

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 013 570**

51 Int. Cl.:

C07K 7/02 (2006.01)

A61P 3/06 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.06.2019** **PCT/US2019/038220**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.12.2019** **WO19246386**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.06.2019** **E 19822381 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.12.2024** **EP 3810176**

54 Título: **Polipéptidos cíclicos para la inhibición de PCSK9**

30 Prioridad:

21.06.2018 US 201862688034 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.04.2025

73 Titular/es:

UCB HOLDINGS, INC. (100.00%)
1950 Lake Park Drive
Smyrna, GA 30080, US

72 Inventor/es:

RICARDO, ALONSO;
BOYER, NICOLAS, CEDRIC;
STRINGER, JOSEPH, R.;
LAPLACA, DEREK, M.;
DHAMNASKAR, KETKI, ASHOK;
MA, ZHONG;
BLAIN, JONATHAN, C. y
VYASAMNENI, ROHIT

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 3 013 570 T3

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

DESCRIPCIÓN

Polipéptidos cíclicos para la inhibición de PCSK9

Antecedentes

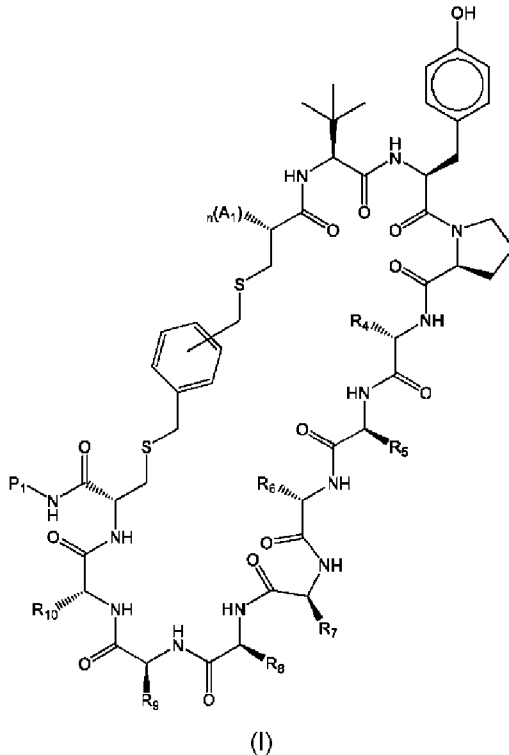
- La hipercolesterolemia se caracteriza por la presencia de niveles elevados de colesterol de lipoproteínas de baja densidad ("low-density lipoprotein", LDL) en la sangre, lo que puede conducir al desarrollo de aterosclerosis y enfermedad cardiovascular isquémica asociada (por ejemplo, infarto de miocardio y accidente cerebrovascular) (Lambert *et al.*, J. Lipid Res. 53:2515-2524, 2012). Más de 34 millones de adultos estadounidenses padecen hipercolesterolemia (NIH Genetics Home Reference Website, 2014). La proproteína convertasa subtilisina/kexina de tipo 9 (PCSK9) se ha propuesto como diana para el tratamiento de la hipercolesterolemia. El documento WO 2016/119067 divulga composiciones que comprenden un polipéptido de proproteína convertasa subtilisina/kexina de tipo 9 humana (hPCSK9) aislado o purificado terapéuticamente eficaz derivado del dominio catalítico de hPCSK9, y su uso en procedimientos para tratar la hipercolesterolemia.

- La PCSK9 es una proproteína convertasa perteneciente a la subfamilia de las proteinasas K de la familia de las subtilasas secretoras. La PCSK9 se une al dominio del factor de crecimiento epidérmico similar a la repetición A (EGF-A) del receptor de lipoproteínas de baja densidad (LDLR) y dirige el LDLR a los lisosomas, donde se degrada. La inhibición de la PCSK9 provoca un aumento de los LDLR en la superficie celular, lo que se traduce en una mayor eliminación de LDL del líquido extracelular. Por lo tanto, la inhibición de la PCSK9 da lugar a concentraciones más bajas de colesterol LDL en la sangre.

- Sigue existiendo una necesidad en la técnica de compuestos que inhiban la unión de PCSK9 a LDLR, y traten o prevengan la hipercolesterolemia. La administración de estos compuestos puede mejorar significativamente el pronóstico, disminuir la progresión de la hipercolesterolemia y reducir las enfermedades relacionadas con ella.

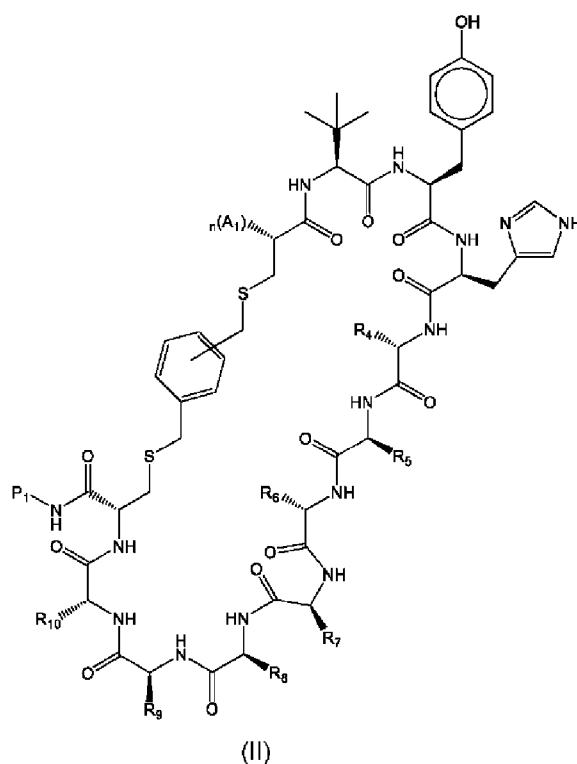
Sumario

- El alcance de la invención se define en el conjunto de reivindicaciones adjunto. Se proporcionan polipéptidos cíclicos útiles para la inhibición de PCSK9 en un sujeto que los necesite. En particular, se proporcionan compuestos polipeptídicos cíclicos con la estructura de la fórmula (I):



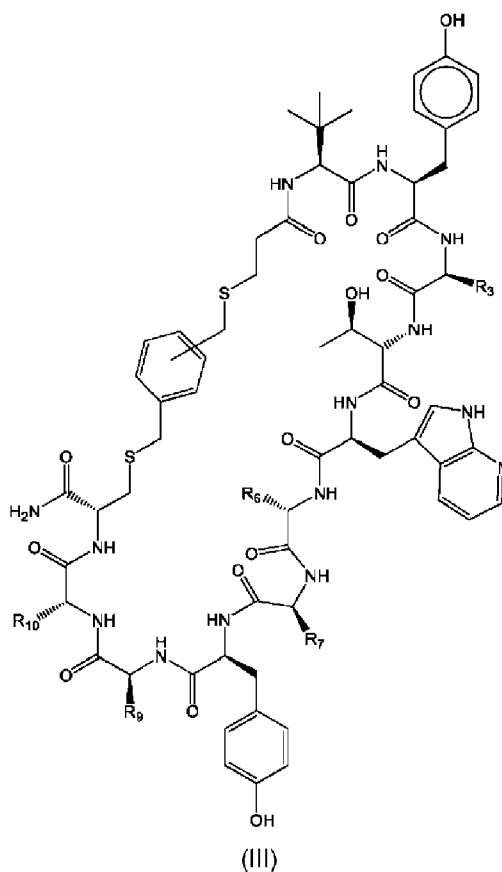
o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

También se proporcionan en el presente documento compuestos polipeptídicos cíclicos que tienen la estructura de la fórmula (II):



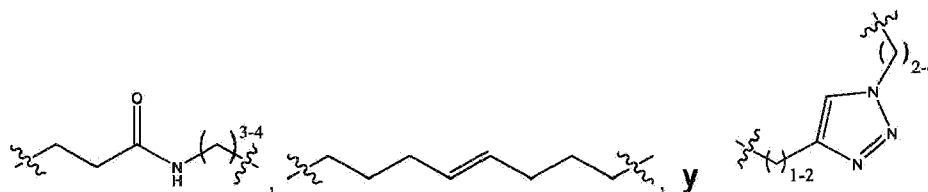
o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

También se proporcionan en el presente documento compuestos polipeptídicos bicíclicos que tienen la estructura de la fórmula (III):



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;

con la condición de que R₃ y R₇, o R₆ y R₁₀ estén unidos covalentemente por un resto conector seleccionado del grupo que consiste en:



También se proporciona en el presente documento un compuesto polipeptídico cíclico seleccionado del compuesto 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 085, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 244, 252, 144, 145, 146, 147, 148, 301, 306, 308, 149, 150, 151, 314, 317, 337, 338, 339 y 340.

También se proporciona en el presente documento un compuesto polipeptídico bicíclico seleccionado entre el compuesto 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 358 y 350.

En una realización, se proporciona en el presente documento una composición farmacéutica que comprende uno de los compuestos de fórmula (I), fórmula (II), fórmula (III) o compuestos 001-358, junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

También se proporciona en el presente documento un compuesto o una composición farmacéutica de la presente invención para su uso en un procedimiento de reducción del nivel de colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL) en un sujeto que lo necesite; opcionalmente, en el que el sujeto tiene hipercolesterolemia; opcionalmente, en el que el compuesto polipeptídico cíclico inhibe la interacción entre PCSK9 humana y el dominio de repetición A similar al factor de crecimiento epidérmico (EGF-A) de la lipoproteína de baja densidad (LDLR) humana.

Además, se proporciona en el presente documento un compuesto o una composición farmacéutica de la presente invención para su uso en un procedimiento de tratamiento de la hipercolesterolemia en un sujeto que lo necesite.

Además, se proporciona en el presente documento un compuesto o una composición farmacéutica de la presente invención para su uso en un procedimiento de tratamiento de una enfermedad que presenta comorbilidad con la hipercolesterolemia en un sujeto que lo necesite. Por ejemplo, la enfermedad que presenta comorbilidad puede ser una o más de las siguientes: síndrome nefrótico, insuficiencia renal, enfermedad arterial coronaria, aterosclerosis, accidente cerebrovascular, enfermedad vascular periférica, diabetes e hipertensión arterial.

También se proporciona en el presente documento un procedimiento *in vitro* de inhibición de la actividad de PCSK9 en una célula que comprende poner en contacto la célula con uno o más compuestos polipeptídicos cíclicos de fórmula (I), fórmula (II), fórmula (III) o compuestos 001-358, o una composición farmacéutica que comprende uno o más de los compuestos polipeptídicos cíclicos de fórmula (I), fórmula (II), fórmula (III) o compuestos 001-358.

Descripción detallada de la divulgación

Se proporcionan en el presente documento compuestos polipeptídicos cíclicos, y composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos, que son útiles para la inhibición de PCSK9. Por ejemplo, los compuestos son útiles para inhibir la interacción entre la PCSK9 humana y el dominio EGF-A del LDLR humano en el sujeto. Estos compuestos y composiciones farmacéuticas también son útiles para el tratamiento de la hipercolesterolemia, así como de enfermedades que presentan comorbilidad con la hipercolesterolemia.

Definiciones

A continuación, se enumeran definiciones de diversos términos y expresiones utilizados para describir la presente invención. Estas definiciones se aplican a los términos y expresiones tal como se utilizan a lo largo de esta memoria descriptiva y reivindicaciones, a menos que se limiten de otro modo en casos específicos, ya sea individualmente o como parte de un grupo más amplio.

A menos que se definan de otro modo, todos los términos y expresiones técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen generalmente el mismo significado que entiende habitualmente una persona con conocimientos ordinarios en la técnica a la que pertenece esta invención. En general, la nomenclatura utilizada en el presente documento y los procedimientos de laboratorio en cultivo celular, genética molecular, química orgánica y química de péptidos son los conocidos y empleados habitualmente en la técnica.

Tal como se emplean en el presente documento, los artículos "un/una" se refieren a uno o más de uno (es decir, hasta al menos uno) del objeto gramatical al que se refiere el artículo. A modo de ejemplo, "un elemento" significa un elemento o más de un elemento. Además, el uso del término "incluido", así como otras formas, como "incluye" e "incluido", no es limitante.

- 5 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "compuestos polipeptídicos cíclicos" significa cadenas polipeptídicas en las que los amino-terminales y los carboxilo-terminales; los amino-terminales y la cadena lateral; los carboxilo-terminales y la cadena lateral; o la cadena lateral y la cadena lateral, están unidos con un enlace covalente que genera el anillo.

- 10 Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "enfermedad que presenta comorbilidad con la hipercolesterolemia" significa una enfermedad en la que los niveles elevados de colesterol (por ejemplo, niveles elevados de colesterol LDL) (por ejemplo, en comparación con un nivel de referencia) se asocian con un riesgo elevado de desarrollar la enfermedad y/o un riesgo elevado de mal pronóstico de la enfermedad (por ejemplo, mayor riesgo de enfermedad grave, mayor riesgo de muerte y/o mayor riesgo de acontecimiento cardiovascular (como accidente cerebrovascular, infarto de miocardio o enfermedad cardíaca)) (por ejemplo, en comparación con un sujeto que no tiene un nivel elevado de colesterol LDL, por ejemplo, en comparación con un nivel de referencia).

- 15 Tal como se usa en el presente documento, el término "tratamiento" o "tratar" se define como la aplicación o la administración de un agente terapéutico, es decir, un compuesto de la invención (solo o junto con otro agente farmacéutico), a un paciente, o la aplicación o la administración de un agente terapéutico a un tejido aislado o una línea celular procedente de un paciente (por ejemplo, para diagnóstico o aplicaciones *ex vivo*), que padece
20 hipercolesterolemia o enfermedades relacionadas, un síntoma de hipercolesterolemia o enfermedades relacionadas, o el potencial de desarrollar hipercolesterolemia o enfermedades relacionadas, con el propósito de curar, sanar, paliar, aliviar, alterar, remediar, mejorar o afectar la hipercolesterolemia o enfermedades relacionadas, los síntomas de hipercolesterolemia o enfermedades relacionadas, o el potencial de desarrollar hipercolesterolemia o enfermedades relacionadas. Dichos tratamientos pueden adaptarse o modificarse específicamente, basándose en los conocimientos
25 obtenidos en el campo de la farmacogenómica. Tal como se utiliza en el presente documento, "tratar" incluye la mejora sistémica de los síntomas asociados con la patología y/o un retraso en la aparición de los síntomas. Las pruebas clínicas y subclínicas del "tratamiento" variarán en función de la patología, el individuo y el tratamiento.

- 30 Tal como se usa en el presente documento, el término "prevenir" o "prevención" comprende la prevención de al menos un síntoma asociado con el estado, la enfermedad o el trastorno que se está previniendo o causado por los mismos. Tal como se emplea en el presente documento, el término "prevenir" o "prevención" también significa que no hay desarrollo del trastorno o la enfermedad si aún no ha aparecido, o que no hay un desarrollo posterior del trastorno o la enfermedad si ya han aparecido. También se tiene en cuenta la capacidad de prevenir algunos o todos los síntomas asociados al trastorno o la enfermedad.

- 35 Tal como se usa en el presente documento, "inhibir" significa disminuir una actividad, tal como la actividad de PCSK9 o la actividad de una molécula que se une a PCSK9.

Tal como se usa en el presente documento, el término "paciente", "individuo" o "sujeto" se refiere a un ser humano o a un mamífero no humano. Entre los mamíferos no humanos se incluyen, por ejemplo, el ganado y los animales de compañía, tales como ovinos, bovinos, porcinos, caninos, felinos y mamíferos marinos. Preferentemente, el paciente, sujeto o individuo es un ser humano.

- 40 Tal como se usan en el presente documento, las expresiones "cantidad eficaz", "cantidad farmacéuticamente eficaz" y "cantidad terapéuticamente eficaz" se refieren a una cantidad no tóxica, pero suficiente de un agente para proporcionar el resultado biológico deseado. Ese resultado puede ser la reducción o el alivio de los signos, síntomas o causas de una enfermedad, o cualquier otra alteración deseada de un sistema biológico. Un experto en la materia puede determinar la cantidad terapéutica adecuada en cada caso mediante experimentación ordinaria.

- 45 Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a un material, tal como un vehículo o diluyente, que no anula la actividad biológica o las propiedades del compuesto, y que es relativamente no tóxico, es decir, el material puede administrarse a un individuo sin causar efectos biológicos indeseables ni interactuar de manera perjudicial con cualquiera de los componentes de la composición en la que está contenido.

- 50 Tal como se utiliza en el presente documento, el término "composición" o la expresión "composición farmacéutica" se refiere a una mezcla de al menos un compuesto útil dentro de la invención con un vehículo farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica facilita la administración del compuesto a un paciente o sujeto. Existen en la técnica múltiples técnicas de administración de un compuesto, entre las que se incluyen la administración intravenosa, oral, en aerosol, parenteral, oftálmica, pulmonar y tópica.

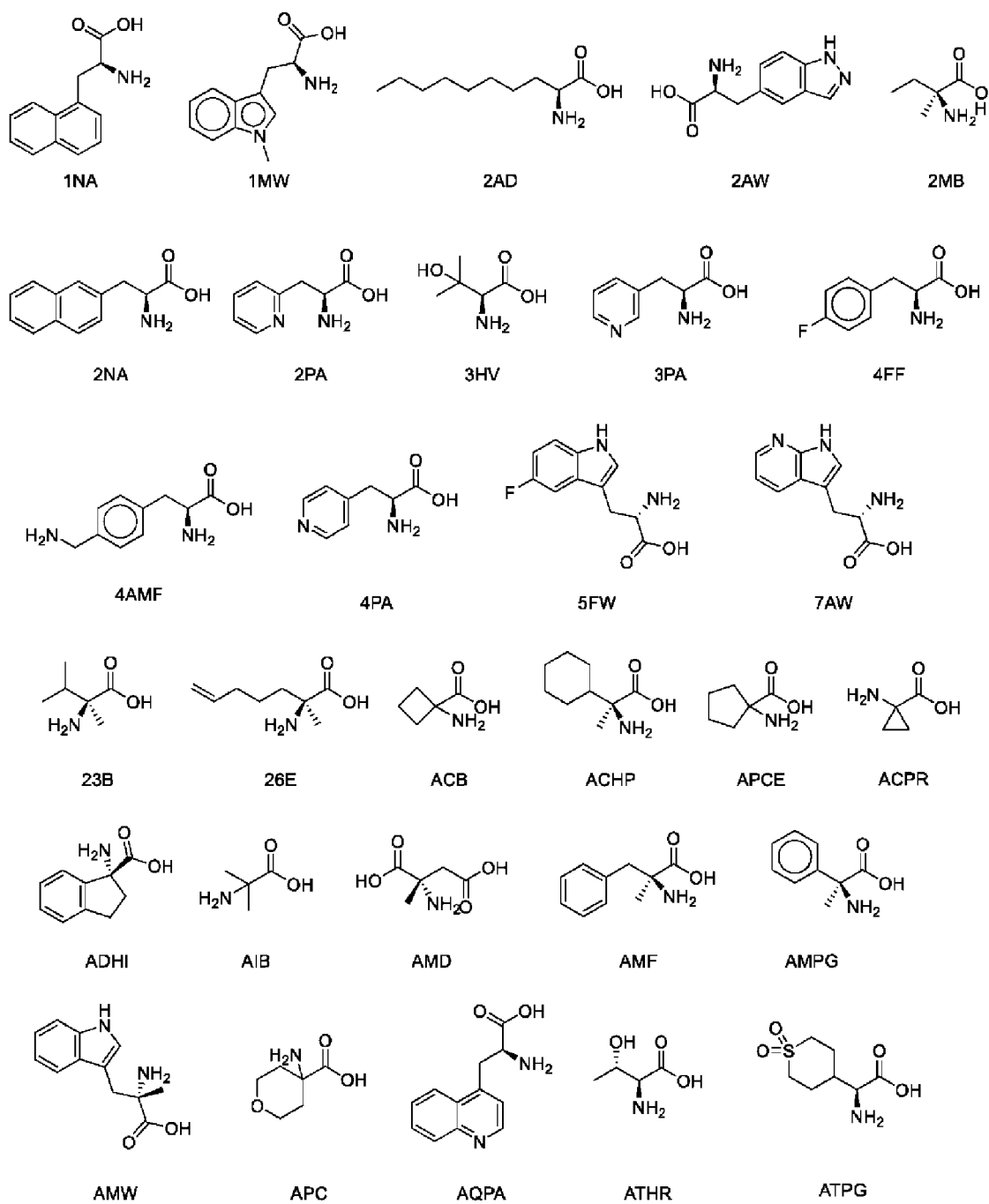
- 55 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" significa un material, una composición o un portador farmacéuticamente aceptable, tal como una carga líquida o sólida, estabilizador, agente dispersante, agente de suspensión, diluyente, excipiente, agente espesante, disolvente o material de encapsulación, que interviene en llevar o transportar un compuesto útil dentro de la invención dentro del paciente o al paciente de tal

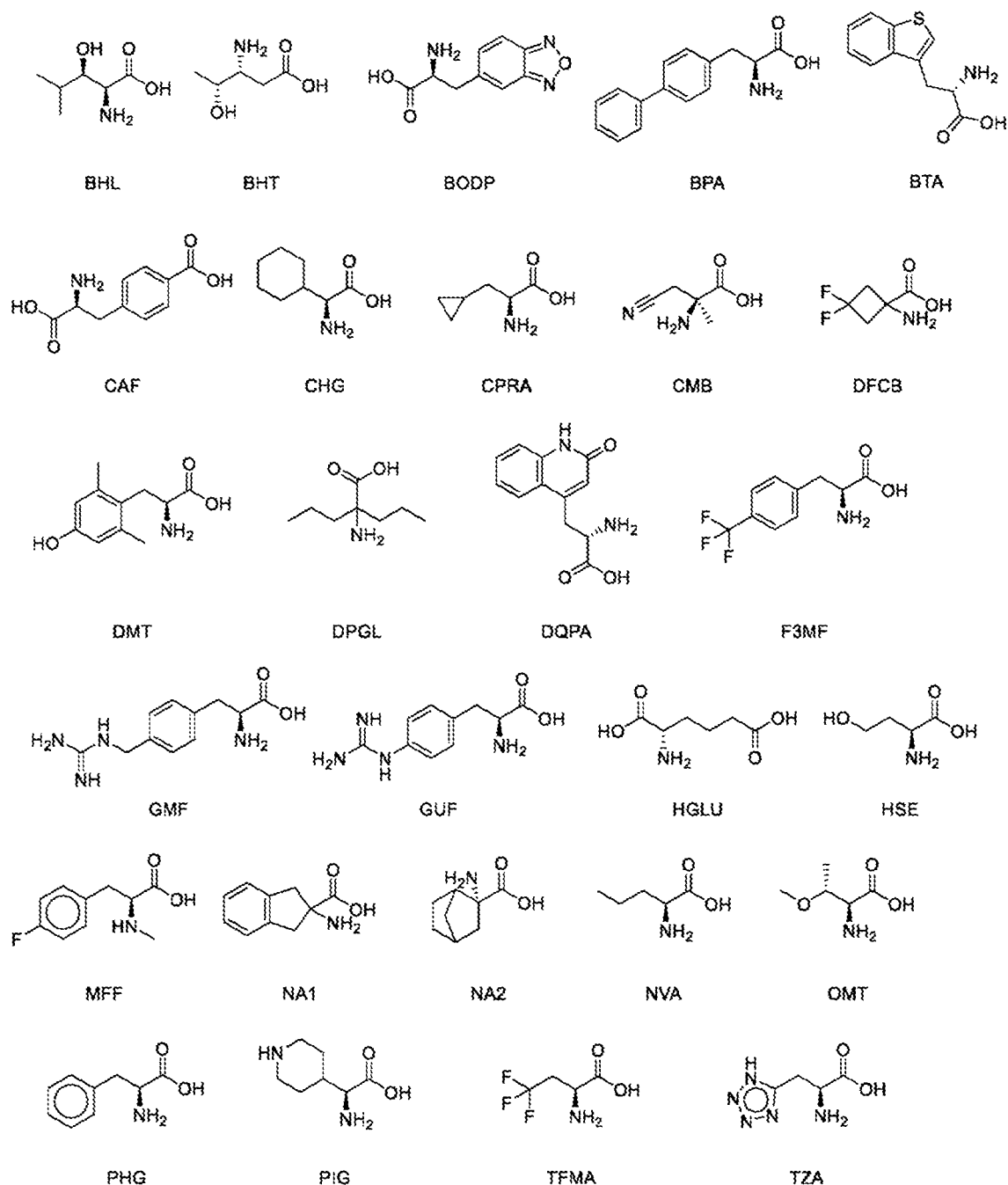
manera que pueda realizar su función prevista. Generalmente, dichas construcciones se llevan o transportan desde un órgano, o porción del cuerpo, a otro órgano, o porción del cuerpo. Cada vehículo debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los demás ingredientes de la formulación, incluido el compuesto útil dentro de la invención, y no perjudicial para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden actuar como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; glicoles, tal como propilenglicol; polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes tamponadores, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; agentes tensioactivos; ácido algínico; agua apirógena; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico; soluciones de tampón fosfato; y otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas.

Tal como se usa en el presente documento, "vehículo farmacéuticamente aceptable" también incluye todos y cada uno de los recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes retardadores de la absorción y similares que son compatibles con la actividad del compuesto útil dentro de la invención, y que son fisiológicamente aceptables para el paciente. También pueden incorporarse a las composiciones compuestos activos suplementarios. El "vehículo farmacéuticamente aceptable" puede incluir además una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto útil dentro de la invención. Otros ingredientes adicionales que pueden incluirse en las composiciones farmacéuticas utilizadas en la práctica de la invención son conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences (Genaro, ed., Mack Publishing Co., 1985, Easton, PA).

Por "sal farmacéuticamente aceptable" se entiende una sal de un ácido o base libre de los compuestos proporcionados en el presente documento que no es tóxica, es biológicamente tolerable o es biológicamente adecuada de otro modo para su administración al sujeto. Debe poseer la actividad farmacológica deseada del compuesto original. Véase, en general, G.S. Paulekuhn, *et al.*, "Trends in Active Pharmaceutical Ingredient Salt Selection based on Analysis of the Orange Book Database", J. Med. Chem., 2007, 50:6665-6672, S.M. Berge, *et al.*, "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci., 1977, 66:1-19e y Handbook of Pharmaceutical Salts, Properties, Selection, and Use, Stahl y Wermuth, eds., Wiley-VCH y VHCA, Zúrich, 2002. Algunos ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables son aquellas que son farmacológicamente eficaces y adecuadas para el contacto con los tejidos de los pacientes sin toxicidad, irritación o respuesta alérgica indebidas. Los compuestos proporcionados en el presente documento pueden poseer un grupo suficientemente ácido, un grupo suficientemente básico, o ambos tipos de grupos funcionales y, en consecuencia, pueden reaccionar con una serie de bases inorgánicas u orgánicas y ácidos inorgánicos y orgánicos para formar una sal farmacéuticamente aceptable.

Tal como se utilizan en el presente documento, los aminoácidos no naturales utilizados en esta invención tienen el siguiente código y estructura de aminoácidos:



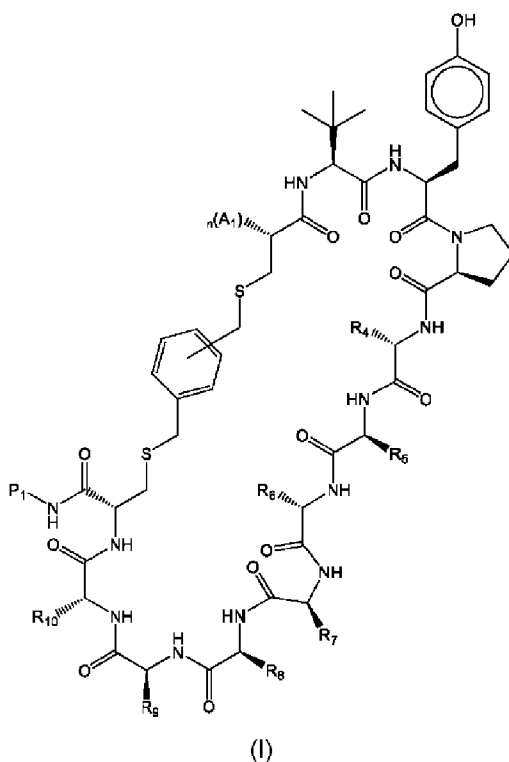


Compuestos

Se proporcionan en el presente documento compuestos polipeptídicos cíclicos (también denominados en el presente documento "compuestos de la invención") que son útiles para inhibir la actividad de PCSK9. En un aspecto, los compuestos de la invención son útiles para inhibir la interacción entre PCSK9 y el dominio EGF-A de LDLR en un sujeto. Además, los compuestos de la invención son útiles para reducir el nivel de colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL) en un sujeto. El sujeto cuyo colesterol LDL se está reduciendo puede tener un diagnóstico de niveles elevados de LDL. El sujeto también puede tener hipercolesterolemia.

En otro aspecto, los compuestos de la invención son útiles para tratar o prevenir la hipercolesterolemia. Además, los compuestos de la invención son útiles para tratar o prevenir enfermedades que presentan comorbilidad con la hipercolesterolemia.

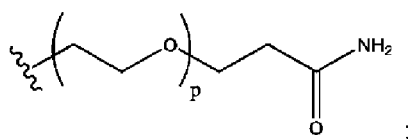
En otro aspecto, se proporcionan en el presente documento péptidos cíclicos que tienen la estructura de la fórmula (I):



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;

en la que:

- 5 A_1 es un aminoácido protegido con acilo o sulfonilo seleccionado del grupo que consiste en NVA y GUF, o es una amina protegida con acilo;
- R_4 se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de ALA, THR, 7AW y 3HV;
- R_5 se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de 7AW, ALA, 1NA, TRP, THR y NVA;
- 10 R_6 se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de NVA, ALA, GLU, AIB, 2AD, 7AW, APC, APCE, ACB, DPGL, AMPG, ACPR, 2MB, DFCB, NA1, NA2, ACHP y ADHI;
- R_7 se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de GLU, NVA, ALA, TYR, HIS y HSE;
- R_8 se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de HIS, GLU, TYR, 23B, DMT, 7AW, ALA;
- 15 R_9 se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de 7AW, TYR, 23B, THR, AIB, ACHP, CHG, NVA, ALA y GLU;
- R_{10} se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de PHG, CHG, NVA, THR, ALA, GLU y 23B;
- P_1 es H, metilo, un grupo acetilo o



20

n es 0 o 1;

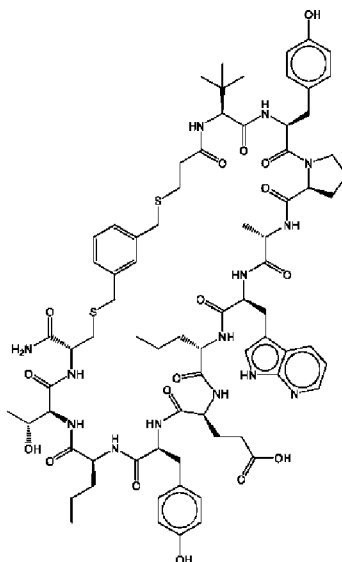
p es 2, 3 o 4;

en el que cada residuo de aminoácido es opcionalmente un aminoácido N-metilado; y

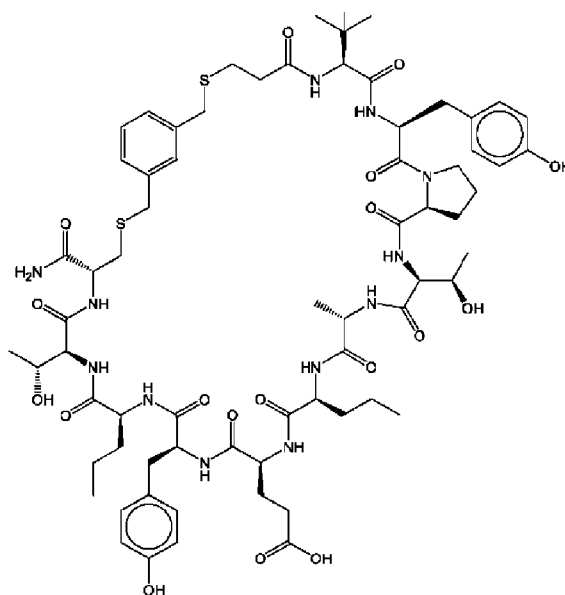
en el que cada residuo de aminoácido puede estar en la configuración R o S.

En una realización, el compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se selecciona de entre los siguientes compuestos de la tabla 1 a continuación:

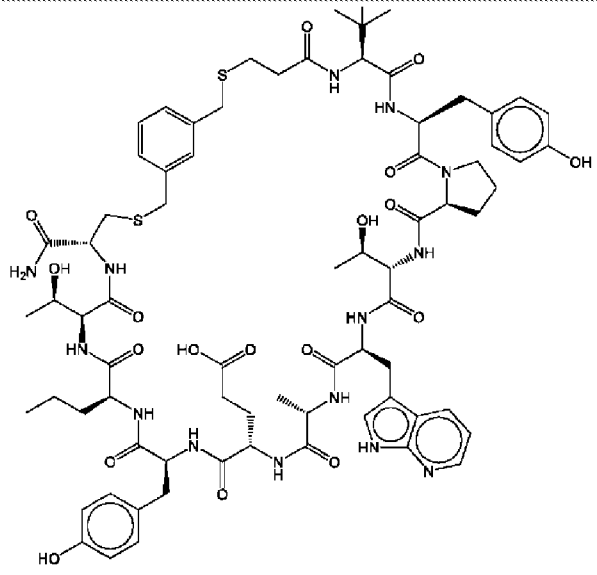
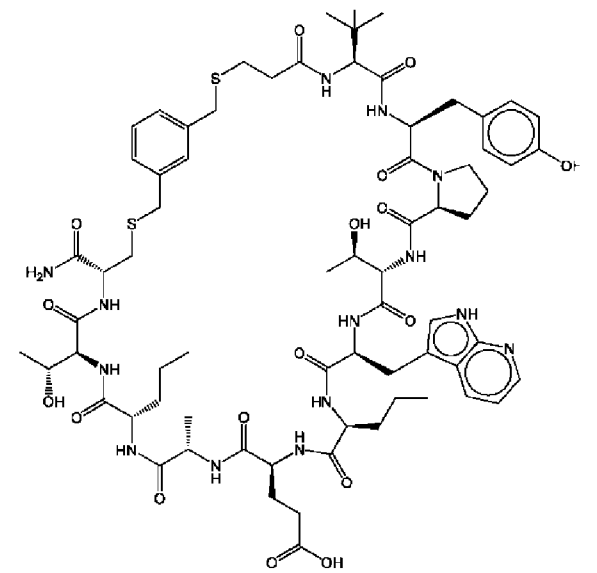
144

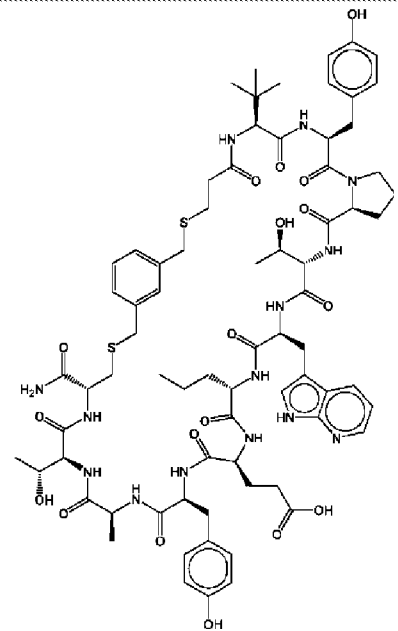
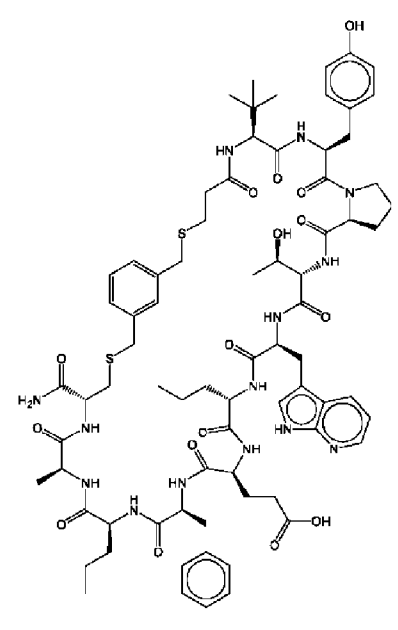


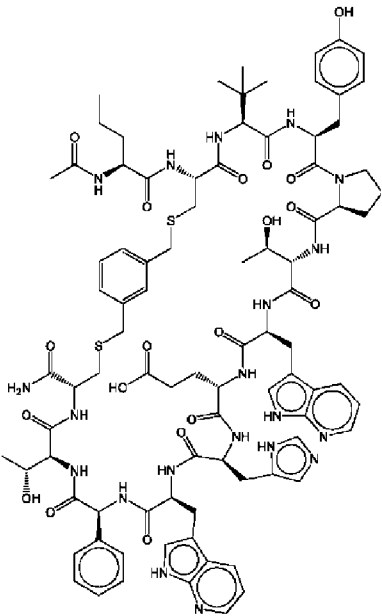
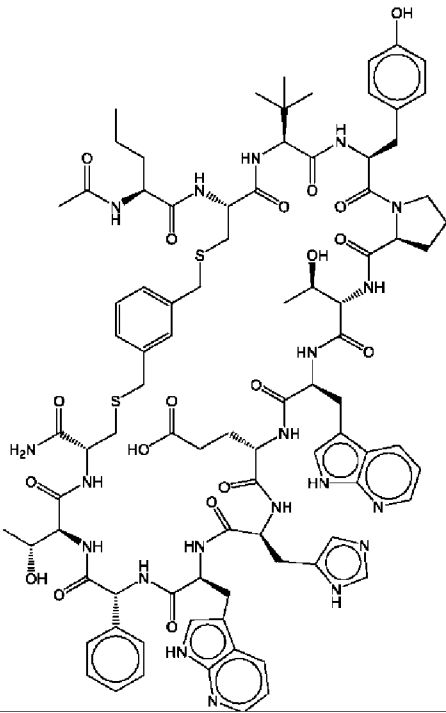
145

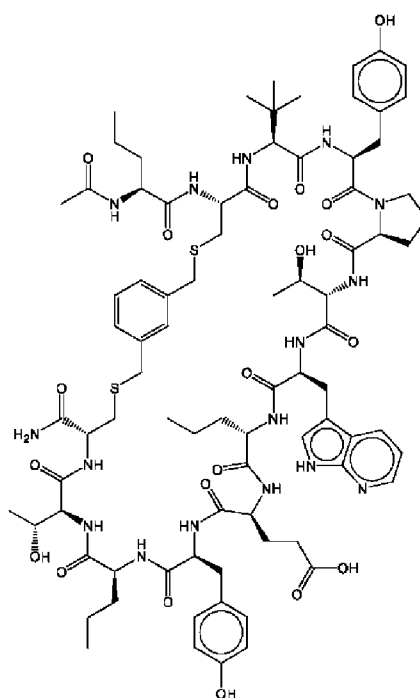
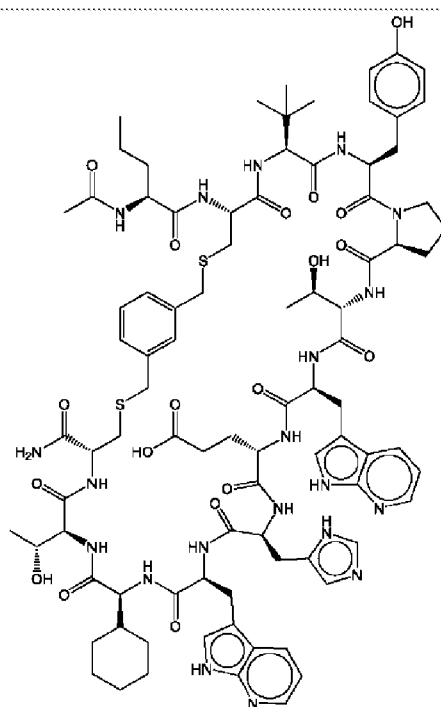


