copolímero de vinilpirrolidona-vinilacetato (copovidona) y derivados de celulosa como la hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa e hidroxilpropilmetilcelulosa. En algunas modalidades, la composición comprende povidona.

En algunas modalidades la composición comprende un relleno, que puede seleccionarse de lactosa, manitol, eritritol, sacarosa, sorbitol, fosfato de calcio, tal como el hidrogenofosfato de calcio, celulosa microcristalina, celulosa en polvo, azúcar de repostería, azúcar comprimible, dextratos, dextrina y dextrosa. En algunas modalidades, la composición comprende celulosa microcristalina, tal como Avicel PH 102 o Avicel PH 200.

En algunas modalidades la composición comprende un lubricante y/o un deslizante. En algunas modalidades la composición comprende un lubricante y/o un deslizante, tal como talco, estearato de magnesio, estearato de calcio, estearato de zinc, behenato de glicerilo, dibehenato de glicerilo, behenoil polioxil-8 glicéridos, polímeros de óxido de polietileno, lauril sulfato de sodio, lauril sulfato de magnesio, oleato de sodio, estearil fumarato de sodio, ácido esteárico, aceites vegetales hidrogenados, dióxido de silicona y/o polietilenglicol etc. En algunas modalidades la composición comprende estearato de magnesio o dibehenato de glicerilo (tal como el producto Compritol® 888 ATO el cual consiste de mono, di y triésteres de ácido behénico (C22) donde la fracción de diéster es predominante).

En algunas modalidades la composición comprende un desintegrante, tal como glicolato de almidón de sodio, polacrilina de potasio, glicolato de almidón de sodio, crospovidona, croscarmelosa, carboximetilcelulosa de sodio o maicena seca.

La composición puede comprender uno o más surfactantes, por ejemplo, un surfactante, al menos un surfactante, o dos surfactantes diferentes. El término "surfactante" se refiere a cualesquiera moléculas o iones que se comprenden de una parte soluble en agua (hidrófila) y una parte soluble en grasa (lipófila). El surfactante puede, por ejemplo, seleccionarse a partir del grupo que consiste en surfactantes aniónicos, surfactantes catiónicos, surfactantes no iónicos y/o surfactantes zwitteriónicos.

Hidrótropo

Un aspecto de la invención se refiere a una composición que comprende un inhibidor de PCSK9, un potenciador de la absorción o agente de suministro y un hidrótropo. La composición de la presente invención comprende, además, uno o más hidrótropos. Los hidrótropos, como un surfactante, incluyen tanto una parte hidrófila como una hidrófoba y pueden formar micelas y autoagregarse, sin embargo, solubilizan solutos sin solubilización micelar. Los inventores han descubierto que la absorción del inhibidor de PCSK9 y, por lo tanto, la exposición al plasma puede aumentarse al incluir un hidrótropo en las

composiciones. Sin estar limitado por la teoría, se contempla que el hidrótrofo aumenta la solubilidad del agente de suministro, tal como una sal de NAC, como se ejemplifica mediante la SNAC en la presente descripción. Como se muestra en el Ensayo VI en la presente descripción, los hidrótrofos pueden aumentar la solubilidad de SNAC en agua.

En una modalidad, el hidrótrofo es capaz de aumentar la solubilidad de SNAC. En una modalidad, el hidrótrofo es capaz de aumentar la solubilidad de una sal de NAC, tal como SNAC, al menos 2 veces a una concentración de 200 mg/ml a pH 6 a temperatura ambiente. En modalidades adicionales, el hidrótrofo aumenta la solubilidad de una sal de NAC, tal como SNAC, al menos 3-, 4- o 5 veces cuando se mide como se describió en el Ensayo VI, en la presente descripción. En una modalidad adicional, el hidrótrofo aumenta la solubilidad de SNAC al menos 5 veces, tal como 8 veces o tal como 10 veces cuando se mide como se describió en el Ensayo VI.

En una modalidad, el hidrótrofo o hidrótrofos se seleccionan del grupo que consiste en: Nipecotamida, nicotinamida, ácido p-hidroxibenzoico de sodio, N,N dimetilurea, N,N dimetilbenzamida, N,N dietil nicotinamida, salicilato de sodio, resorcinol, benzoato de sodio, xilenosulfonato de sodio, p-toluenosulfonato de sodio, 1-metilnicotinamida, pirogalol, pirocatecol, galato de epigallocatequina, ácido tánico y sal de sodio hidratada del ácido gálico.

En una modalidad, el hidrótrofo o hidrótrofos se seleccionan del grupo que consiste en: Nicotinamida, ácido p-hidroxibenzoico de sodio, N,N dimetilurea, N,N dimetil benzamida, N,N dietil nicotinamida, salicilato de sodio, resorcinol, benzoato de sodio, xilenosulfonato de sodio, p-toluenosulfonato de sodio, 1-metilnicotinamida, pirogalol, pirocatecol, galato de epigallocatequina, ácido tánico y sal de sodio hidratada del ácido gálico.

En una modalidad, el hidrótrofo o hidrótrofos se seleccionan del grupo que consiste en: Nicotinamida, N,N dimetil benzamida, N,N dietil nicotinamida, resorcinol, benzoato de sodio, xilenosulfonato de sodio, p-toluenosulfonato de sodio, 1-metilnicotinamida, pirogalol, pirocatecol y sal de sodio hidratada del ácido gálico.

En una modalidad, el hidrótrofo o hidrótrofos se seleccionan del grupo que consiste en: : resorcinol, pirocatecol, N,N dimetil benzamida, pirogalol, nicotinamida, ácido tánico, galato de epigallocatequina, N,N dietil nicotinamida, sal de sodio hidratada del ácido gálico, N,N dimetilurea, 1-metilnicotinamida, xilenosulfonato de sodio, p-toluenosulfonato de sodio, nipecotamida, ácido p-hidroxibenzoico de sodio y benzoato de sodio.

En una modalidad, el hidrótrofo o hidrótrofos se seleccionan del grupo que consiste en: : resorcinol, pirocatecol, N,N dimetil benzamida, pirogalol, nicotinamida, ácido tánico, galato de epigallocatequina, N,N dietil nicotinamida, sal de sodio hidratada del ácido gálico, N,N dimetilurea, 1-metilnicotinamida, xilenosulfonato de sodio y p-toluenosulfonato de sodio.

En una modalidad, el hidrótrofo o hidrótrofos se seleccionan del grupo que consiste en: : resorcinol, pirocatecol, N,N dimetil benzamida, pirogallol, nicotinamida, ácido tánico, galato de epigallocatequina y N,N dietil nicotinamida.

En una modalidad, el hidrótrofo o hidrótrofos se seleccionan del grupo que consiste en: Resorcinol, pirocatecol, N,N dimetil benzamida, pirogallol y nicotinamida.

En una modalidad, el peso molecular del hidrótrofo es a lo máximo 400 g/mol o tal como a lo máximo 250 g/mol.

En una modalidad, el peso molecular del hidrótrofo es al menos 80 g/mol o tal como al menos 100 g/mol

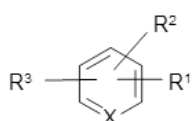
En una modalidad, el hidrótrofo comprende una estructura de anillo aromático.

En una modalidad, el hidrótrofo tiene una estructura molecular similar a la de la nicotinamida y el resorcinol, ya que ambos comprenden una estructura de anillo aromático.

En la presente descripción se incluye también, una sal fisiológicamente aceptable del mismo, tales como sal de sodio, potasio, cloruro o sulfato.

En una modalidad, el uno o más hidrótrofos tienen la estructura del Quím. I

Quím. I:



, en donde

X es CH o N,

R¹, R² y R³ se seleccionan independientemente de: -H, -OH, -CO₂H, -CON(R⁴)₂, -SO₃H y -CH₃, en donde R⁴ es -H, -CH₃ o -CH₂-CH₃

o una sal fisiológicamente aceptable de los mismos.

En una modalidad, donde la estructura es el Quím. I,

X es CH o N,

R¹ se selecciona de -OH, -SO₃H y CON(R⁴)₂, en donde R⁴ es -H, -CH₃ o -CH₂-CH₃,

R² se selecciona de: -OH y -H y

R³ se selecciona de: -H, -OH y -CH₃ o una sal fisiológicamente aceptable de los mismos.

En una modalidad, el hidrótrofo tiene la estructura del Quím. I, en donde

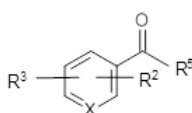
X es CH,

R¹ se selecciona de: -OH y -SO₃H,

R² y R³ se seleccionan independientemente de: -H, -OH y -CH₃ o una sal fisiológicamente aceptable de los mismos.

En una modalidad el uno o más hidrótrofos tienen la estructura del Quím. II

Quím. II :



, en donde

X es CH o N

R² y R³ se seleccionan independientemente de: -H, -OH y -CH₃

R^5 se selecciona de: $-\text{OH}$ y $\text{N}(\text{R}^4)_2$, en donde R^4 es $-\text{H}$, $-\text{CH}_3$ o $-\text{CH}_2\text{-CH}_3$ o una sal fisiológicamente aceptable de los mismos.

En una modalidad adicional, el uno o más hidrótopos tienen la estructura del Quím. II, en donde,

X es CH

R^5 es $-\text{OH}$ y

R^2 y R^3 se seleccionan independientemente de: $-\text{OH}$ y $-\text{H}$ o una sal fisiológicamente aceptable de los mismos.

En una modalidad adicional, el uno o más hidrótopos tienen la estructura del Quím. II como se definió anteriormente, con la condición de que el hidrótopo no sea benzoato de sodio.

En una modalidad adicional, el uno o más hidrótopos tienen la estructura del Quím. II, en donde

X es N,

R^5 se selecciona de: $-\text{OH}$ y $\text{N}(\text{R}^4)_2$, en donde R^4 es $-\text{H}$, $-\text{CH}_3$ o $-\text{CH}_2\text{-CH}_3$

R^2 y R^3 se seleccionan independientemente de: $-\text{H}$, $-\text{OH}$ y $-\text{CH}_3$ o una sal fisiológicamente aceptable de los mismos.

En una modalidad adicional, el uno o más hidrótopos tienen la estructura del Quím. II, en donde

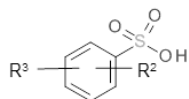
X es N,

R^5 es NH_2 , y

R^2 y R^3 se seleccionan independientemente de: $-\text{H}$, $-\text{OH}$ y $-\text{CH}_3$ o una sal fisiológicamente aceptable de los mismos.

En una modalidad, el uno o más hidrótopos tienen la estructura del Quím. III

Quím. III:

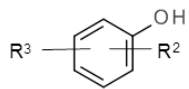


, en donde

R^2 y R^3 se seleccionan independientemente de $-\text{H}$ y $-\text{CH}_3$.

En una modalidad, el uno o más hidrótopos tienen la estructura del Quím. IV

Quím. IV:



, en donde

R^2 y R^3 se seleccionan independientemente de: $-\text{H}$ y $-\text{OH}$.

En una modalidad, el hidrótopo o hidrótopos se selecciona(n) del grupo que consiste en: Resorcinol, pirocatecol, pirogalol, ácido gentísico, xilenosulfonato, p-toluenosulfonato, nicotinamida, dimetilbenzamida, dietilbenzamida, 1-metilnicotinamida, ácido salicílico y ácido P-hidroxibenzoico y Benzoato.

En una modalidad, el hidrótrofo o hidrótrofos se selecciona(n) del grupo que consiste en: Resorcinol, pirocatecol, pirogalol, ácido gentísico, xilenosulfonato, p-toluenosulfonato, nicotinamida, dimetilbenzamida, dietilbenzamida, 1-metilnicotinamida, ácido salicílico y ácido P-hidroxibenzoico.

En una modalidad, el hidrótrofo o hidrótrofos se selecciona(n) del grupo que consiste en: Resorcinol, pirocatecol y pirogalol,

En una modalidad, el hidrótrofo o hidrótrofos se selecciona(n) del grupo que consiste en: Xilenosulfonato y p-toluenosulfonato

En una modalidad, el hidrótrofo o hidrótrofos se selecciona(n) del grupo que consiste en: Nicotinamida, dimetilbenzamida, dietilbenzamida y 1-metilnicotinamida,

En una modalidad, el hidrótrofo o hidrótrofos se selecciona(n) del grupo que consiste en: Ácido gentísico, ácido salicílico y ácido P-hidroxibenzoico y Benzoato.

En una modalidad, el hidrótrofo o hidrótrofos se selecciona(n) del grupo que consiste en: Ácido gentísico, ácido salicílico y ácido P-hidroxibenzoico.

En una modalidad, el hidrótrofo o hidrótrofos son nicotinamida y/o resorcinol. En una modalidad, el hidrótrofo es nicotinamida.

En una modalidad, el hidrótrofo no es benzoato de sodio.

Como se muestra en los ejemplos de la presente descripción, la composición de la invención comprende un inhibidor de PCSK9, un agente de suministro y un hidrótrofo.

La descripción, aquí más abajo, también se refiere a las composiciones que consisten de ingredientes específicos, el inhibidor de PCSK9, el agente de suministro y el hidrótrofo y opcionalmente un lubricante, el término consiste debe entenderse que abarca, sin embargo, cantidades traza de cualquier sustancia sin efecto en la función de la composición. Tales sustancias pueden ser impurezas que permanecen en la preparación del inhibidor de PCSK9, de la producción de la sal de NAC, de la preparación del hidrótrofo o de cantidades mínimas de cualquier excipiente farmacéutico aceptable que no afecten la calidad o la absorción de la formulación.

En una modalidad, la composición farmacéutica comprende una cantidad equilibrada del hidrótrofo con relación a la cantidad del agente de suministro. El efecto del hidrótrofo se observa en un intervalo de concentraciones..

En una modalidad, la relación de sal de NAC/hidrótrofo (p/p) es al menos 0,5, tal como al menos 0,75 o tal como al menos 1.

En una modalidad, la relación de sal de NAC/hidrótrofo (p/p) es 0,5-10,0 o tal como 0,5-8 o tal como 0,5-5.

En una modalidad, la relación de sal de NAC/hidrótrofo (p/p) es 0,5-10,0 o tal como 0,75-10,0, 0,5-8,0 o 1-2,0.

En una modalidad, la relación de SNAC/Nicotinamida (p/p) es al menos 0,5, tal como al menos 0,75, tal como al menos 1.

En una modalidad, la relación de sal de SNAC/Nicotinamida (p/p) es 0,5-10,0 o tal como 0,5-8 o tal como 0,5-5.

En una modalidad, la relación de sal de SNAC/Nicotinamida (p/p) es 0,5-10,0 o tal como 0,75-10,0, 0,5-8,0 o 1-2,0.

En una modalidad, la relación de SNAC/Resorcinol (p/p) es al menos 0,5, tal como al menos 0,75, tal como al menos 1. En una modalidad, la relación de sal de SNAC/Resorcinol (p/p) es 0,5-10,0 o tal como 0,75-10,0, 0,5-8,0 o tal como 1-2,0.

En una modalidad, la relación de hidrótrofo/sal de NAC (p/p) es al menos 0,1, tal como al menos 0,2 o tal como al menos 0,3. En una modalidad, la relación de hidrótrofo/sal de NAC (p/p) es 0,1-5,0 o tal como 0,1-4,0, 0,2-3,0 o 0,25-2,0.

En una modalidad, la relación de Nicotinamida/SNAC/ (p/p) es al menos 0,1-5,0 o tal como 0,1-4,0, 0,2-3,0 o 0,25-2,0. En una modalidad, la relación de Nicotinamida/SNAC (p/p) es 0,1-5,0 o tal como 0,1-4,0, 0,2-3,0 o 0,25-2,0.

En una modalidad, la relación de Resorcinol/SNAC/ (p/p) es al menos 0,1-5,0 o tal como 0,1-4,0, 0,2-3,0 o 0,25-2,0. En una modalidad, la relación de Resorcinol/SNAC (p/p) es 0,1-5,0 o tal como 0,1-4,0, 0,2-3,0 o 0,25-2,0.

En una modalidad, la cantidad de lubricante puede considerarse con relación a la cantidad total de los otros excipientes, aquí el hidrótrofo y el agente de suministro, y no incluye el ingrediente farmacéutico activo, el inhibidor de PCSK9. Usualmente se incluyen cantidades relativamente pequeñas del lubricante, tal como menos del 5 % del peso total de los otros excipientes.

En una modalidad, la composición comprende menos del 5 % p/p de lubricante de la cantidad total de agente de suministro e hidrótrofo. En una modalidad, la composición comprende 0,15- 5 %, tal como 0,25-4 % p/p de lubricante de la cantidad total de agente de suministro e hidrótrofo. En modalidades adicionales, la composición comprende 0,15- 5 %, tal como 0,25-4 % p/p de lubricante de la cantidad de sal de NAC, tal como SNAC, y nicotinamida o resorcinol.

La composición farmacéutica de acuerdo con la invención se produce preferentemente en una forma de dosificación adecuada para la administración oral como se describió en la presente descripción, más abajo. En lo siguiente las cantidades absolutas de los ingredientes de la composición de la invención se proporcionan con referencia al contenido en una unidad de dosificación es decir, por tableta, cápsula o sobre.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden comprender en una modalidad adicional a lo máximo 1000 mg de dicha sal del ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico (NAC) por unidad de dosis. En una modalidad la invención se refiere a una composición en donde una unidad de dosis comprende a lo máximo 600 mg de dicha sal.

En algunas modalidades la cantidad de la sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico por unidad de dosis es al menos 0,05 mmol, tal como al menos 0,075 mmol, tal como al menos 0,1 mmol, tal como al menos 0,125 mmol, tal como al menos 0,15 mmol, tal como se selecciona del grupo que consiste en al menos 0,20 mmol,

al menos 0,25 mmol, al menos 0,30 mmol, al menos 0,35 mmol, al menos 0,40 mmol, al menos 0,45 mmol, al menos 0,50 mmol, al menos 0,55 mmol y al menos 0,60 mmol.

En algunas modalidades la cantidad de la sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico por unidad de dosificación de la composición es hasta 3 mmol, tal como hasta 2,75 mmol, tal como hasta 2,5 mmol, tal como hasta 2,25 mmol, tal como 2 mmol, tal como hasta 1,5 mmol, hasta 1 mmol, hasta 0,75 mmol, hasta 0,6 mmol, hasta 0,5 mmol, hasta 0,4 mmol, hasta 0,3 mmol y hasta 0,2 mmol.

En algunas modalidades la cantidad de la sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico por unidad de dosis de la composición está en el intervalo de 0,05-3 mmol, 0,10- 2,5 mmol, 0,15- 2,0 mmol, 0,20 – 1,5 mmol, 0,25-1,0 mmol, 0,30-0,75 mmol o tal como 0,45-0,65 mmol.

En algunas modalidades la cantidad de SNAC en la composición es al menos 20 mg, tal como al menos 25 mg, tal como al menos 50 mg, tal como al menos 75 mg, al menos 100 mg, al menos 125 mg, al menos 150 mg, al menos 175 mg, al menos 200 mg, al menos 225 mg, al menos 250 mg, al menos 275 mg y al menos 300 mg por unidad de dosis.

En algunas modalidades la cantidad de SNAC en la composición es hasta 1000 mg, tal como hasta 800 mg, tal como hasta 600 mg, tal como hasta 575 mg, tal como hasta 550 mg, hasta 525 mg, hasta 500 mg, hasta 475 mg, hasta 450 mg, hasta 425 mg, hasta 400 mg, hasta 375 mg, hasta 350 mg, hasta 325 mg por unidad de dosis o hasta 300 mg por unidad de dosis.

En algunas modalidades la cantidad de SNAC en la composición está en el intervalo de 20-800 mg, tal como 25-600 mg, tal como 50-500 mg, tal como 50-400 mg, tal como 75-400 mg, tal como de 80-350 mg o tal como de alrededor de 100 a alrededor de 300 mg por unidad de dosis.

En una modalidad, donde la sal de NAC es SNAC, la cantidad de SNAC está en el intervalo de 20-200 mg, tal como 25-175 mg, tal como 75-150 mg, tal como 80-120 mg tal como alrededor de 100 mg por unidad de dosis.

En una modalidad, donde la sal de NAC es SNAC, la cantidad de SNAC está en el intervalo de 200-800 mg, tal como 250-400 mg, tal como 250-350 mg, tal como 275-325 mg, tal como alrededor de 300 mg por unidad de dosis.

En una modalidad, una unidad de dosis de las composiciones farmacéuticas de la invención comprende 0,1-150 mg, 0,1-100 mg o 0,2 a 100 mg del inhibidor de PCSK9.

En algunas modalidades, una unidad de dosis de la composición comprende una cantidad del inhibidor de PCSK9 que está en el intervalo de 0,5-150 mg, 0,5-120 mg, 0,5-100 mg, 1-80 mg, 1-70 mg, 1-60, 1-50 mg o 1- 40 mg.

En algunas modalidades, una unidad de dosis de la composición comprende una cantidad de inhibidor de PCSK9 que está en el intervalo de 0,1 – 50 mg, 0,2 a 50 mg, 0,5 a 50 mg o 1 a 40 mg.

En algunas modalidades, una unidad de dosis de la composición comprende una cantidad de inhibidor de PCSK9 que está en el intervalo de 0,1 – 50 mg, 0,1 – 40 mg, 0,1 – 30 mg o 0,1 – 20 mg.

En algunas modalidades, una unidad de dosis comprende 1-50 mg del inhibidor de PCSK9, tal como 0,75- 40 mg, tal como 10, 15, 20, 25 o 30 mg o 35, 40, 45 mg, tal como 10-30 o 30-50 mg del inhibidor de PCSK9 por unidad de dosis.

En algunas modalidades adicionales, una unidad de dosis comprende 20 a 150 mg del inhibidor de PCSK9, tal como 20-120 mg, tal como 20-100 mg, tal como 20-80 mg, tal como 20, 30, 40, 50, 60, 70 u 80 mg, tal como 20, 30, 40 o 50 mg, o tal como 80, 85, 90, 95 o 100 mg, o tal como 50 mg o tal como 75 mg del inhibidor de PCSK9 por unidad de dosis.

En algunas modalidades una unidad de dosis comprende 5 a 50 mg del inhibidor de PCSK9, tal como 10-45 mg, tal como 20, 30 o 40 mg, o tal como 25, 35, o 45 mg, o tal como 30-50 mg o tal como 20-40 mg del inhibidor de PCSK9 por unidad de dosis.

En algunas modalidades, una unidad de dosis comprende 2 a 20 mg del inhibidor de PCSK9, tal como 2-15 mg, tal como 2, 3, 4 o 5 mg, o tal como 8, 10, 12 o 14 mg, tal como 15 mg o tal como 20 mg del inhibidor de PCSK9 por unidad de dosis.

En algunas modalidades, una unidad de dosis comprende 0,5-5 mg del inhibidor de PCSK9, tal como 0,75- 4 ½ mg, tal como 1, 1 ½, 2, 2 ½ o 3 mg o 3 ½, 4, 4 ½ mg, tal como 1-3 o 3-5 mg del inhibidor de PCSK9 por unidad de dosis.

La cantidad de inhibidor de PCSK9 puede variar en dependencia de la identidad del inhibidor de PCSK9 y el efecto deseado.

En una modalidad preferida una dosis unitaria de la composición comprende 0,5-50 mg de estearato de magnesio, tal como 0,10-25 mg, tal como 0,25-10 mg, tal como 0,5-8 mg o tal como 0,5-5 mg de estearato de magnesio.

Como se describió anteriormente, la cantidad del hidrótopo debe equilibrarse con la cantidad de agentes de suministro, tales como SNAC, pero en general una unidad de dosis de las composiciones de la invención comprende 10-600 mg del hidrótopo.

En una modalidad, una unidad de dosis comprende 20-400 mg, tal como 40-300, tal como 50-200 mg, tal como 50-175 mg del hidrótopo.

En una modalidad, una unidad de dosis comprende 100-600 mg, tal como 100-500, tal como 150-400 mg, tal como 150-300 mg del hidrótopo.

En tales modalidades adicionales, una dosis unitaria de la composición de acuerdo con la invención comprende 50-600 mg de nicotinamida y/o resorcinol.

En una modalidad, una unidad de dosis comprende 50-400 mg, tal como 50-300, tal como 50-200 mg, tal como 50-175 mg de nicotinamida y/o resorcinol.

En tales modalidades adicionales, una dosis unitaria de la composición de acuerdo con la invención comprende 50-600 mg de nicotinamida. En una modalidad, una unidad de dosis comprende 50-400 mg, tal como 50-300, tal como 50-200 mg, tal como 50-175 mg de nicotinamida.

En una modalidad preferida la cantidad de estearato de magnesio se determina con relación a la cantidad de la sal de NAC, tal como SNAC, de manera que una dosis unitaria de la composición comprende 0,25-10 mg, tal como 0,25-8 mg, tal como 0,5-5 mg o tal como 1-3 mg de estearato de magnesio por 100 mg de sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico, tal como SNAC.

En una modalidad preferida una dosis unitaria de la composición comprende 20-1000 mg de SNAC, 0,5-100 mg de inhibidor de PCSK9, 10-600 mg de hidrótopo y 0,10-50 mg de lubricante.