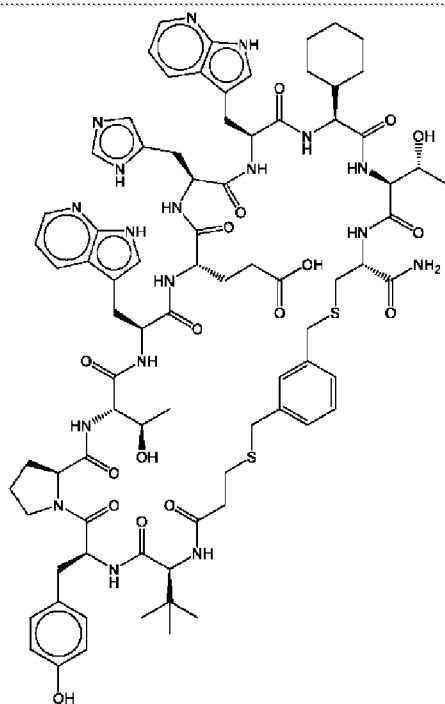
146

	
147	
148	

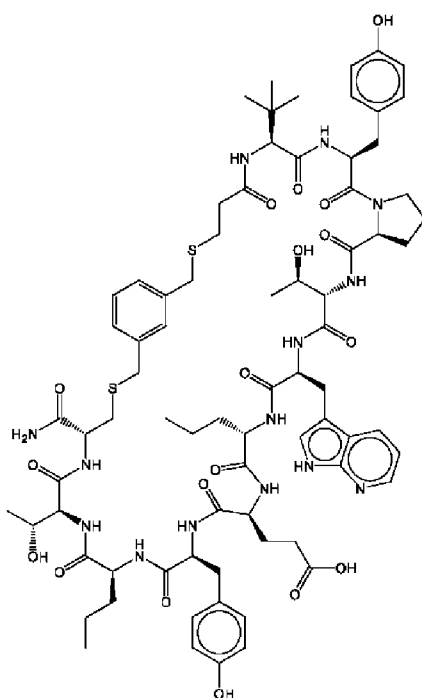
	
149	
150	

	
151	
152	

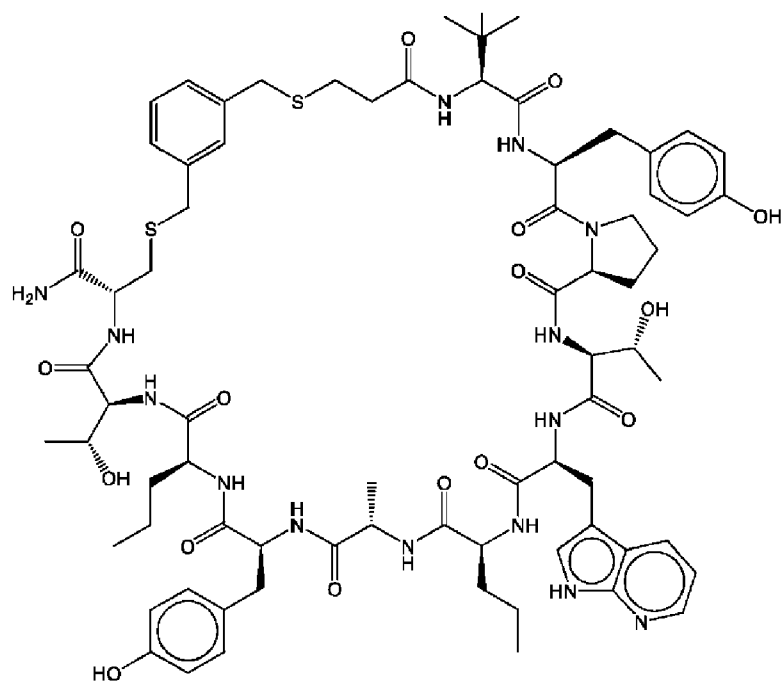
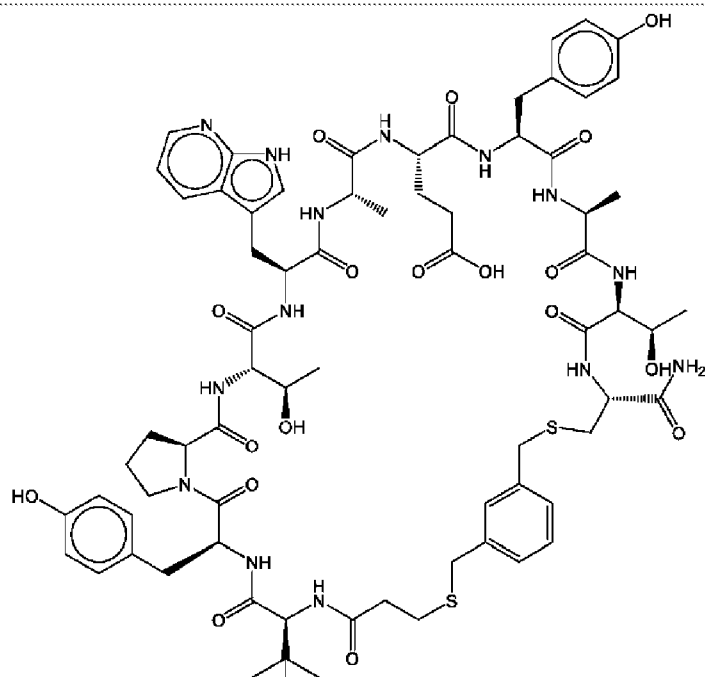




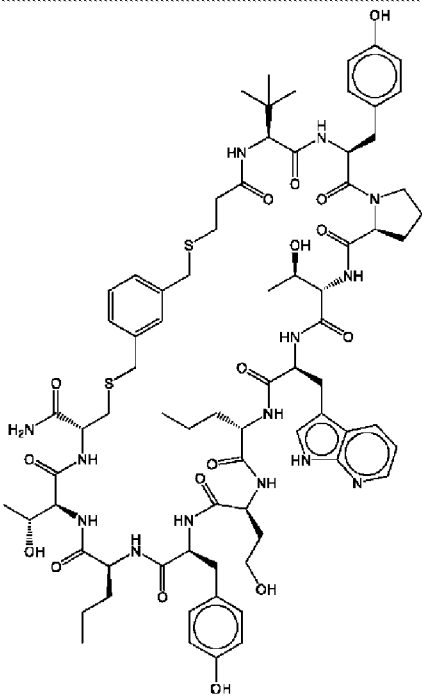
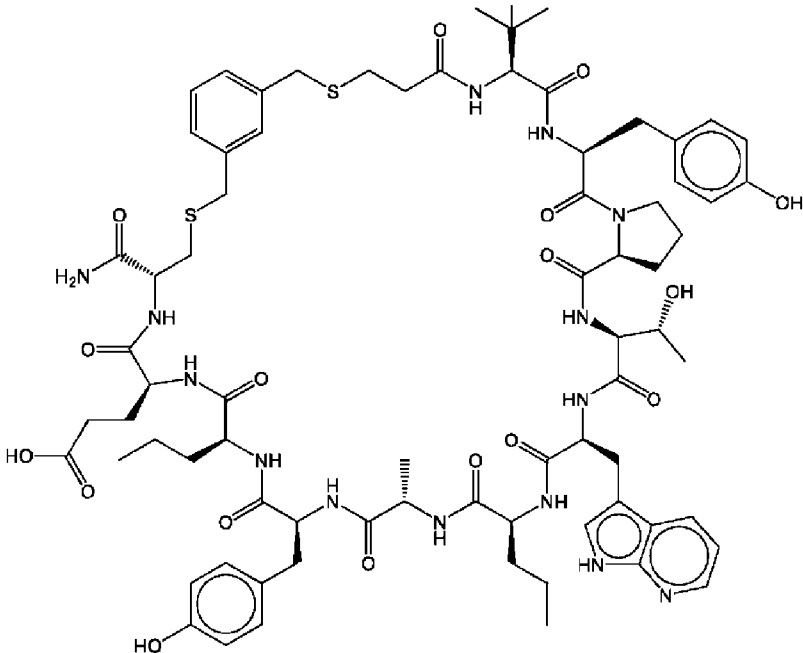
155

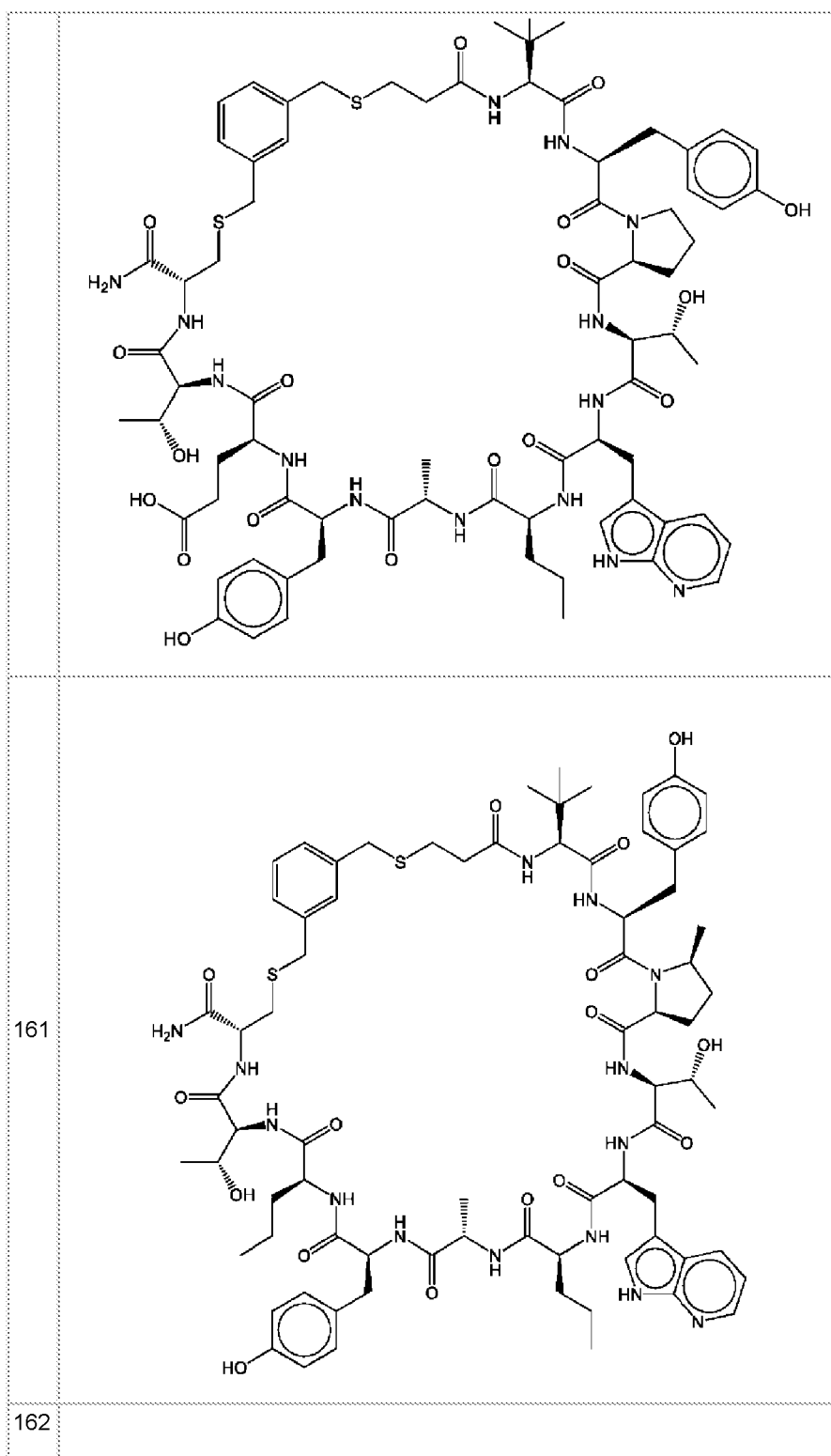


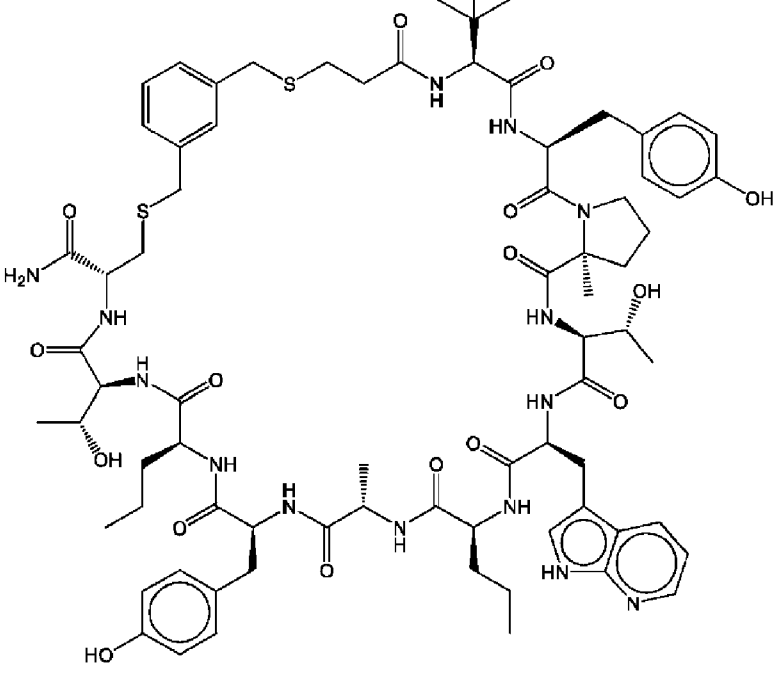
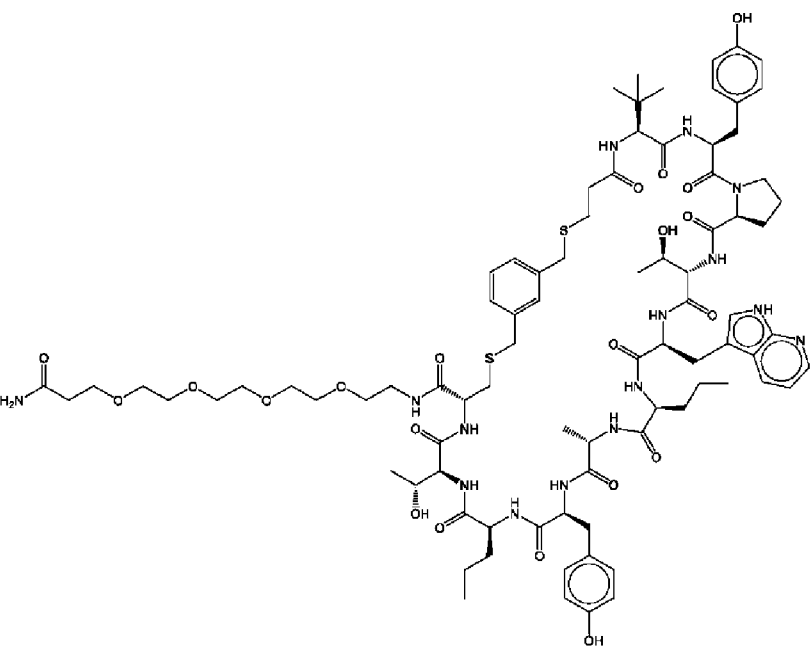
156

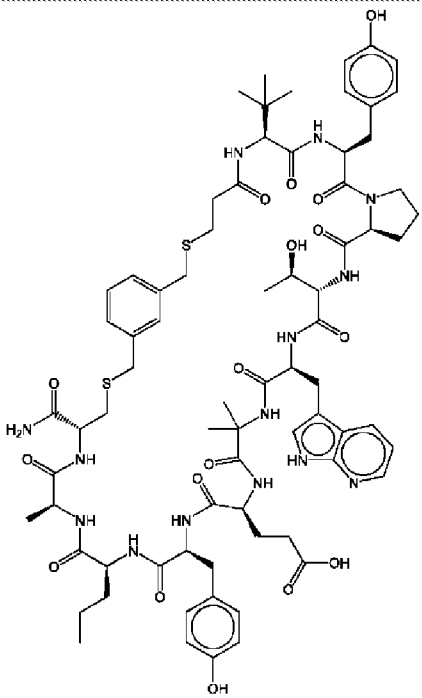
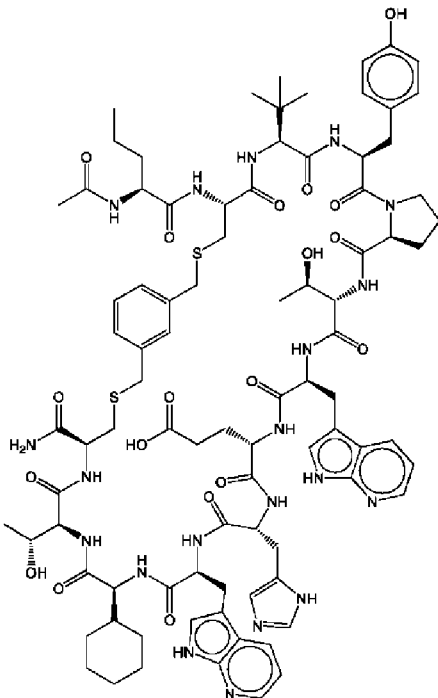


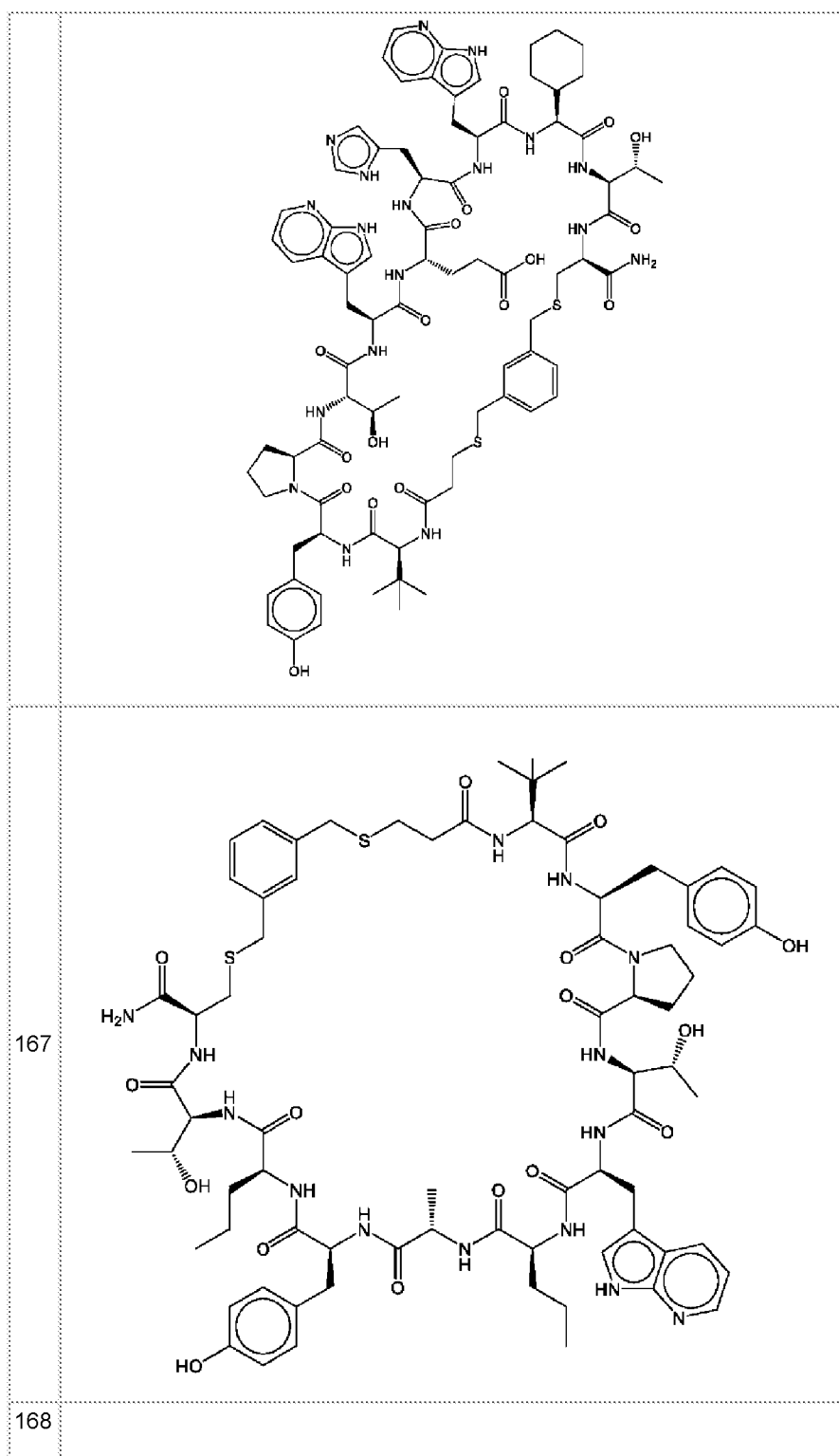
158

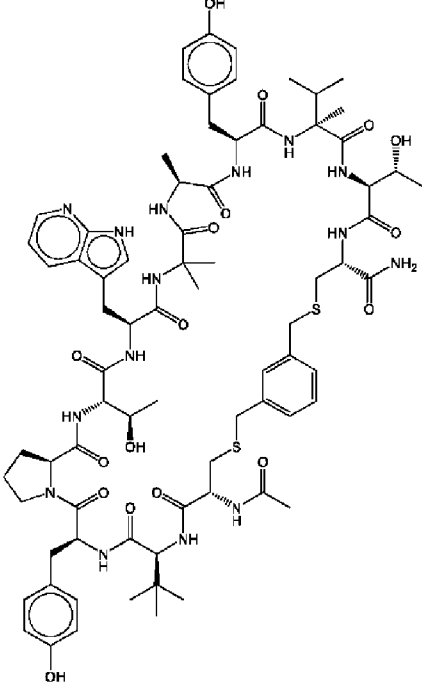
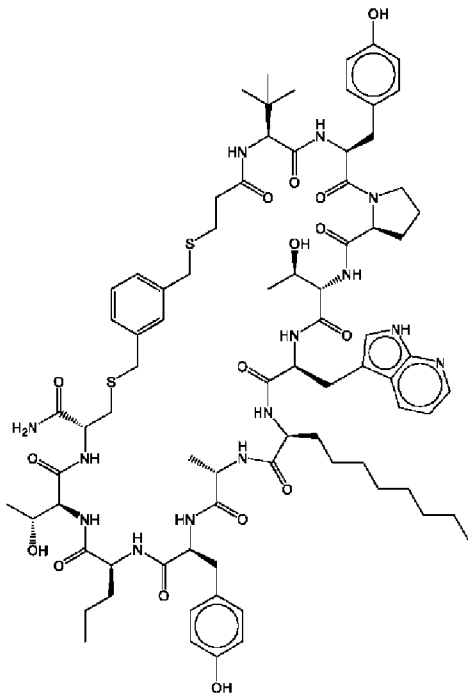
	
159	
160	

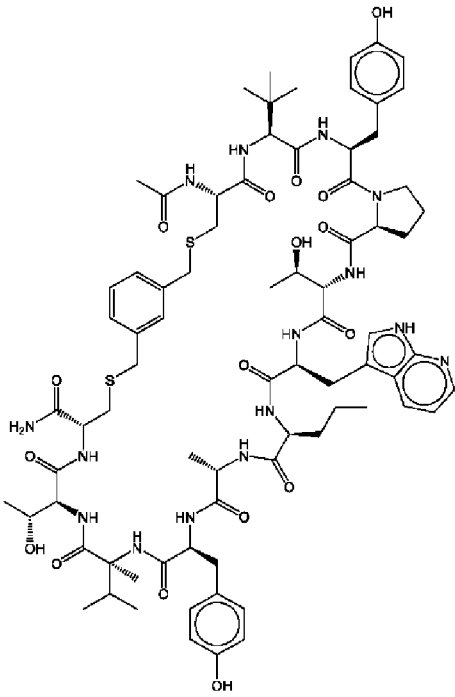
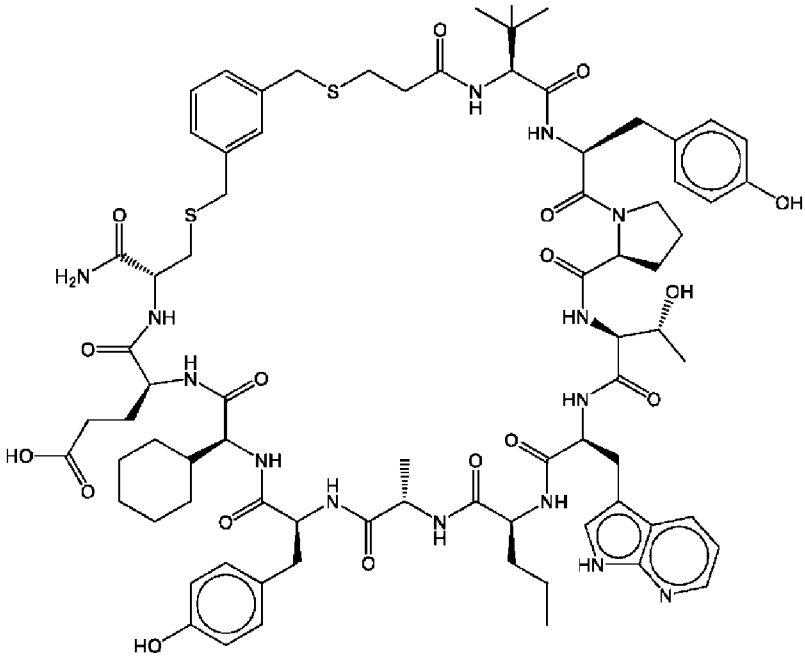


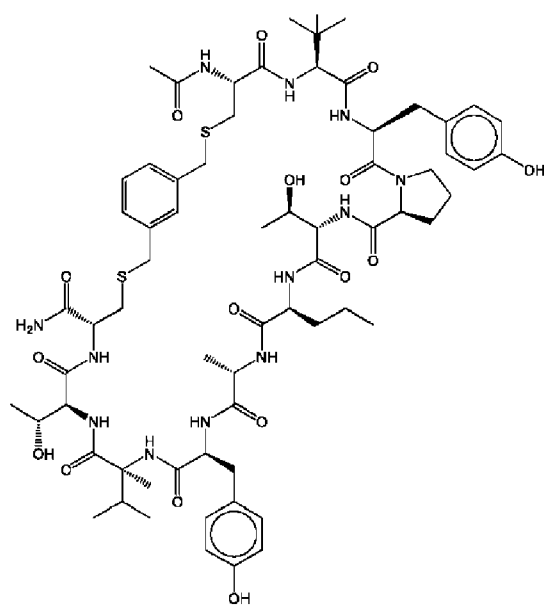
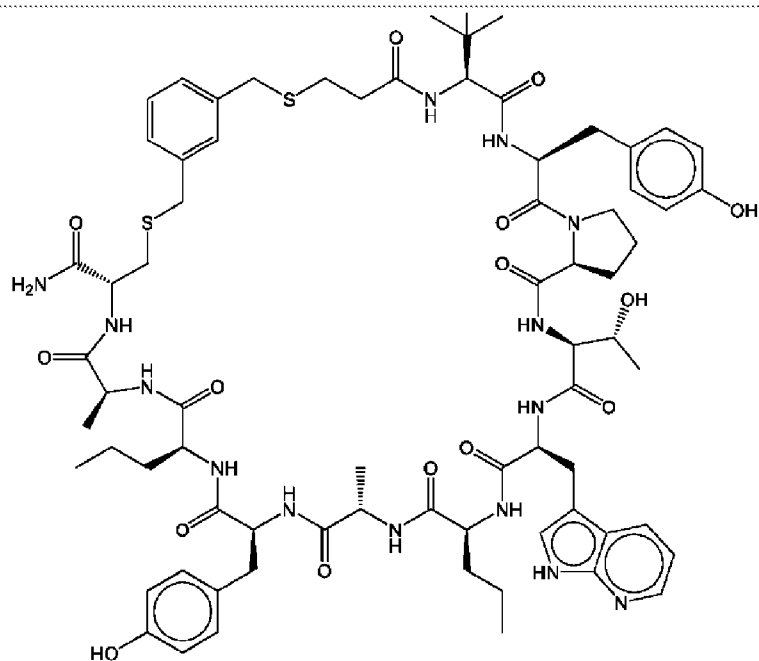
	
163	
164	

	
165	
166	

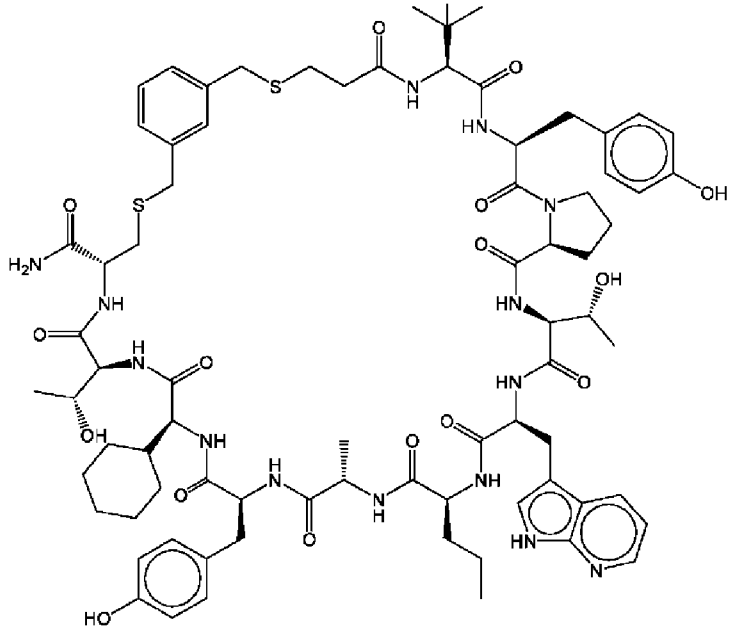
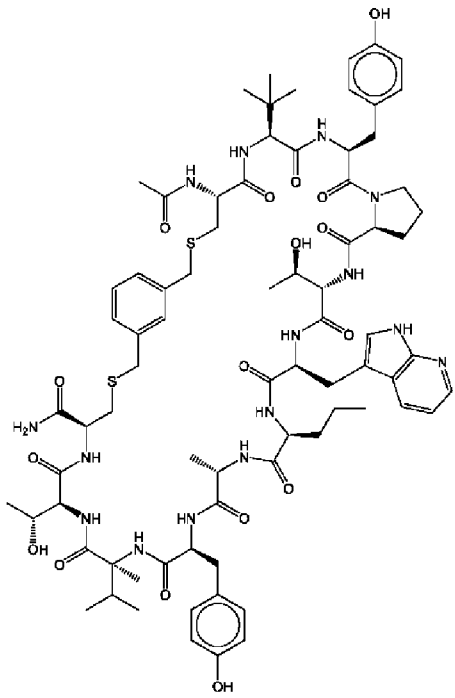


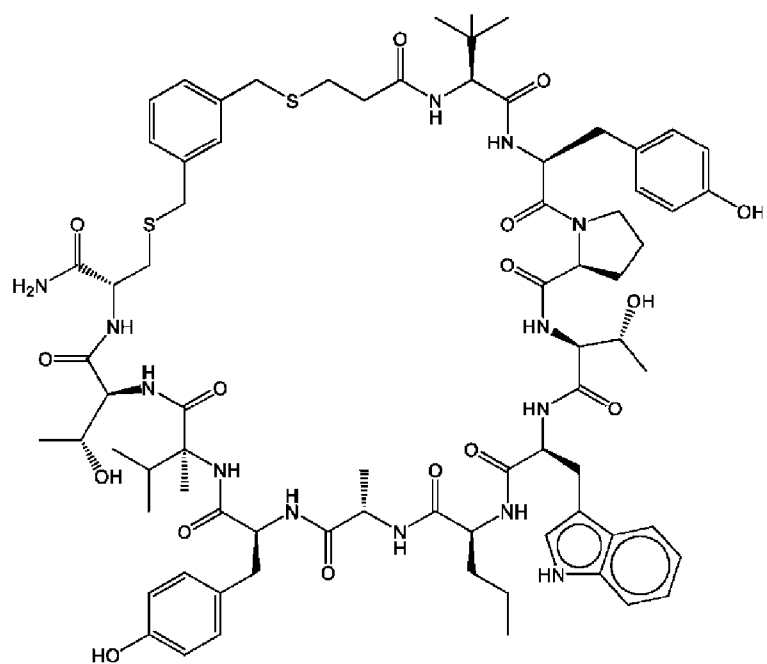
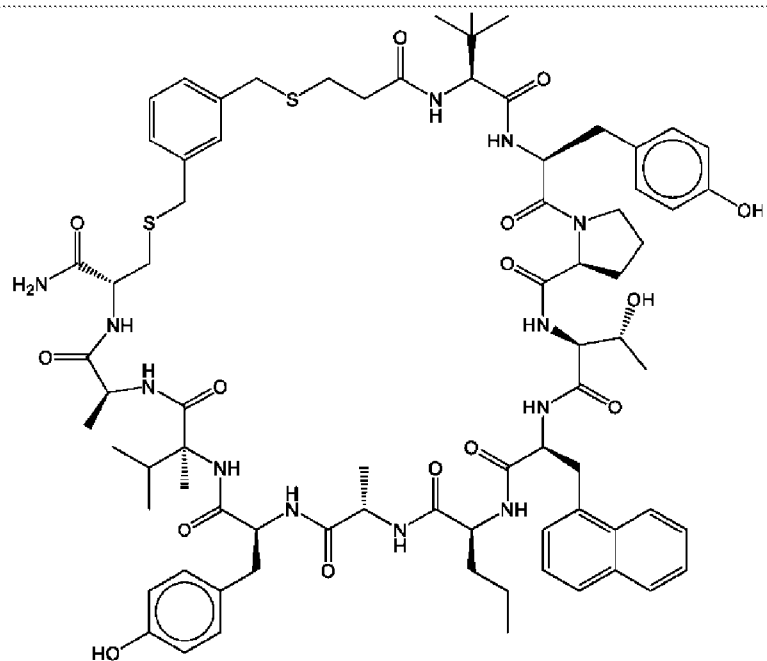
	
169	
170	

	
171	
172	

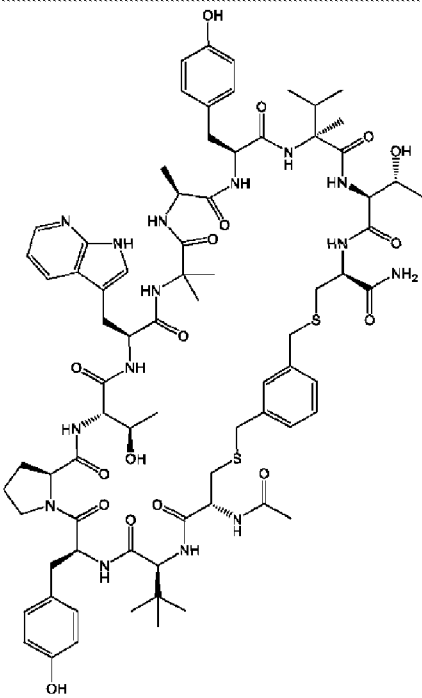
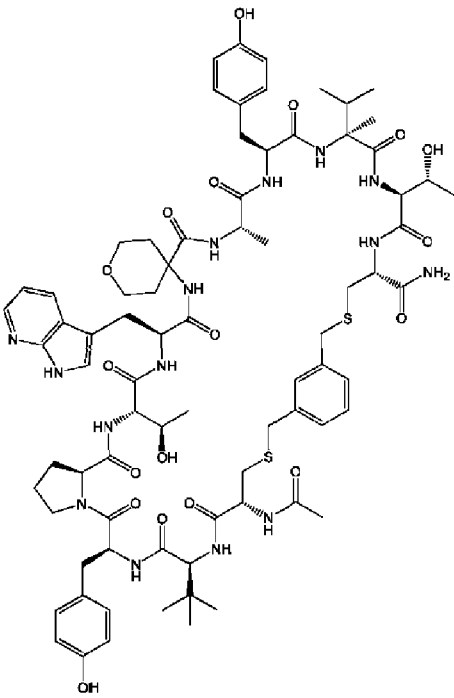


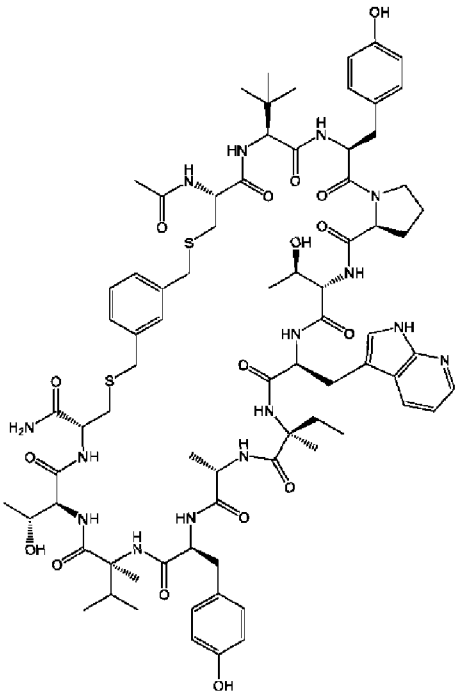
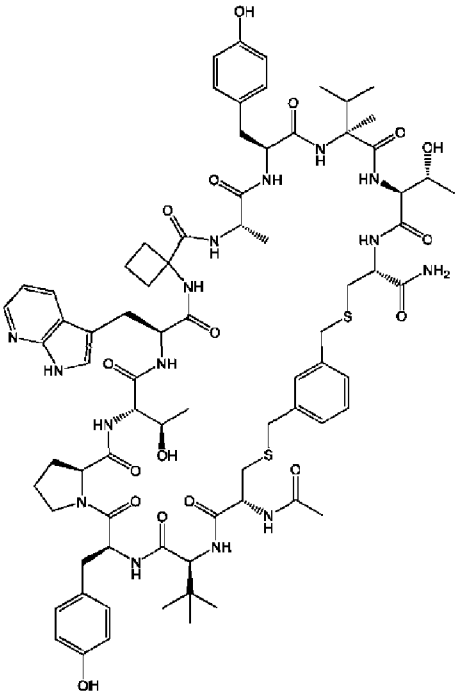
174

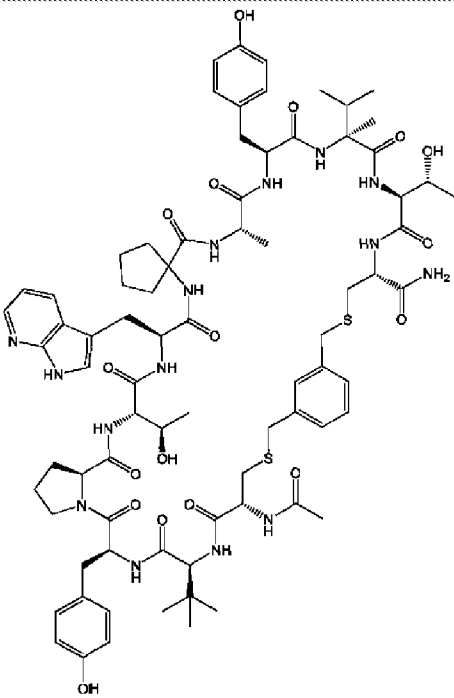
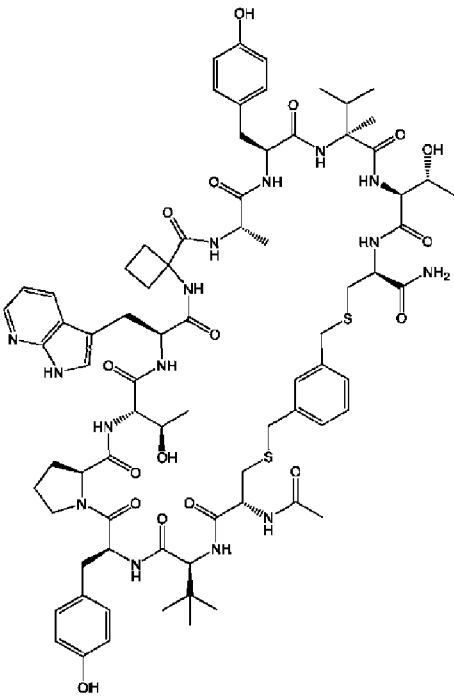
	