En una modalidad preferida una dosis unitaria de la composición comprende 20-800 mg de SNAC, 1,0-80 mg de inhibidor de PCSK9, 10-500 mg de hidrótopo y 0,10-40 mg de lubricante.

En una modalidad preferida una dosis unitaria de la composición comprende 40-800 mg de SNAC, 2-50 mg de inhibidor de PCSK9, 20-400 mg de hidrótopo y 0,10-40 mg de lubricante.

En una modalidad preferida una dosis unitaria de la composición comprende 20-600 mg de SNAC, 5-50 mg de inhibidor de PCSK9, 10-600 mg de nicotinamida y 0,10-30 mg de lubricante.

En una modalidad preferida una dosis unitaria de la composición comprende 20-500 mg de SNAC, 5-50 mg de inhibidor de PCSK9, 10-500 mg de nicotinamida y 0,10-25 mg de lubricante.

En una modalidad preferida una dosis unitaria de la composición comprende 40-500 mg de SNAC, 5-50 mg de inhibidor de PCSK9, 20-400 mg de nicotinamida y 0,10-25 mg de lubricante.

En una modalidad, una dosis unitaria de la composición de acuerdo con la invención comprende:

- i) 0,1-100 mg de inhibidor de PCSK9
- ii) 20-800 mg de sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico (NAC), tal como la sal de sodio de NAC (SNAC) y
- iii) 20-600 mg de hidrótopo, tal como 50-200 mg, de nicotinamida o resorcinol y
- iv) 0-20 mg de lubricante.

En una modalidad, una dosis unitaria de la composición de acuerdo con la invención comprende:

- i) 0,1-100 o 0,1-75 mg de inhibidor de PCSK9
- ii) 50-600 mg de sal del ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico (NAC), tal como la sal de sodio de NAC (SNAC) y
- iii) 50-500 mg, tal como 50-400 mg, de nicotinamida o resorcinol y
- iv) 0-20 mg de lubricante.

La cantidad de inhibidor de PCSK9 puede variar en dependencia de la identidad del inhibidor de PCSK9 y el efecto deseado.

En una modalidad preferida, una dosis unitaria de la composición comprende 200-400 mg de SNAC, 0,5-75 mg de inhibidor de PCSK9, 50-400 mg de hidrótrofo y 0,25-3 mg de lubricante.

En una modalidad preferida una dosis unitaria de la composición comprende 200-400 mg de SNAC, 1½ -50 mg de inhibidor de PCSK9, 50-400 mg de hidrótrofo y 0,5-5 mg de lubricante.

En una modalidad preferida, una dosis unitaria de la composición comprende 200-400 mg de SNAC, 5-25 mg de inhibidor de PCSK9, 50-400 mg de hidrótrofo y 1-5 mg de lubricante.

En una modalidad, una dosis unitaria de la composición de acuerdo con la invención comprende:

- i) 0,1-75 mg del inhibidor de PCSK9
- ii) 25-400 mg de sal del ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico (NAC), tal como la sal de sodio de NAC (SNAC) y
- iii) 20-300 mg de nicotinamida o resorcinol y
- iv) 0-15 mg de lubricante.

En una modalidad preferida, una dosis unitaria de la composición comprende 200-400 mg de SNAC, 0,5-75 mg de inhibidor de PCSK9, 50-400 mg de nicotinamida y 0,25-8 mg de lubricante.

En una modalidad preferida, una dosis unitaria de la composición comprende 200-400 mg de SNAC, 1-50 mg de inhibidor de PCSK9, 50-400 mg de nicotinamida y 0,5-8 mg de lubricante.

En una modalidad preferida, una dosis unitaria de la composición comprende 200-400 mg de SNAC, 5-25 mg de inhibidor de PCSK9, 50-400 de nicotinamida y 1-8 mg de lubricante.

La cantidad de inhibidor de PCSK9 puede variar en dependencia de la identidad del inhibidor de PCSK9 y el efecto deseado.

En una modalidad preferida, una dosis unitaria de la composición comprende 80-120 mg de SNAC, 0,5-50 mg de inhibidor de PCSK9, 20-200 mg de hidrótrofo y 0,25-5 mg de lubricante.

En una modalidad preferida, una dosis unitaria de la composición comprende 80-120 mg de SNAC, 1 ½ -40 mg de inhibidor de PCSK9, 20-200 mg de hidrótrofo y 0,5-5 mg de lubricante.

En una modalidad preferida, una dosis unitaria de la composición comprende 80-120 mg de SNAC, 5-25 mg de inhibidor de PCSK9, 20-200 mg de hidrótrofo y 0,5-5 mg de lubricante.

En una modalidad preferida una dosis unitaria de la composición comprende 80-120 mg de SNAC, 0,5-50 mg de inhibidor de PCSK9, 20-200 mg de nicotinamida y 0,25-5 mg de lubricante.

En una modalidad preferida, una dosis unitaria de la composición comprende 80-120 mg de SNAC, 1 ½ -40 mg de inhibidor de PCSK9, 20-200 mg de nicotinamida y 0,5-5 mg de lubricante.

En una modalidad preferida, una dosis unitaria de la composición comprende 80-120 mg de SNAC, 5-25 mg de inhibidor de PCSK9, 20-200 de nicotinamida y 0,5-5 mg de lubricante.

En una modalidad la composición farmacéutica de la invención tiene una desintegración o disolución rápida *in vitro*. La desintegración o disolución puede probarse como se conoce en la técnica tal como mediante el uso del Ensayo II o el Ensayo III descrito en la presente descripción.

La disolución o liberación puede expresarse como la cantidad del inhibidor de PCSK9 medida en solución después de un período determinado con relación al contenido total del inhibidor de PCSK9 de la composición. La cantidad relativa puede darse en porcentaje.

En una modalidad la liberación del inhibidor de PCSK9 de la composición farmacéutica de la invención es al menos 85 % dentro de 15 minutos o al menos 95 % dentro de 30 minutos.

En una de tales modalidades la liberación se mide a pH 6,8.

En una modalidad la composición farmacéutica comprende

- i) un inhibidor de PCSK9,
- ii) una sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico y
- iii) un hidrótopo

en donde la liberación del inhibidor de PCSK9 alcanza el 85 % dentro de 15 minutos o el 95 % dentro de 30 minutos. En una modalidad la liberación se mide a pH 6,8.

Los experimentos han demostrado que una composición de acuerdo con la invención presenta una disolución rápida y una exposición al plasma similar a lo que se observó anteriormente para Semaglutida y otros agonistas del receptor de GLP-1 (PCT/EP2019/061502). La exposición al plasma mejorada de un inhibidor de PCSK9 mediante el uso de una composición de acuerdo con la invención en comparación con una composición de inhibidor de SNAC/PCSK9 de acuerdo con los documentos WO 2012/080471 y WO 2013/139694 se observa en los ejemplos, en la presente descripción.

Forma de dosificación

La composición puede administrarse en varias formas de dosificación, por ejemplo como un tableta; un tableta recubierta; un sobre o una cápsula tal como una cápsula de gelatina dura o suave y todas de tales composiciones se consideran formas de dosificación oral sólidas.

La composición puede componerse además en un portador de fármacos o sistema de suministro de fármacos, por ejemplo, para mejorar la estabilidad y/o la solubilidad o mejorar además la biodisponibilidad. La composición puede ser una composición liofilizada o secada por pulverización.

La composición puede estar en la forma de una unidad de dosis, tal como un tableta. En algunas modalidades el peso de la dosis unitaria está en el intervalo de 50 mg a 1000 mg, tal como en el intervalo de 50-750 mg, o tal como en el intervalo de 100-600 mg.

En algunas modalidades el peso de la unidad de dosis está en el intervalo de 75 mg a 400 mg. En algunas modalidades el peso de la dosis unitaria está en el intervalo de 100-400 mg, tal como en el intervalo de 100-300 mg o tal como en el intervalo de 150-350 mg.

En algunas modalidades el peso de la unidad de dosis está en el intervalo de 300 mg a 800 mg, tal como en el intervalo de 400-700 mg o tal como en el intervalo de 500-600 mg.

En algunas modalidades la composición puede granularse antes de compactarse y es decir de comprimirse en tabletas. La composición puede comprender una parte granular y/o una parte extragranular, en donde la parte granular se granula, y la parte extragranular se adiciona después de la granulación.

La parte granular puede comprender el agente de suministro y/o el hidrótrofo y/o un inhibidor de PCSK9. En una modalidad, la parte granular puede comprender un excipiente adicional, tal como un lubricante y/o deslizante.

En una modalidad la parte intragranular comprende el agente de suministro y un lubricante y/o un deslizante.

En una modalidad, el hidrótrofo se incluye en la parte granular, en la parte extragranular o en ambas.

En algunas modalidades, la parte granular incluye el agente de suministro y el hidrótrofo.

En algunas modalidades la parte extragranular comprende el inhibidor de PCSK9, y/o un lubricante y/o un deslizante, tal como estearato de magnesio. En algunas modalidades la parte extragranular comprende el inhibidor de PCSK9.

En algunas modalidades la parte extragranular comprende un excipiente, tal como un lubricante y/o deslizante, tal como estearato de magnesio.

En una modalidad adicional, la parte granular comprende el agente de suministro y el hidrótrofo, mientras que la parte extragranular comprende el inhibidor de PCSK9 y el lubricante y/o un deslizante.

Preparación de la composición

La preparación de una composición de acuerdo con la invención puede realizarse de acuerdo con métodos conocidos en la técnica.

Para preparar una mezcla seca de material para tabletas, los diversos componentes opcionalmente se desaglomeran o tamizan, se pesan, y después se combinan. La mezcla de los componentes puede llevarse a cabo hasta que se obtenga una mezcla homogénea.

Los términos “granulado” y “gránulos” se usan indistintamente en la presente descripción para referirse a las partículas del material de la composición que pueden prepararse como se describió anteriormente. El término se refiere ampliamente a los ingredientes farmacéuticos en la forma de partículas, gránulos y agregados que se usan en la preparación de formulaciones de dosis sólidas. Generalmente, los gránulos se obtienen mediante el procesamiento de un polvo o una mezcla para obtener un sólido que subsecuentemente se disgregan para obtener gránulos del tamaño deseado.

Si los gránulos se usarán en el material para tabletas, los gránulos pueden producirse de manera conocida por un experto en la técnica, por ejemplo mediante el uso de métodos de

granulación en húmedo conocidos para la producción de gránulos "compactos" o gránulos "disgregados". Los métodos para la formación de gránulos compactos pueden operar continuamente y comprender, por ejemplo simultáneamente la pulverización de la masa de granulación con solución de granulación y secar, por ejemplo en un granulador de tambor, en granuladores de bandeja, sobre granuladores de disco, en un lecho fluidizado, por secado por pulverización, granulación por pulverización o solidificación por pulverización, u operar discontinuamente, por ejemplo en un lecho fluidizado, en un lecho fluido rotativo, en un mezclador de lotes, tal como un mezclador de alto cizallamiento o un mezclador de bajo cizallamiento, o en un tambor de secado por pulverización. Los métodos para la producción de gránulos disgregados, que pueden llevarse a cabo de manera discontinua y en los que la masa de granulación forma primero un agregado húmedo con la solución de granulación, que subsecuentemente se tritura o por otros medios se forma en gránulos del tamaño deseado y después los gránulos pueden secarse. Los equipos adecuados para la etapa de granulación húmeda son, pero no se limitan a, mezcladores planetarios, mezcladores de bajo cizallamiento, mezcladores de alto cizallamiento, extrusores y esferonizadores, tales como un aparato de las compañías Loedige, Glatt, Diosna, Fielder, Collette, Aeschbach, Alexanderwerk, Ytron, Wyss & Probst, Werner & Pfleiderer, HKD, Loser, Fuji, Nica, Caleva y Gabler. Los gránulos también pueden formarse mediante técnicas de granulación en seco en las que uno o más de los excipientes y/o el ingrediente farmacéutico activo se comprimen para formar moldes relativamente grandes, por ejemplo, bolitas o cintas, que se trituran mediante molienda, y el material molido sirve como material para tabletas para compactarse posteriormente. El equipo adecuado para la granulación en seco es, pero no se limita a, el equipo de compactación con rodillo de Gerteis tal como Gerteis MICRO-PACTOR, MINI-PACTOR y MACRO-PACTOR.