175	
176	

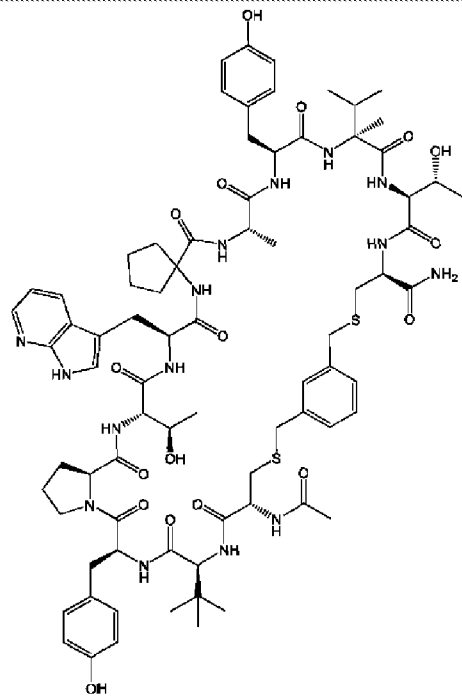
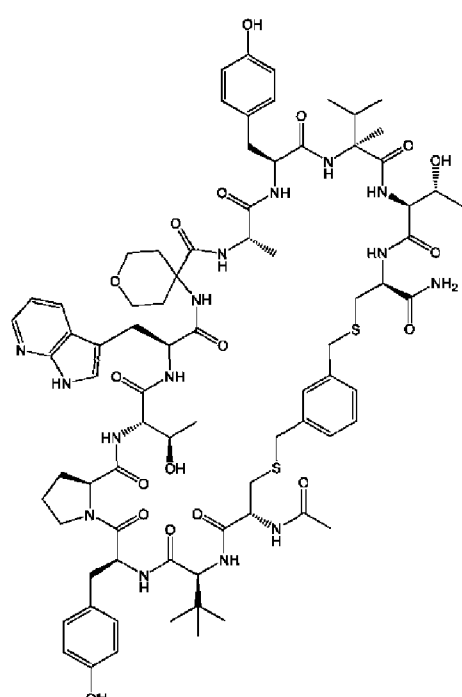


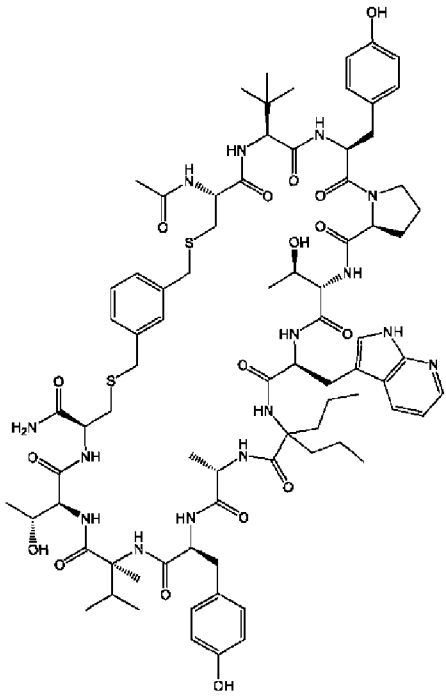
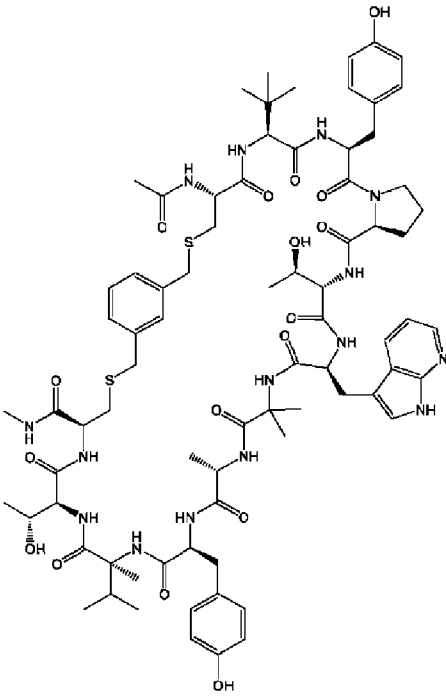
178

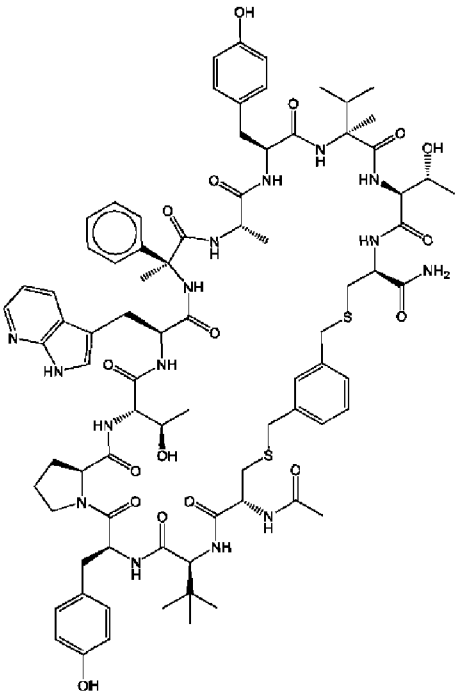
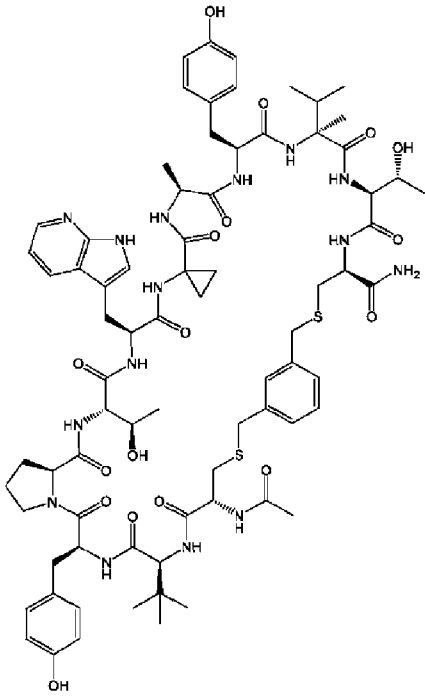
	
181	
182	

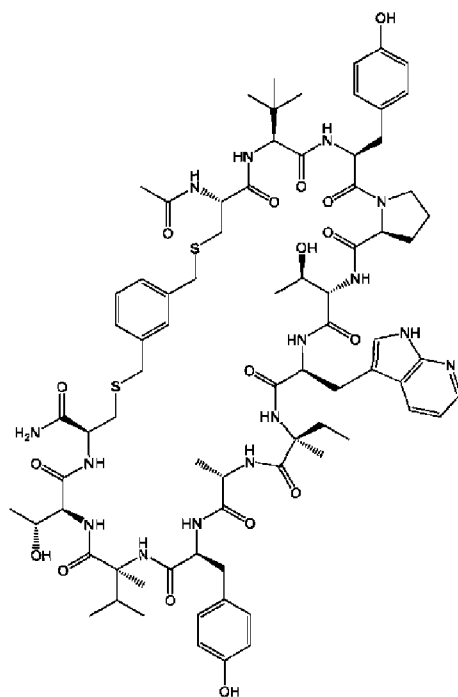
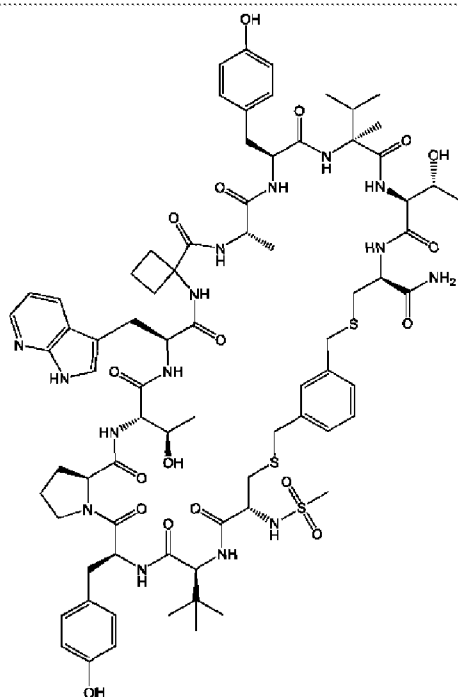
	
183	
184	

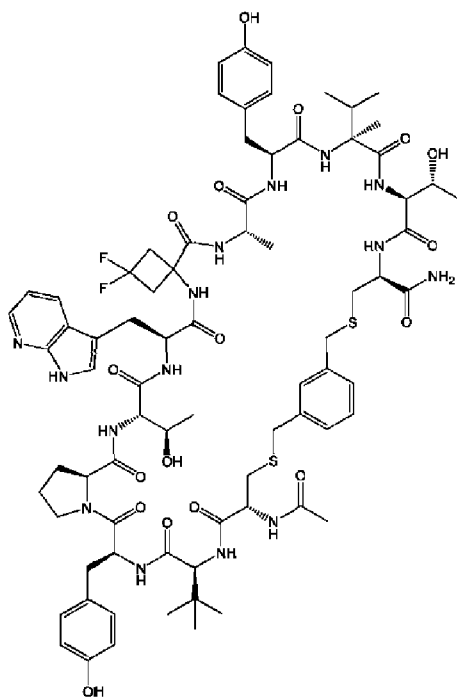
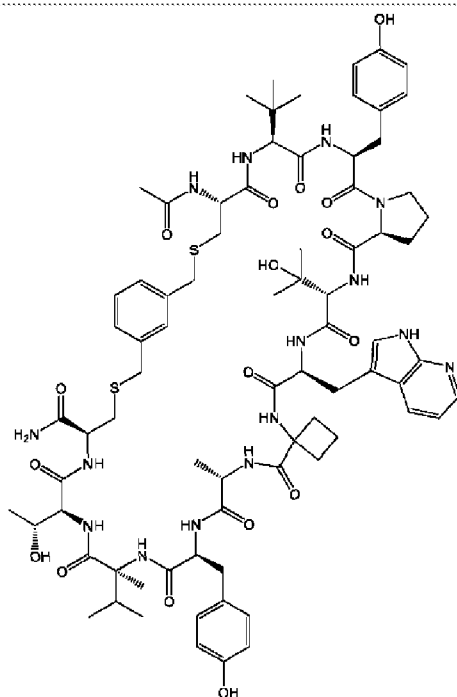
	
185	
186	

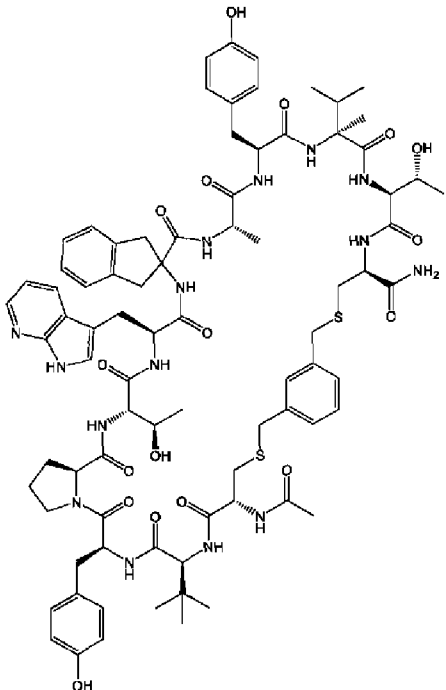
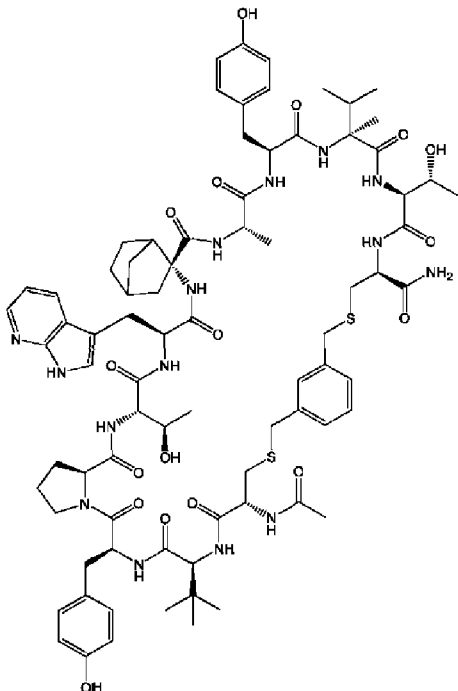
	
187	
188	

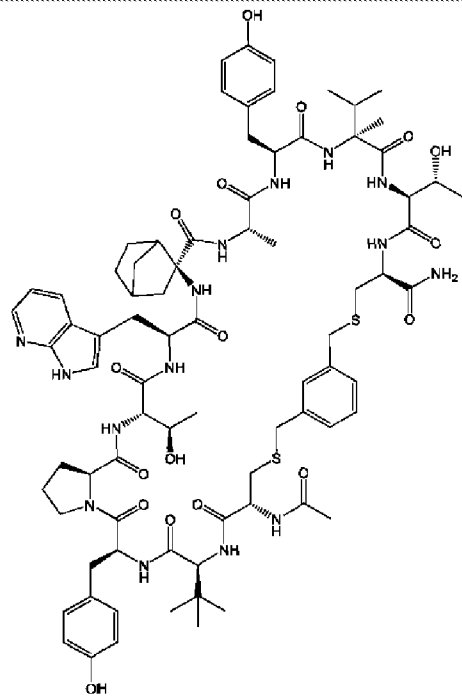
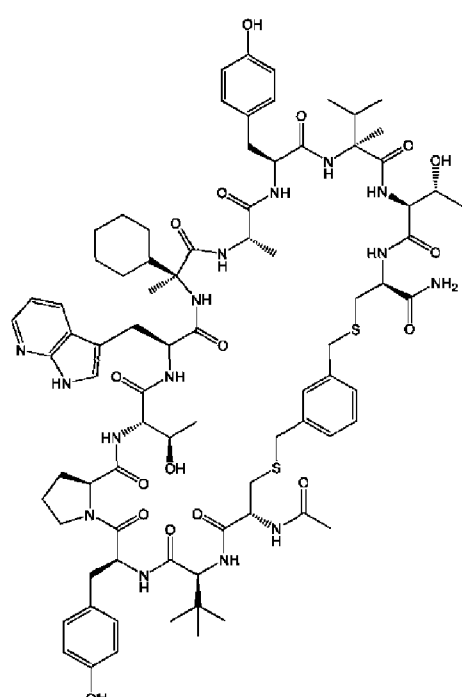
	
189	
190	

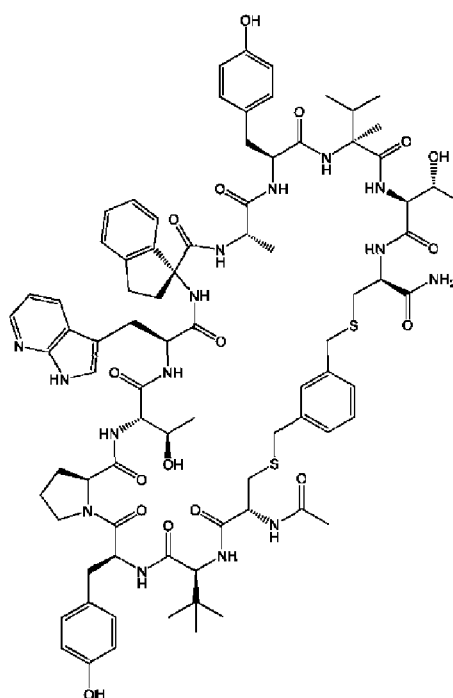
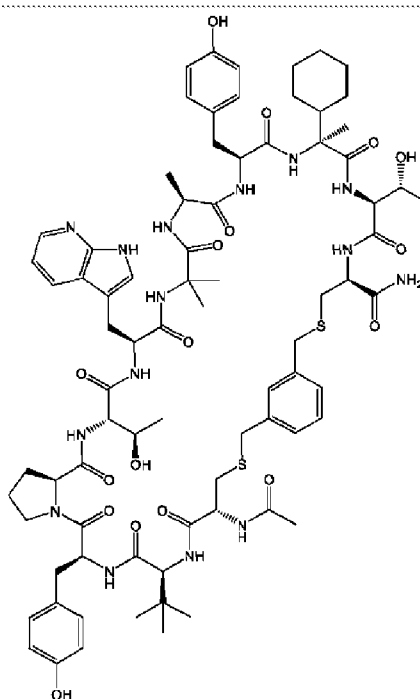
	
191	
192	

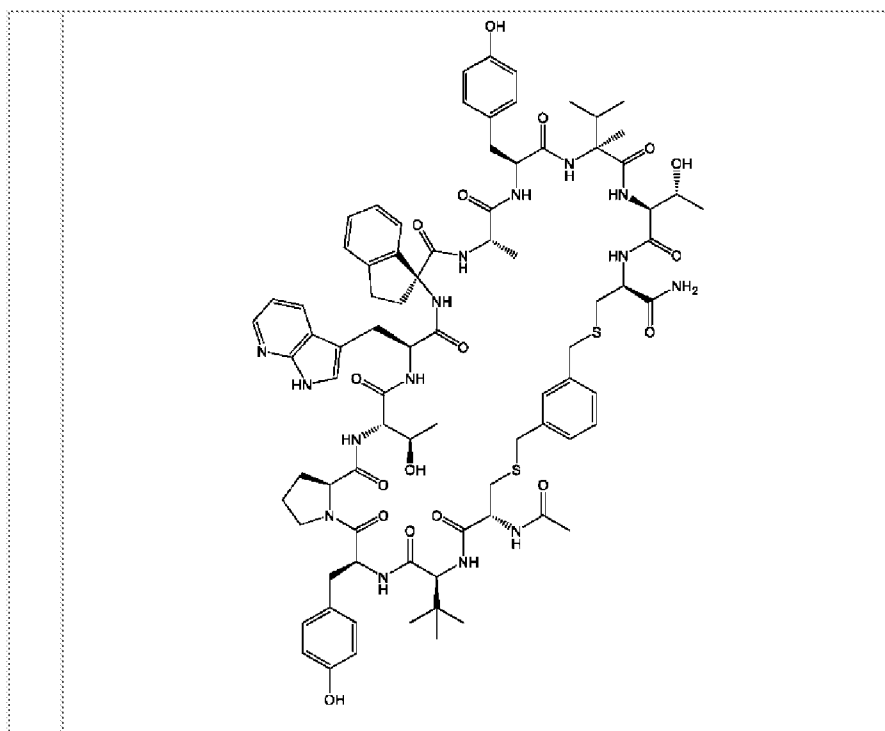




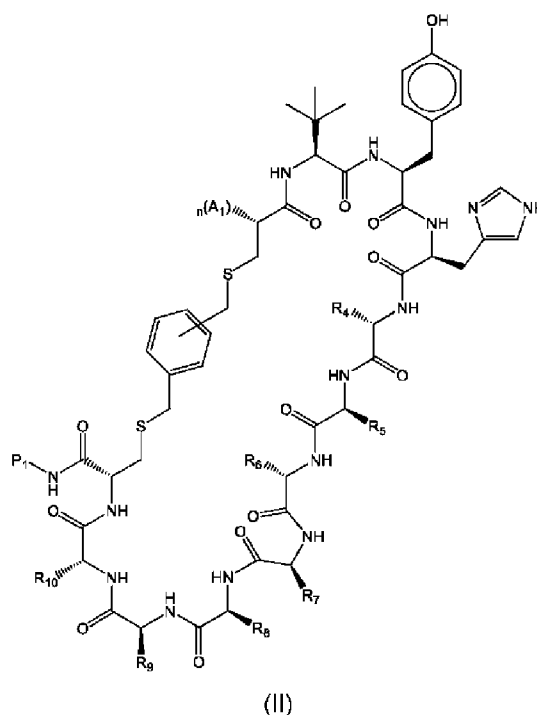
	
197	
198	

	
199	
200	





En otro aspecto, se proporcionan en el presente documento péptidos cíclicos que tienen la estructura de la fórmula (II):



- 5 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;
en la que:

A_1 es un aminoácido protegido con acilo o sulfonilo seleccionado del grupo que consiste en NVA y GUF, o es una amina protegida con acilo;

- 10 R_4 se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de ALA, ASN, ASP, CMB, 3HV, BHL, ATHR, BHT, OMT, THR y 7AW;

R₅ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de 7AW, TFMA, AIB, ALA, 2NA, 1NA, AQPA, NVA, 5FW, 1MW, BTA, AMW, BODP, DQPA, 2PA, 3PA, 4PA y TRP;

R₆ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de ACPR, 2MB, AIB, ALA, ASN, CHG, 4FF, GLU, HIS, AMPG, APCE, APC, CPRA, NVA, PRO, 23B, 7AW, y 26E;

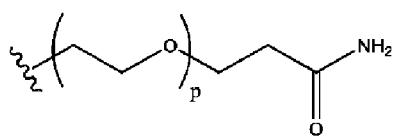
5 R₇ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de ALA, ASP, TZA, AMD, HGLU, CAF, GLU, HSE y TYR;

R₈ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de ALA, 4FF, MFF, F3MF, AMF, BPA, GUF, 4AMF, NVA, PHE, GMF, TYR, 23B, 7AW, 5FW, 2AW y DMT;

10 R₉ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de TFMA, ALA, CHG, AMPG, ATPG, PIG, CPRA, NVA, PHG, THR y 23B;

R₁₀ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de ALA, HIS, THR y 26E;

P₁ es H, metilo, un grupo acetilo, o



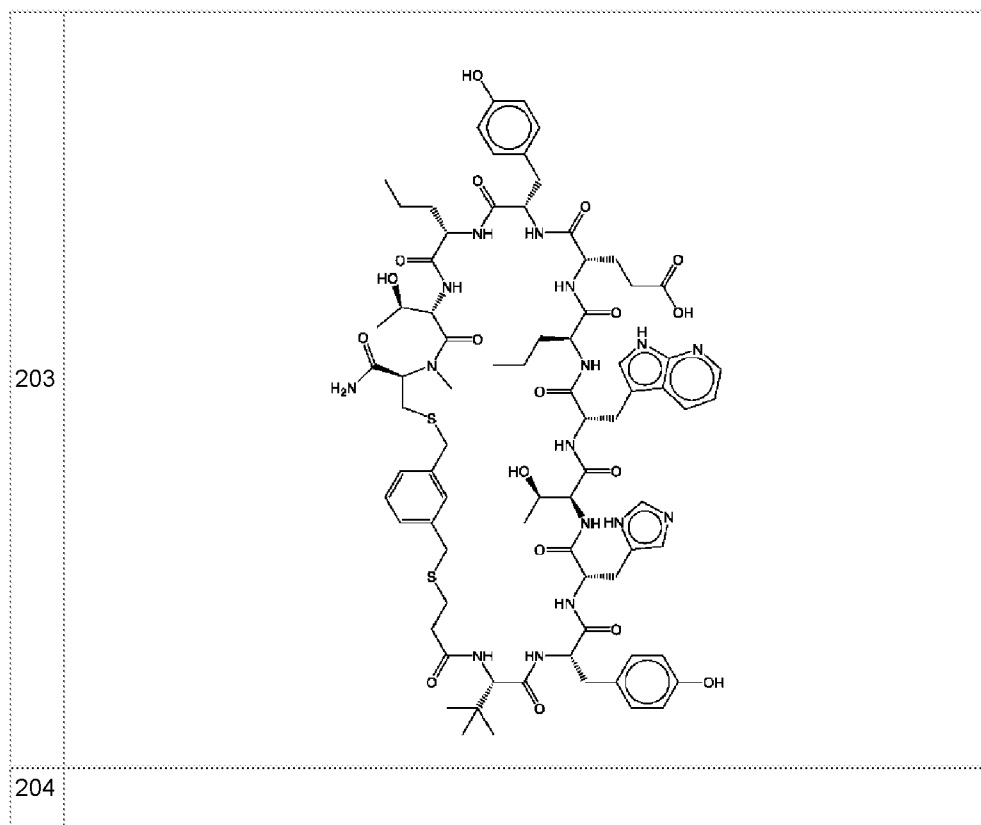
n es 0 o 1;

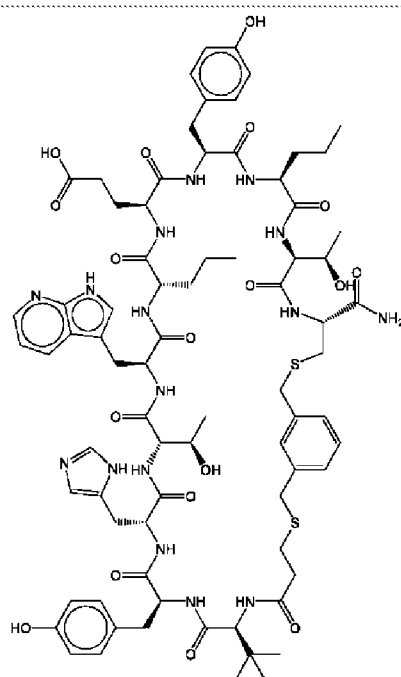
15 p es 2, 3, 4, 5 o 6;

en el que cada residuo de aminoácido es opcionalmente un aminoácido N-metilado; y

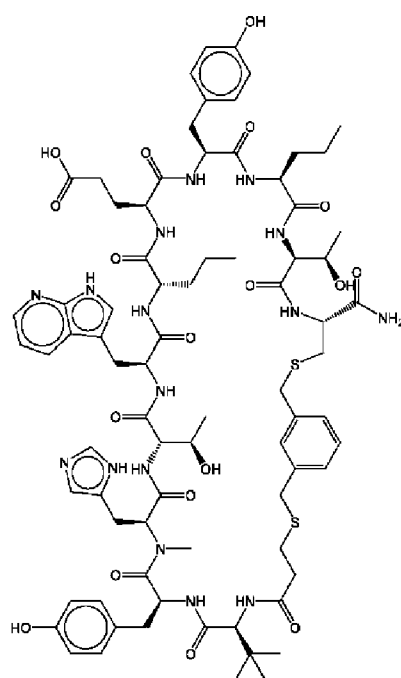
en el que cada residuo de aminoácido puede estar en la configuración R o S.

En una realización, el compuesto de fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se selecciona de entre los siguientes compuestos de la tabla 2 a continuación:

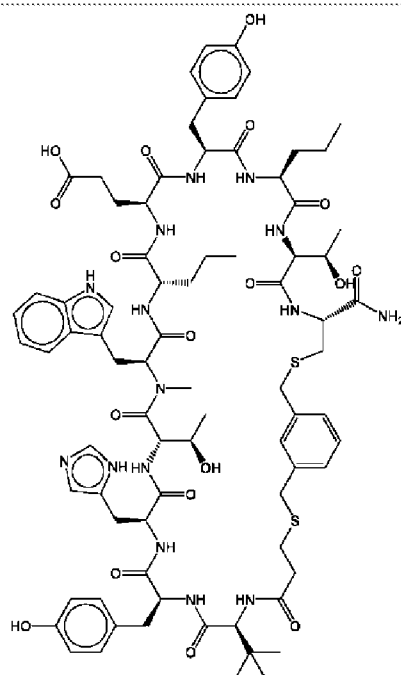




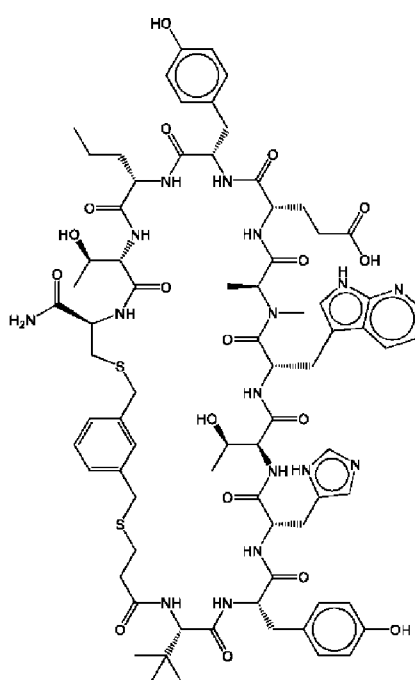
205



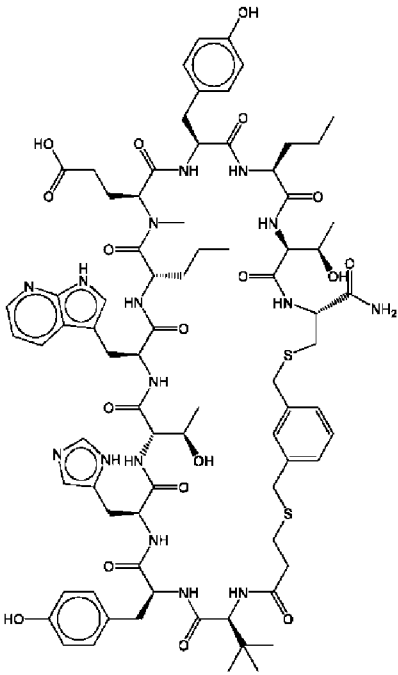
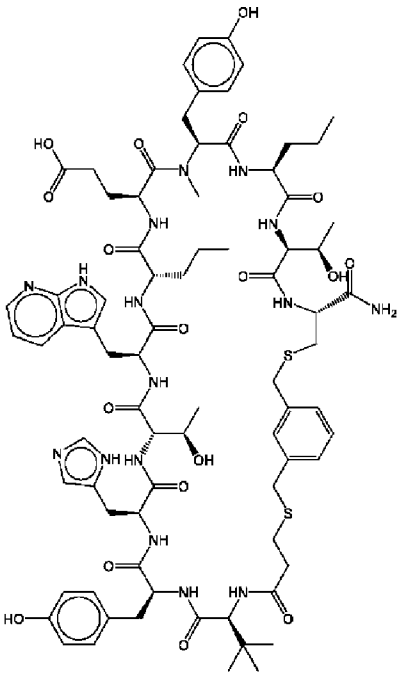
206

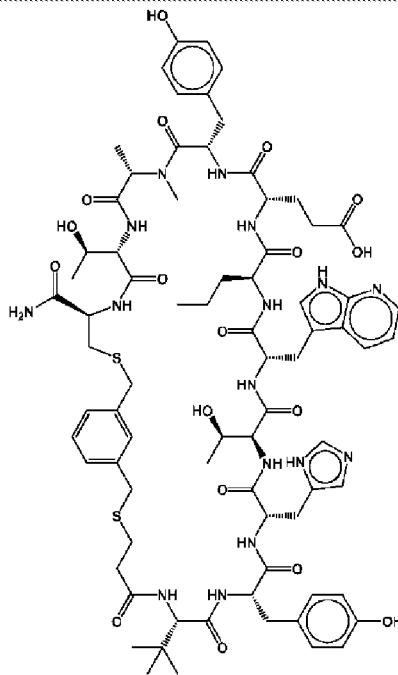
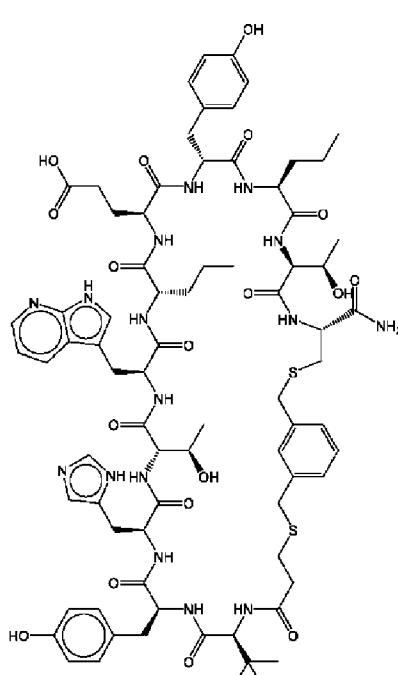


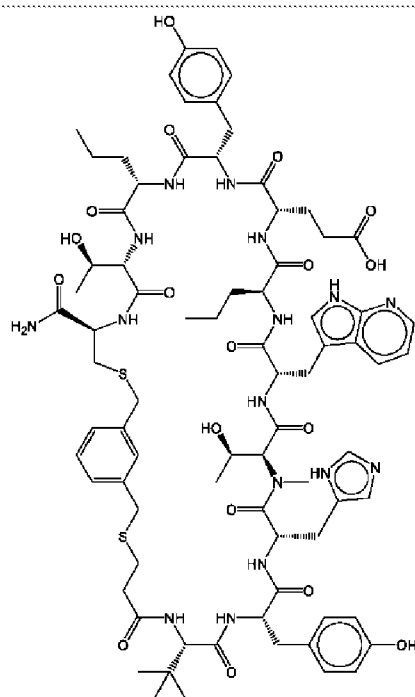
207



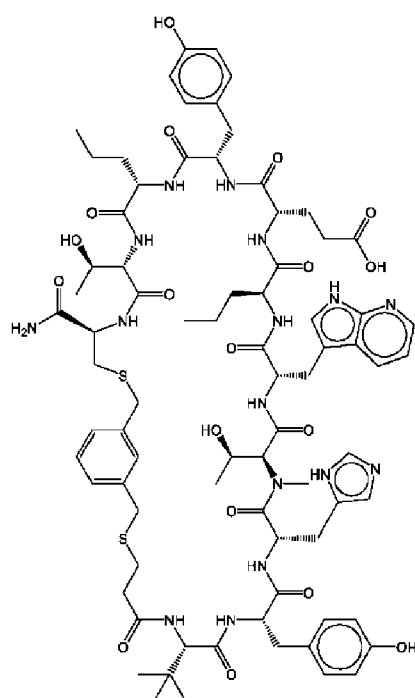
208

	
209	
210	

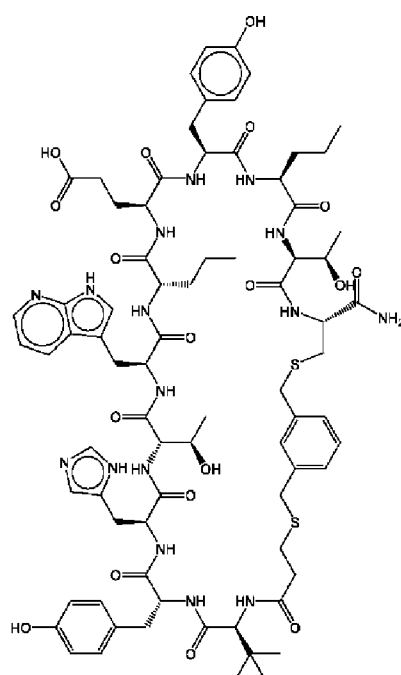
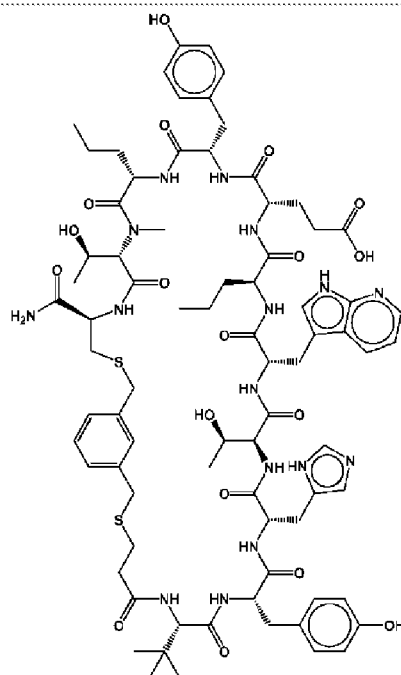
	
211	
212	

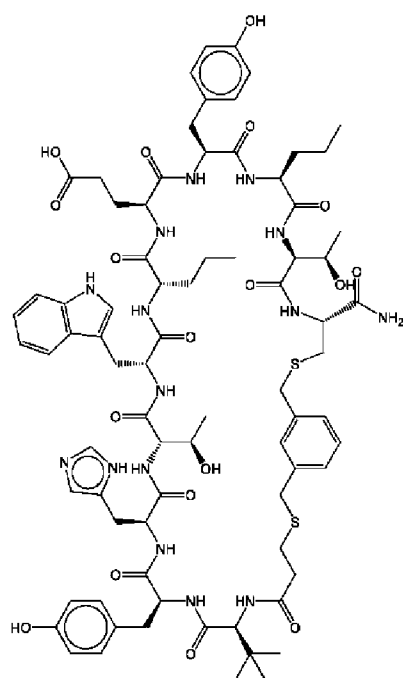
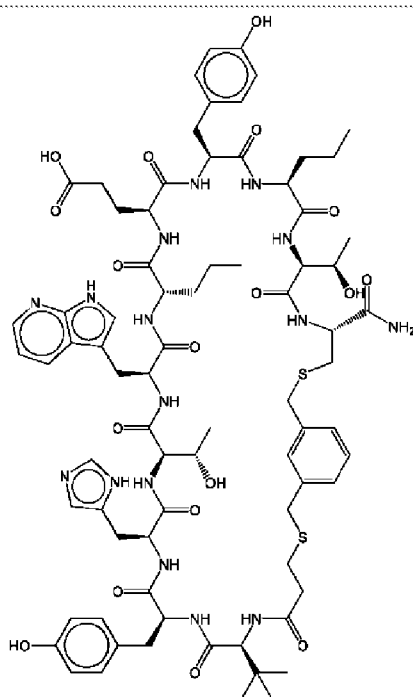


213



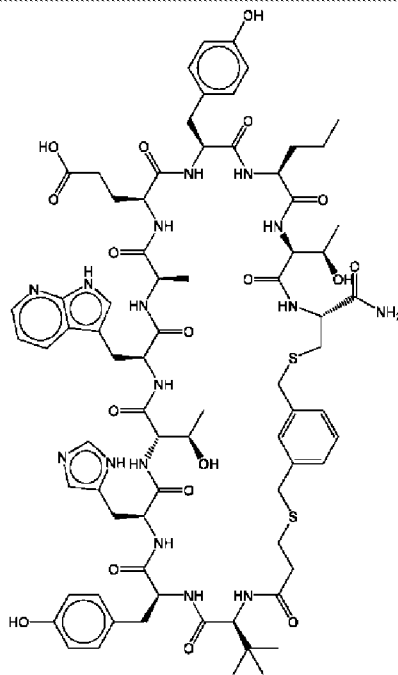
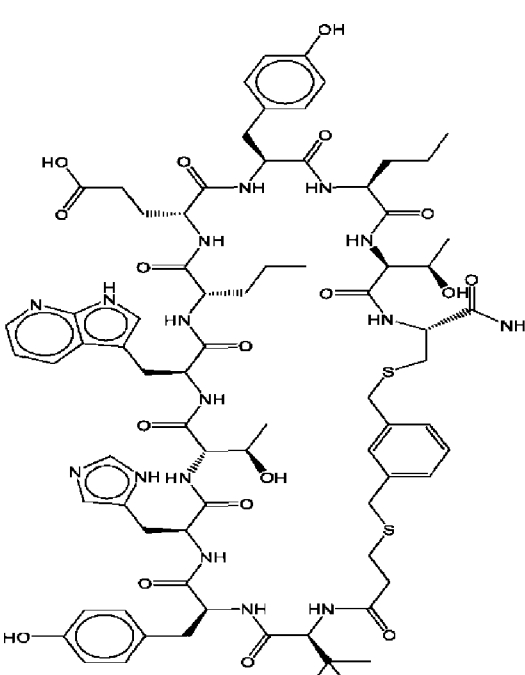
214