Para compactar el material para tabletas en una forma de dosificación oral sólida, por ejemplo, un tableta, puede usarse una prensa tableteadora. En una prensa de tabletas, el material para tabletas se rellena (por ejemplo, se alimenta a presión o se alimenta por gravedad) en una cavidad de troquel. El material para tabletas se compacta después mediante un conjunto de punzones que aplican presión. Subsecuentemente, el compacto resultante o tableta se expulsa de la prensa de tabletas. El proceso de formación de tabletas mencionado anteriormente se denomina subsecuentemente en la presente descripción el "proceso de compactación". Las prensas de tabletas adecuadas incluyen, pero no se limitan a, prensas de tabletas rotativas y prensas de tabletas excéntricas. Los ejemplos de prensas de tabletas incluyen, pero no se limitan a, Fette 102i (Fette Gmbh), la Korsch XL100, la prensa de tabletas giratoria Korsch PH 106 (Korsch AG, Alemania), la prensa de tabletas excéntrica Korsch EK-O (Korsch AG, Alemania) y la Manesty F-Press (Manesty Machines Ltd., Reino Unido).

En una modalidad la invención se refiere a una composición que comprende

- i) un inhibidor de PCSK9,
- ii) una sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico (NAC) y

iii) un hidrótrofo

en donde la composición comprende un granulado de ii) y iii).

En general, los granulados pueden prepararse mediante granulación en húmedo, fundida o en seco. Los gránulos que comprenden i, ii y/o iii pueden obtenerse, por lo tanto, mediante granulación en seco de una mezcla de los mismos, tal como mediante compactación de rodillos. En una modalidad alternativa puede usarse la granulación en húmedo para obtener los gránulos. En una modalidad alternativa puede usarse extrusión por fusión en caliente para obtener los gránulos. Tal material puede usarse directamente o refinarse más para obtener los gránulos finales.

En una modalidad la composición comprende al menos un granulado. En una modalidad la composición comprende un tipo de granulado. La composición puede comprender alternativamente dos tipos de granulados.

En las modalidades donde la parte granular comprende tanto el agente de suministro como el hidrótrofo, estos excipientes pueden ser coprocesados antes o en la preparación de los gránulos.

La granulación puede obtenerse mediante diversos métodos como se describió anteriormente, en donde ii) y iii) se mezclan inicialmente como polvos o mediante la preparación de una solución que comprende ambos ingredientes. En una modalidad alternativa, los gránulos de ii) y iii) se obtienen mediante la alimentación de ambos ingredientes por separado en la corriente del proceso, tal como en un extrusor.

Los gránulos de ii) y iii) pueden obtenerse después por granulación en seco de la mezcla, tal como por compactación con rodillo. En una modalidad alternativa los ingredientes ii) y iii) puede ser un extrudido por fusión en caliente para obtener un producto extrudido que opcionalmente, se muele subsecuentemente para obtener los gránulos. Este material puede usarse después directamente o en un proceso de granulación en seco/compactación con rodillo para obtener los gránulos finales.

En una modalidad, se prepara una solución de ii) y iii) y se somete a granulación por pulverización de manera que se obtienen directamente gránulos. En una modalidad alternativa, la solución de ii) y la solución de iii) se preparan por separado y se someten a granulación por pulverización. Alternativamente, la solución puede usarse en un proceso de granulación por pulverización en lecho fluido. En una modalidad, puede usarse el secado por pulverización seguido de granulación en seco/compactación con rodillo para obtener los gránulos.

En algunas modalidades la invención se refiere a un método de preparación de una composición de acuerdo con la invención. En una modalidad, el método para preparar una tableta comprende;

a) granulación del agente de suministro y el hidrótrofo

b) mezcla de los granulados de a) con un inhibidor de PCSK9, y

c) compresión de la mezcla en tabletas.

La granulación puede ser húmeda, caliente o seca. Como se describió anteriormente, un lubricante tal como estearato de magnesio o behenato de glicerilo puede incluirse en las etapas a), b) y/o c).

En una modalidad, la invención se refiere a un método para producir una composición farmacéutica sólida que comprende las etapas de;

- a) obtener una sal de NAC y un hidrótrofo,
- b) coprocesar dicha sal de NAC e hidrótrofo de a) y
- c) preparar dicha composición farmacéutica sólida mediante el uso del producto de b).

En una modalidad, la invención se refiere a un método para producir una composición farmacéutica sólida que comprende las etapas de;

- a) obtener una sal de NAC y un hidrótrofo,
- b) coprocesar dicha sal de NAC e hidrótrofo de a) y
- c) preparar dicha composición farmacéutica sólida mediante el uso del producto de b).

En una modalidad, el método es para producir una composición farmacéutica sólida que comprende las etapas de;

- a) obtener una sal de NAC y un hidrótrofo,
- b) extrudir por fusión en caliente dicha sal de NAC e hidrótrofo de a) y
- c) preparar dicha composición farmacéutica sólida, tal como tabletas, mediante el uso del producto extrudido de b).

El método puede, como se describió en la presente descripción, incluir etapas adicionales, tales como una etapa de mezclar el producto extrudido de b) con un ingrediente farmacéutico activo y opcionalmente cualquier excipiente adicional y preparar dicha composición farmacéutica sólida mediante el uso de la mezcla.

Indicaciones Farmacéuticas

En un aspecto la invención se refiere al uso de un inhibidor de PCSK9, tal como un análogo peptídico de EGF(A) o un derivado de EGF(A) para su uso en la fabricación de una composición farmacéutica como se describió en la presente descripción.

En un aspecto la invención se refiere a una composición que comprende un inhibidor de PCSK9, tal como un análogo peptídico de EGF(A) o un derivado de EGF(A), para usar como un medicamento y/o en un método de tratamiento.

En una modalidad, la composición es para su uso en un método de tratamiento, tal como por ejemplo para (i) mejorar los parámetros lipídicos, tales como la prevención y/o el tratamiento de la dislipidemia, la disminución de los lípidos séricos totales; la disminución del LDL-C, el aumento del HDL; la disminución del LDL pequeño y denso; la disminución del VLDL; la disminución de los triglicéridos; la disminución del colesterol; la disminución de los niveles plasmáticos de la lipoproteína a (Lp(a)); la inhibición de la generación de la apolipoproteína A (apo(A)); (ii) la prevención y/o el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, tales como el síndrome cardíaco X, la aterosclerosis, el infarto de miocardio, la cardiopatía coronaria, la lesión por reperfusión, el ictus, la isquemia cerebral, una enfermedad cardíaca o cardiovascular temprana, la hipertrofia ventricular izquierda, la

enfermedad arterial coronaria, la hipertensión, la hipertensión esencial, la emergencia hipertensiva aguda, la cardiomiopatía, la insuficiencia cardíaca, la intolerancia al ejercicio, la insuficiencia cardíaca aguda y/o crónica, la arritmia, la disritmia cardíaca, el síncope, la angina de pecho, el puente vascular cardíaco y/o la reoclusión de la endoprótesis, la claudicación intermitente (aterosclerosis obliterante), la disfunción diastólica y/o la disfunción sistólica; y/o la reducción de la presión arterial, tal como la reducción de la presión arterial sistólica; el tratamiento de enfermedades cardiovasculares. La dislipidemia puede ser tal como una alta concentración plasmática de colesterol también llamada hipercolesterolemia que hace referencia a una situación donde las concentraciones de colesterol en plasma están más arriba del intervalo normal de un colesterol total $\geq 5,0$ mmol/l. En una modalidad, el compuesto o composición de la invención puede usarse para el tratamiento de la hipercolesterolemia.

Método de tratamiento

La invención se refiere además a un método para tratar a un sujeto que lo necesite, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición de acuerdo con la presente invención a dicho sujeto. En una modalidad, el método de tratamiento es para (i) mejorar los parámetros lipídicos y/o (ii) prevenir y/o tratar enfermedades cardiovasculares y/o las indicaciones adicionales especificadas anteriormente.

En algunas modalidades, se describe un método que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de PCSK9, una sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico (NAC), un hidrótopo y opcionalmente, un lubricante.

En algunas modalidades, se describe un método para tratar la diabetes que comprende administrar a un sujeto que lo necesite, una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición farmacéutica que comprende

- i) 0,1-100 mg de un inhibidor de PCSK9,
- ii) 25-600 mg de sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico (NAC)
- iii) 20-600 mg, tal como 50-200 mg, nicotinamida o resorcinol y
- iv) 0,25-15 mg del lubricante como se describió anteriormente en la presente descripción.

Se describen varios ejemplos de un lubricante, que incluyen estearato de magnesio. La composición se administra por vía oral y está en una forma de una tableta, cápsula o un sobre.

En tales modalidades adicionales una o más unidades de dosis pueden administrarse a dicho sujeto que lo necesita.

Tratamiento de combinación

El tratamiento con un inhibidor de PCSK9 de acuerdo con la presente invención puede combinarse con el tratamiento con una o más sustancias farmacológicamente activas adicionales, por ejemplo, seleccionadas de agentes antidiabéticos, agentes antiobesidad, agentes reguladores del apetito, agentes antihipertensivos, agentes para el tratamiento y/o la

prevención de complicaciones resultantes de o asociadas con la diabetes y agentes para el tratamiento y/o la prevención de complicaciones y trastornos resultantes de o asociados con la obesidad.

Ejemplos de tales sustancias farmacológicamente activas son: Agonistas del receptor GLP-1, insulina, inhibidores de la DPP-IV (dipeptidil peptidasa-IV), agonistas de la amilina, anti-inflamatorios, agentes reductores de los triglicéridos y agonistas del receptor de la leptina. Ejemplos particulares de tales sustancias activas son los agonistas del receptor de GLP-1, liraglutida y semaglutida, e insulina degludec.

La invención como se describió en la presente descripción se define adicionalmente, sin limitarse a esto, por las modalidades descritas aquí más abajo y las reivindicaciones del documento.

Modalidades

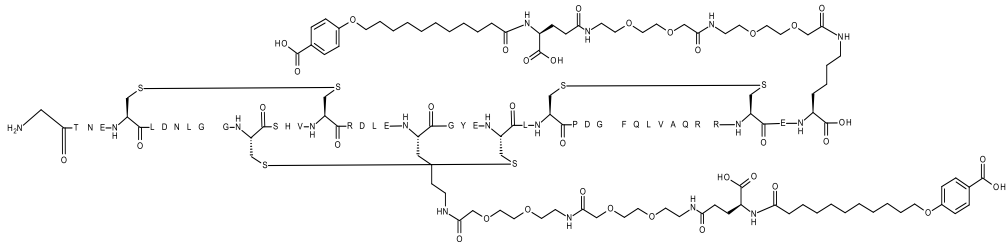
1. Una composición farmacéutica que comprende
 - i) un inhibidor de PCSK9
 - ii) una sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico y
 - iii) un hidrótrofo.
2. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el hidrótrofo se selecciona del grupo de hidrótrofos que consiste de: Nipecotamida, nicotinamida, ácido p-hidroxibenzoico de sodio, N,N dimetilurea, N,N dimetilbenzamida, N,N dietil nicotinamida, salicilato de sodio, resorcinol, benzoato de sodio, xilenosulfonato de sodio, p-toluenosulfonato de sodio, 1-metilnicotinamida, pirogalol, pirocatecol, galato de epigallocatequina, ácido tánico y sal de sodio hidratada del ácido gentísico.
3. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el hidrótrofo se selecciona del grupo que consiste de: Nipecotamida, nicotinamida, ácido p-hidroxibenzoico de sodio, N,N dimetilurea, N,N dimetilbenzamida, N,N dietil nicotinamida, salicilato de sodio, resorcinol, xilenosulfonato de sodio, p-toluenosulfonato de sodio, 1-Metilnicotinamida, pirogalol, pirocatecol, galato de epigallocatequina, ácido tánico y sal de sodio hidratada del ácido gentísico.
4. La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el hidrótrofo comprende una estructura de anillo aromático.
5. La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el hidrótrofo no es benzoato de sodio.
6. La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el hidrótrofo tiene un peso molecular de menos de 400 g/mol.
7. La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el hidrótrofo tiene un peso molecular de al menos 80 g/mol.
8. La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el hidrótrofo aumenta la solubilidad de SNAC al menos 2 veces.