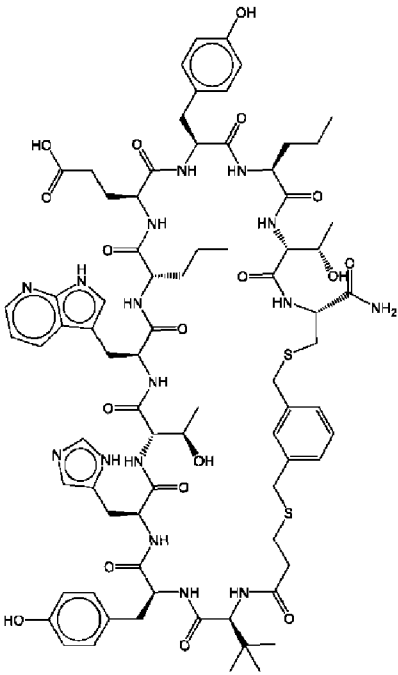
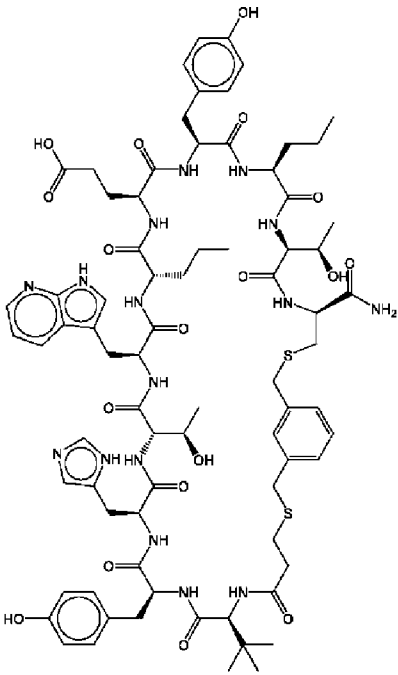


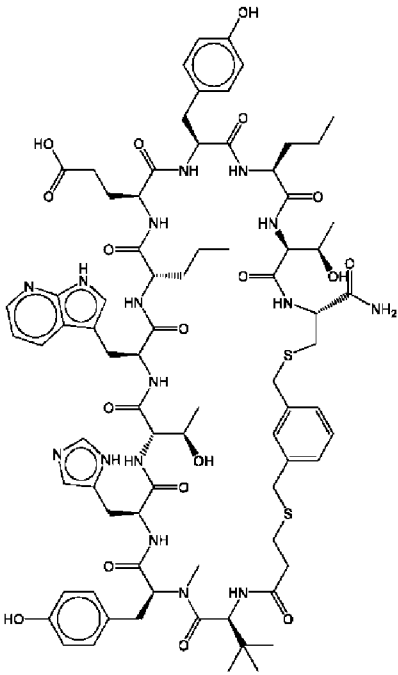
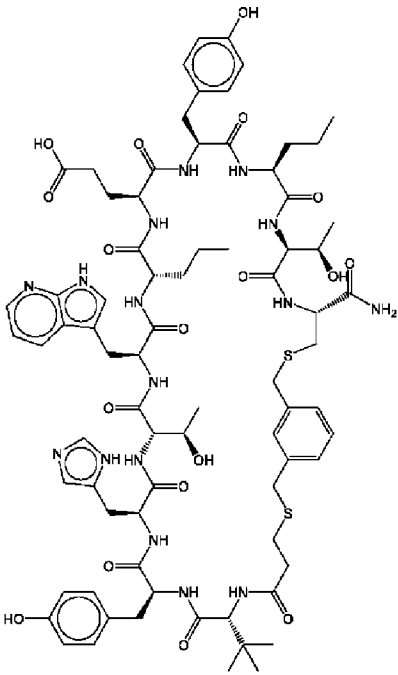


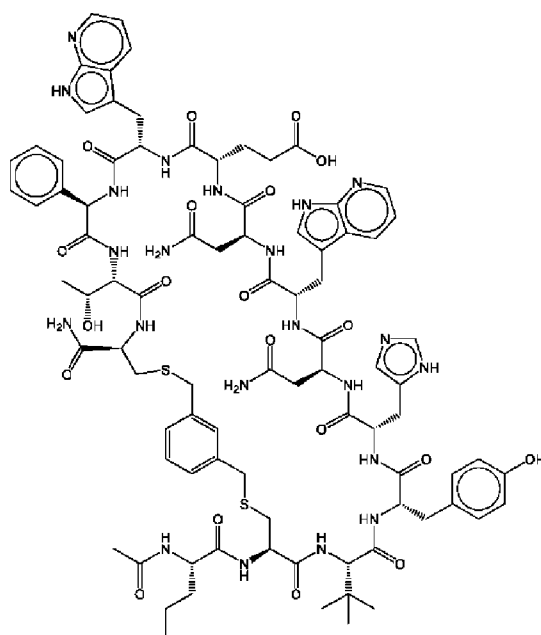
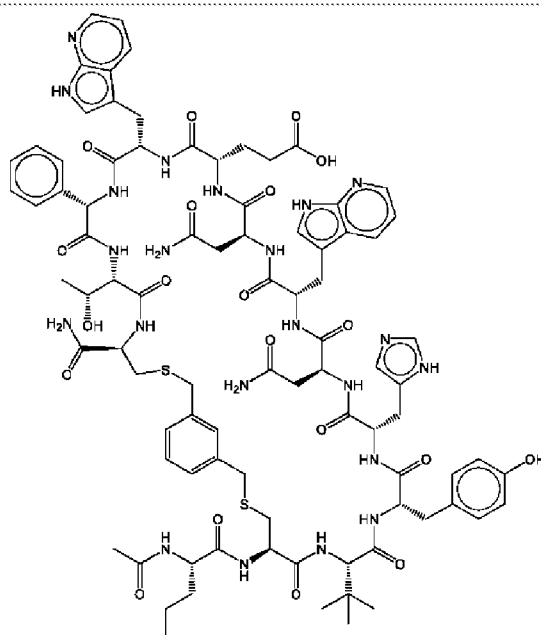
217

218

	
219	
220	

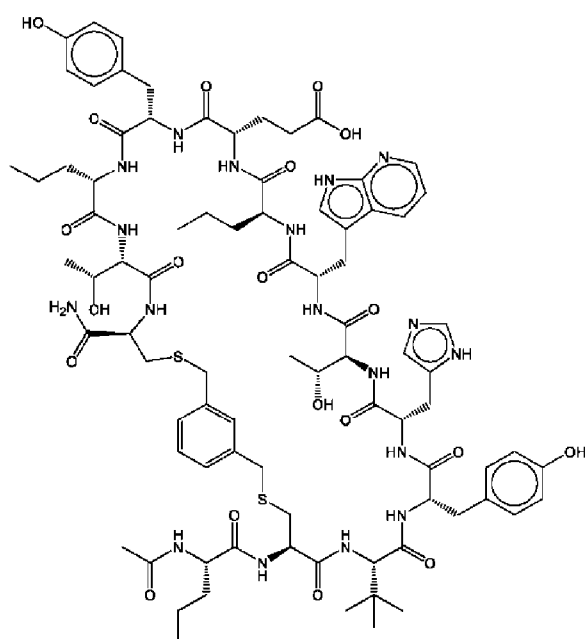
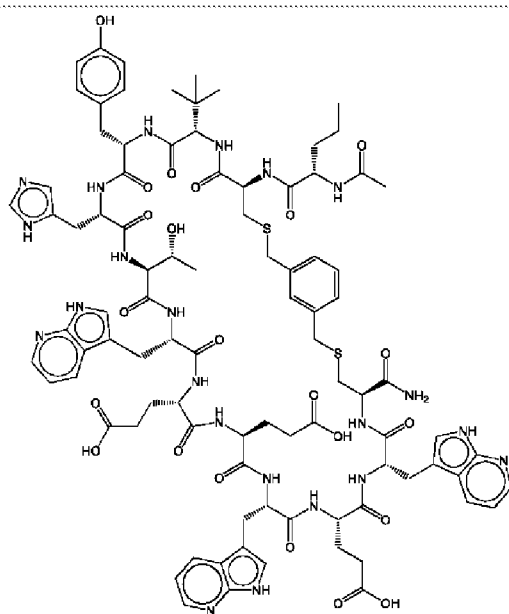
	
221	
222	

	
223	
224	



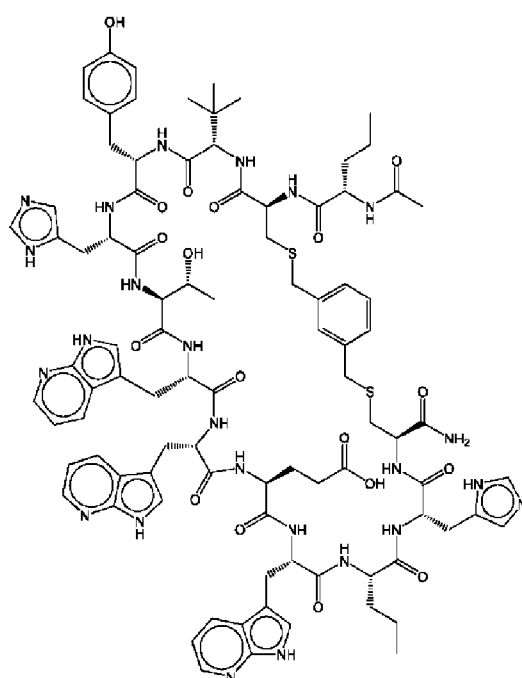
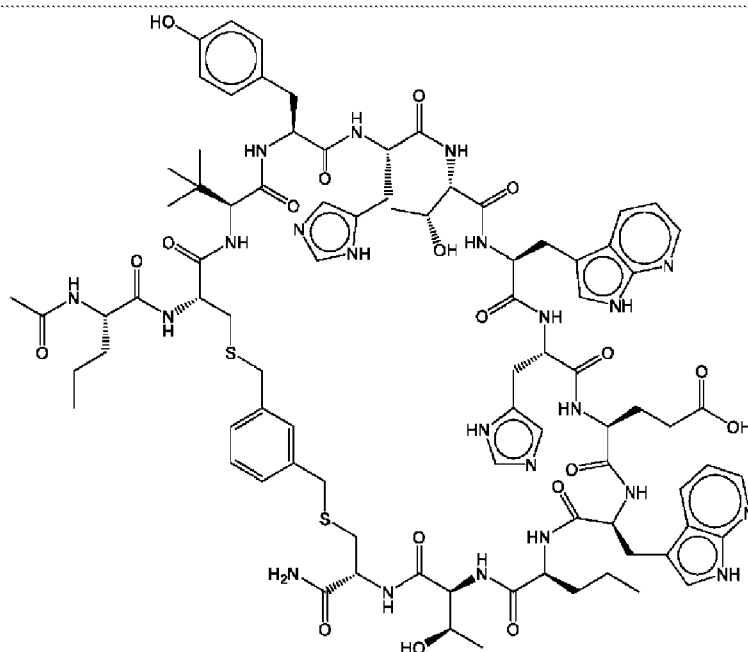
225

226



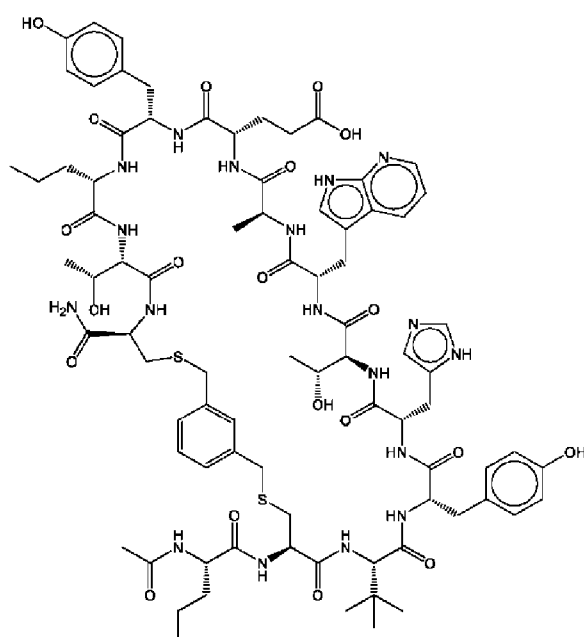
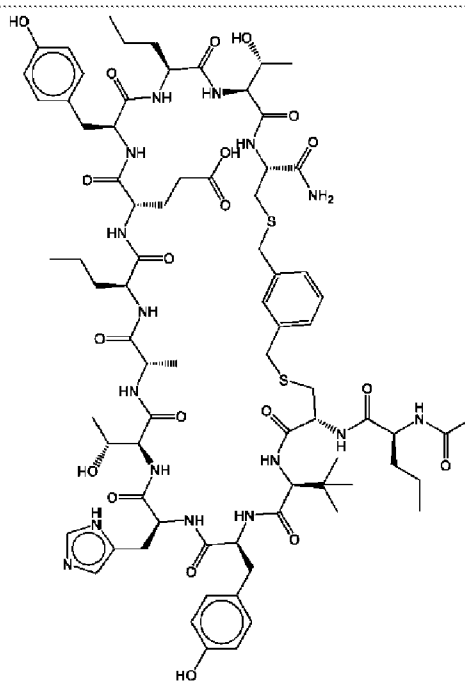
227

228



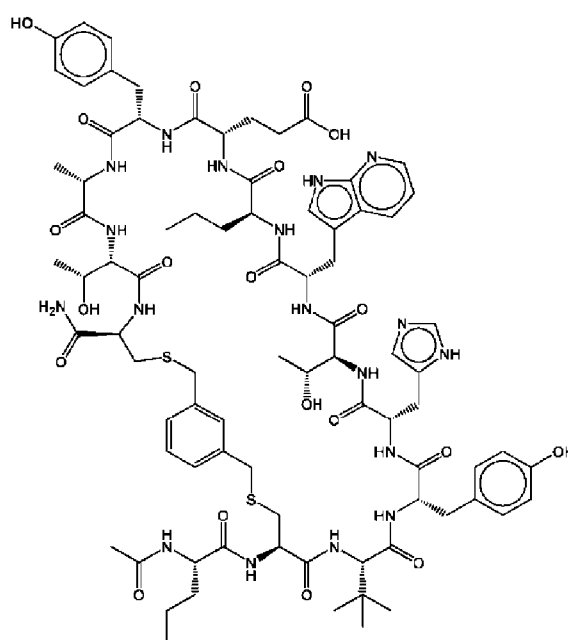
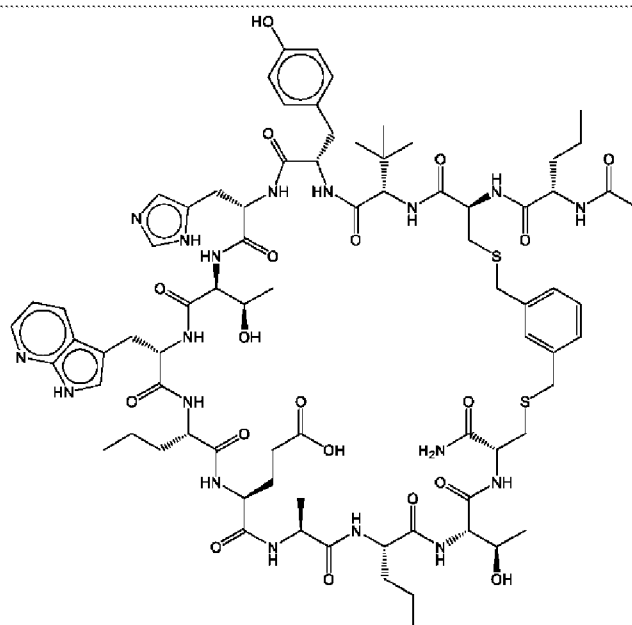
229

230



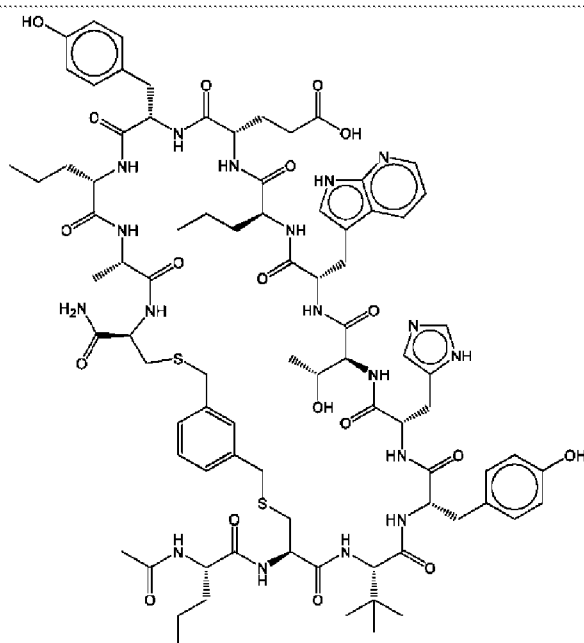
231

232

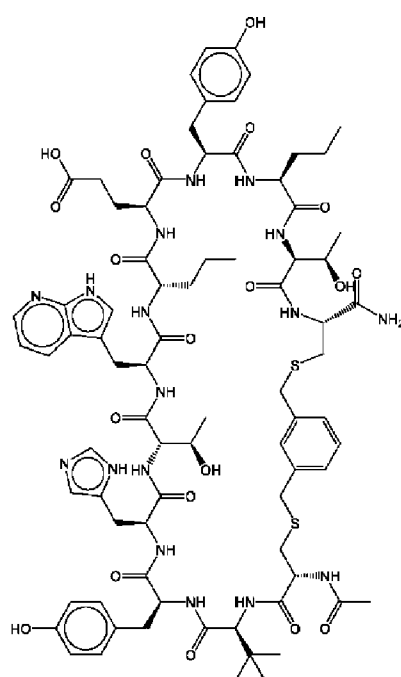


233

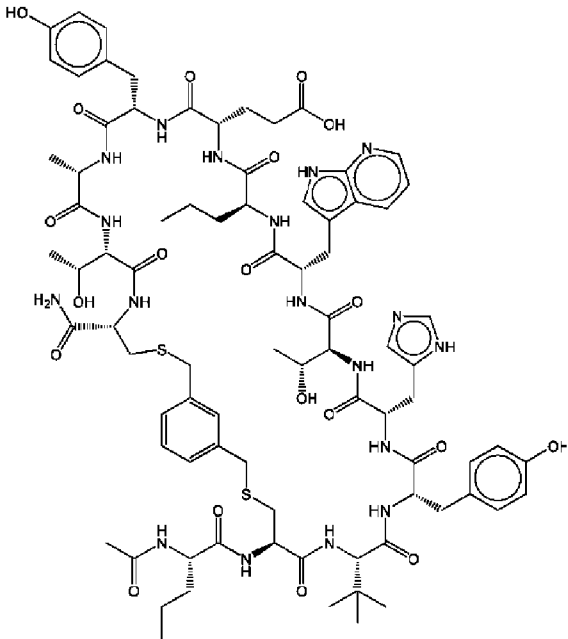
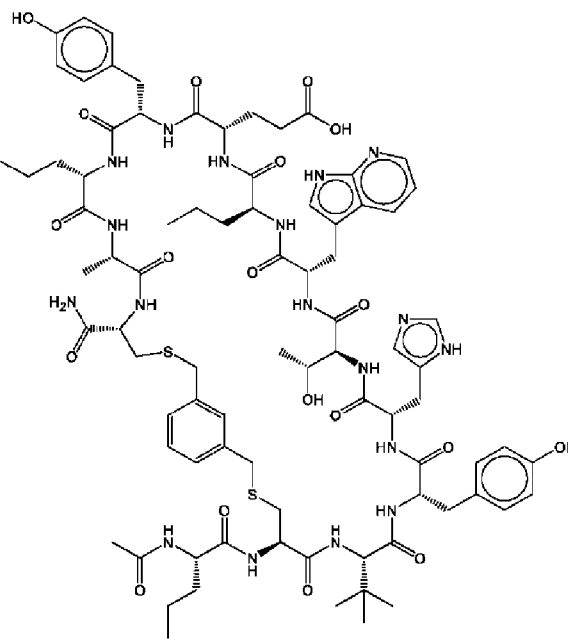
234

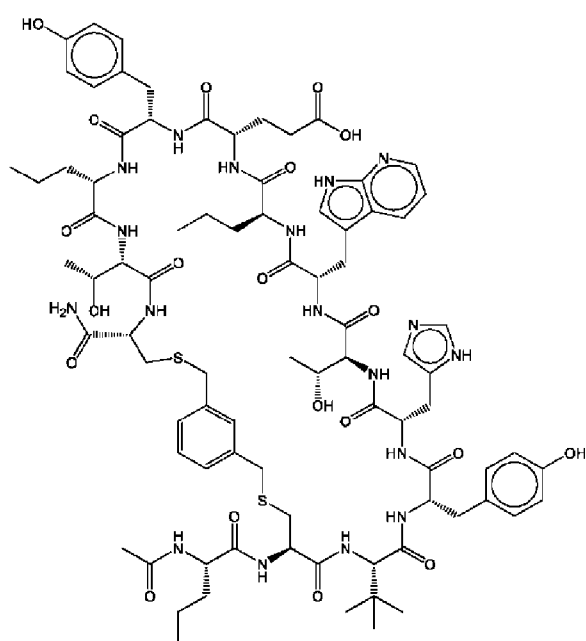
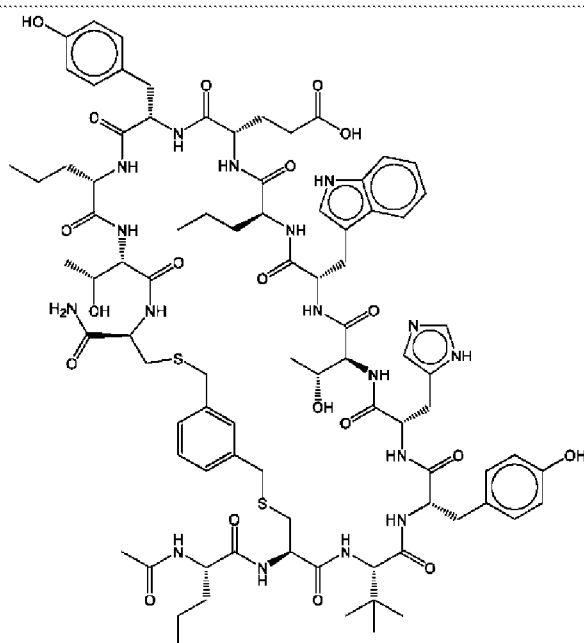


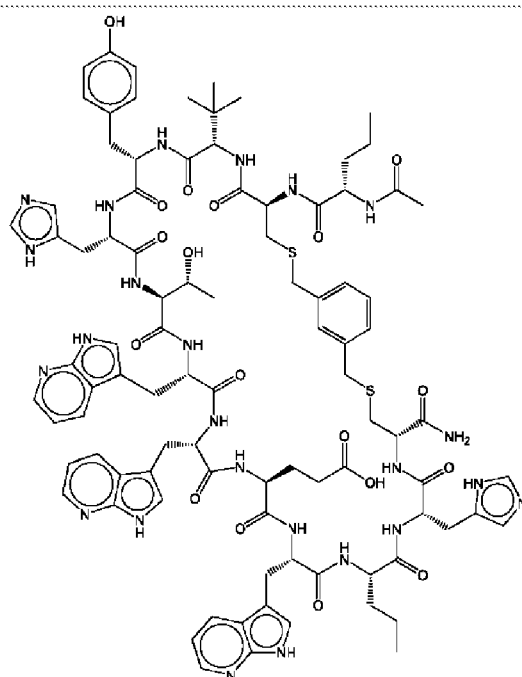
235



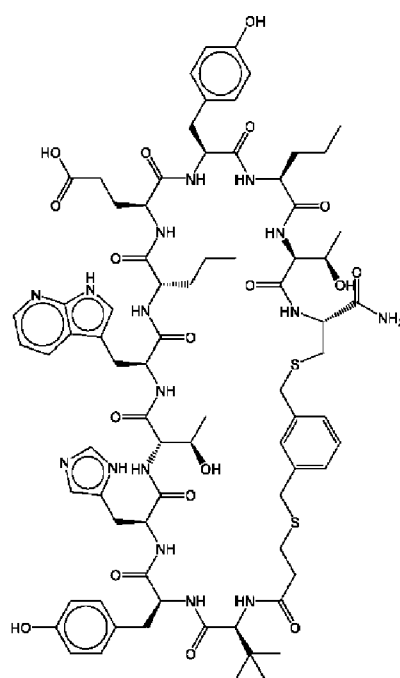
236

	
237	
238	

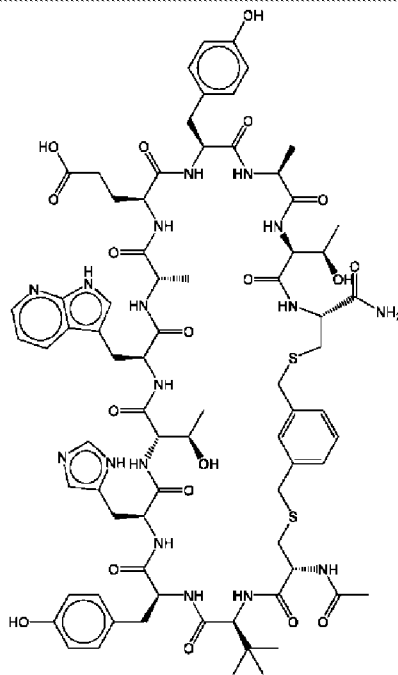
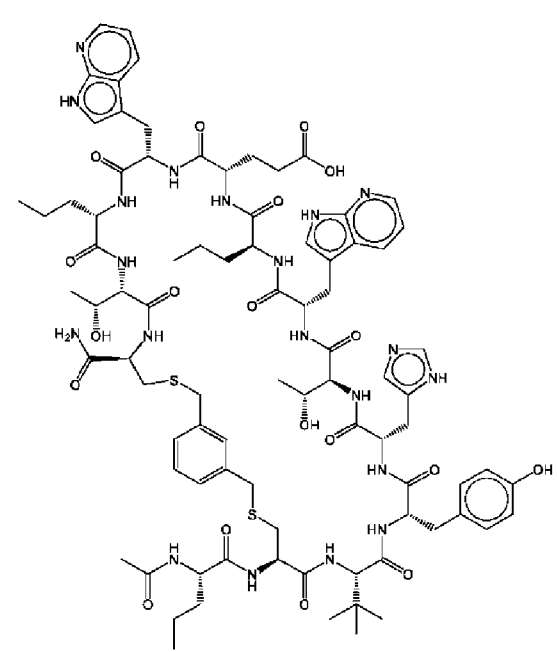


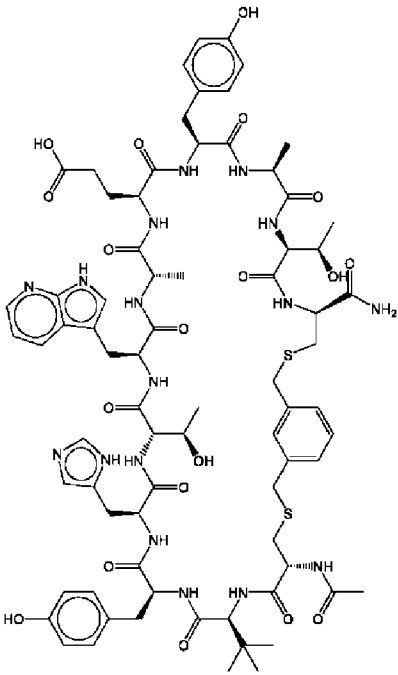
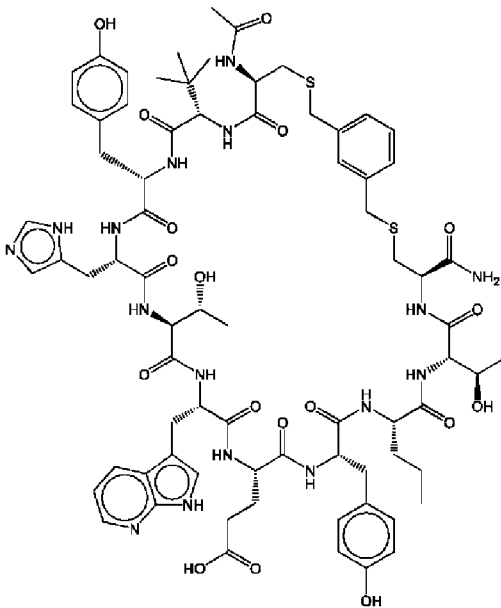


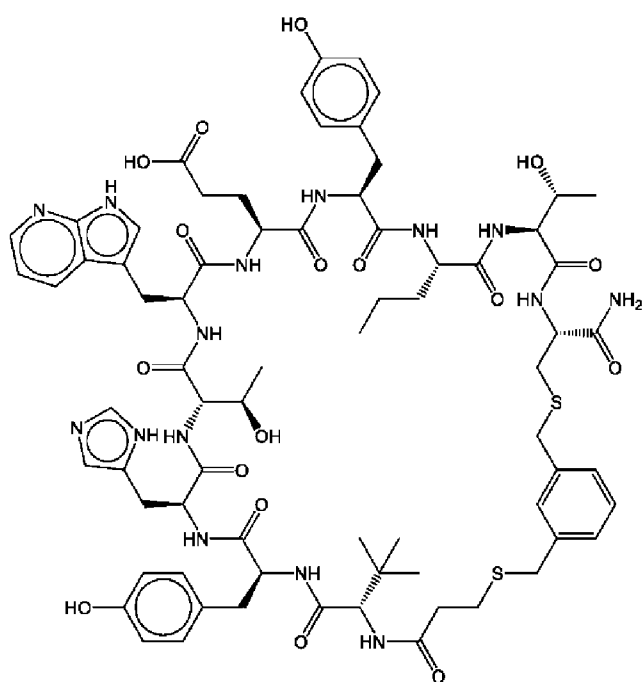
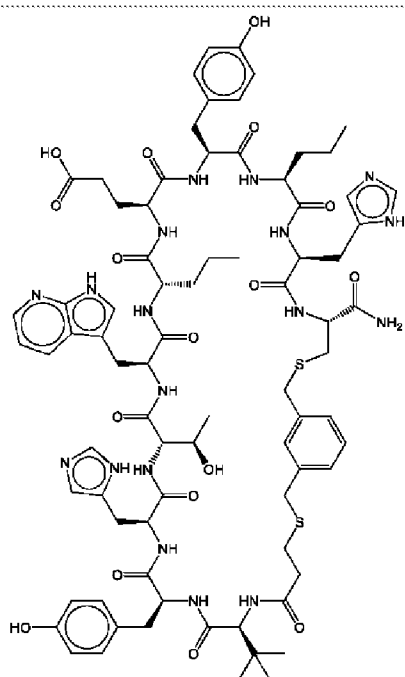
241



242

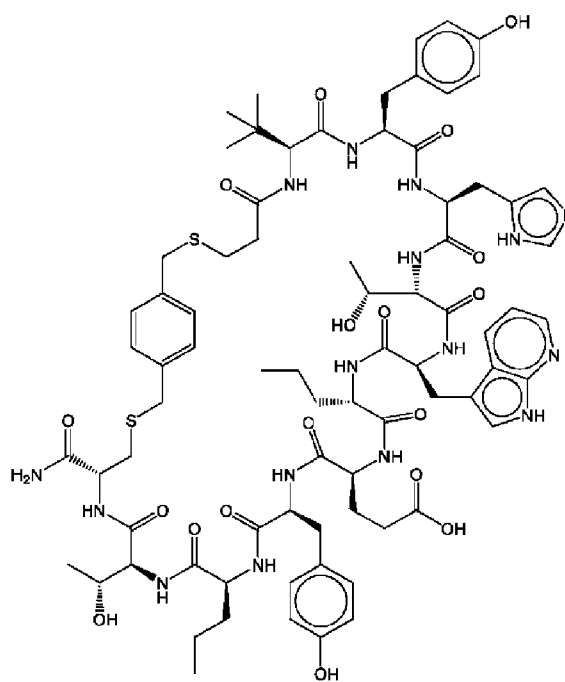
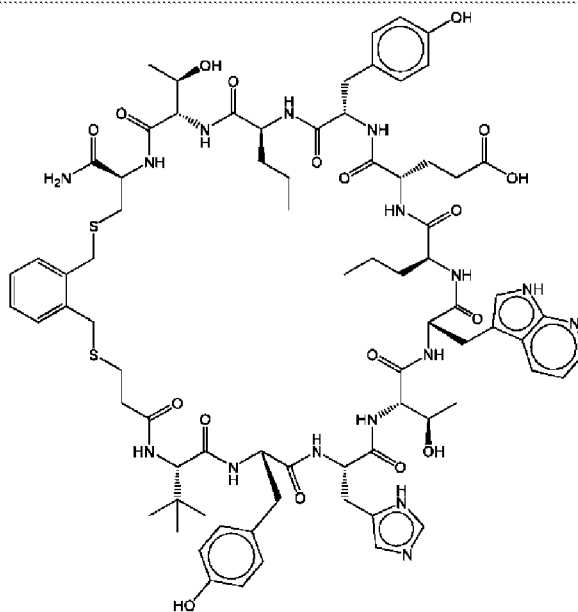
	
243	
245	

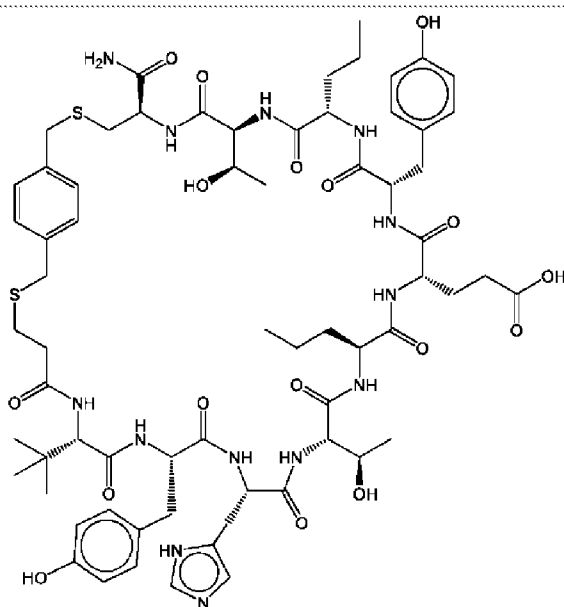
	
246	
247	



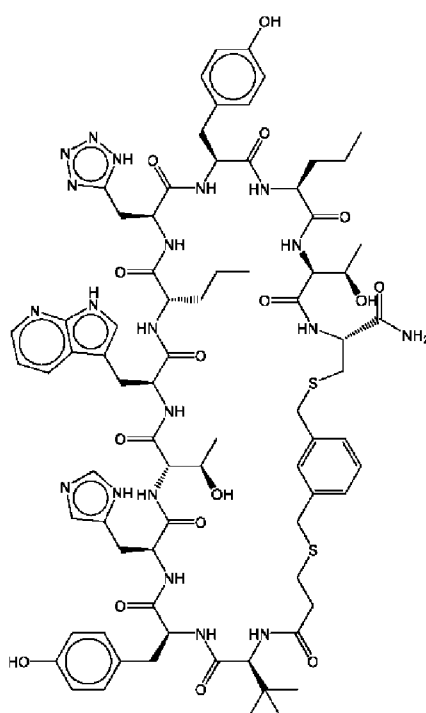
248

249

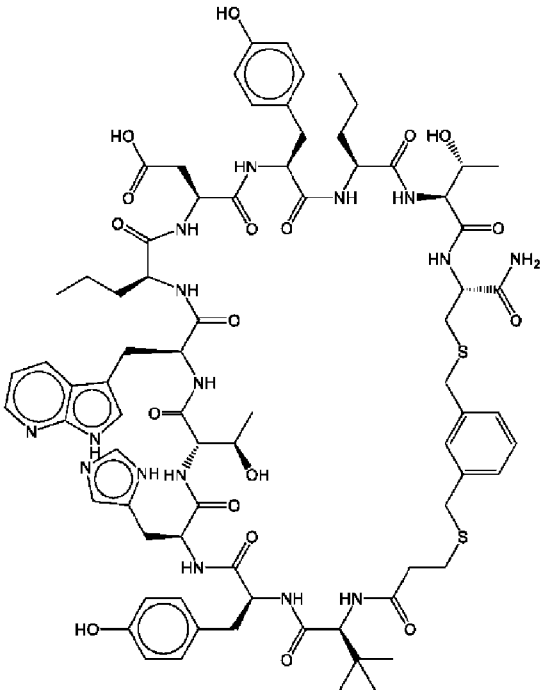
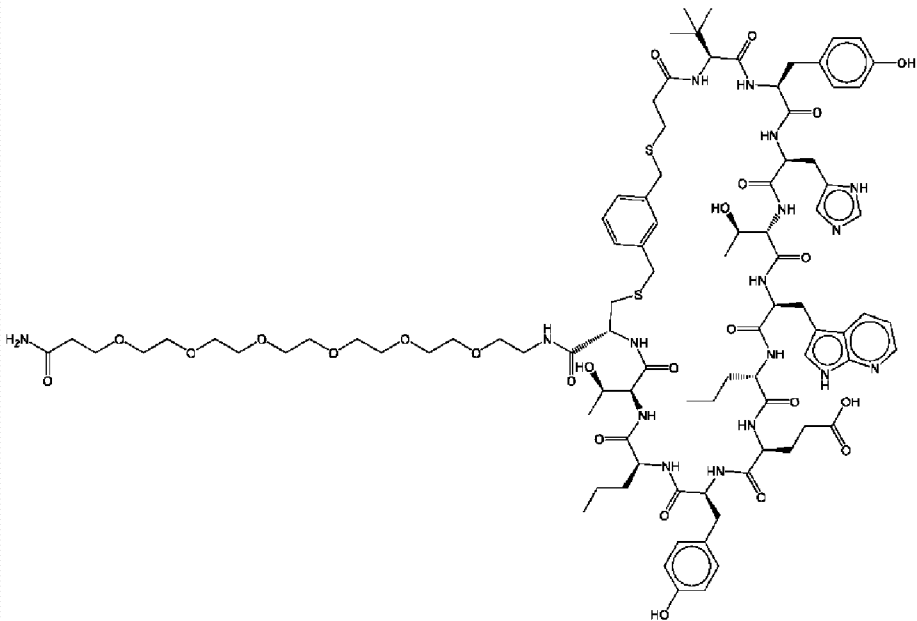


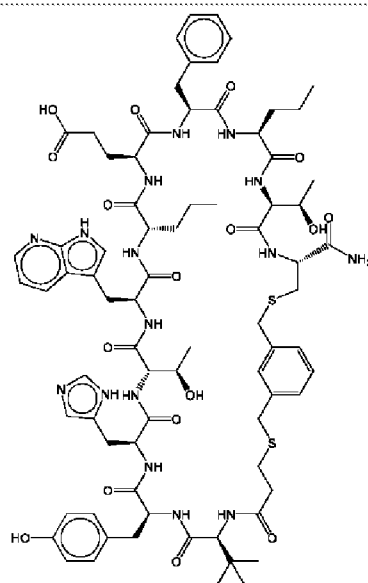


253

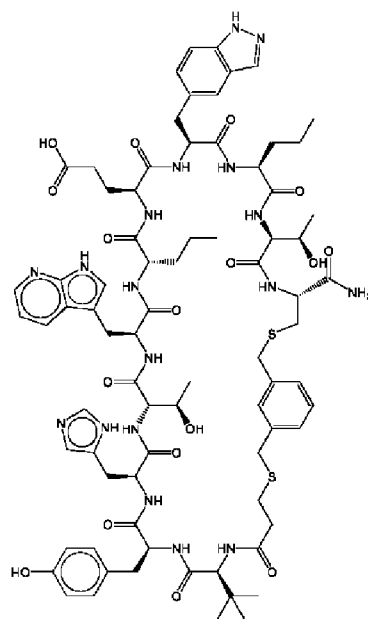


254

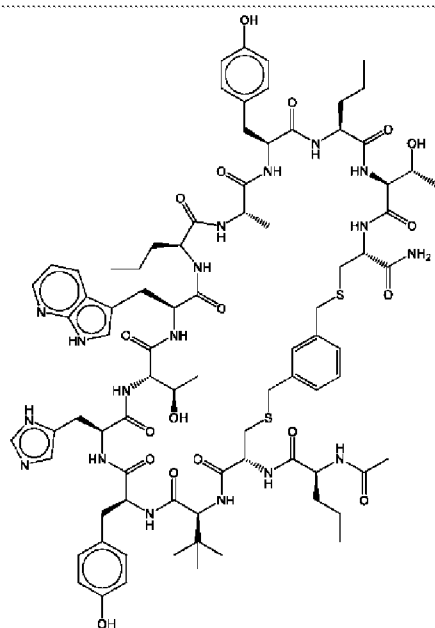
	
255	
256	



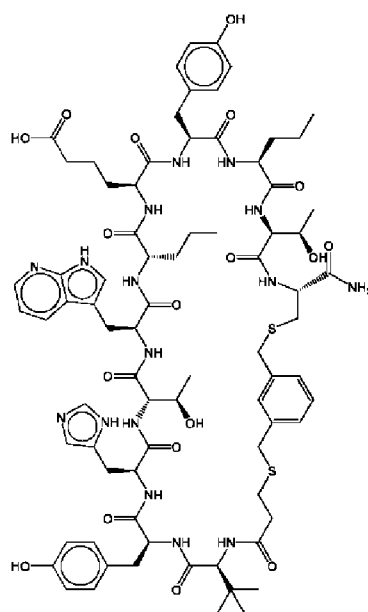
257



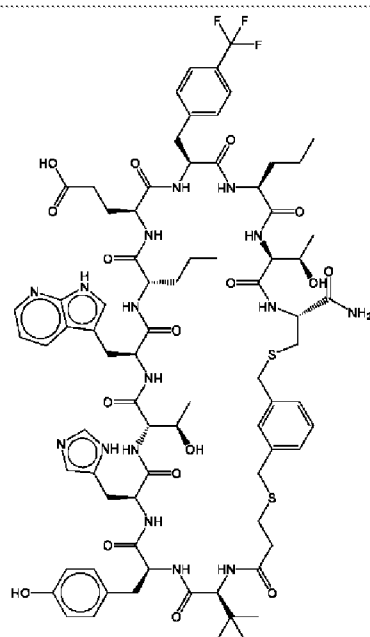
258



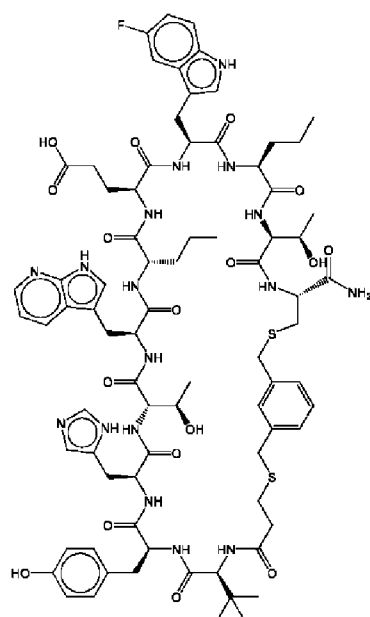
259



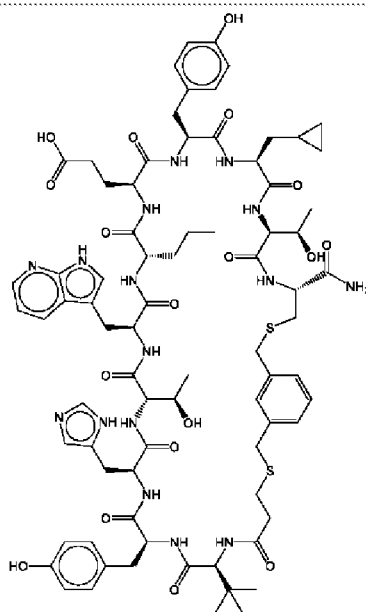
260



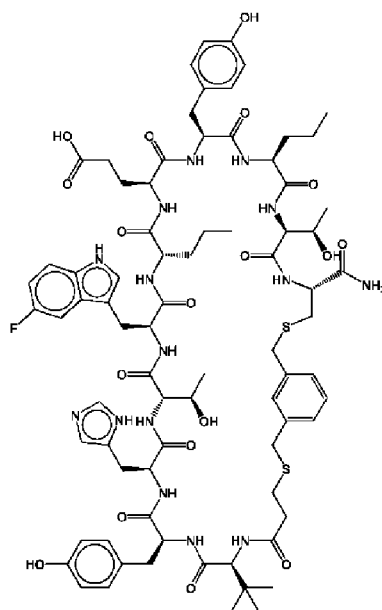
261



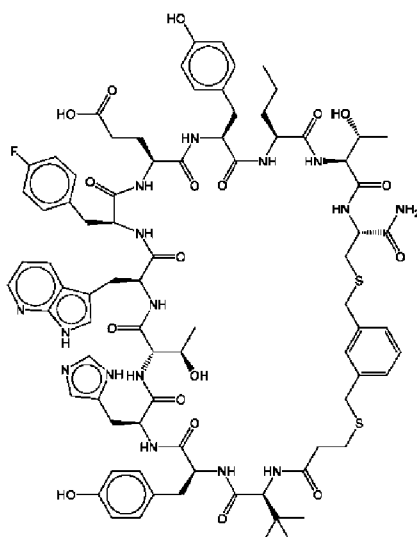
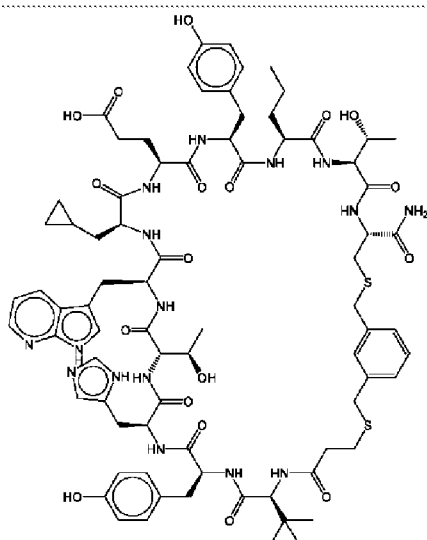
262

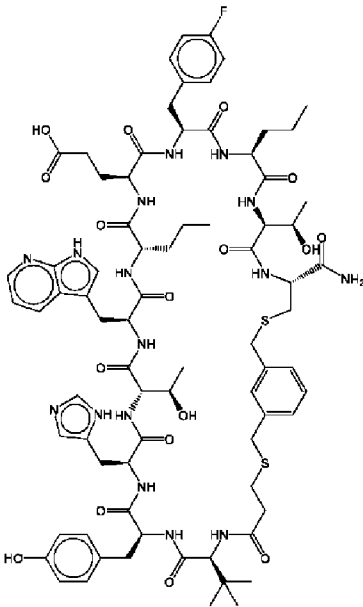
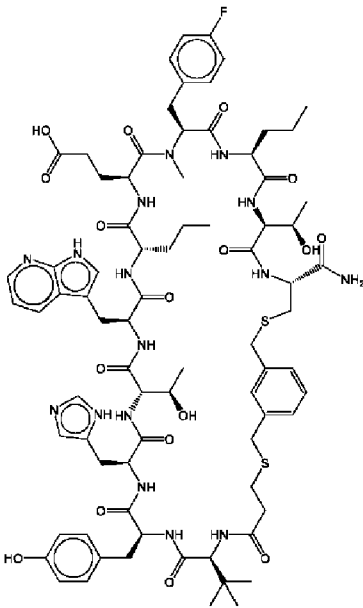


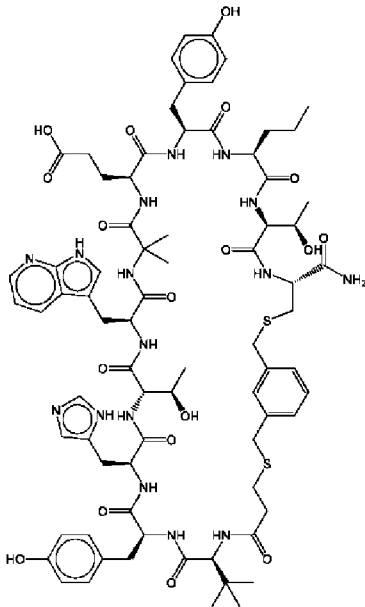
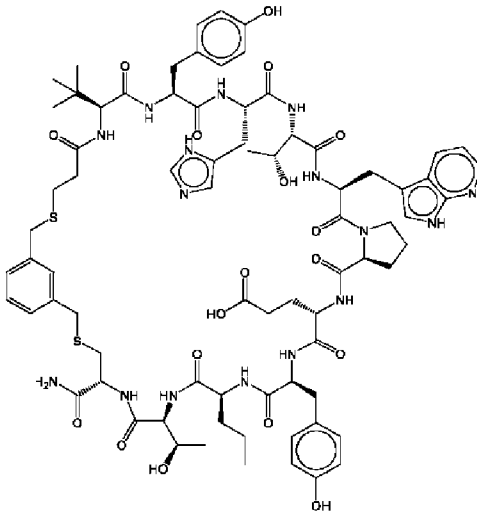
263

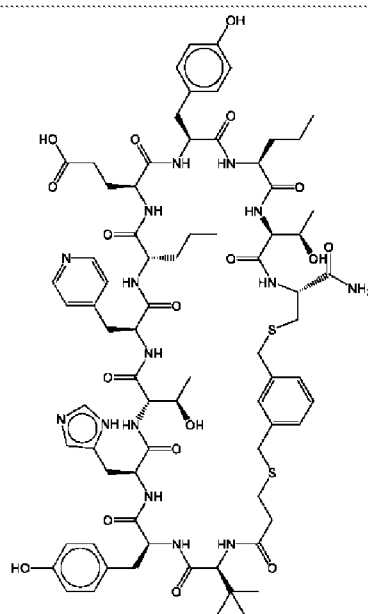


264

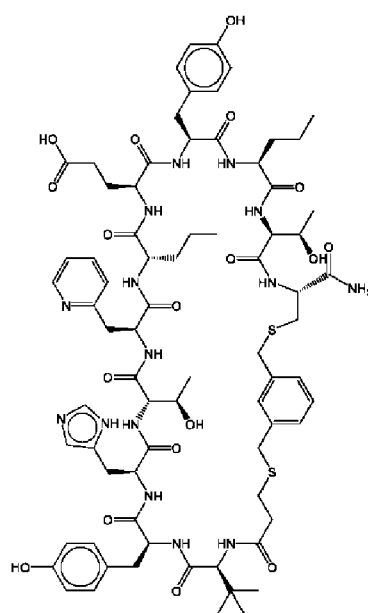


	
267	
268	

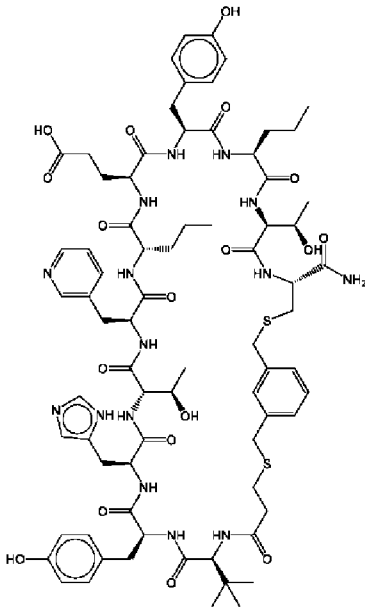
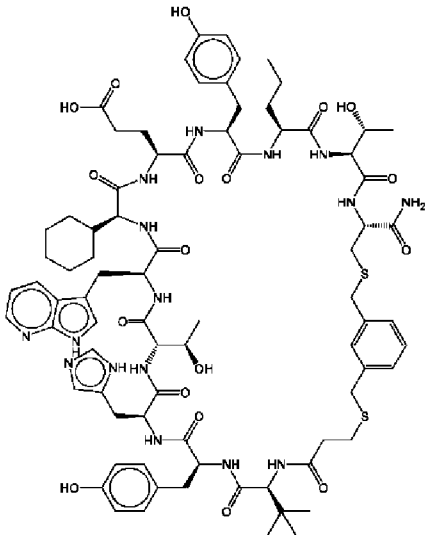
	
269	
270	

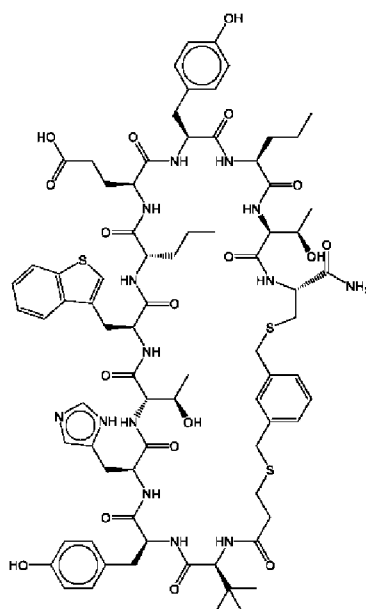
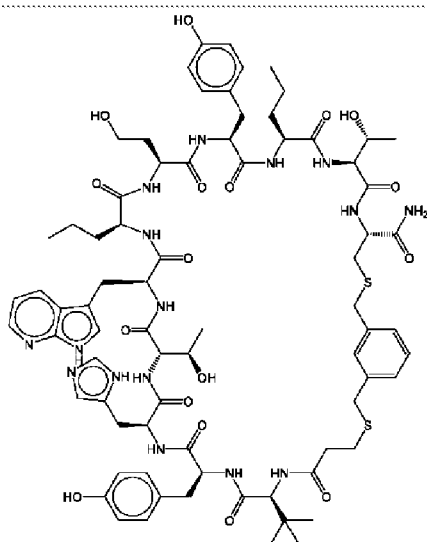


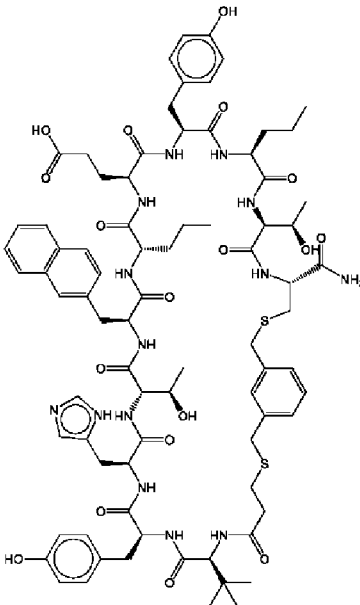
271



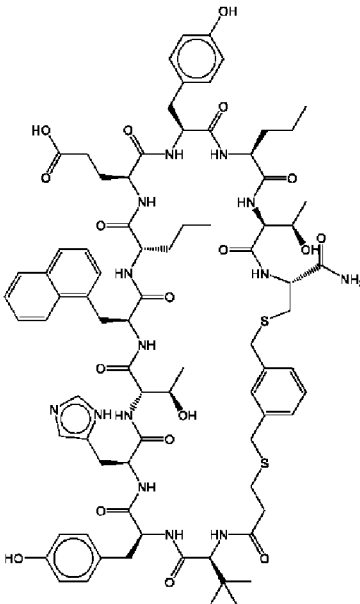
272

	
273	
274	

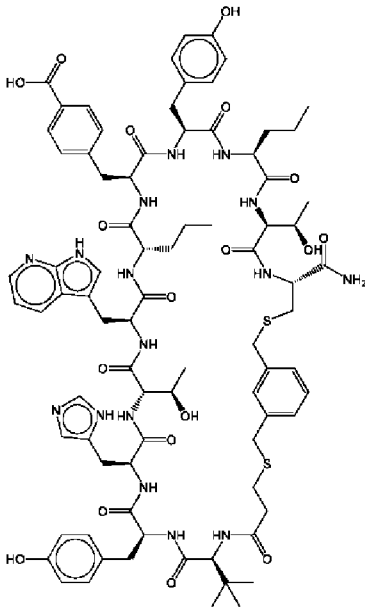
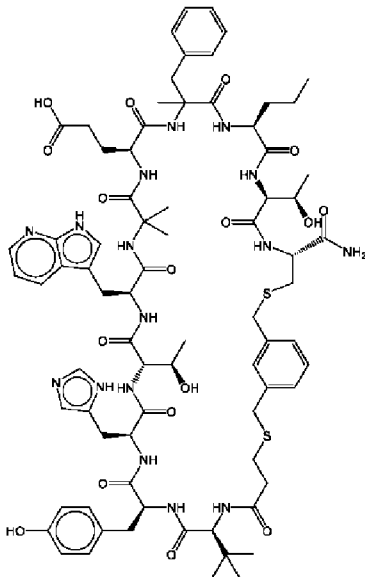


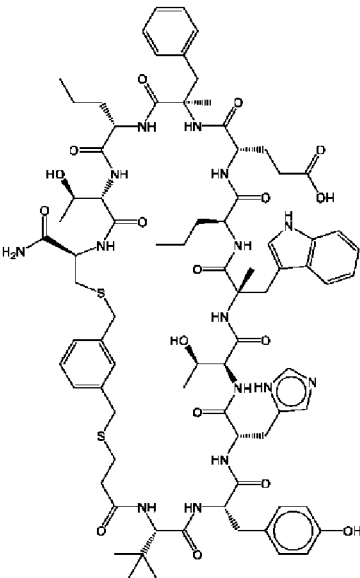
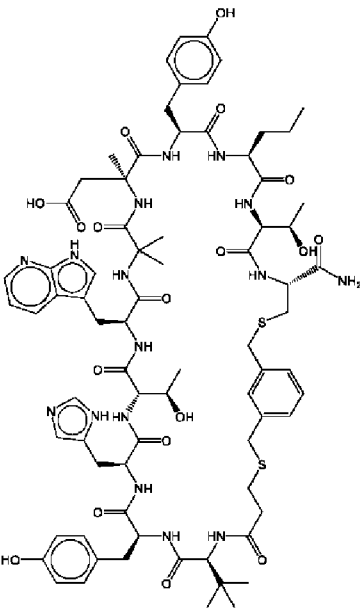


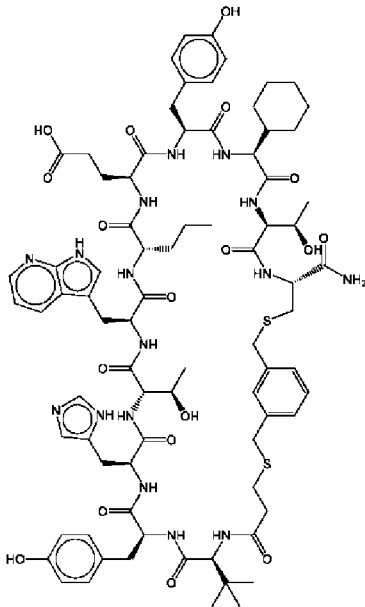
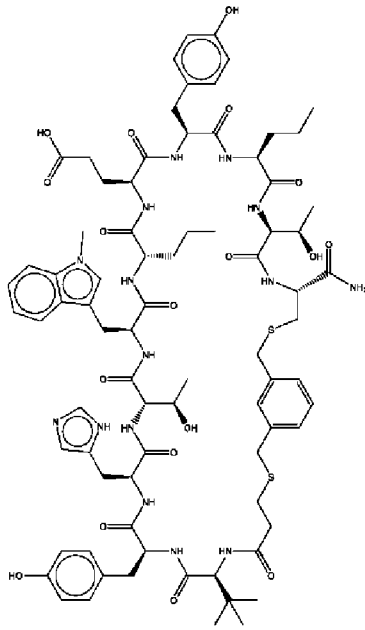
277

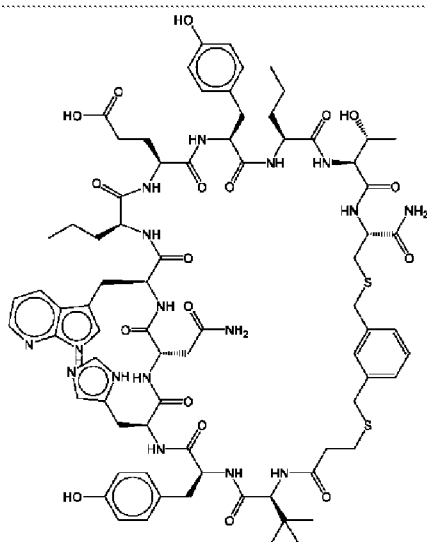


278

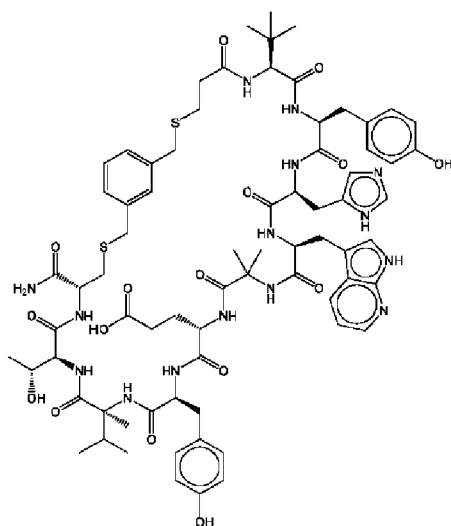
	
279	
280	

	
281	
285	

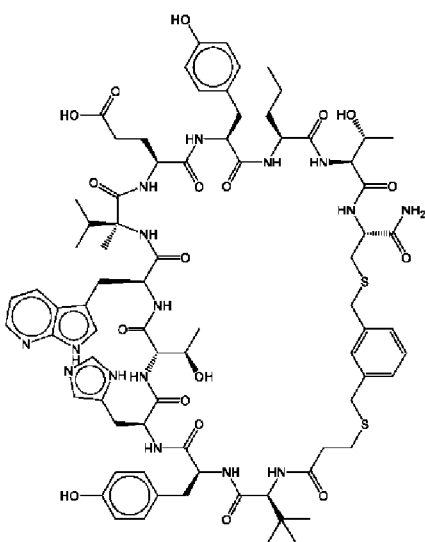
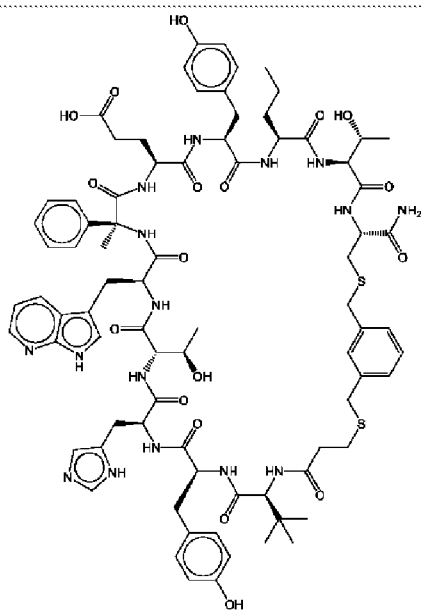
	
286	
287	



288

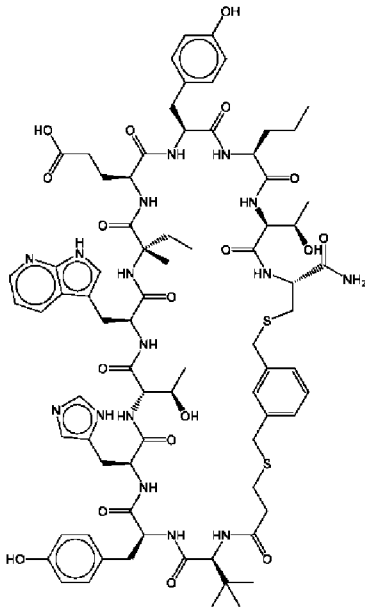
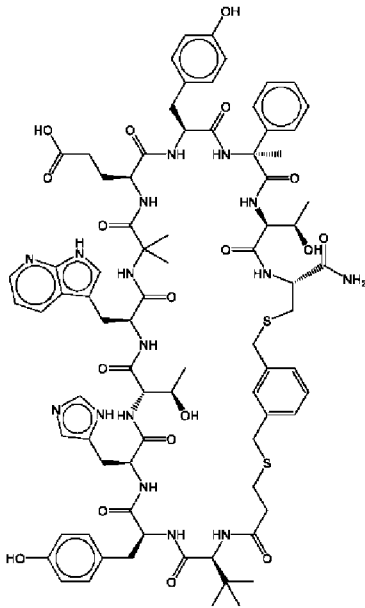


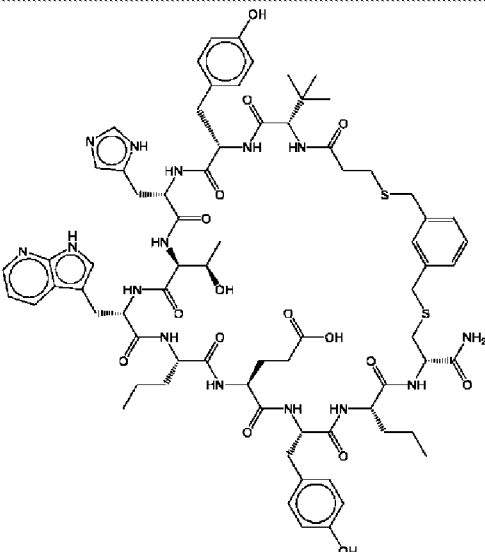
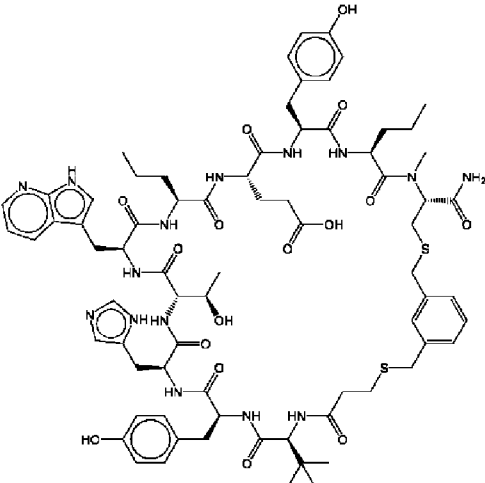
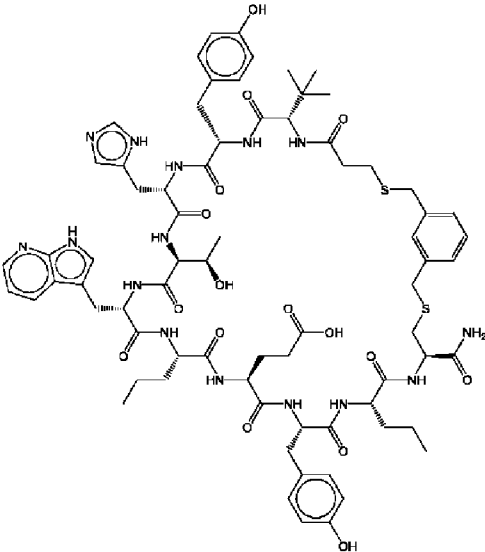
289

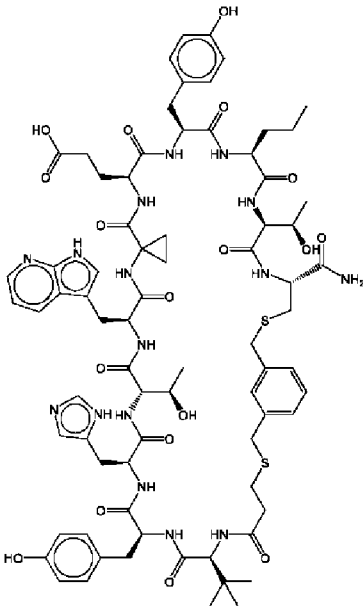
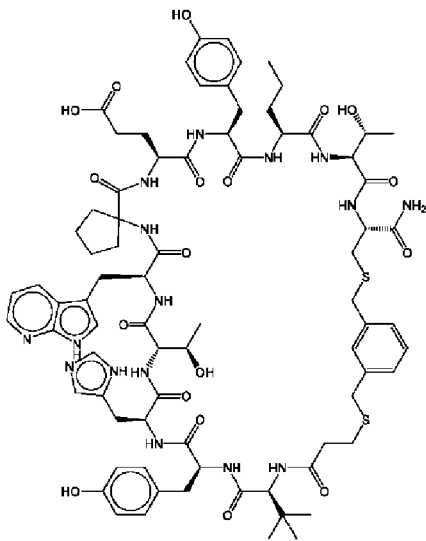


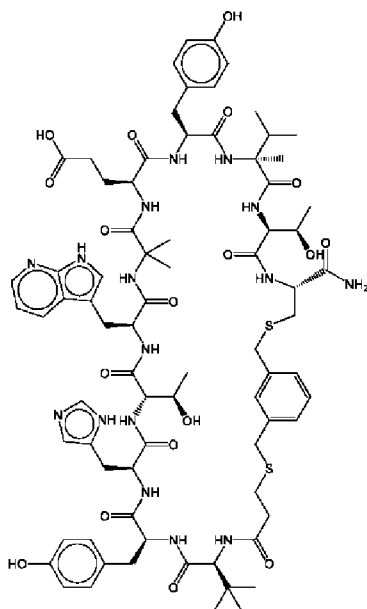
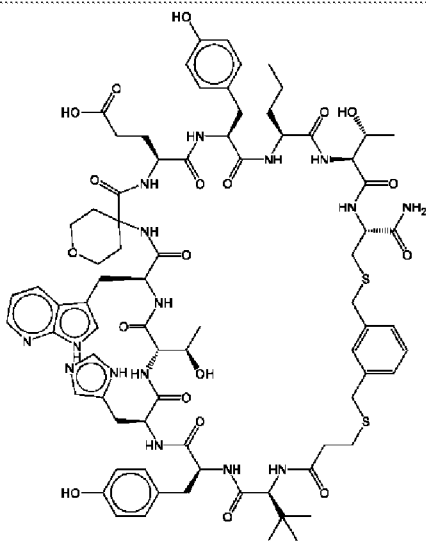
290

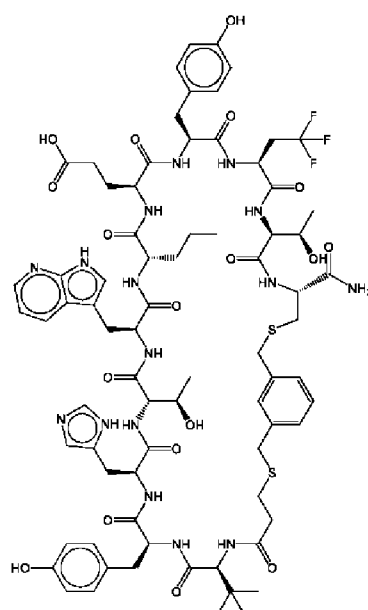
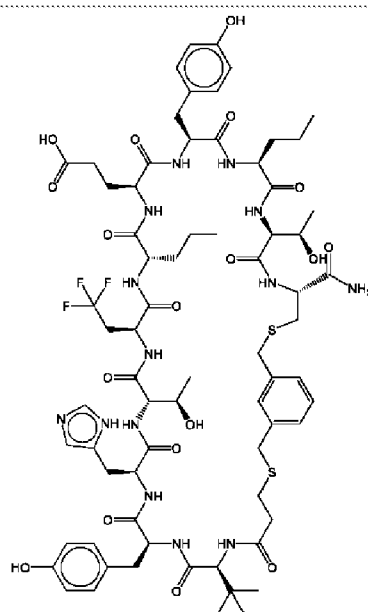
291

	
293	
295	

	
296	
297	

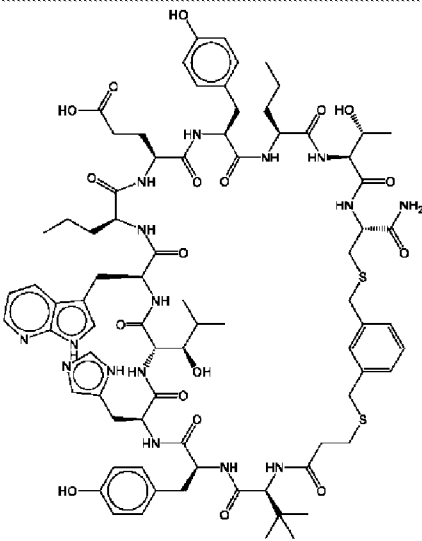
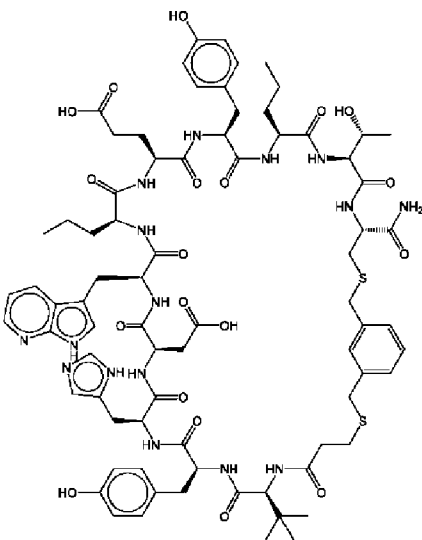
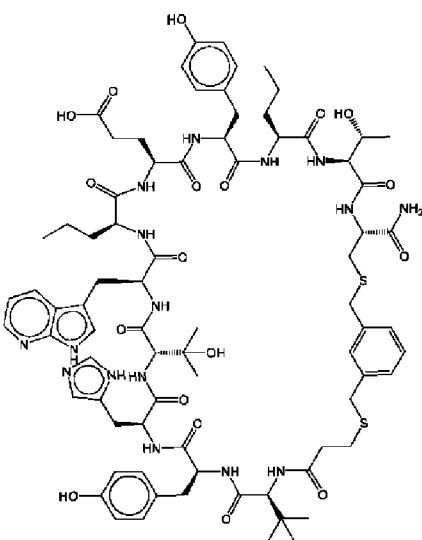
298	
299	
300	



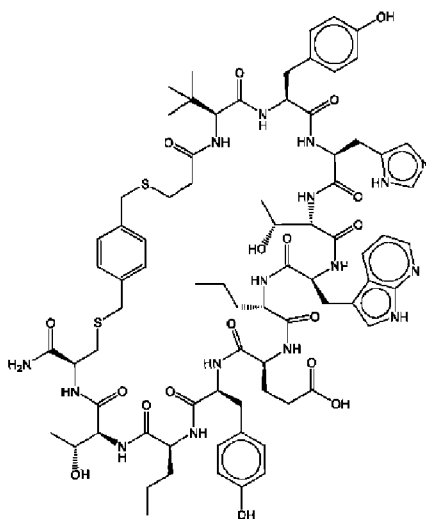


304

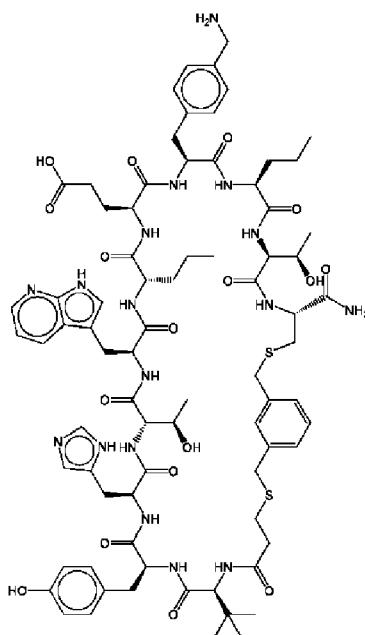
305

	
307	
309	

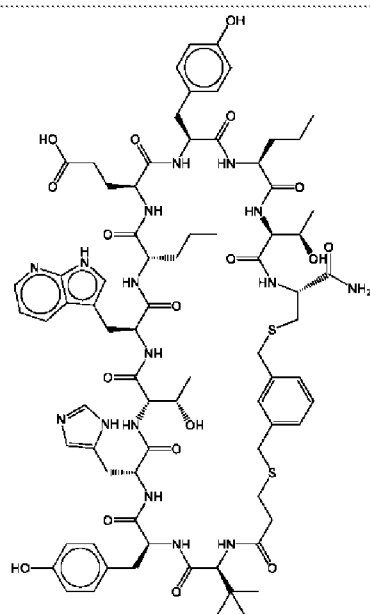
313



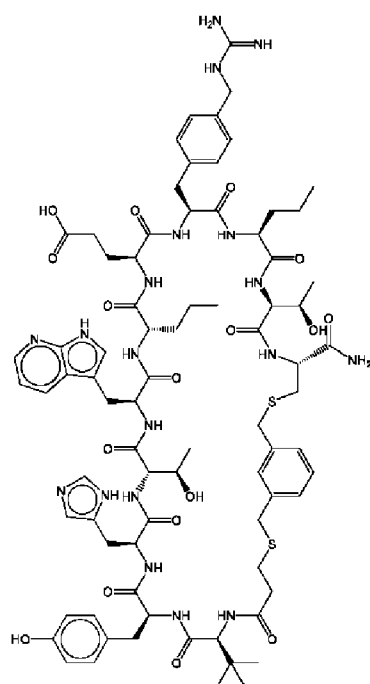
315



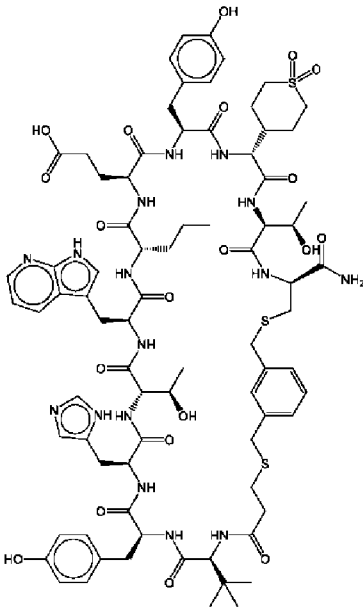
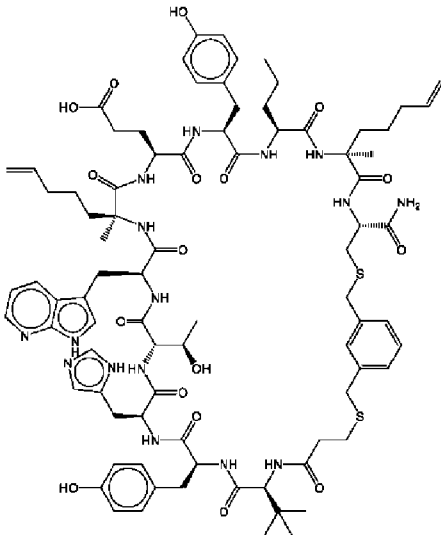
316

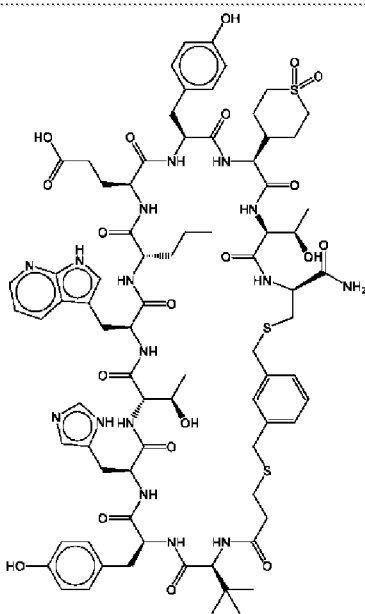
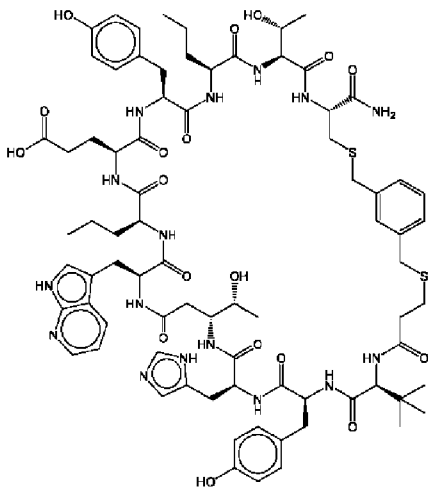