9. La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el hidrótrofo aumenta la solubilidad de SNAC al menos 5 veces.
10. La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la solubilidad se mide a una concentración de 200 mg/ml del hidrótrofo a pH 6.
11. La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la solubilidad se mide a temperatura ambiente.
12. La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la solubilidad se mide como se describió en el Ensayo VI, en la presente descripción.
13. La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el hidrótrofo es nicotinamida o resorcinol.
14. La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el hidrótrofo es nicotinamida.
15. La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la relación sal de NAC/hidrótrofo (p/p) es al menos 0,5.
16. La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la relación sal de NAC/hidrótrofo (p/p) es 0,5-10,0 o tal como 0,75-10,0, 0,5-8,0 o 1-2,0.
17. La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la relación hidrótrofo/sal de NAC (p/p) es al menos 0,1.
18. La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la relación de hidrótrofo/sal de NAC (p/p) es 0,1-5,0 o tal como 0,1-4,0, 0,2-3,0 o 0,25-2,0.
19. La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la composición comprende además al menos un lubricante.
20. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores en donde la composición comprende además estearato de magnesio.
21. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera modalidad 19, en donde la composición comprende 0,15-25 mg, tal como 0,25-10 mg, tal como 2-5 mg o tal como 2-3 mg de estearato de magnesio por 100 mg de sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico.
22. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicha sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico e hidrótrofo constituye al menos el 60 % p/p de la composición.
23. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicha sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico e hidrótrofo constituye al menos el 60 % p/p de los excipientes de la composición.
24. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico se selecciona del grupo que consiste en la sal de sodio, la sal de potasio y/o la sal de amonio de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico.

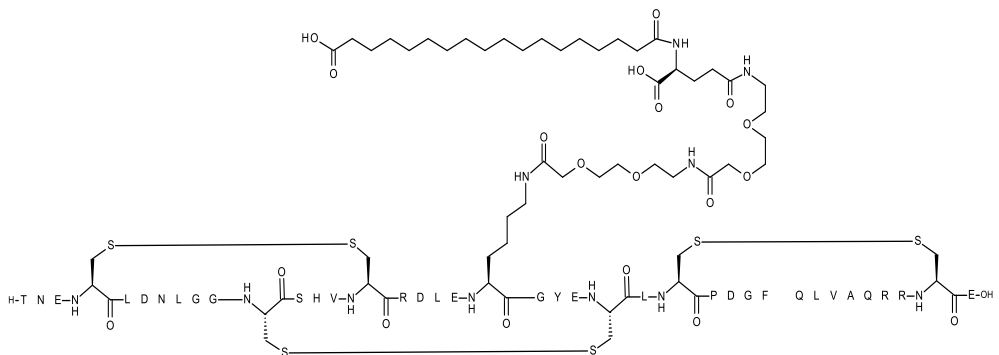
25. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico es N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprilato de sodio (SNAC).
26. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde una unidad de dosis comprende a lo máximo 1000 mg de dicha sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico.
27. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde una unidad de dosis comprende a lo máximo 500 mg de dicho hidrótopo.
28. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde una unidad de dosis comprende 0,1-100 mg del inhibidor de PCSK9.
29. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el inhibidor de PCSK9 tiene una función inhibitoria al menos comparable con EGF(A) 301L.
30. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la afinidad de unión aparente (K_i) para el inhibidor de PCSK9 es igual o está por debajo de la afinidad de unión aparente (K_i) para EGF(A) 301L.
31. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el inhibidor de PCSK9 tiene una función inhibitoria al menos comparable con EGF(A) 301L,309R,312E.
32. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la afinidad de unión aparente (K_i) para el inhibidor de PCSK9 es igual a o está más abajo de la afinidad de unión aparente (K_i) para EGF(A) 301L,309R,312E.
33. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde $\frac{K_i(\text{inhibidor de PCSK9})}{K_i(\text{EGF(A)301L})}$ está por debajo de 2.
34. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde $\frac{K_i(\text{inhibidor de PCSK9})}{K_i(\text{EGF(A)301L,309R,312E})}$ está por debajo de 2.
35. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el inhibidor de PCSK9 tiene una afinidad de unión aparente (K_i) por debajo de 10 nM, tal como por debajo de 8 nM, tal como por debajo de 5 mM.
36. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores 14-20, en donde la afinidad de unión aparente (K_i) se mide en un ELISA competitivo como se describió en el Ensayo I.
37. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el inhibidor de PCSK9 tiene $T_{1/2}$ de al menos 24 horas en minicerdos
38. La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el inhibidor de PCSK9 tiene un $T_{1/2}$ de al menos 2 horas en ratas.

39. La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el inhibidor de PCSK9 tiene una masa molar de 50 000 g/mol a lo máximo.
40. La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el inhibidor de PCSK9 es un péptido de EGF(A) o un derivado de EGF(A).
41. La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el derivado de EGF(A) de acuerdo con la modalidad 42 comprende un sustituyente de unión a albúmina.
42. La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el derivado de EGF(A) de acuerdo con la modalidad 42 o 43 comprende un ácido graso o un diácido graso.
43. La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el derivado de EGF(A) de acuerdo con la modalidad 42, 43 o 44 comprende un ácido graso C16, C18 o C20 o un diácido graso C16, C18 o C20.
44. La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores 42-45, en donde el péptido de EGF(A) o el derivado de EGF(A) comprende un análogo peptídico de EGF(A) que tiene 1-8 sustituciones de aminoácidos en comparación con el dominio EGF(A) de LDL-R definido por la SEQ ID NO 1.
45. La composición de acuerdo con la modalidad 46, en donde el análogo peptídico de EGF(A) comprende 301Leu.
46. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el inhibidor de PCSK9 se selecciona del grupo que consiste en: Derivados de EGF(A) # 31, 95, 128, 133, 143, 144, 150, 151, 152 y 153 con las siguientes estructuras:

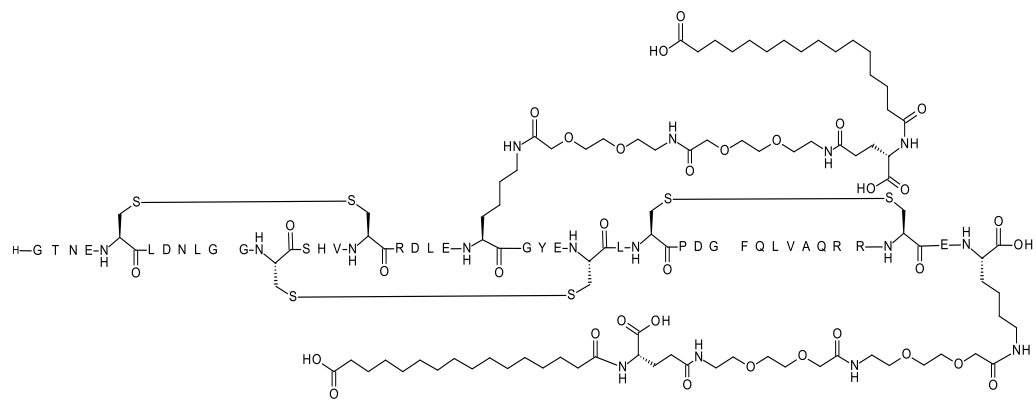
31



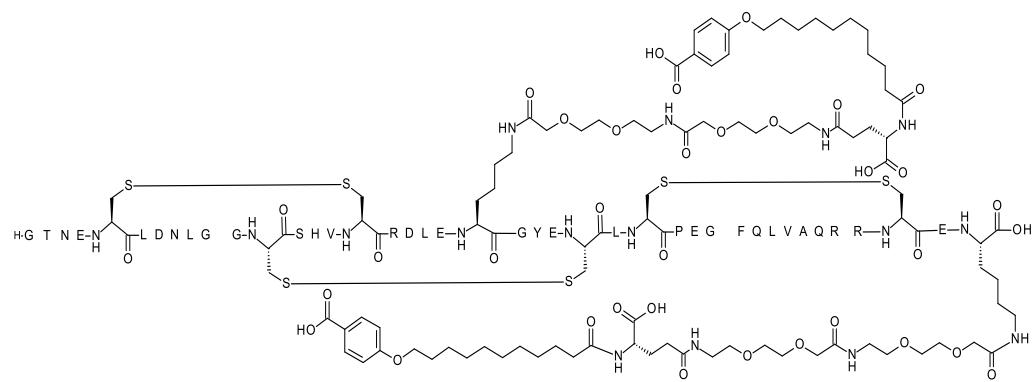
95



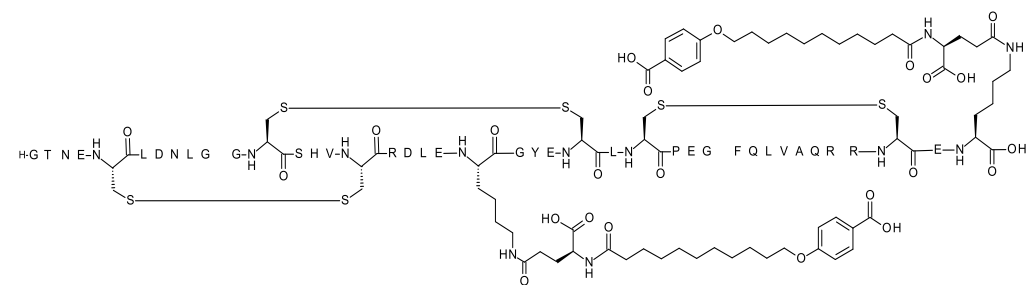
128



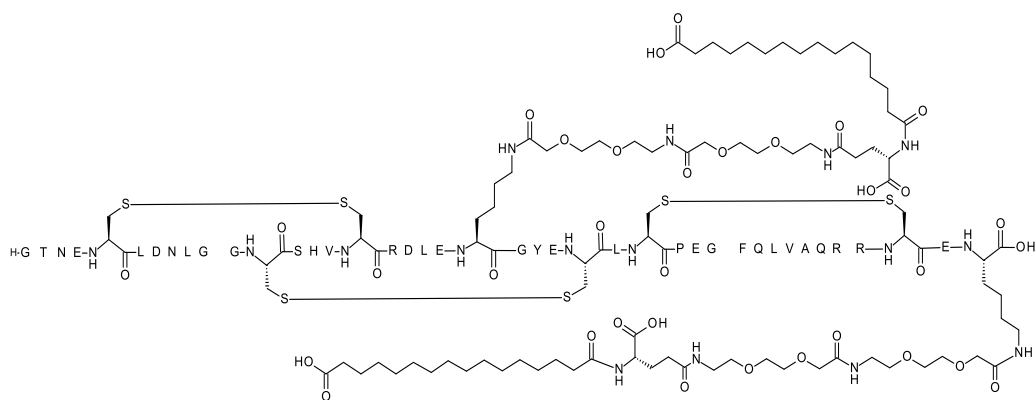
133



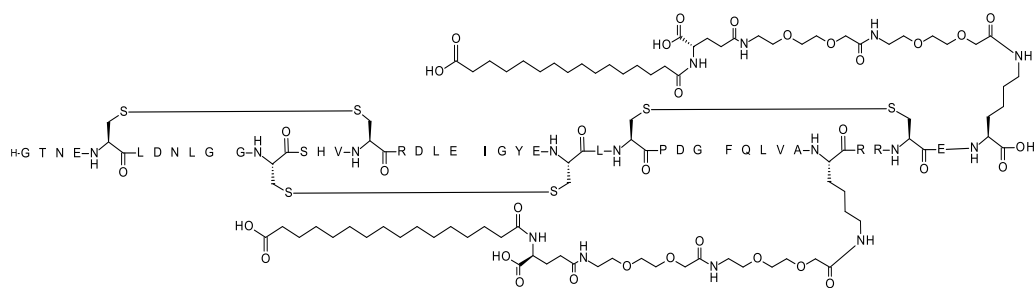
143



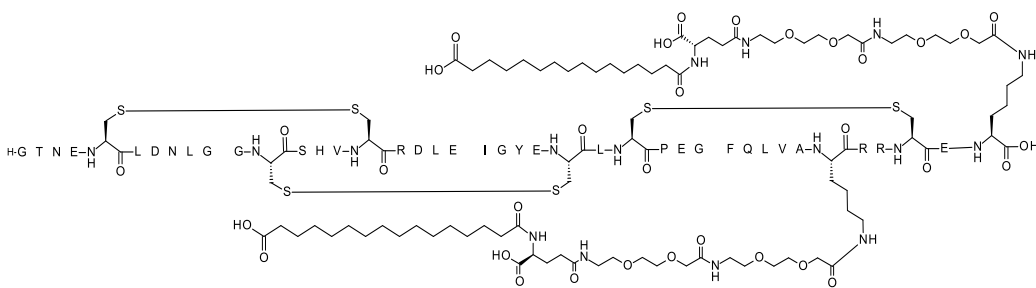
144



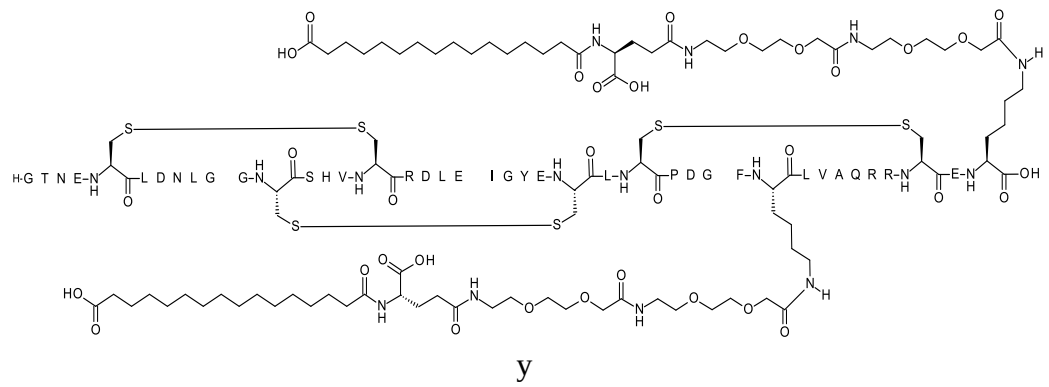
150



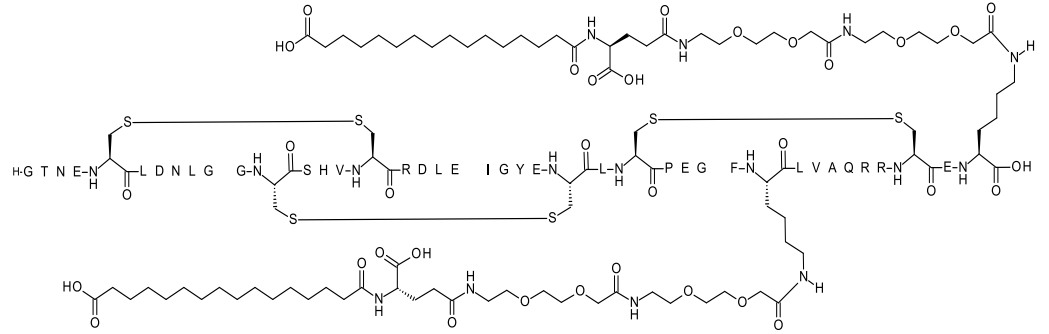
151



152

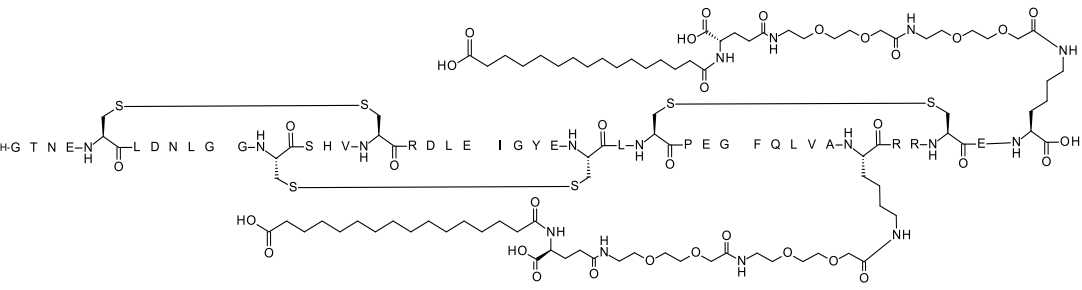


153



47. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el inhibidor de PCSK9 se selecciona del grupo que consiste en el derivado de EGF(A) como se muestra en los Ejemplos 150, 151, 152 y 153 en el documento WO2017/121850.

48. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el inhibidor de PCSK9 es:



49. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la composición comprende al menos un granulado..

50. La composición farmacéutica de acuerdo con la modalidad anterior 49, en donde al menos un granulado comprende la sal del ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico.

51. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores 49-50, en donde al menos un granulado comprende además el hidrótrofo tal como nicotinamida o resorcinol.

52. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores 49-51, en donde al menos un granulado comprende además un lubricante, tal como estearato de magnesio.

53. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores 49-52, en donde al menos un granulado se prepara mediante granulación seca, tal como mediante compactación por rodillo.

54. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores 49-52, en donde al menos un granulado se prepara mediante extrusión por fusión en caliente o granulación por pulverización.
55. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores 49-53, en donde la composición comprende una parte extragranular.
56. La composición farmacéutica de acuerdo con la modalidad anterior 49-55, en donde la parte extragranular de la composición comprende un lubricante o deslizante, tal como estearato de magnesio y/o el inhibidor de PCSK9.
57. Una composición farmacéutica que comprende
- 0,1-100 mg de un inhibidor de PCSK9,
 - 20-800 mg, tal como 25-700, tal como 50-600 mg de una sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico y
 - 10-600 mg de nicotinamida.
58. Una composición farmacéutica que comprende
- 1-100 mg, tal como 1-50 mg de un inhibidor de PCSK9,
 - 50-800 mg de una sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico y
 - 10-600 mg de nicotinamida.
59. Una composición farmacéutica que comprende
- 1-100 mg, tal como 1-50 mg de un inhibidor de PCSK9,
 - 75-600 mg de una sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico y
 - 25-400 mg de nicotinamida.
60. Una composición farmacéutica que comprende
- 1-100 mg, tal como 1-25 mg de un inhibidor de PCSK9,
 - 75-400 mg de una sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico y
 - 25-400 mg de nicotinamida.
61. Una composición farmacéutica que comprende
- 1-100 mg, tal como 1-25 mg de un inhibidor de PCSK9,
 - 100-400 mg de una sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico y
 - 25-400 mg de nicotinamida.
62. Una composición farmacéutica que comprende
- 1-100 mg, tal como 1-25 mg de un inhibidor de PCSK9,
 - 200-600 mg de una sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico y
 - 25-400 mg de nicotinamida.
63. Una composición farmacéutica que comprende
- 5-100 mg, tal como 5-25 mg de un inhibidor de PCSK9,
 - 250-500 mg de una sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico y
 - 25-400 mg de nicotinamida.
64. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades 57-63, que comprende además 0,2-25 mg del lubricante, tal como el estearato de magnesio.

65. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades 57-63, que comprende además 15-10 mg, tal como 0,20-10 mg, tal como 0,2-5 mg o tal como 0,2-3 mg, de estearato de magnesio por 100 mg de sal del ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico.
66. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades 57-63, en donde la sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico es N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprilato de sodio (SNAC).
67. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la composición es para la administración oral.
68. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la composición es una composición sólida.
69. La composición farmacéutica de acuerdo con las modalidades anteriores, en donde la composición es una composición sólida, tal como un tableta, una cápsula o un sobre.
70. Una composición farmacéutica que comprende
- un inhibidor de PCSK9,
 - una sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico y
 - un hidrótopo, capaz de aumentar la solubilidad de SNAC al menos 2 veces, tal como 5 veces o tal como al menos 10 veces
- en donde la liberación del inhibidor de PCSK9 alcanza el 85 % dentro de 15 minutos o el 95 % dentro de 30 minutos.
71. Una composición farmacéutica que comprende
- un inhibidor de PCSK9,
 - una sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico y
 - un hidrótopo, capaz de aumentar la solubilidad de SNAC al menos 2 veces, tal como 5 veces o tal como al menos 10 veces
- en donde la exposición en plasma corregida por la dosis en t=30 min después de la dosificación aumenta con relación a una composición de prueba 1.
72. Una composición farmacéutica que comprende
- un inhibidor de PCSK9,
 - una sal de ácido N-(8-(2-hidroxibenzoil)amino)caprílico y
 - un hidrótopo, capaz de aumentar la solubilidad de SNAC al menos 2 veces, tal como 5 veces o tal como al menos 10 veces
- en donde la exposición al plasma corregida por la dosis (AUC) para T=0-30 min después de la dosificación aumenta con relación a la composición de prueba 1.
73. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores 1-73, en donde
- la liberación del inhibidor de PCSK9 alcanza el 85 % dentro de 15 minutos
 - la liberación del inhibidor de PCSK9 alcanza el 95 % dentro de 30 minutos
 - la exposición al plasma corregida por la dosis en t=30 min después de la dosificación aumenta con relación a la composición de prueba 1 en la presente descripción y/o

d) la exposición al plasma corregida por la dosis (AUC) para T=0-30 min después de la dosificación aumenta con relación a la composición de prueba 1.

74. La composición farmacéutica de acuerdo con la modalidad 71 o la modalidad 73, en donde la exposición al plasma corregida por la dosis (AUC) para T=0-30 min aumenta al menos 1,2 veces, tal como 1,5 veces, tal como al menos 2 veces.

75. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades 71-74, en donde la liberación se determina como en el Ensayo III en la presente descripción y/o las exposiciones en plasma corregida por las dosis se determinan como en el Ensayo V.

76. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades 57-**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** además definida por las características de una o más de las modalidades 15-56.

77. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades 70-76 además definida por las características de una o más de las modalidades 1-69.

78. Una composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores para su uso en medicina.

79. Una composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores para su uso en un método para (i) mejorar los parámetros lipídicos y/o (ii) prevenir y/o tratar enfermedades cardiovasculares.

80. Un método de tratamiento de un sujeto que lo necesite, en donde el método comprende administrar una cantidad terapéuticamente activa de una composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores a dicho sujeto.

81. Un método para producir una composición farmacéutica sólida que comprende un inhibidor de PCSK9 que comprende las etapas de;

- a) obtener una sal de NAC y un hidrótopo,
- b) coprocesar dicha sal de NAC e hidrótopo de a) y
- c) preparar dicha composición farmacéutica sólida mediante el uso del producto de b) y un inhibidor de PCSK9.

82. El método de acuerdo con la modalidad 81, que comprende las etapas de;

- a) obtener una mezcla que comprende una sal de NAC y un hidrótopo,
- b) coprocesar la mezcla de a) y
- c) preparar dicha composición farmacéutica sólida mediante el uso del producto de b) y un inhibidor de PCSK9.

83. El método de acuerdo con la modalidad 81, que comprende las etapas de;

- a) obtener una mezcla que comprende una sal de NAC y un hidrótopo,
- b) extrudir por fusión en caliente la mezcla de a) y
- c) preparar dicha composición farmacéutica sólida mediante el uso del producto extrudido de b) y un inhibidor de PCSK9.

84. El método de acuerdo con la modalidad 81, que comprende las etapas de;

- a) obtener una sal de NAC y un hidrótopo,
- b) granulación por pulverización de dicha sal de NAC e hidrótopo de a) y

c) preparar dicha composición farmacéutica sólida mediante el uso del producto de b) y un inhibidor de PCSK9.

85. El método de acuerdo con la modalidad 81, que comprende las etapas de;

a) obtener una solución de una sal de NAC y un hidrótopo,

b) granulación por pulverización de dicha solución de a) y

c) preparar dicha composición farmacéutica sólida mediante el uso del producto de b) y un inhibidor de PCSK9.

Métodos y ejemplos

Métodos generales de detección y caracterización

Ensayo I: (ELISA) competitivo de unión de PCSK9-LDL-R

Este ensayo mide la afinidad de unión aparente para PCSK9 en competencia con LDL-R. En particular el ensayo se usa para evaluar la afinidad de unión aparente de un inhibidor de PCSK9 tal como un análogo de EGF(A) y compuestos que comprenden un análogo de EGF(A)

El ensayo se realiza de la siguiente manera. El día antes del experimento, el receptor humano recombinante de la lipoproteína de baja densidad (rhLDL-R; derivado de NSO; R & D systems # 2148-LD) se disuelve a 1 µg/ml en carbonato de sodio 50 mM, pH 9,6, y después se añade 100 µl de la solución a cada pocillo de las placas del ensayo (Maxisorp 96, NUNC # 439454) y se recubren durante la noche a 4 °C. En el día de los experimentos, se obtuvieron las curvas de concentración de 8 puntos de los compuestos de EGF(A) que contienen PCSK9 biotinilado (0,5 µg/ml, BioSite/BPSBioscience cat#71304) por duplicado. Las mezclas del compuesto de prueba y PCSK9 biotinilado se preparan e incuban durante 1 hora a temperatura ambiente en el tampón del ensayo que contiene Hepes 25 mM, pH 7,2 (15630-056, 100 ml, 1M), NaCl 150 mM (Emsure 1.06404.1000) HSA al 1 % (Sigma A1887-25G) Tween 20 al 0,05 % (Calbiochem 655205) CaCl₂ 2 mM (Sigma 223506-500G). Las placas del ensayo recubiertas se lavan después 4x en 200 µl de tampón del ensayo, y después se añaden 100 µl de la mezcla de los compuestos de prueba y PCSK9 biotinilado a las placas y se incuban 2 horas a temperatura ambiente. Las placas se lavan 4x en 200 µl de tampón del ensayo y después se incuban con Estreptavidina-HRP (25 ng/ml; VWR # 14-30-00) durante 1 hora a temperatura ambiente. La reacción se detecta mediante la adición de 50 µl de TMB-on (KEM-EN-TEC) y se incuba 10 min en la oscuridad. Después la reacción se detiene mediante la adición de 50 µl de H₃PO₄ 4 M a la mezcla, añadido mediante pipeteo múltiple electrónico. Las placas se leen después en un Spectramax a 450 y 620 nm dentro de 1 hora. La lectura a 620 nm se usa para la sustracción del fondo. Los valores de IC₅₀ se calculan mediante el uso de Graphpad Prism, mediante regresión no lineal log(inhibidor) frente a la pendiente de respuesta-variable (cuatro parámetros), y se convierten en valores de K_i mediante el uso de la siguiente fórmula: $K_i = IC_{50} / (1 + (Biotina-PCSK9) / (K_d(Biotina-PCSK9)))$, donde la K_d de la biotina-PCSK9 es 1,096727714 µg/ml y [Biotina-PCSK9] = 0,5 µg/ml.

Mayores valores de Ki reflejan menores afinidades de unión aparente para PCSK9 y viceversa. Un valor más arriba de 500 nM, indicará que la unión observada no es específica.

Los valores de Ki de los ejemplos de péptido de EGF(A) y derivados de los mismos se incluyen más abajo, lo que muestra que la alta afinidad de los compuestos que tienen un péptido de EGF(A) que incluye 301L y opcionalmente uno o más de 309R, 312E y 321E es muy similar además que incluye compuestos con uno o dos sustituyentes unidos al N-terminal o a un residuo de Lisina.

Péptido de EGF(A)	Ki (nM)
EGF(A) LDL-R (293-332)	-
299A, 301L, 307I, 309R, 310K	9,4
299A, 301L, 307I, 309R	0,9
301L, 309R, 310K	7,3
301L, 309R	1,2
301L	2,8
301L, 309R, 312E	1,1

Derivados del péptido de EGF(A)

Compuesto ejemplo #	Péptido de EGF(A)	SEQ ID NO	Sustituyente	Sitio(s) de unión	Ki (nM)
3	301L, 309R, 312E, 333K	4	HOOC-(CH2) ₁₆ -CO-gGlu-2xADO	333K	0,8
8	301L, 309R, 312E	6	HOS(O) ₂ -(CH2) ₁₅ -CO-gGlu-2xADO-NH-CH2-(C ₆ H ₄)-CH2-	N-terminal	1,2
31	301L, 309R, 312E, 313K, 333K	32	4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH2) ₁₀ -CO-gGlu-2xADO	313K, 333K	0,5
95	des293, 301L, 309R, 312E, 313K	76	HOOC-(CH2) ₁₆ -CO-gGlu-2xADO	313K	1,5
128	301L, 309R, 312E, 313K, 333K	32	HOOC-(CH2) ₁₄ -CO-gGlu-2xADO	313K, 333K	1,0
133	301L, 309R, 312E, 313K, 321E, 333K	98	4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH2) ₁₀ -CO-gGlu-2xADO	313K, 333K	1,6
143	301L, 309R, 312E, 313K, 321E, 333K	98	4-HOOC-(C ₆ H ₄)-O-(CH2) ₁₀ -CO-gGlu	313K, 333K	2,0
144	301L, 309R, 312E, 313K, 321E, 333K	98	HOOC-(CH2) ₁₄ -CO-gGlu-2xADO	313K, 333K	2,09
150	301L, 309R, 312E, 328K, 333K	78	HOOC-(CH2) ₁₄ -CO-gGlu-2xADO	328K, 333K	2,3
151	301L, 309R, 312E, 321E, 328K, 333K	104	HOOC-(CH2) ₁₄ -CO-gGlu-2xADO	328K, 333K	1,8
152	301L, 309R, 312E, 324K, 333K	72	HOOC-(CH2) ₁₄ -CO-gGlu-2xADO	324K, 333K	1,9

153	312E, 321E, 324K, 333K	105	HOOC-(CH ₂) ₁₄ -CO-gGlu-2xADO	324K, 333K	2,0
-----	------------------------	-----	--	------------	-----

Ensayo II: Prueba de desintegración

Una prueba de desintegración estándar de acuerdo con la Farmacopea Europea (Ph Eur 2.9.1) puede realizarse en un equipo de desintegración adecuado, por ejemplo, un equipo de desintegración USP para medir el tiempo de desintegración de las composiciones de prueba *in vitro*.

Ensayo III: Prueba de disolución

Puede realizarse una prueba de disolución estándar de acuerdo con la Farmacopea Europea (Ph Eur 2.9.3) para medir la liberación del inhibidor de PCSK9 y SNAC de las composiciones de prueba *in vitro*.

Se realiza una prueba de disolución en un equipo de disolución adecuado, por ejemplo, el equipo de disolución USP 2. Más específicamente, un equipo 2 se usa de acuerdo con la Farmacopea de Estados Unidos 35 mediante el uso de una velocidad de rotación de la paleta de 50 rpm. Para la prueba a pH 6,8, se usa 500 ml de medio de disolución de tampón fosfato 0,05 M a una temperatura de 37 ± 0,5 °C. Los medios de disolución tienen un contenido de Brij®35 al 0,1 %. Las muestras se extraen en intervalos adecuados y el contenido de la muestra se determina mediante el uso de un método de RP-UHPLC para la detección doble de inhibidor de PCSK9 y SNAC.

El contenido de la muestra se calcula basado en el área de pico del inhibidor de PCSK9 y SNAC en el cromatograma con relación a las áreas de los picos de las referencias de inhibidor de PCSK9 y SNAC, respectivamente. La cantidad liberada del inhibidor de PCSK9 y SNAC se calcula como los porcentajes del contenido total real en las composiciones de prueba. El contenido total en las tabletas se determina mediante el uso del Ensayo (IV).

Ensayo IV: Análisis de la cantidad del inhibidor de PCSK9 y SNAC

Para el análisis del ensayo las composiciones de prueba se pesan antes de la extracción del inhibidor de PCSK9 y SNAC. Las tabletas se disuelven en una cantidad relevante de tampón fosfato 0,05 M, pH 7,4, con acetonitrilo al 20 %. Se usa el tiempo de extracción de dos horas. Las muestras se centrifugan, y se transfiere un volumen adecuado al vial de HPLC. Los estándares del inhibidor de PCSK9 relevante y SNAC se preparan mediante el uso del mismo diluyente que para las muestras. La UHPLC con un detector de UV se usa para la determinación doble del contenido del inhibidor de PCSK9 y de SNAC. El contenido de la tableta se calcula basado en el área de pico del inhibidor de PCSK9 y SNAC en el cromatograma con relación a las áreas de los picos del inhibidor de PCSK9 y SNAC y referencias, respectivamente.

Ensayo V: Estudios farmacocinéticos en perros Beagle

Los estudios farmacocinéticos (PK) en perros Beagle se realizan para determinar la exposición del inhibidor de PCSK9 después de la administración por la boca de diferentes composiciones de prueba.

Para los estudios farmacocinéticos se usan perros Beagle machos, de 1 a 5 años de edad y que pesan aproximadamente de 10-12 kg al inicio de los estudios. Los perros se alojan en grupo en corrales (12 horas de luz: 12 horas de oscuridad) y se alimentan de forma individual y restringida una vez al día con pienso Royal Canin para perros adultos medianos (Royal Canin Products, sucursal de China, o Brogaarden A/S, Dinamarca). Se permiten el ejercicio y socializar en grupo una vez al día, siempre que sea posible. Los perros se usan para estudios farmacocinéticos repetidos con un adecuado período de reposo farmacológico entre las dosificaciones sucesivas. Se da un período de aclimatación adecuado antes de iniciar el primer estudio farmacocinético. Toda la manipulación, dosificación y obtención de la muestra de sangre de los animales se realizan por personal experto y entrenado. Antes de los estudios los perros se ponen en ayunas toda la noche y de 0 a 4 h después de la dosificación. Además, los perros se restringen a agua 1 hora antes de la dosificación hasta 4 horas después de la dosificación, pero de cualquier otra manera tienen acceso ad libitum al agua durante todo el período.

Los tabletas que contienen el inhibidor de PCSK9 se administran de la manera siguiente: 10 min antes de la administración de la tableta a los perros se dosifican subcutáneamente con aproximadamente 3 nmol/kg de la SEQ ID NO: 115). Las tabletas de inhibidores de PCSK9 se colocan en la parte posterior de la boca del perro para prevenir que las mastique. Después se cierra la boca y se da agua corriente mediante una jeringuilla o sonda para facilitar la deglución de la tableta.

Obtención de muestras de sangre

La sangre se obtiene a puntos de tiempo predefinidos hasta 10 horas posteriores a la dosificación para cubrir adecuadamente el perfil completo de concentración en plasma-absorción en tiempo del inhibidor de PCSK9.

Para cada punto de tiempo de obtención de muestras de sangre, se recolectan aproximadamente 0,8 ml de sangre total en un tubo de 1,5 ml recubierto de EDTA, y el tubo se gira suavemente para permitir la mezcla de la muestra con el EDTA. Las muestras de sangre (por ejemplo, 0,8 ml) se recolectan en tampón EDTA (8 mM) y después se centrifugan a 4 °C y 2000 G durante 10 minutos. El plasma se pipetea en tubos Micronic con hielo seco y se mantiene a -20 °C hasta el análisis.

Las muestras de sangre se toman según corresponda, por ejemplo a partir de un catéter en la vena cefálica en la parte delantera de la pata durante las primeras 2 horas y después con jeringa a partir de la vena yugular durante el resto de los puntos de tiempo (las primeras gotas se dejan drenar del catéter para evitar la solución salina de heparina del catéter en la muestra).

Ensayo VI: Solubilidad de SNAC en combinación con hidrótrofos seleccionados

Se seleccionó una serie de 18 hidrótrofos diferentes para la prueba. Se pesan los hidrótrofos y se disuelven en 5 ml de agua ultrapura (200 mg/ml) y se titula el pH a pH 6 mediante la adición de HCl 2 M. Subsecuentemente se añade SNAC (200 mg) a las muestras y se colocan en agitadores magnéticos (400 rpm). El pH se mantiene a pH 6 a lo largo del experimento mediante la adición de HCl 2 M.

Después de 4 horas de incubación a temperatura ambiente las muestras se filtraron a través de filtros de jeringa de 0,45 µm y la concentración de SNAC en la solución se determina mediante el uso de un método RP-HPLC para la detección de SNAC. El contenido de la muestra se calcula basado en el área del pico de SNAC en el cromatograma con relación al área del pico de las referencias de SNAC. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 1, que demuestra que la mayoría de hidrótrofos aumentan significativamente la solubilidad de SNAC.

Tabla 1 Efecto hidrotrópico de hidrótrofos seleccionados (200 mg/ml) sobre la solubilidad de SNAC a pH 6

Hidrótrofo	Réplicas (n)	Concentración de SNAC (mg/ml)	Veces de aumento de solubilidad
Controlar SNAC (sin hidrótrofo)	1	0,59	1
Nipecotamida	1	1,55	2,6
Nicotinamida	5	8,63	14,6
ácido p-hidroxibenzoico de sodio	1	1,25	2,1
N,N dimetilurea	1	2,34	4,0
N,N dimetil benzamida	4	22,46	38
N,N dietil nicotinamida	1	4,58	7,8
Salicilato de sodio	1	1,59	2,7
Resorcinol	6	29,95	51
Benzonato de sodio	2	1,25	2,1
Urea	1	0,77	1,3
Xilenosulfonato de sodio	1	2,01	3,4
P-toluenosulfonato de sodio	1	1,78	3,0
1-Metilnicotinamida	1	2,20	3,7
Pirogalol	4	8,98	15
Pirocatecol	1	23,95	40,6
Galato de epigallocatequina	1	5,66	9,6
Ácido tánico	1	6,31	10,7
Sal de sodio hidratada del ácido gentísico	1	2,72	4,6

Ensayo VII: Solubilidad del SNAC en concentraciones variables de nicotinamida y resorcinol

Se pesó la nicotinamida o el resorcinol y se disolvió en 5 ml de agua ultrapura hasta las concentraciones finales mostradas en la Figura 1A y B y se tituló el pH a pH 6 mediante la adición de HCl 2 M. Subsecuentemente se añadió SNAC (200 mg) a las muestras colocadas

en agitadores magnéticos (400 rpm) y el pH se mantiene en pH 6 a lo largo del experimento mediante la adición de HCl 2 M.

Después de 4 horas de incubación, las muestras se filtraron a través de filtros de jeringa de 0,45 µm y la concentración de SNAC en la solución se determina mediante el uso de un método RP-HPLC para la detección de SNAC. El contenido de la muestra se calcula basado en el área del pico de SNAC en el cromatograma con relación al área del pico de las referencias de SNAC. Los resultados se muestran en la Figura 1 que demuestra un efecto dependiente de la concentración en la solubilidad de SNAC de ambos hidrótropos.