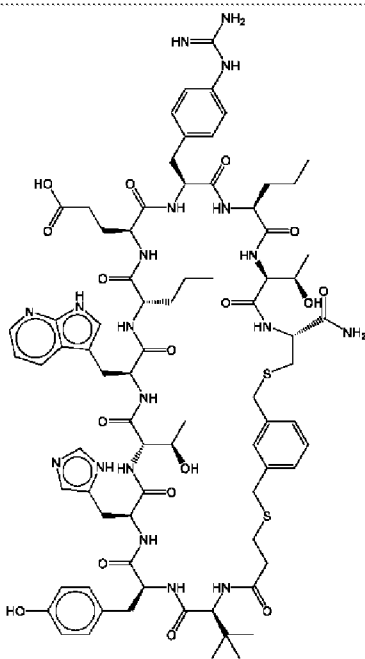
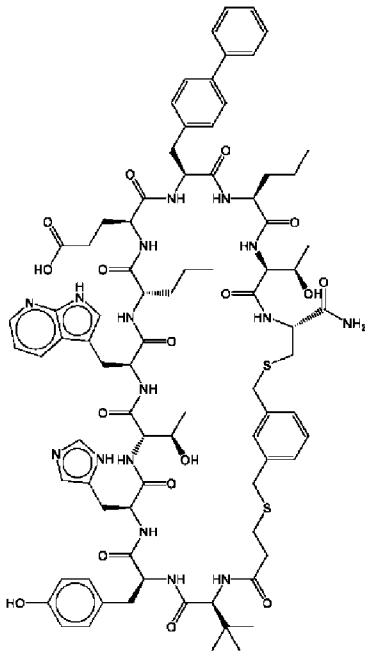
318

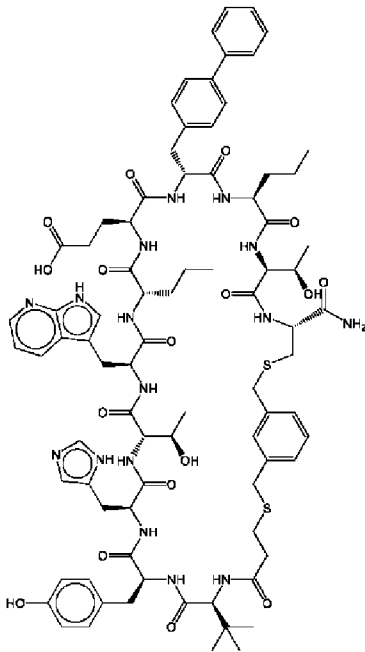
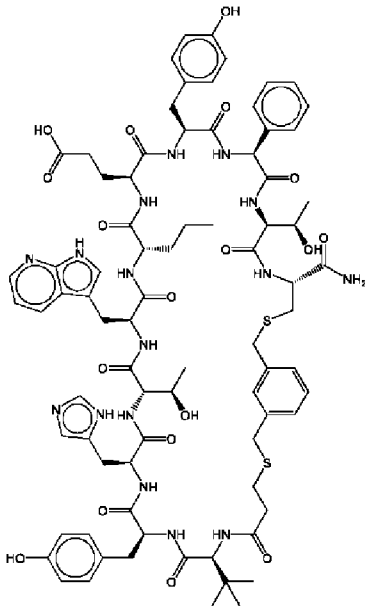


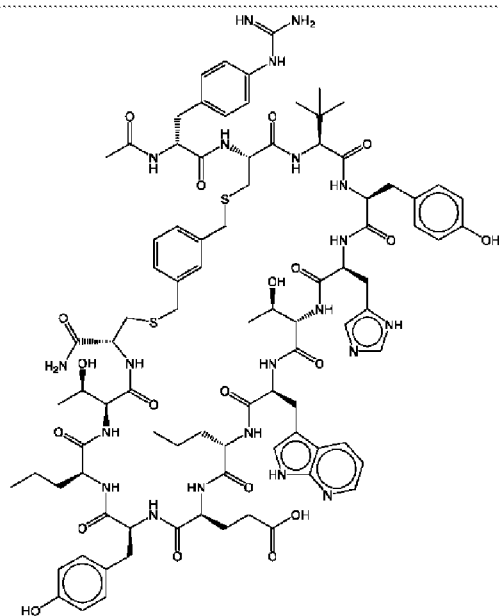
319

	
320	
321	

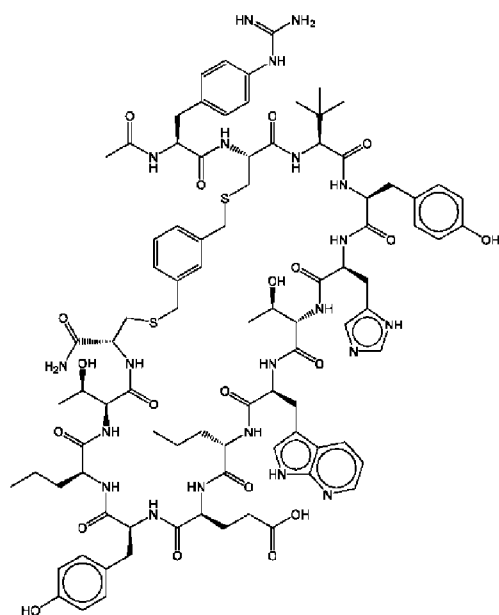
	
322	
323	

	
324	
325	

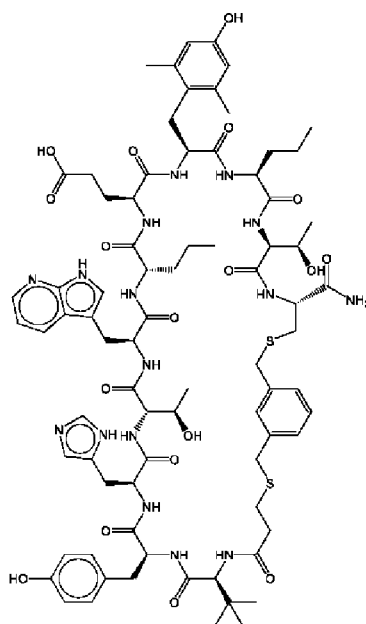
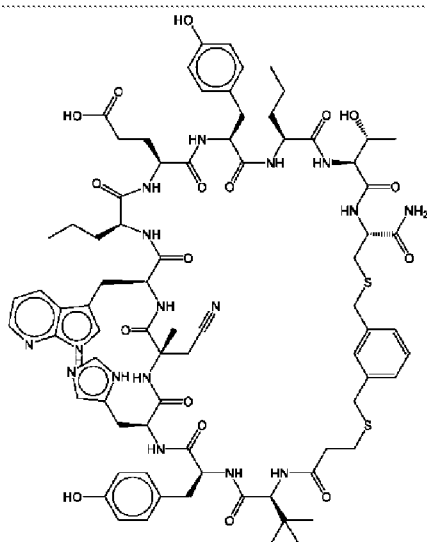
	
326	
327	

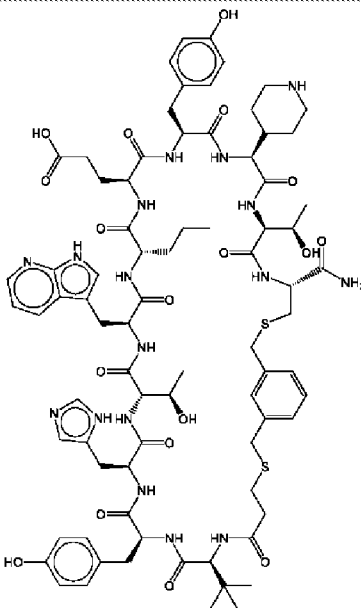
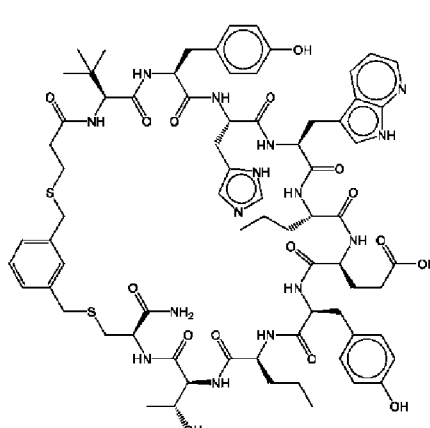
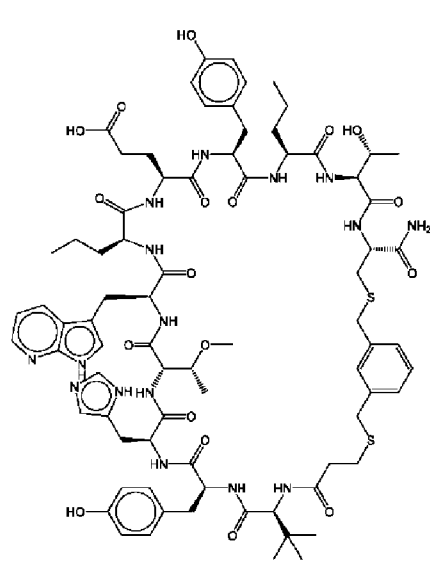


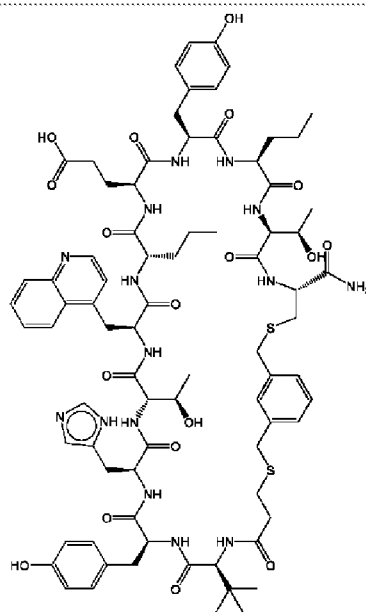
328



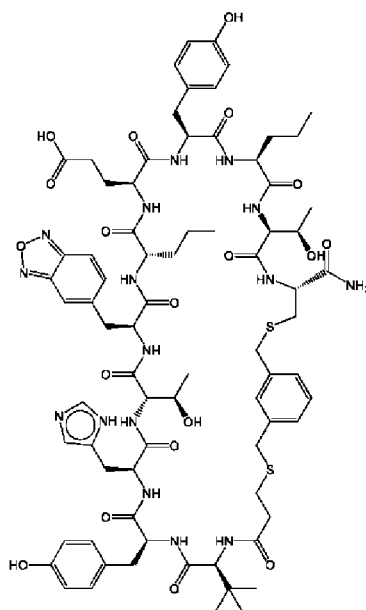
329



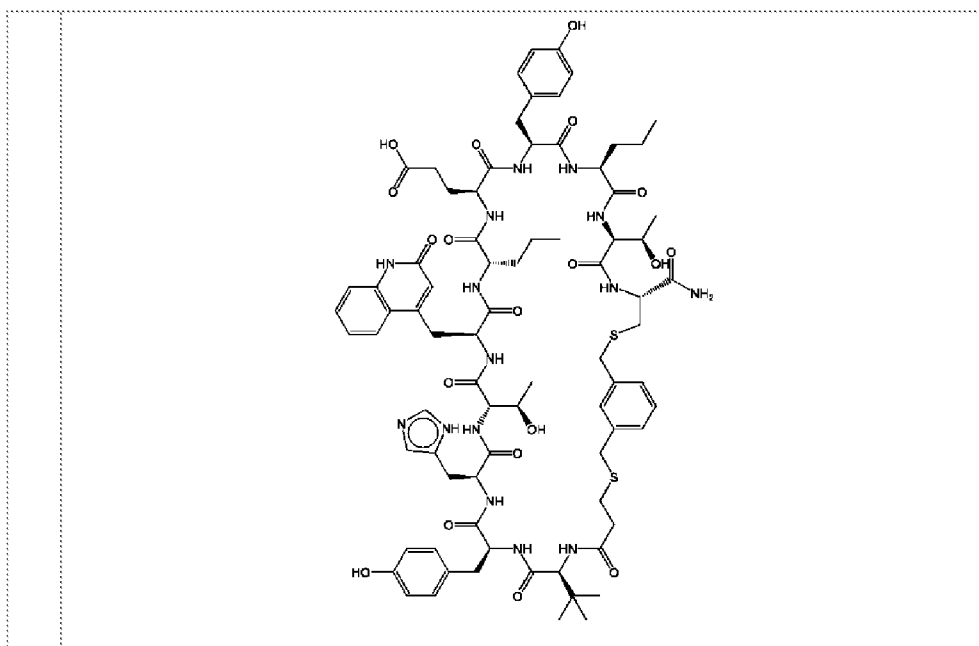
	
332	
333	
334	



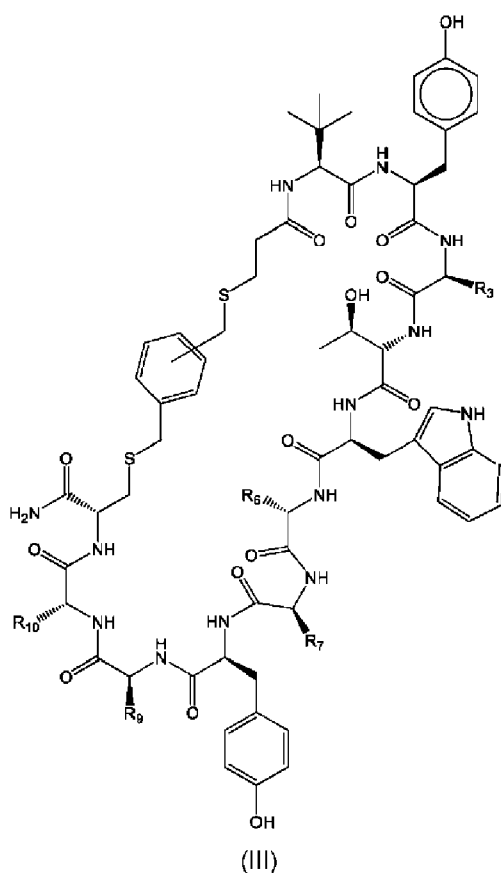
335



336



En otro aspecto, se proporcionan en el presente documento péptidos cíclicos que tienen la estructura de la fórmula (III):



5 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;

en la que:

R₃ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de PRO e HIS;

R₆ es la cadena lateral de aminoácidos del NVA;

R₇ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de ALA e GLU;

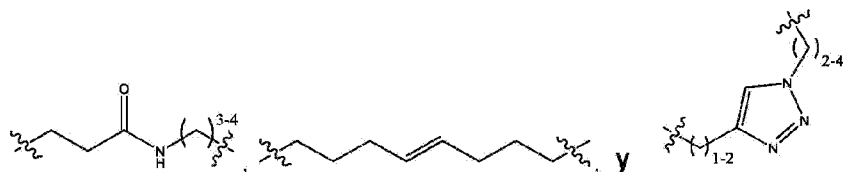
R₉ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de NVA y 23B;

R₁₀ es la cadena lateral de aminoácidos del THR;

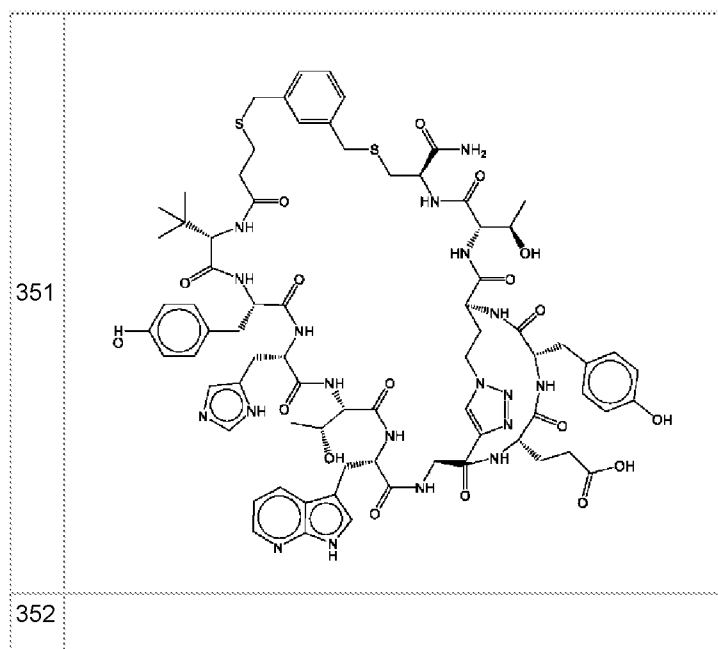
en el que cada residuo de aminoácido es opcionalmente un aminoácido N-metilado;

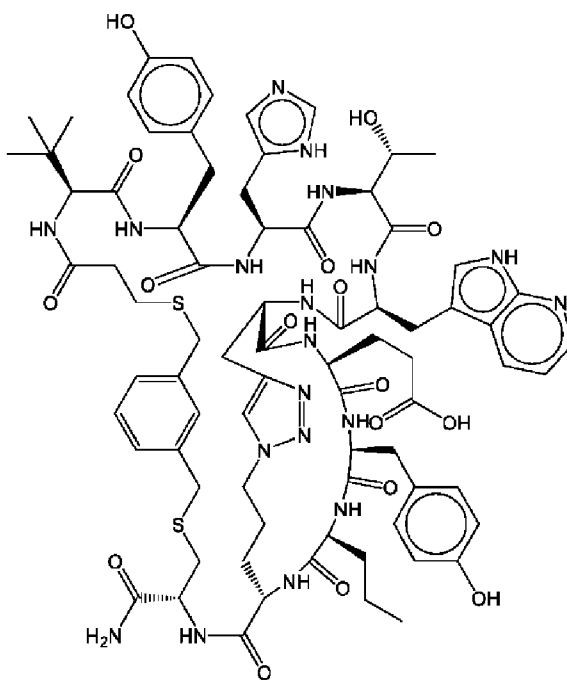
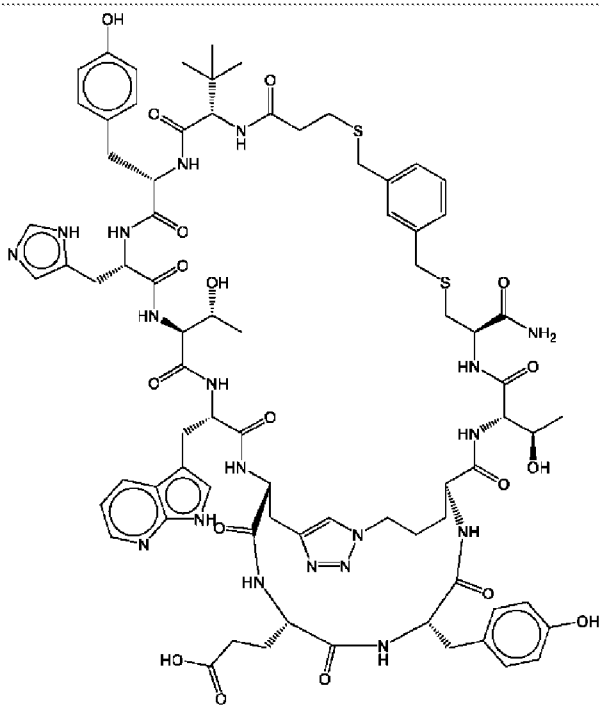
5 en el que cada residuo de aminoácido puede estar en la configuración R o S; y

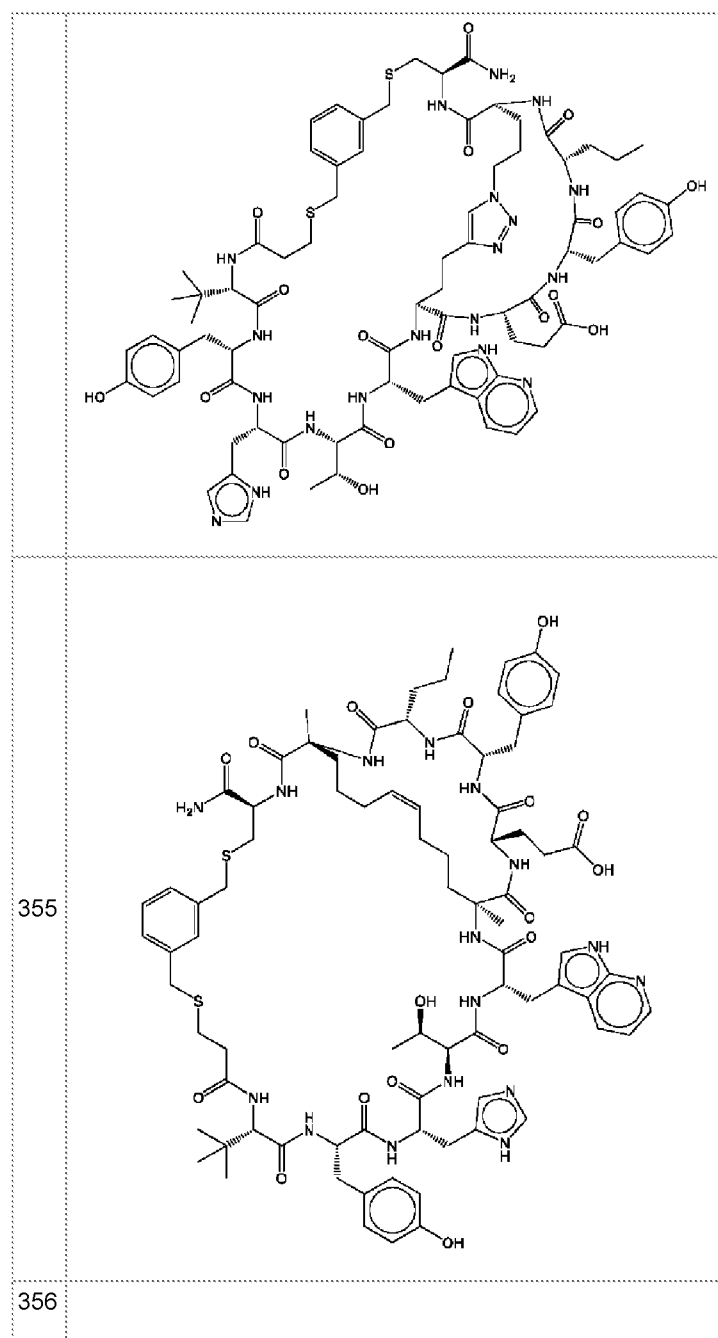
con la condición de que R₃ y R₇, o R₆ y R₁₀ estén unidos covalentemente por un resto conector seleccionado del grupo que consiste en:

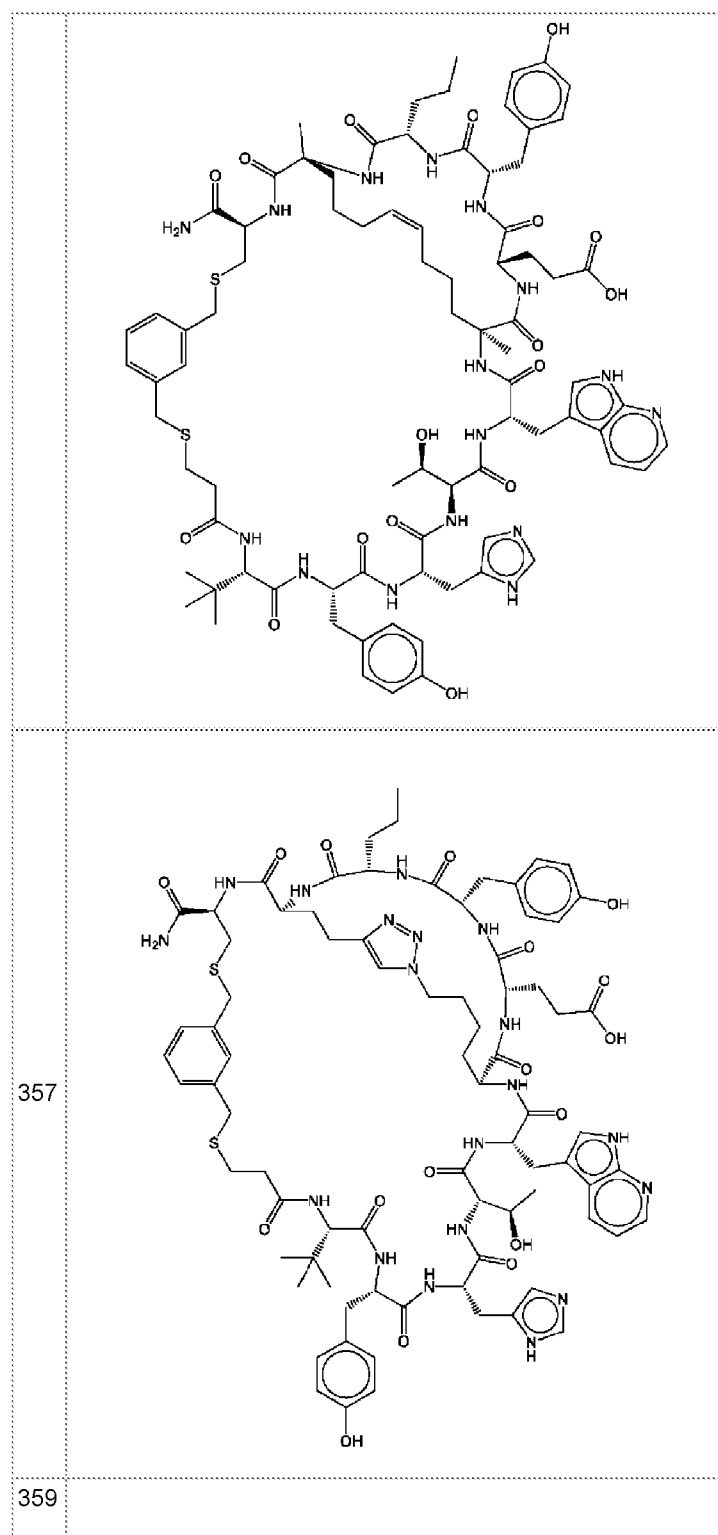


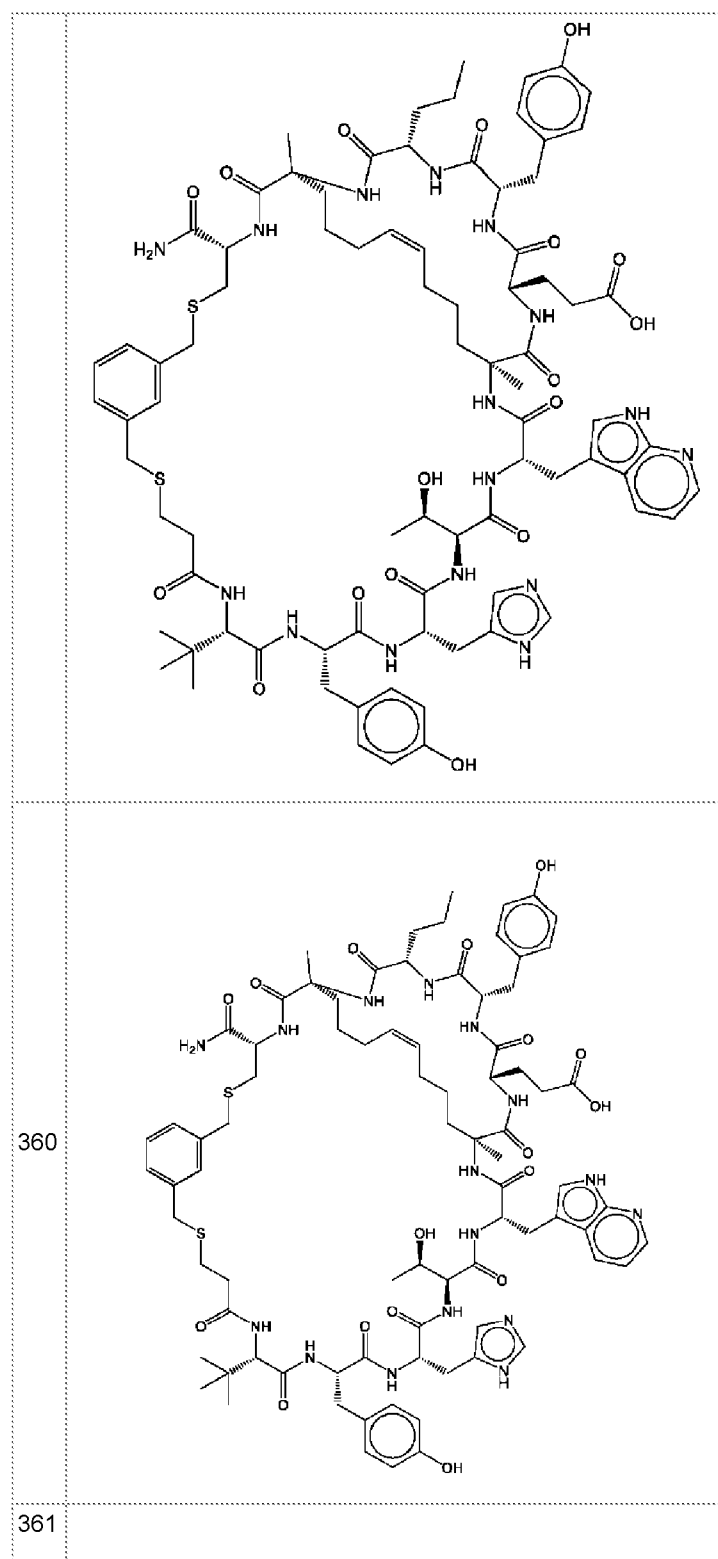
10 En una realización, el compuesto de fórmula (III), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se selecciona de entre los siguientes compuestos de la tabla 3 a continuación:

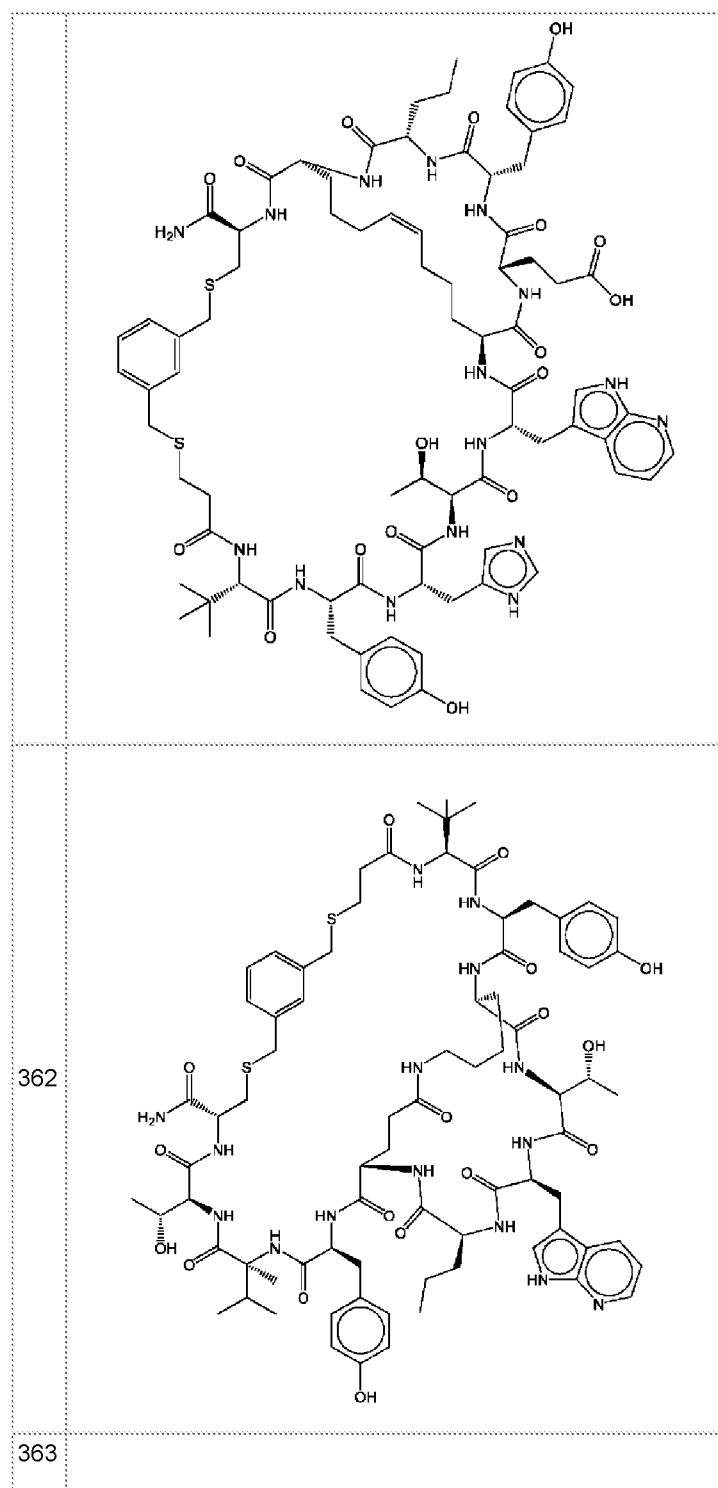


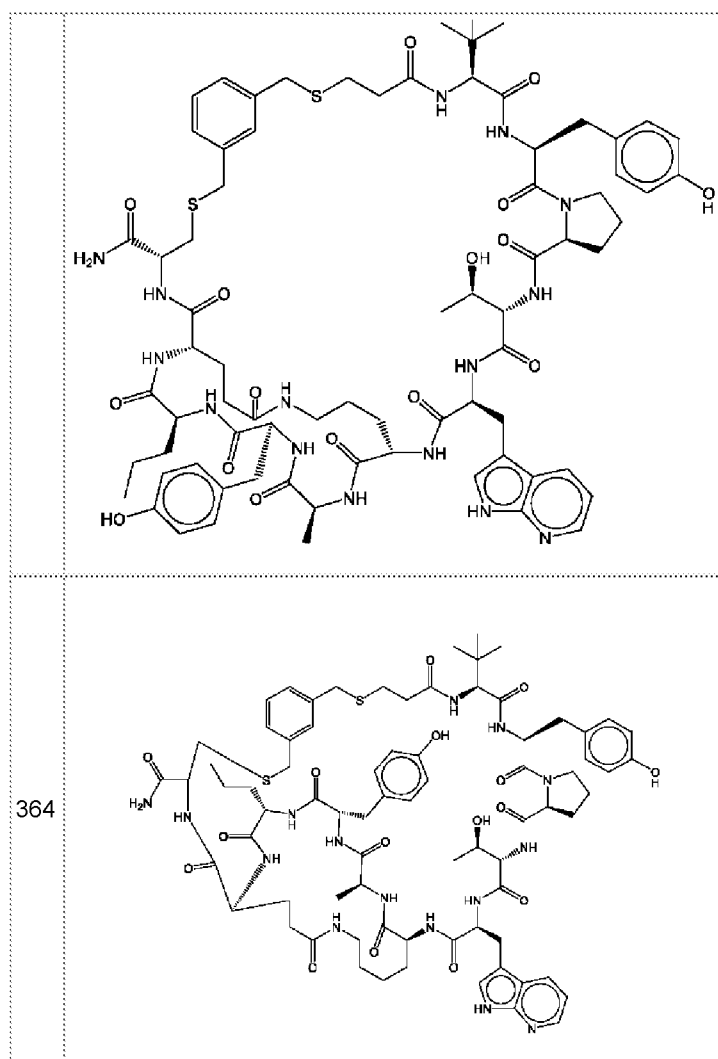




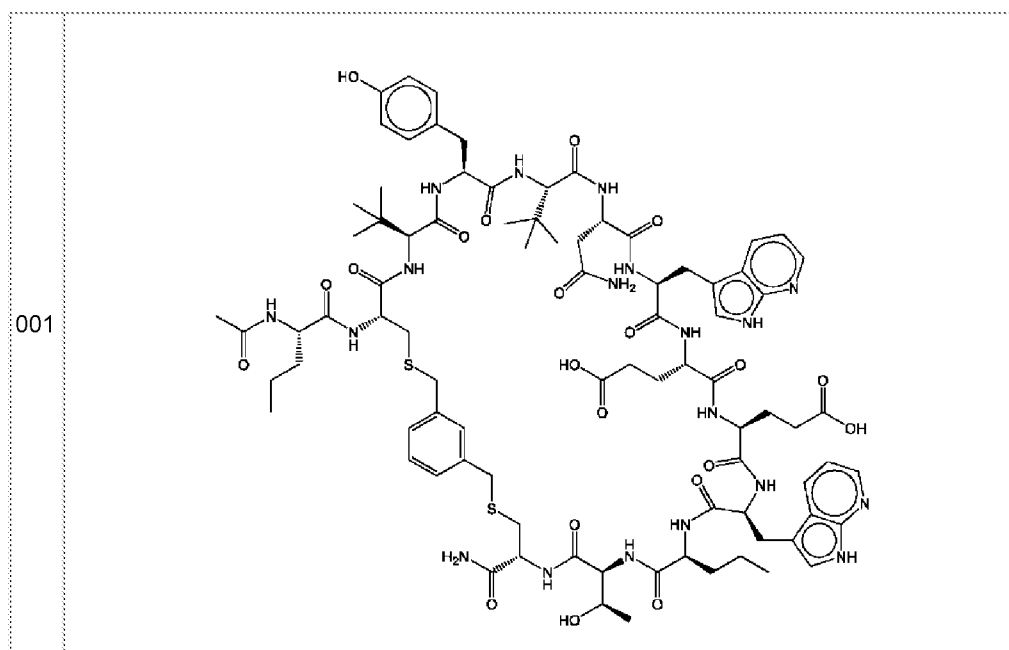




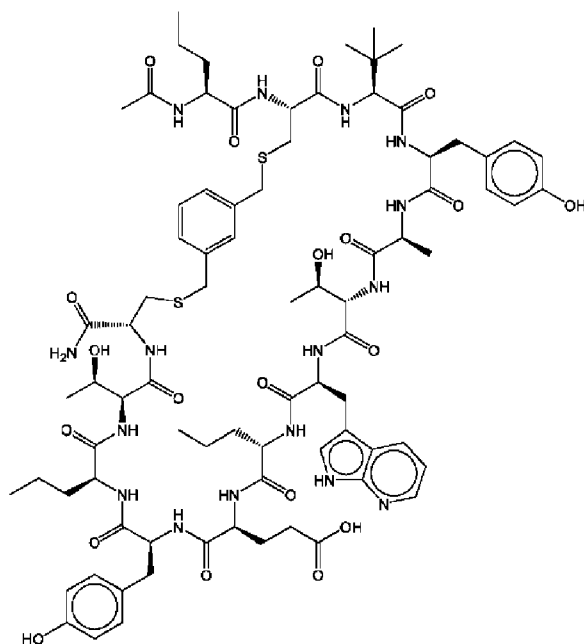




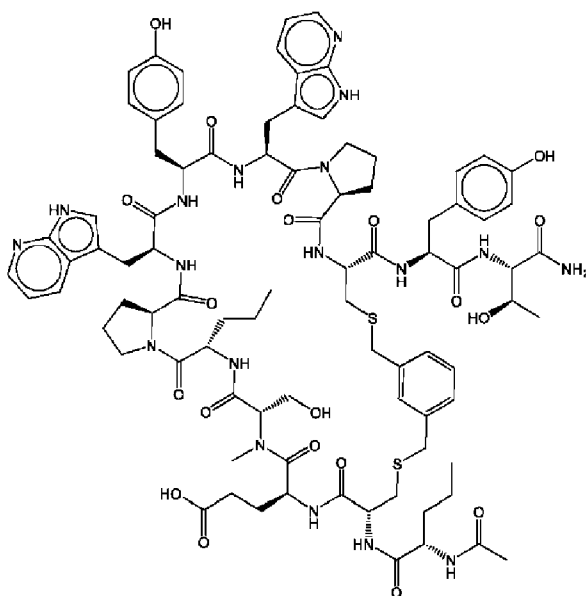
En otro aspecto, los compuestos de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, se seleccionan de los siguientes compuestos de la tabla 4 a continuación:



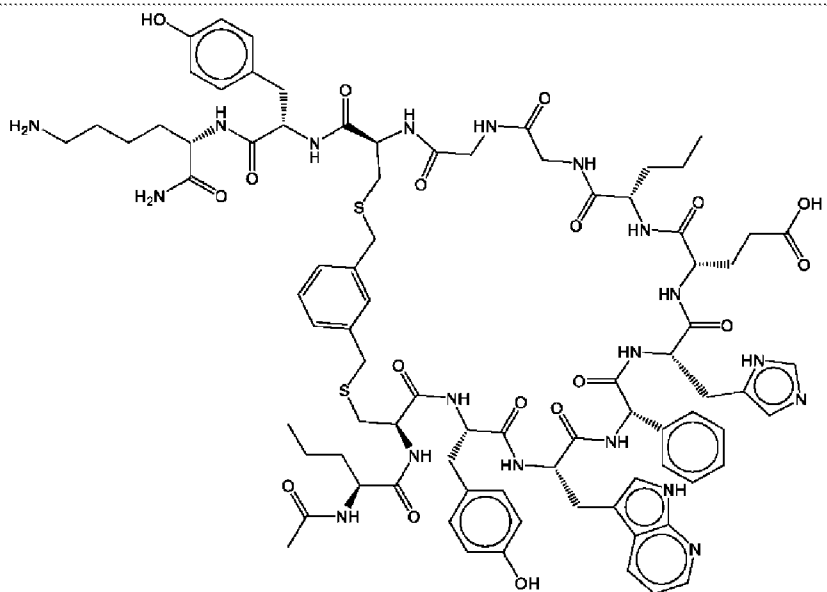
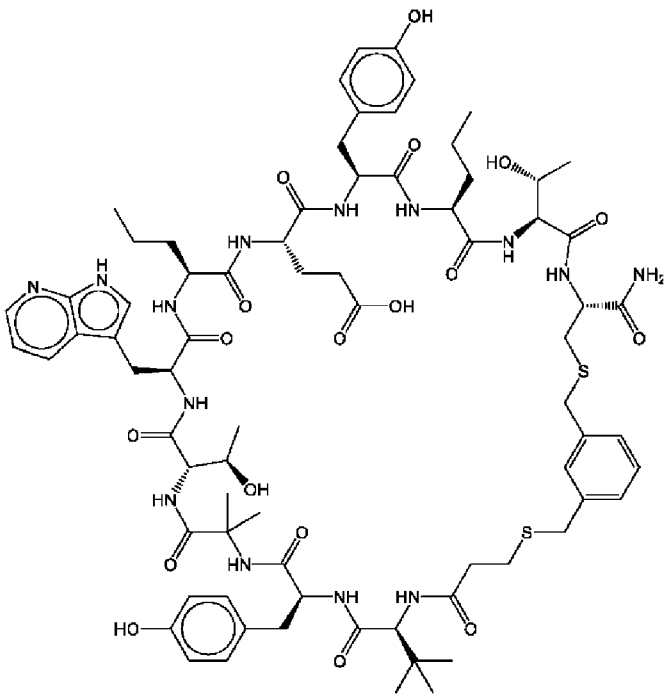
002

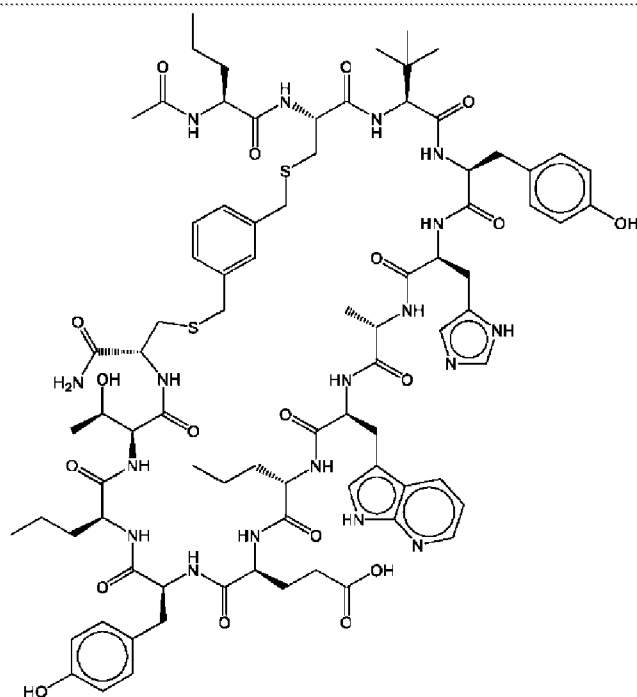


003

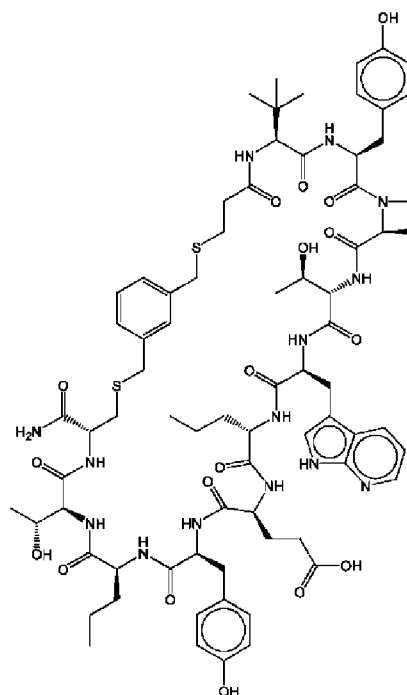


004

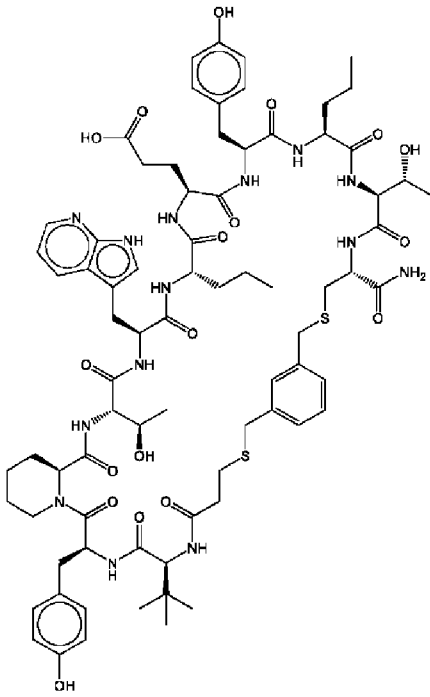
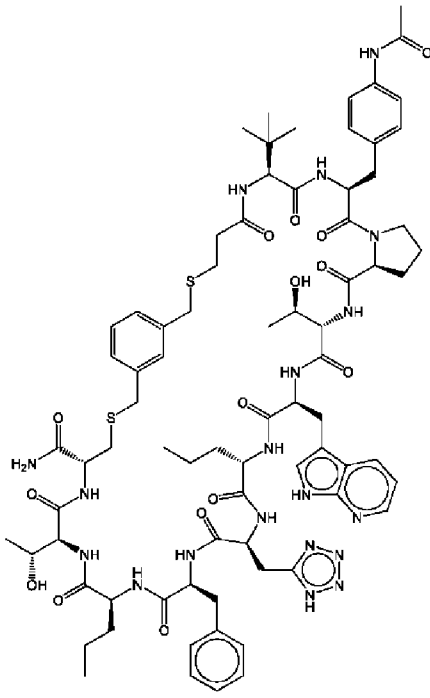
	
005	
006	

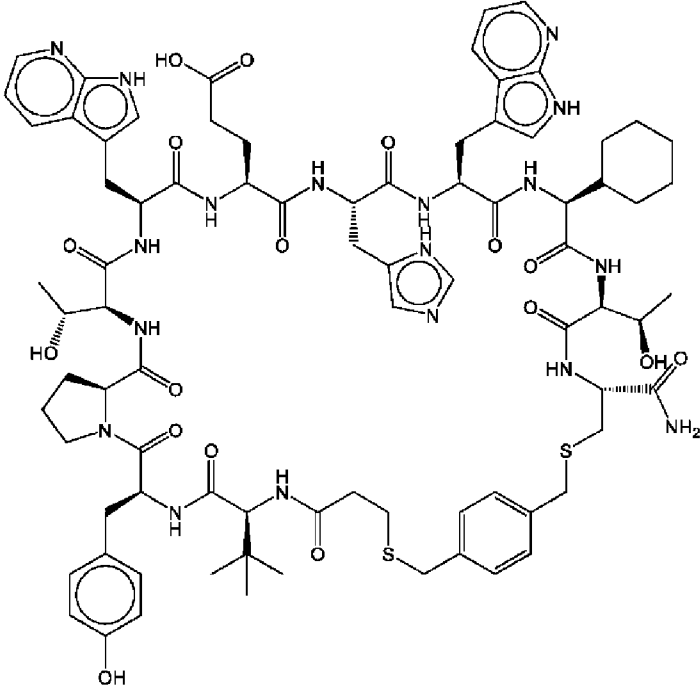
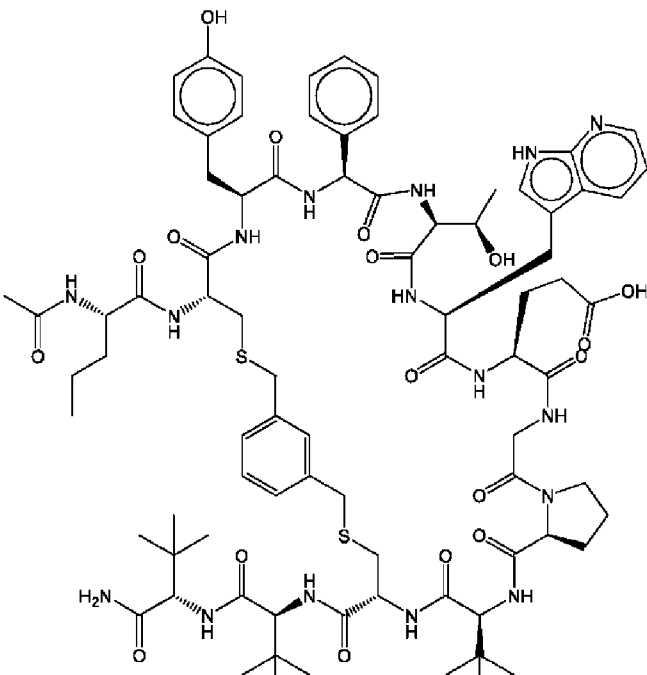


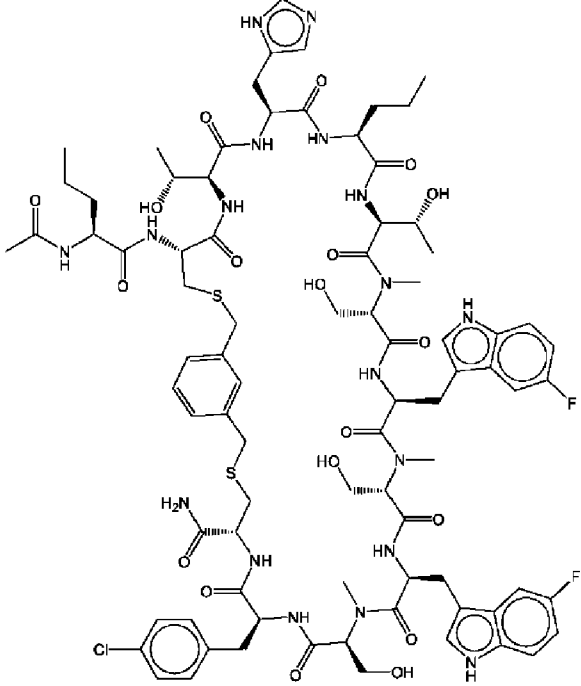
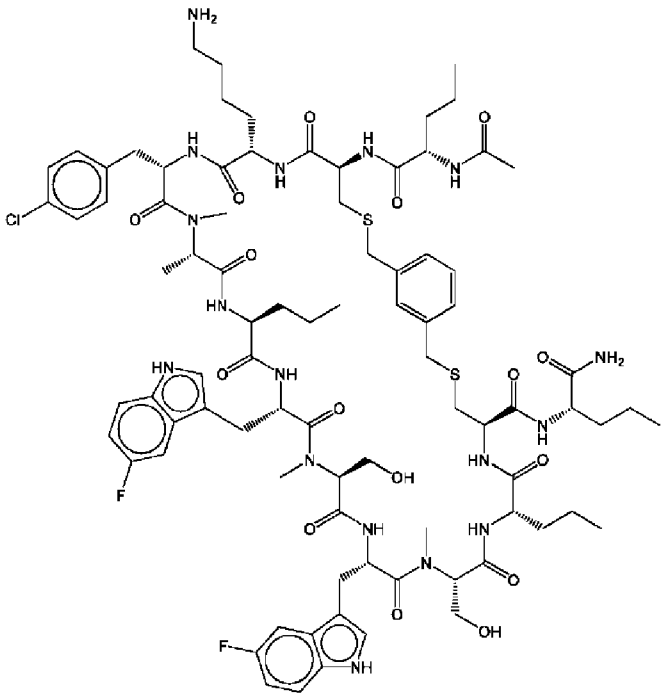
007

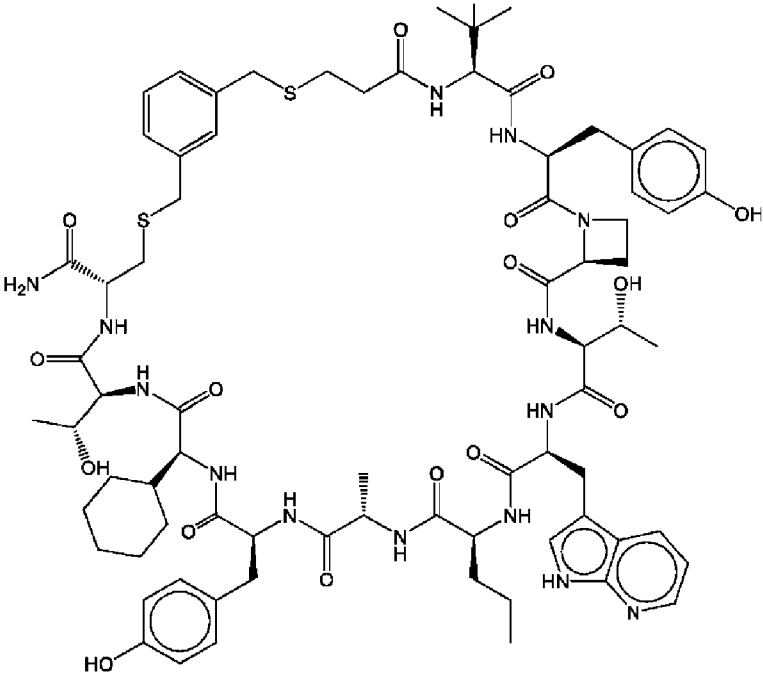
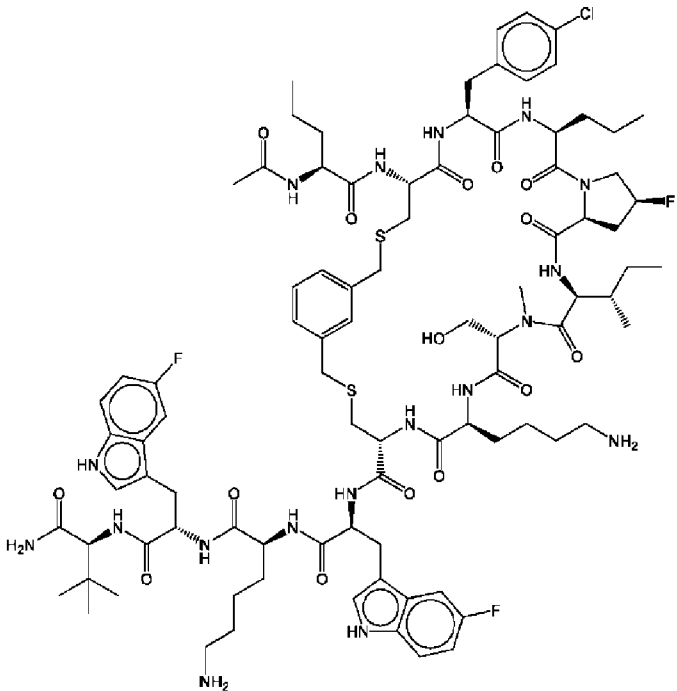


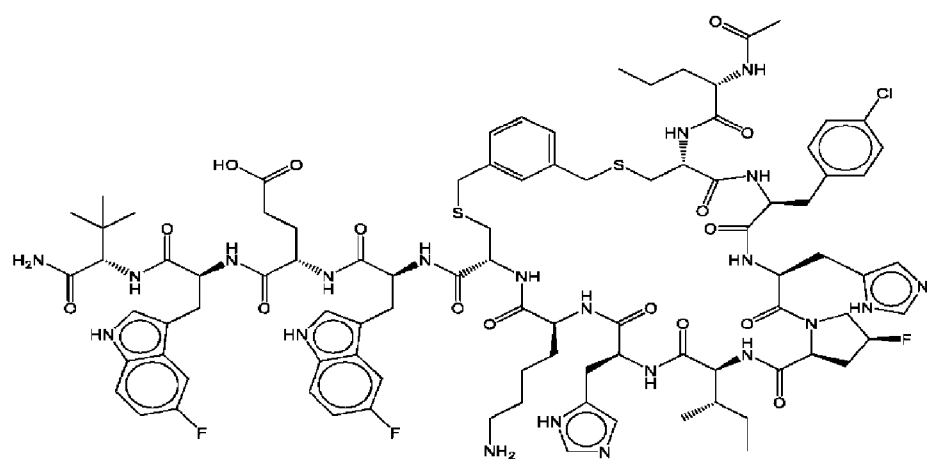
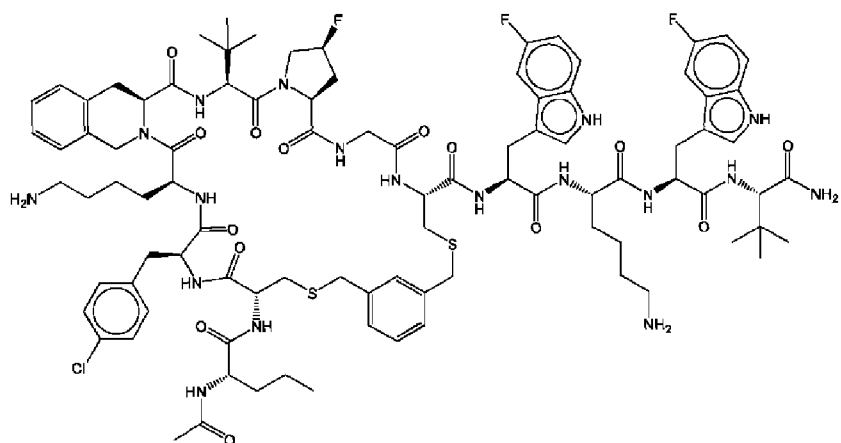
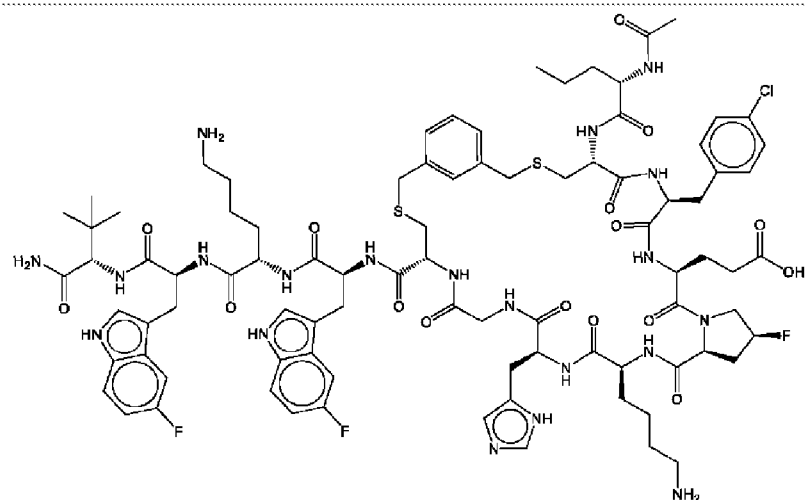
008

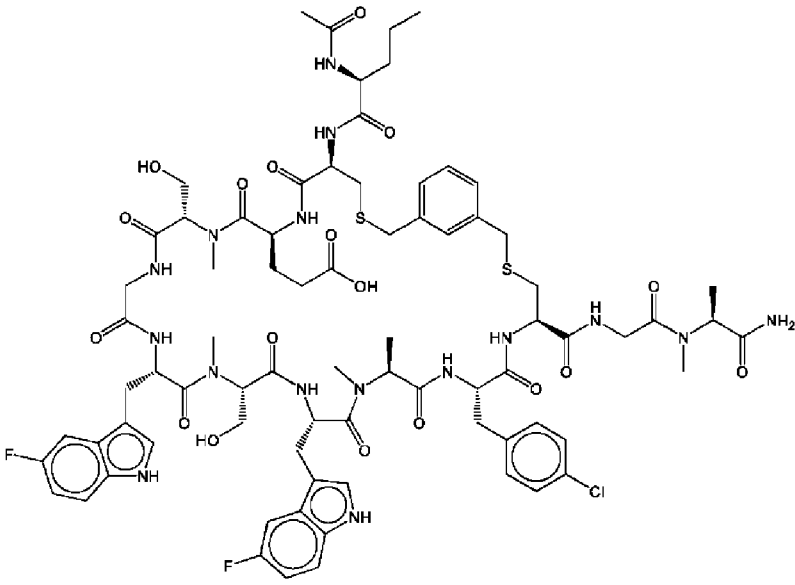
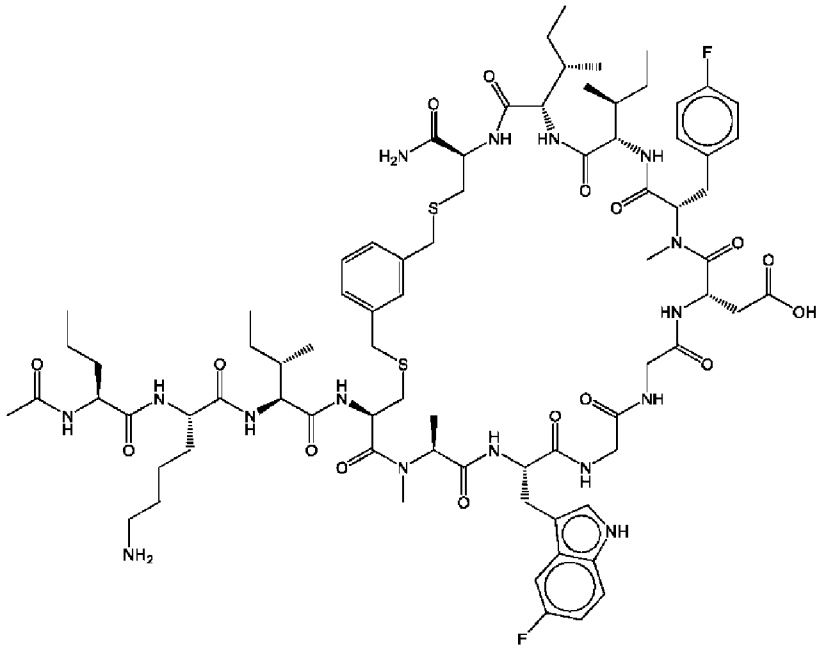
	
009	
010	

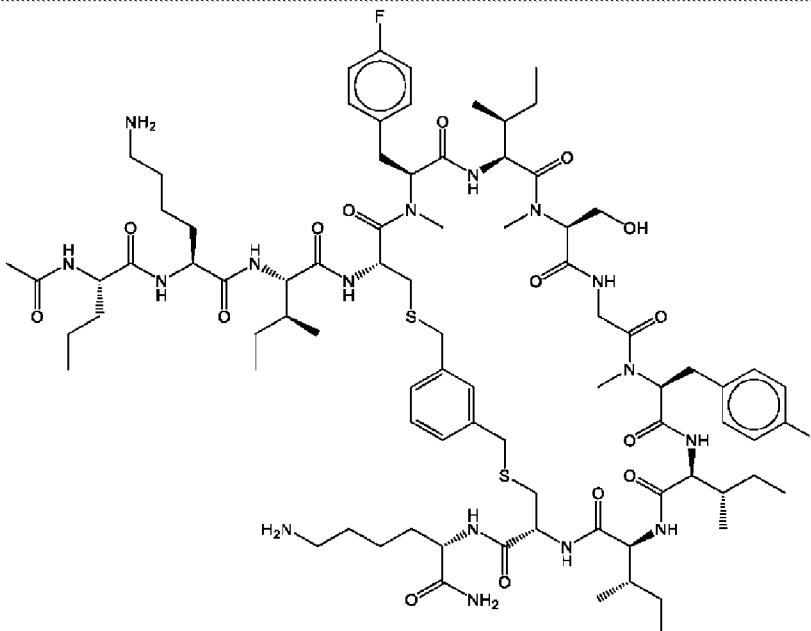
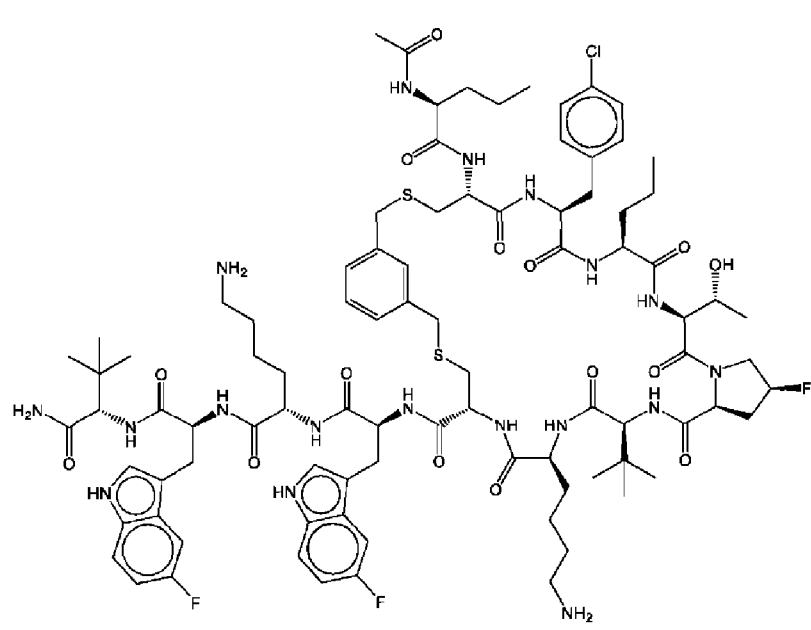
	
011	
012	

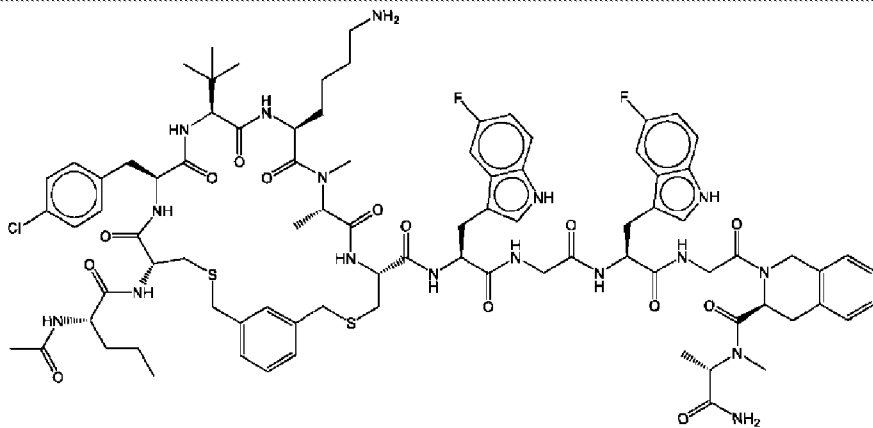
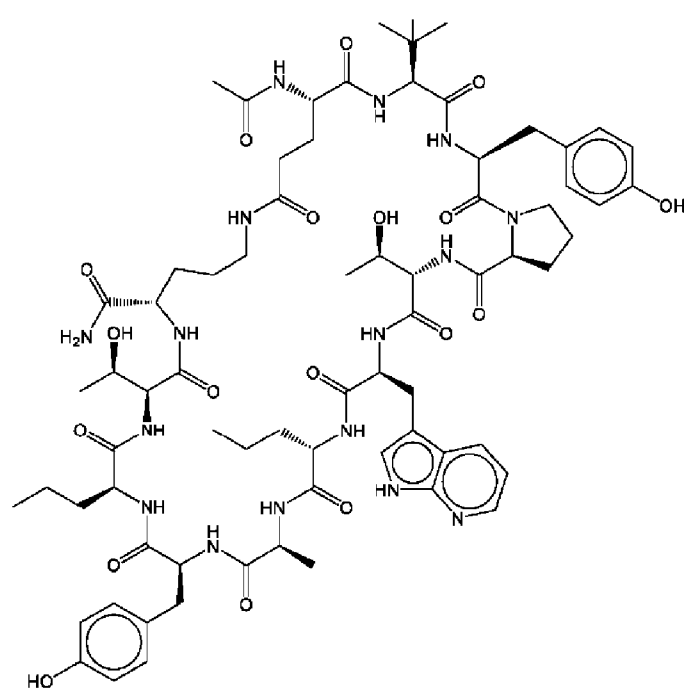
	
013	
014	

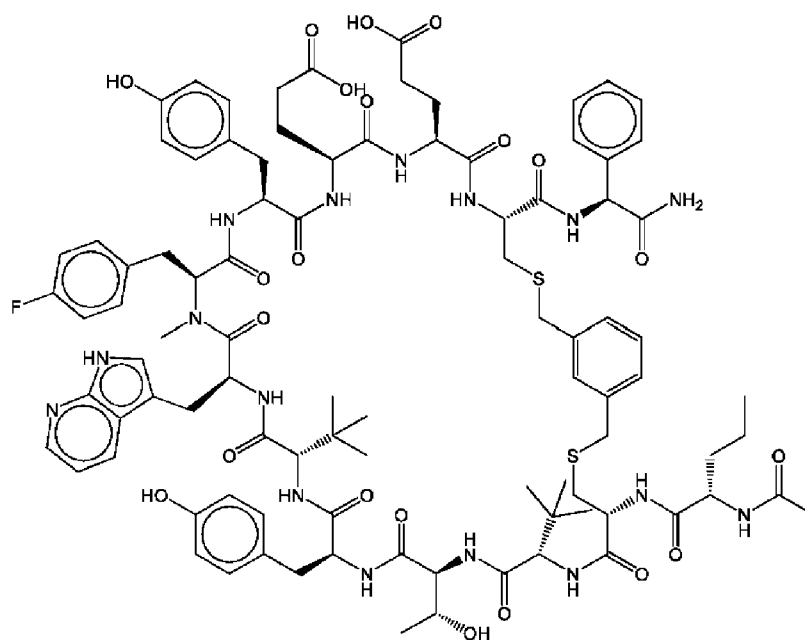
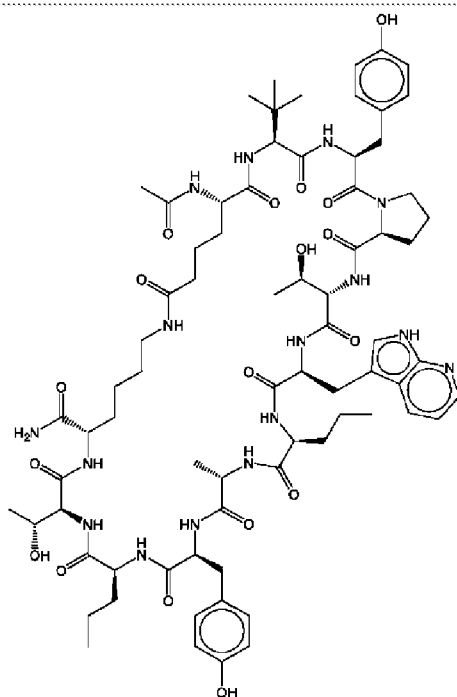
	
015	
016	

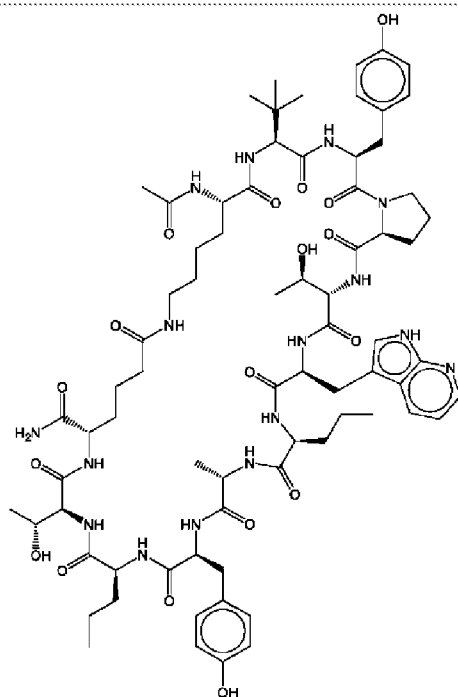


	
020	
021	

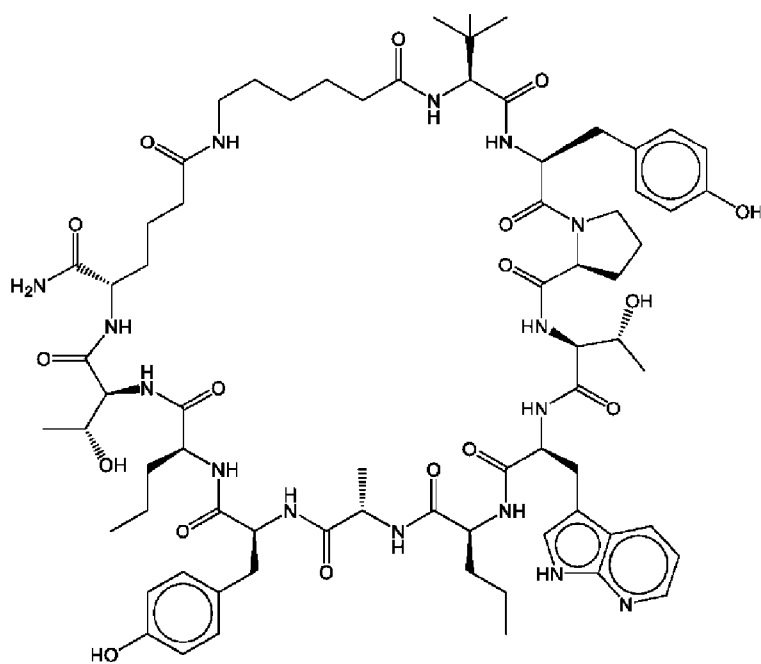
	
022	
023	

	
024	
025	

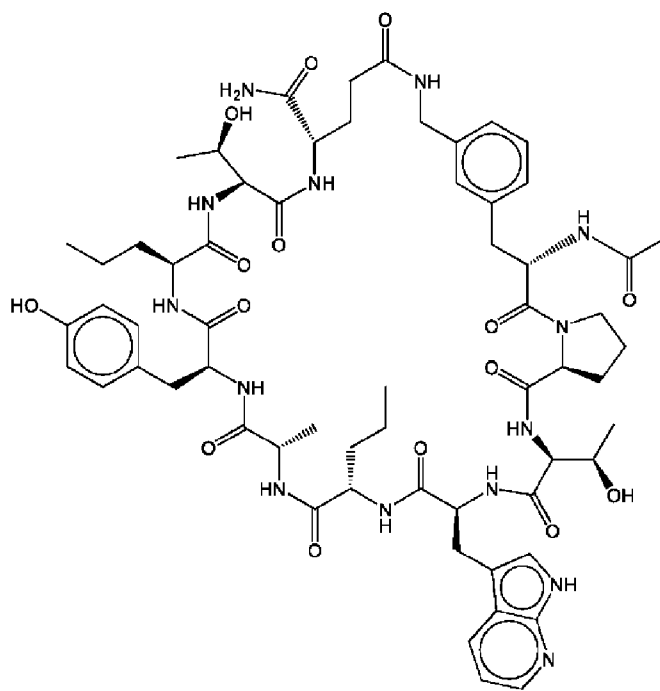
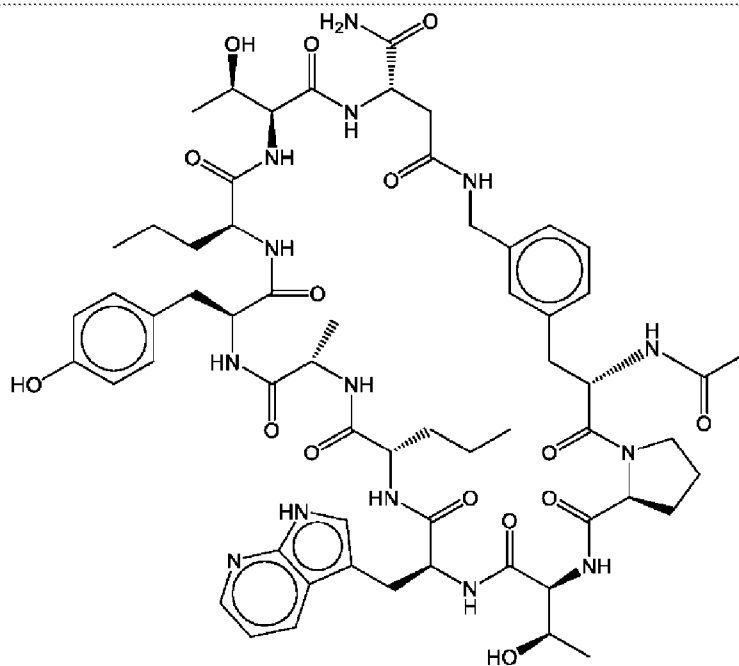