Métodos generales para la preparación de las tabletas

Método 1: Extrusión por fusión en caliente

La extrusión por fusión en caliente se lleva a cabo en un extrusor de doble husillo Thermo Scientific Process 11. El SNAC y la nicotinamida o el resorcinol se mezclan en un Turbula antes de alimentar el extrusor. El equipo se opera a temperaturas de proceso que varían entre 200 °C y 105 °C a lo largo del barril para facilitar la extrusión por fusión. La velocidad del husillo varía entre 50 – 1000 rpm y el material se alimenta en el extrusor mediante el uso de un alimentador gravimétrico a velocidades de alimentación variables y se extruye a través de un troquel circular de 2 mm de diámetro. Los productos extruidos resultantes se tamizan manualmente en gránulos mediante el uso de un tamiz de malla final entre 355 y 150 µm.

Método 2: Compresión de tabletas

Las tabletas se producen en una Kilian Style One que simula una Fette 102i o en una Fette 102i montada con un único juego de perforadores, lo que da como resultado tabletas ovaladas de 5,75 × 10 mm o de 6,5 × 11 mm o de 8,5 × 16 mm, o de 7,5 × 13 mm sin ranurado. El tamaño del perforador se elige de acuerdo con el peso total de la tableta. La velocidad de prensado se establece a 20 rpm. Se aplican fuerzas de compresión de alrededor de 7 a 21 kN para obtener tabletas con una resistencia de aplastado alrededor de 34 a 132 N respecto al tamaño de la tableta.

Antes de la compresión de la tableta, los granulados obtenidos mediante el método 1 se mezclan con el inhibidor de PCSK9 y excipientes adicionales en un mezclador Turbula (7 min o 20 min, 25 rpm) y cualquier excipiente adicional opcional en un mezclador Turbula (2 min, 25 rpm).

Método 3: Intercambio de sales

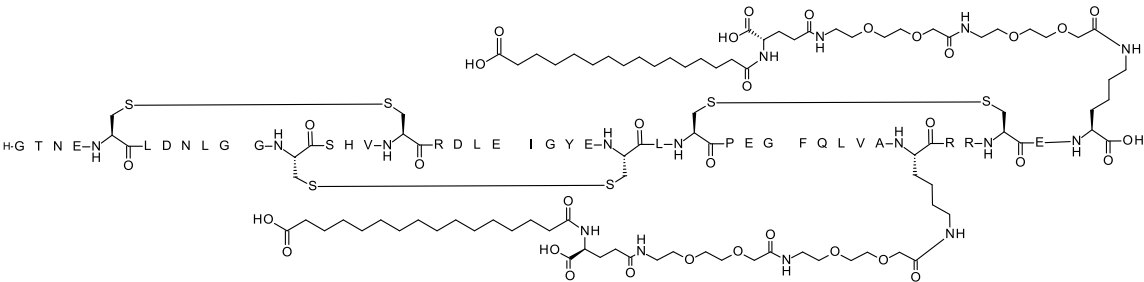
Los lotes de material derivado de EGF(A) secado por pulverización se disolvieron en tampón Tris 100 mM a un pH neutro a una concentración final de 10-20 g/l. El material se cargó subsecuentemente en una columna de fase inversa C18 hasta 20 g de EGF(A) por litro de resina y se lavó en el siguiente orden: a) con 1 volumen de columna de una solución que comprende etanol al 5 % p/p en agua seguido de b): 10 volúmenes de columna de una solución que contiene fosfato de sodio 20 mM y cloruro de sodio 500 mM a pH 7,5 y c): 10 volúmenes de columnas de una solución que comprende etanol al 5 % p/p. Después, el EGF(A) se eluyó de la columna mediante el uso de una solución de etanol al 50 % p/p. El

etanol se evaporó subsecuentemente mediante la aplicación de un vacío. Subsecuentemente, la solución se secó por pulverización lo que proporcionó el derivado de EGF(A) como una sal de sodio.

EJEMPLOS

Ejemplo 1 - Preparación de composiciones

Las composiciones de prueba se prepararon de acuerdo con la Tabla 2 más abajo, que comprenden un inhibidor de PCSK9 basado en péptidos. El compuesto usado es un análogo peptídico de LDLR293-332 que comprende dos sustituyentes en forma de diácidos grasos unidos a través de una molécula enlazadora hidrófila. El derivado de EGF(A) se prepara como se describió en el documento WO 2017/121850 (Ejemplo 151/página 161) y tiene la siguiente estructura.



Las composiciones de prueba se preparó mediante el uso de una combinación de los métodos descritos anteriormente en la presente descripción. La composición de prueba 1 y 6 se produjeron mediante la granulación de una mezcla de SNAC, estearato de magnesio y MCC como se describió en el documento WO 2013/139694. Los gránulos se mezclaron subsecuentemente con povidona, el inhibidor de PCSK9 y MCC adicional (granulado opcionalmente (prueba 6)) y estearato de magnesio extra-granular antes de la compresión de la tableta (método 2). Las composiciones de prueba 2-5 y 7 se produjeron mediante la mezcla de SNAC y nicotinamida antes de la extrusión por fusión en caliente (método 1). Los gránulos obtenidos se mezclaron subsecuentemente con inhibidor de PCSK9 y adicionalmente con estearato de magnesio antes de la compresión de la tableta (método 2). Para las composiciones de prueba 6 y 7, el derivado de EGF(A) usado en la preparación se obtuvo como se describió en el método 3.

Tabla 2. Composiciones de tabletas de inhibidor de PCSK9

	Compo- sición	Prue- ba 1	Prue- ba 2	Prue- ba 3	Prue- ba 4	Prue- ba 5	Prue- ba 6	Prue- ba 7
Granu- lado de SNAC	SNAC (mg)	300	100	100	234*	273,4	300	300
	Esteara- to de magne- sio (mg)	7,7	-	-	-	-	7,7	-

	MCC (mg)	57	-	-	-	-	57	-
	Nicotinamida	-	66,7	66,7	207	167,6	-	200
Según-do gránulo e ingre-dientes extra granu-lares	Com-puesto 151 (mg)	5	5	5	5	5	50	50
	Povido-na (mg)	8	-	-	-	-	8	
	MCC (mg)	23	-	-	-	-	23	
	Esteara-to de magne-sio (mg)	2	0,8	1,75	2,4	2,4	2	2,5

*Basado en la medición del contenido real (ensayo IV) mientras que los otros valores son valores objetivo usados para pesar el material antes del tableteado.

Ejemplo 2 – Prueba de desintegración

El objetivo del presente estudio fue evaluar la desintegración de las series de las composiciones de prueba descritas en el Ejemplo 1.

La desintegración se midió de acuerdo con el Ensayo II mediante el uso de un analizador de desintegración automático Pharmatech PTZ de acuerdo con la Farmacopea Europea mediante el empleo de la detección automática. Las composiciones de prueba 1– 5 se probaron en *agua R* y se consideraron desintegradas cuando se desplegó la detección automática. Los resultados se informan como el promedio de 3 tabletas. La Tabla 3 muestra los resultados para las composiciones de prueba preparadas de acuerdo con el Ejemplo 1 anterior.

Tabla 3. Tiempos de desintegración

Composición	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3	Prueba 4	Prueba 5	Prueba 6
Tiempo de desintegración	15 min 18 s	2 min 51 s	2 min 50 s	4 min 20 s	3 min 32 s	11 min 46 s

Los resultados obtenidos muestran que las composiciones de prueba 2-5 presentan una desintegración significativamente más rápida que la observada para la composición de prueba 1.

Ejemplo 3 – Prueba de disolución

El objetivo del presente estudio fue evaluar la disolución de las series de las composiciones de prueba descritas en el Ejemplo 1.

Se midió la disolución de acuerdo con el Ensayo III y la cantidad del inhibidor de PCSK9 y SNAC se midieron de acuerdo con el Ensayo IV. La cantidad liberada del inhibidor de PCSK9 y la SNAC se calcularon como los porcentajes del contenido real en las composiciones de prueba, es decir, 100 o aproximadamente 300 mg/tableta de SNAC y 5 mg/tableta o 50mg/tableta de inhibidor de PCSK9.

La cantidad liberada del inhibidor de PCSK9 se informa como el promedio de 3 tabletas. La Tabla 4 muestra los resultados para las composiciones de prueba preparadas de acuerdo con el Ejemplo 1 anterior, en donde la liberación se presenta como “inhibidor de PCSK9 en solución (%)” que describe la cantidad del inhibidor de PCSK9 en la solución después de 15, 30 y 60 min con relación a la cantidad total del inhibidor de PCSK9 en la tableta al inicio del experimento. El contenido total de inhibidor de PCSK9 y SNAC en las tabletas se determinó de acuerdo con el Ensayo IV.

Tabla 4. Inhibidor de PCSK9 en solución (%)

Composición	Inhibidor de PCSK9 en solución (%)		
	15 min	30 min	60 min
Prueba 1	40,2	66,8	92,2
Prueba 3	Liberación	Liberación	Liberación completa
Prueba 5	99,5	Liberación	Liberación completa
Prueba 6	47,9	76,3	95,0
Prueba 7	Liberación	Liberación	Liberación completa

Los resultados obtenidos muestran que las composiciones de prueba 3 y 5 presentan una liberación más rápida del inhibidor de PCSK9 en comparación con lo observado para la composición de prueba 1. Lo mismo puede concluirse al comparar la composición de prueba 7 con la composición de prueba 6. Se observó una liberación significativa más rápida del inhibidor de PCSK9 para los puntos de tiempo tempranos, es decir, a 15 y 30 minutos. La diferencia en la liberación fue menos significativa después de los 60 minutos. La cantidad de SNAC en las composiciones de prueba no influyó en la liberación del inhibidor de PCSK9 después de 15 minutos, es decir, las composiciones de prueba que comprenden 100 mg de SNAC se disuelven tan rápido como las composiciones de prueba que comprenden aproximadamente 300 mg de SNAC cuando se miden después de 15 minutos o más tarde.

Datos adicionales obtenidos después de 5, 10, 15, 20, 30, 45 y 60 min para las composiciones de prueba 1 a 3 y 6 y 7 se muestran en la Figura 2, lo que demuestra que las composiciones de prueba 3, 5 y 7 son superiores a la composición de prueba 1 y 6 en cada punto de tiempo.

Ejemplo 4 – Exposición oral

La farmacocinética de la administración oral de la composición del texto descrito en el Ejemplo 1 anterior se evaluó de acuerdo con el Ensayo V para evaluar la exposición oral en

perros beagle mediante el uso de 10 ml de agua para la dosificación a los perros. El número de pruebas realizadas para cada formulación se indica con la letra n.

Análisis y resultados

La concentración plasmática de la molécula de PCSK9i se analizó por LCMS. Los perfiles individuales de concentración plasmática-tiempo se analizaron mediante un modelo no compartimental en WinNonlin v. 5,0 o Phoenix v. 6,2 o 6,3 (Pharsight Inc., Mountain View, CA, Estados Unidos), u otro programa relevante para el análisis PK. Se determinó la exposición al compuesto medida en t=30 min y se normalizó por la dosis/kg de peso corporal.

Se calculó (con el programa Pharsight) el área bajo la curva de concentración plasmática frente al tiempo durante los primeros 30 minutos (AUC, [tiempo x concentración]) después de la administración oral y se normalizó por ((dosis/kg de peso corporal)*100) para obtener la exposición corregida por la dosis.

Se calculó la exposición corregida por la dosis de PCSK9i obtenida después de la administración de la composición de prueba 1 y 4. Los datos se incluyen en la Tabla 5 más abajo.

Tabla 5 - Exposición promedio medida en perros después de la administración única de las composiciones de prueba 1, 2 y 7.

Composición	Exposición corregida por la dosis t=30 min (pmol/l)	AUC corregida por la dosis 0-15 min (unidad arbitraria)	AUC corregida por la dosis 0-30 min (unidad arbitraria)	Número de perros
Prueba 1	0,18	0,39	3,34	8/8
Prueba 2	0,33	1,30	7,89	7/8
Prueba 7	0,39	1,19	8,31	16/16

Se observó una exposición acelerada y aumentada para las composiciones de acuerdo con la invención en comparación con la composición de la prueba 1.

Aunque determinadas características de la invención se ilustran y describen en la presente descripción, muchas modificaciones, sustituciones, cambios y equivalentes serán evidentes para los expertos en la técnica. Por lo tanto, debe entenderse que las reivindicaciones adjuntas están destinadas a cubrir todas estas modificaciones y cambios dentro del verdadero espíritu de la invención.