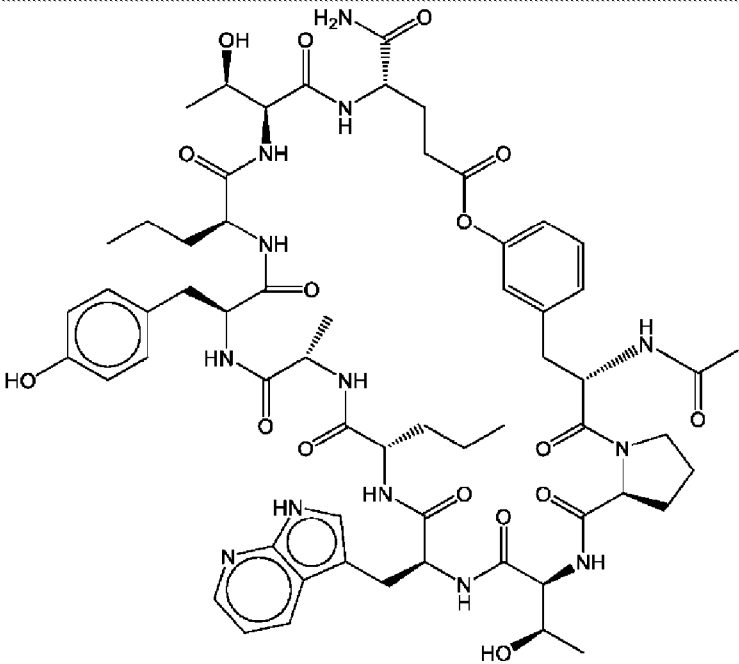
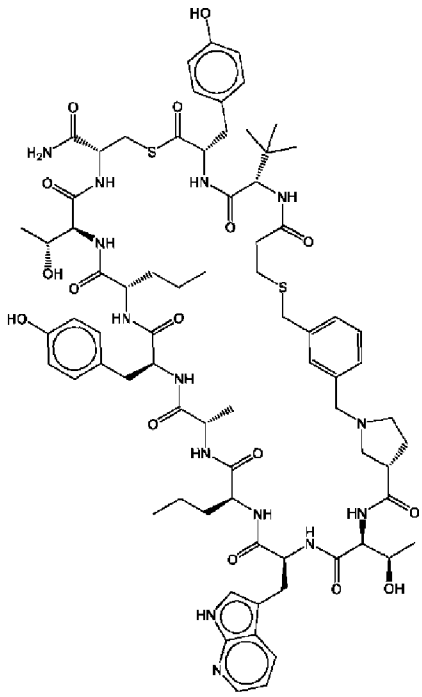


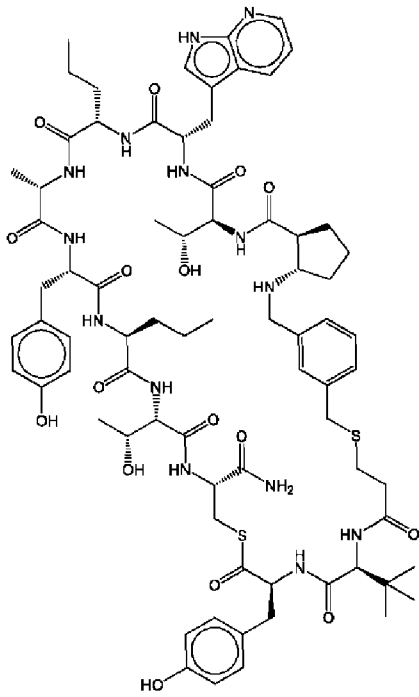
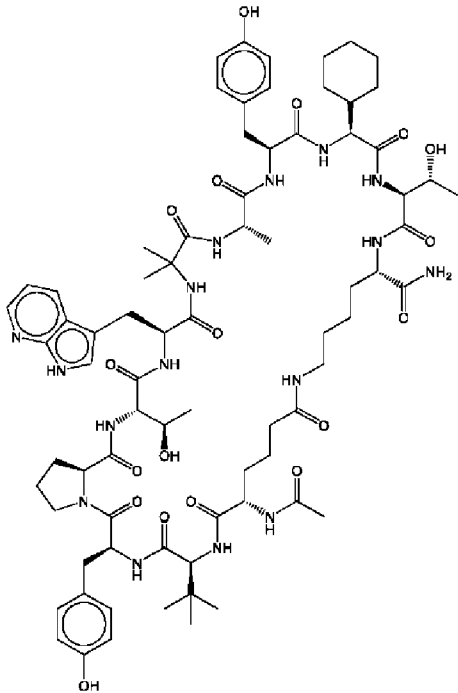
028

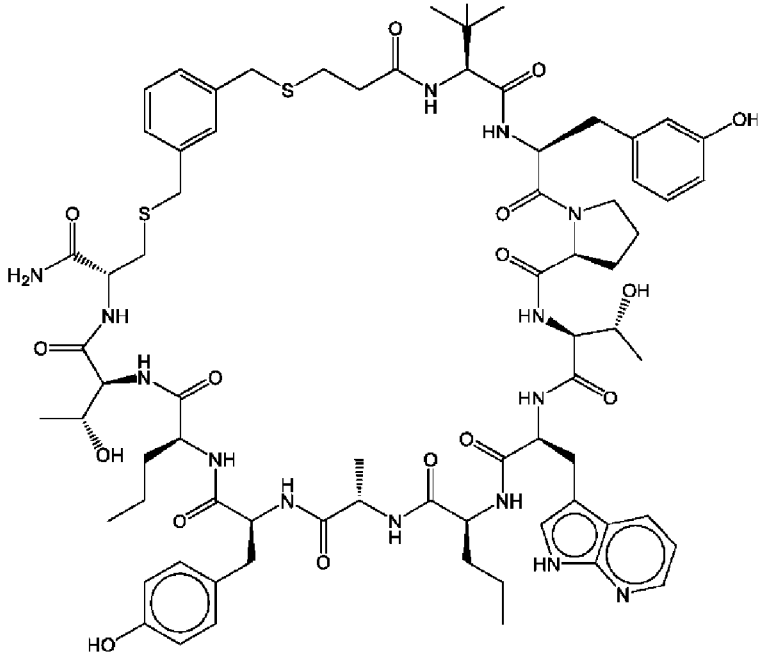
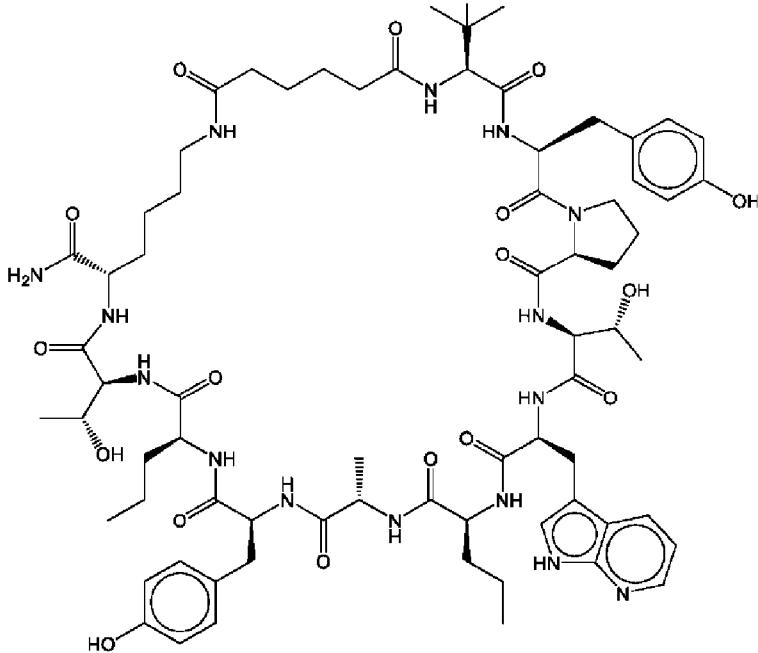


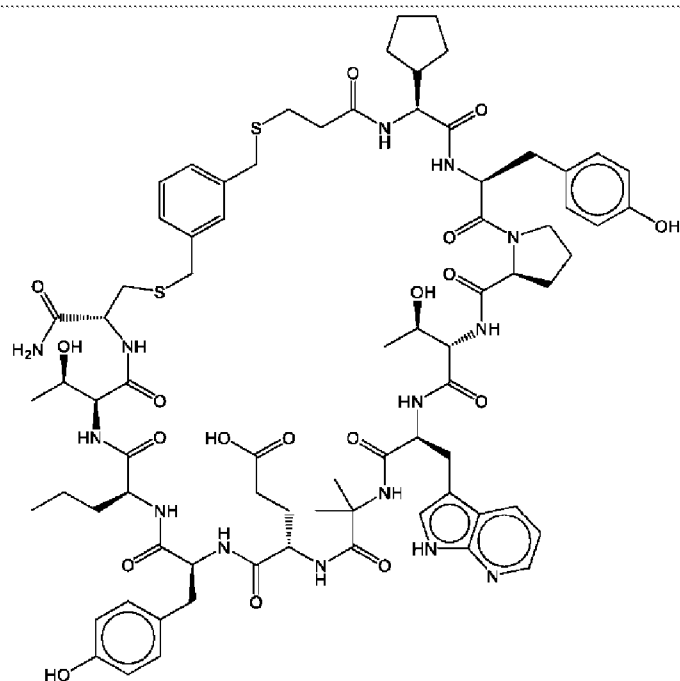
029



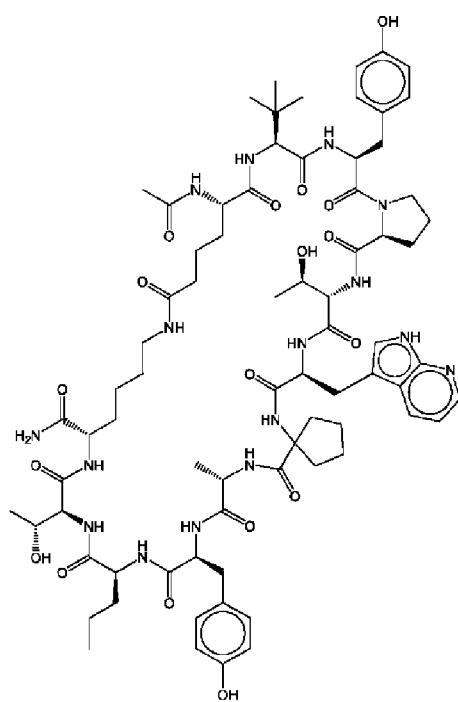
	
032	
033	

	
034	
035	

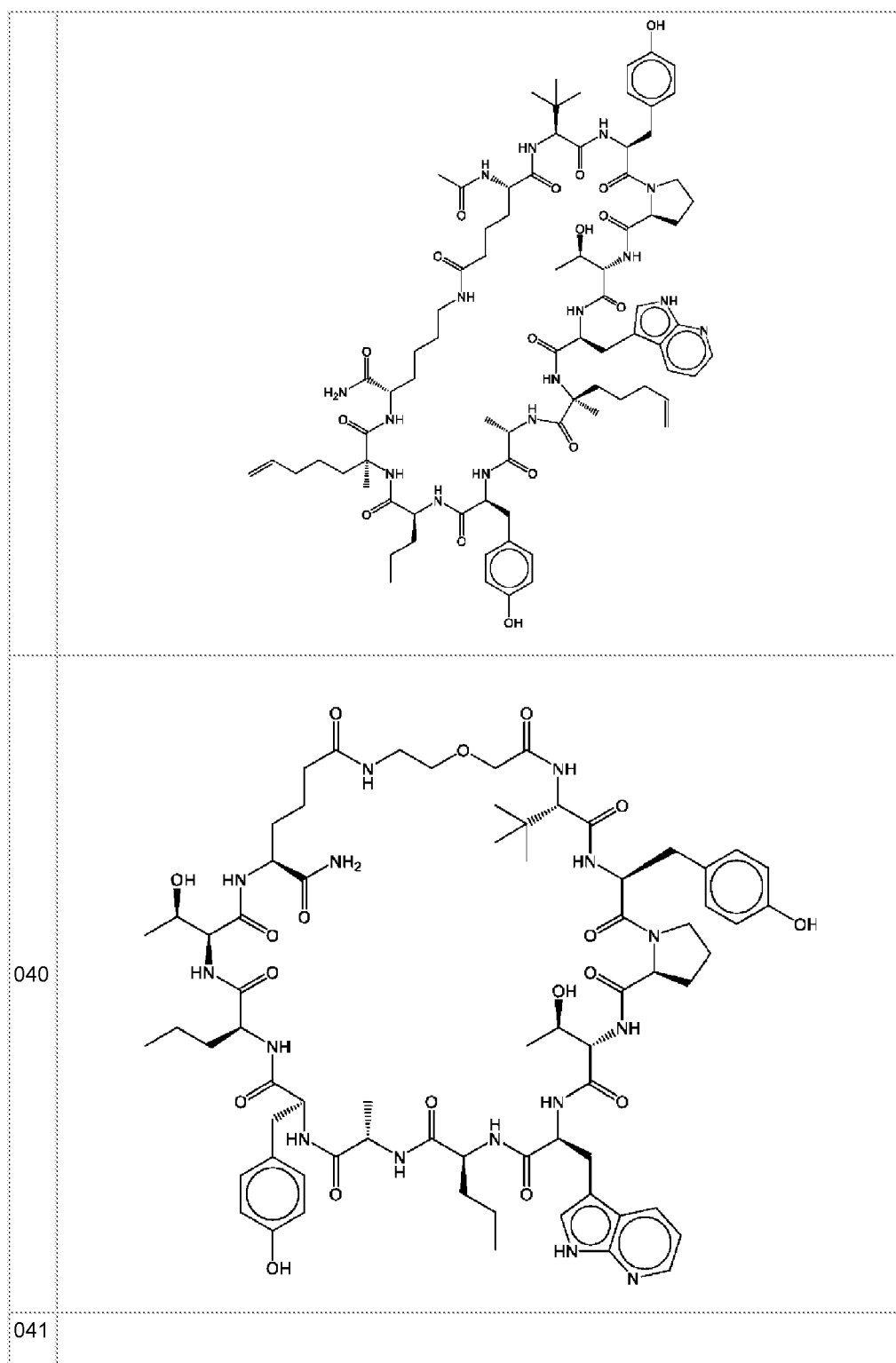
	 Chemical structure of a complex molecule. It features a central thioether bridge (-S-) connecting two side chains. The left side chain includes a benzyl group, a primary amide, a secondary amide, a hydroxyl group, and a carboxylic acid. The right side chain includes a benzyl group, a secondary amide, a hydroxyl group, a carboxylic acid, and a pyrazole ring. The molecule is highly branched and contains multiple amide and ester linkages.
036	 Chemical structure of a complex molecule, similar to the one above but with a different linker. It features a long amide chain (-NH-) connecting two side chains. The left side chain includes a benzyl group, a primary amide, a secondary amide, a hydroxyl group, and a carboxylic acid. The right side chain includes a benzyl group, a secondary amide, a hydroxyl group, a carboxylic acid, and a pyrazole ring. The molecule is highly branched and contains multiple amide and ester linkages.
037	

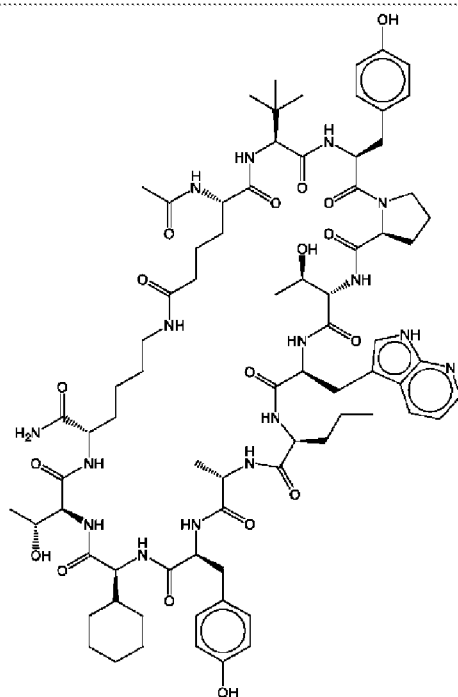


038

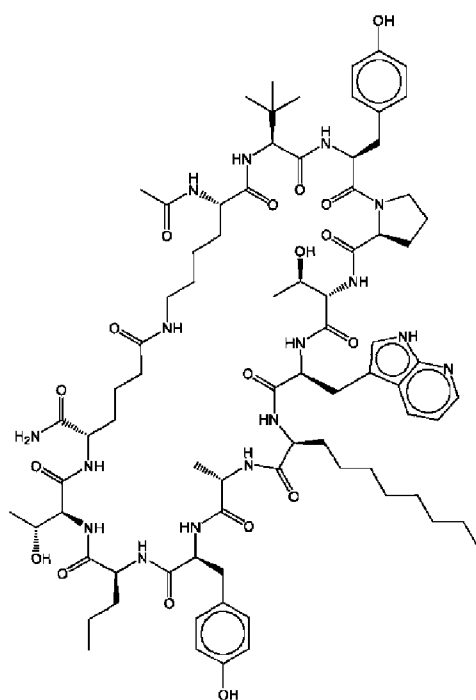


039

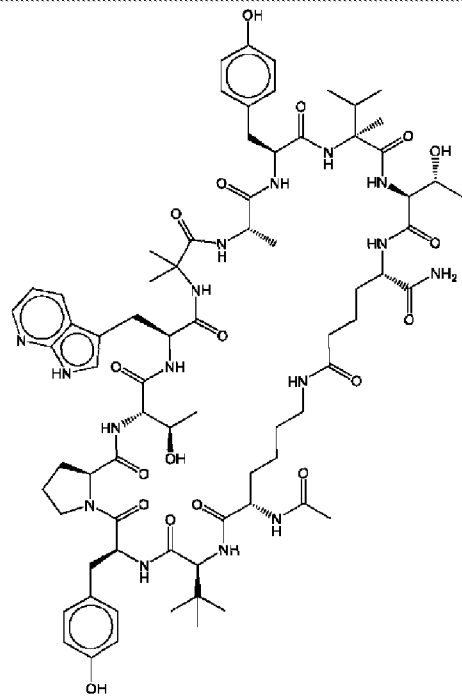
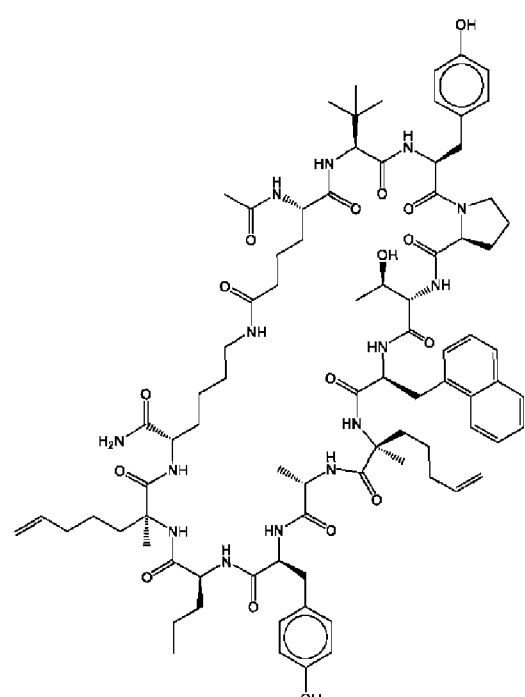


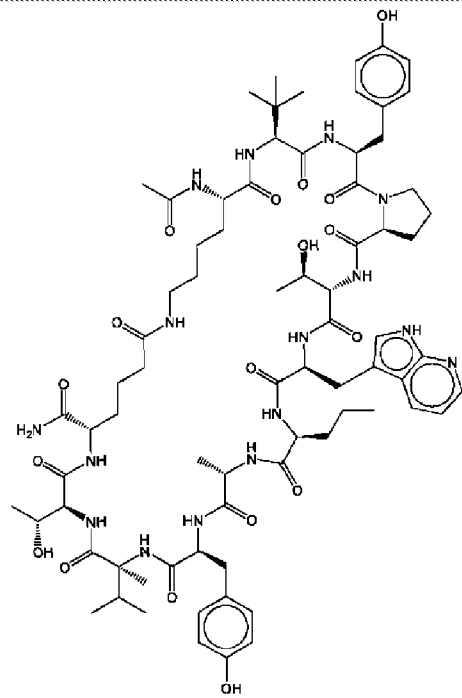
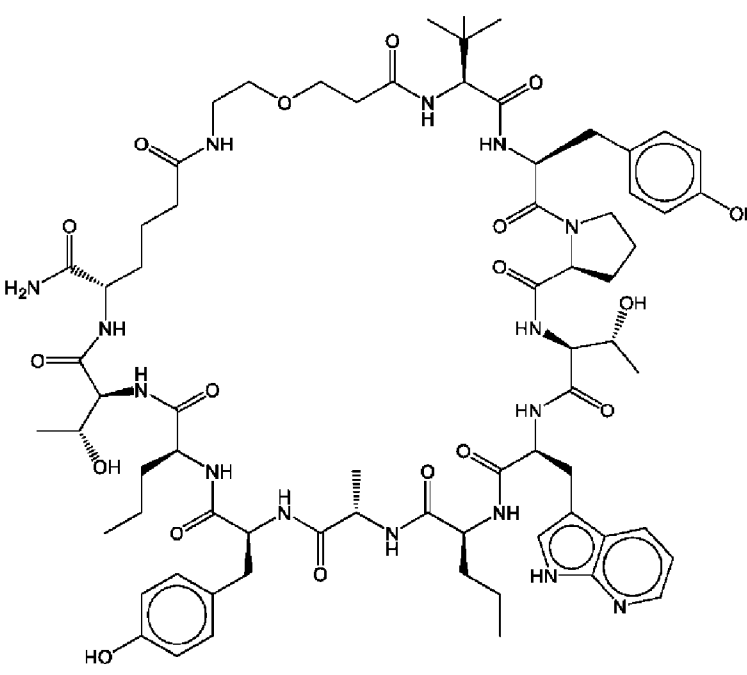


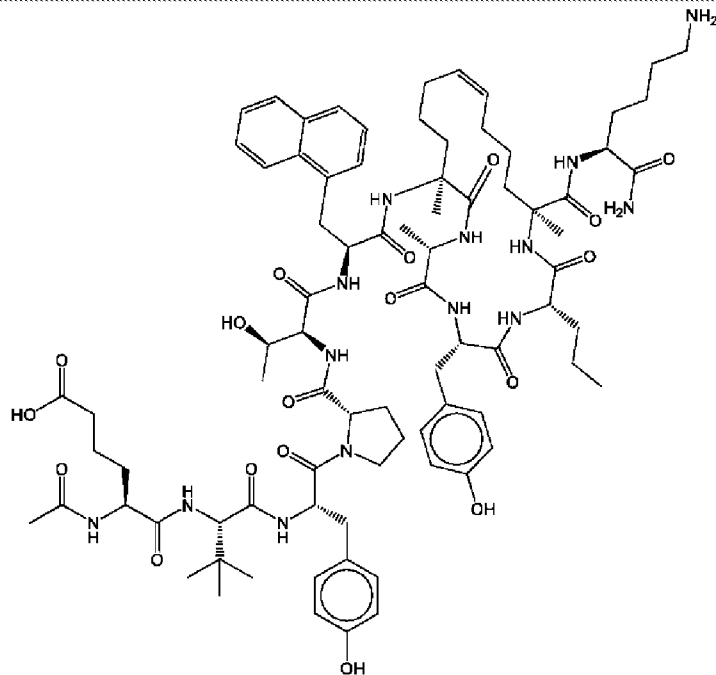
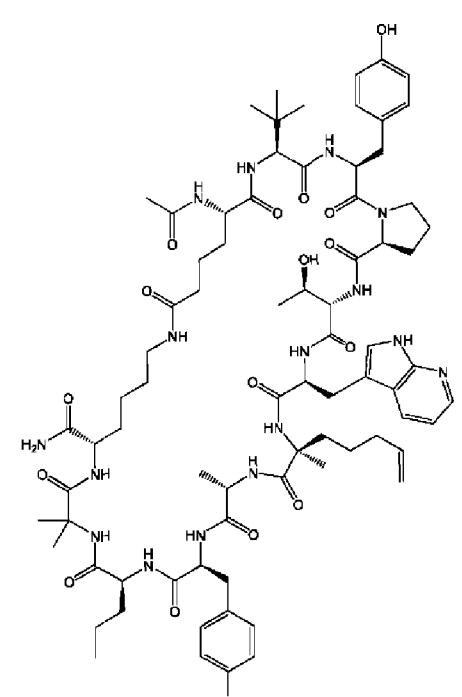
042

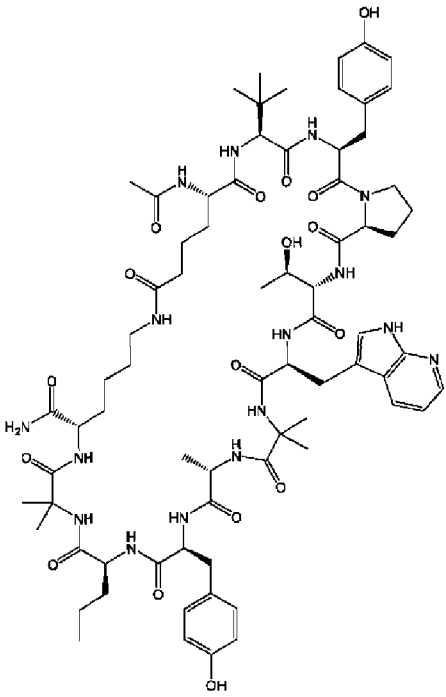
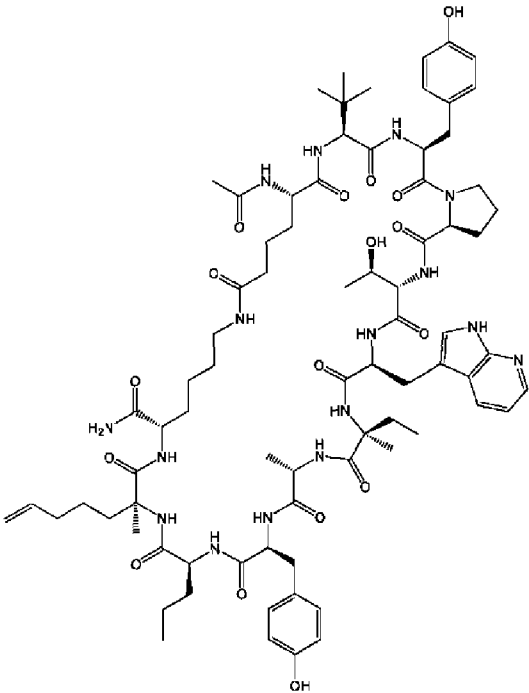


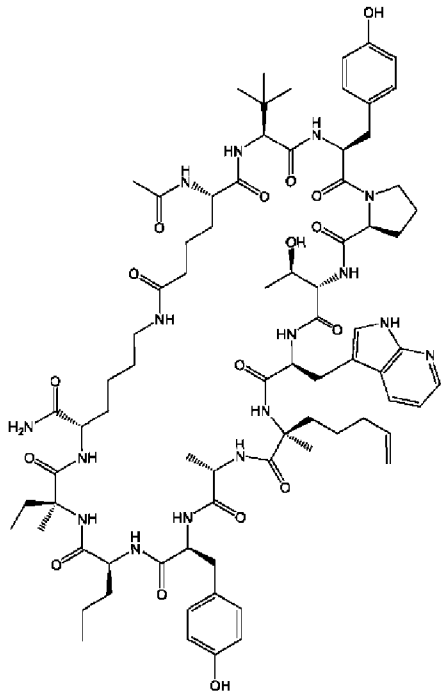
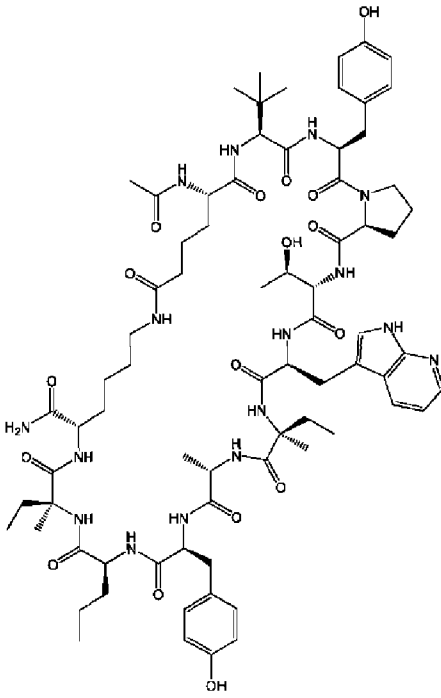
043

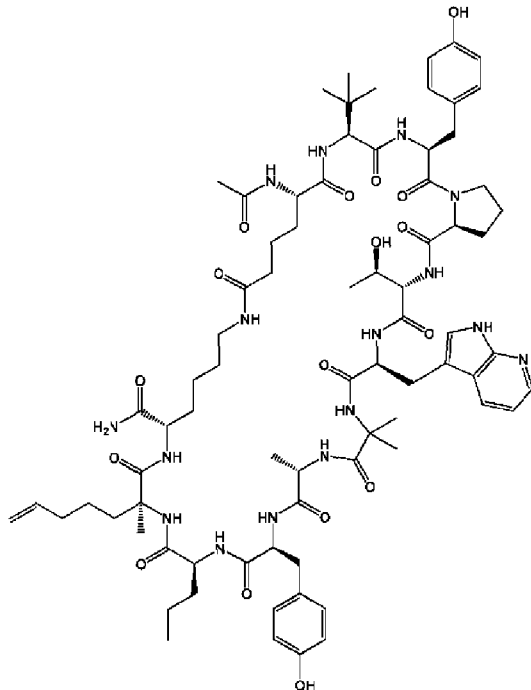
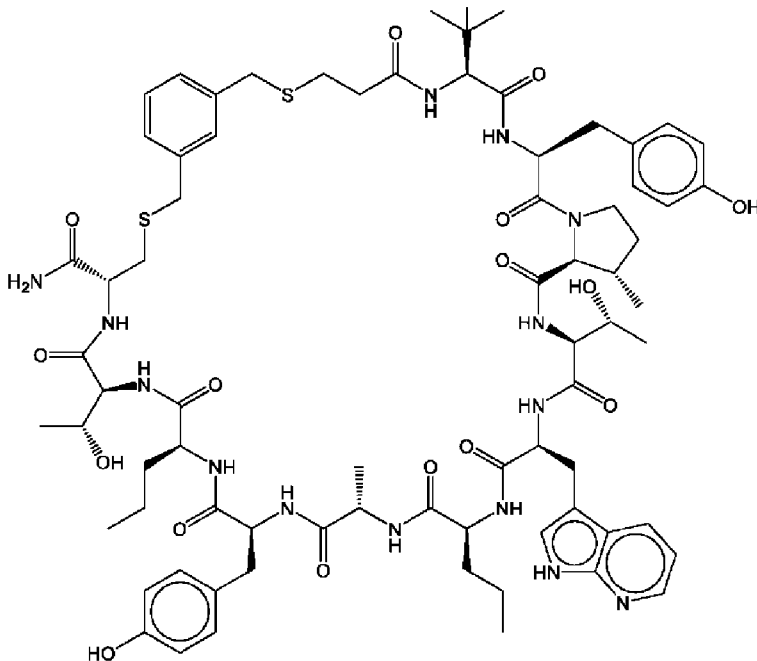
	
044	
045	

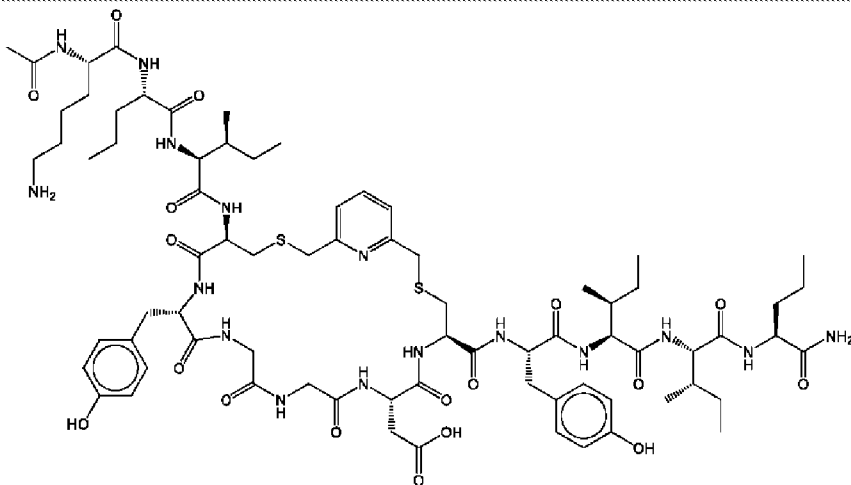
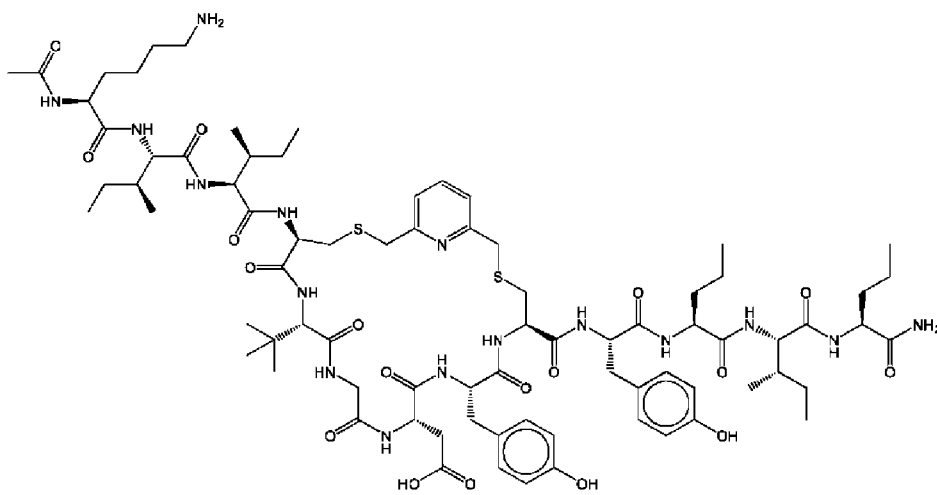
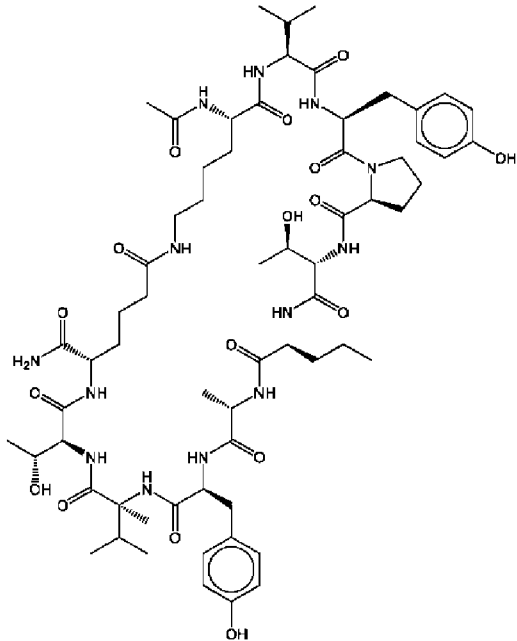
	
046	
047	

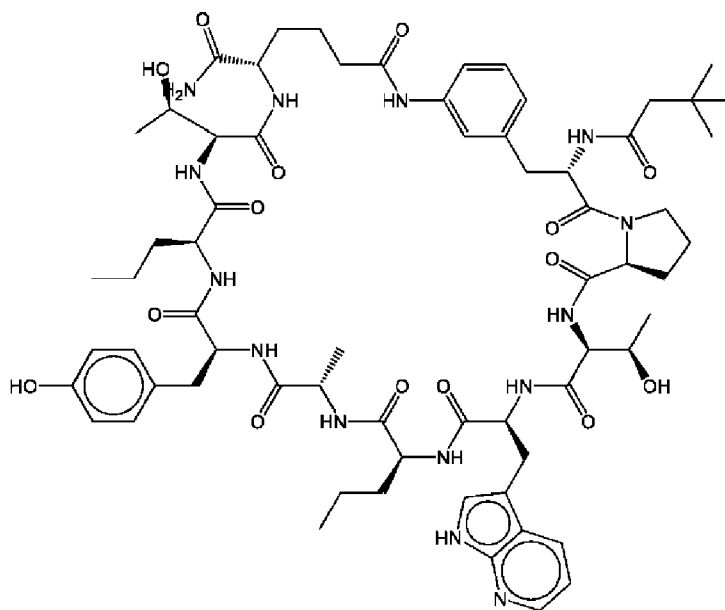
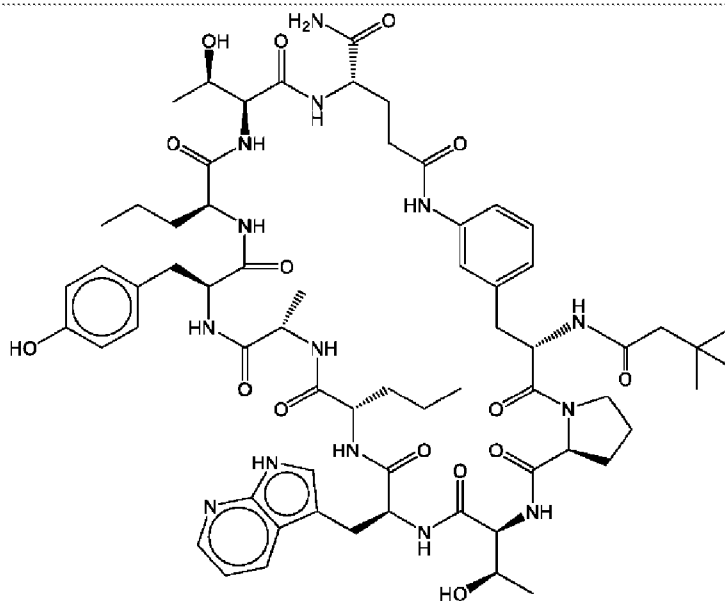
	
048	
049	

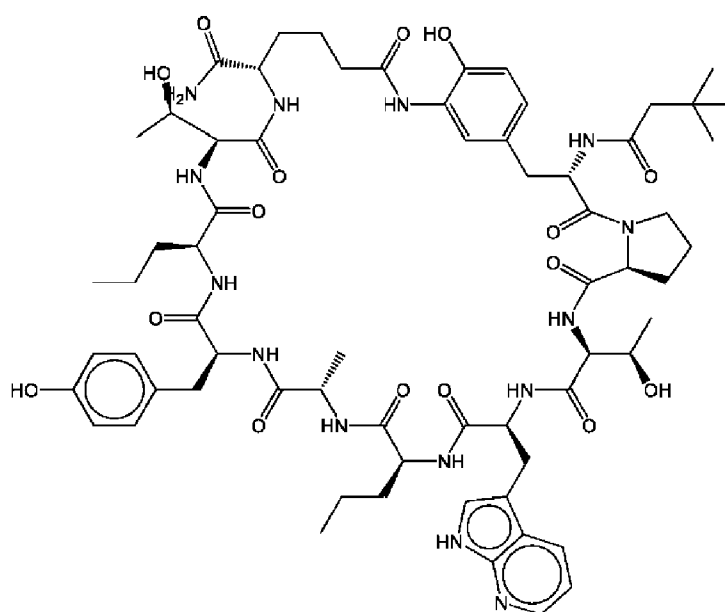
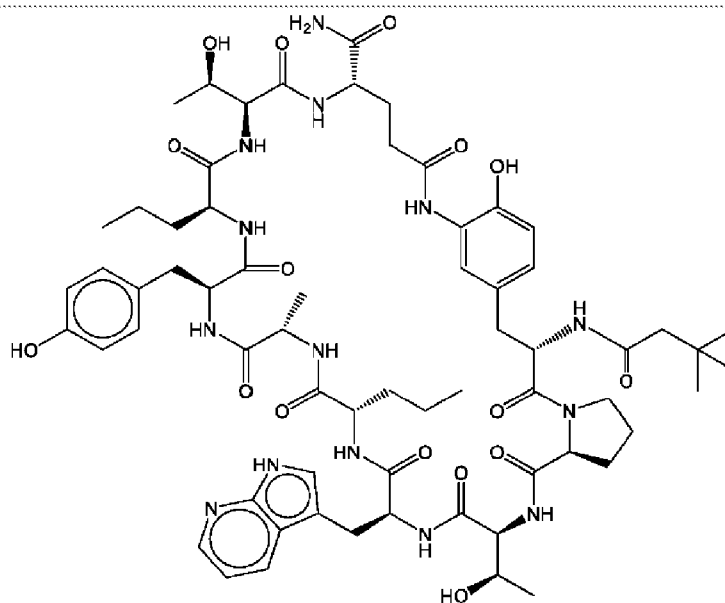
	
050	
051	

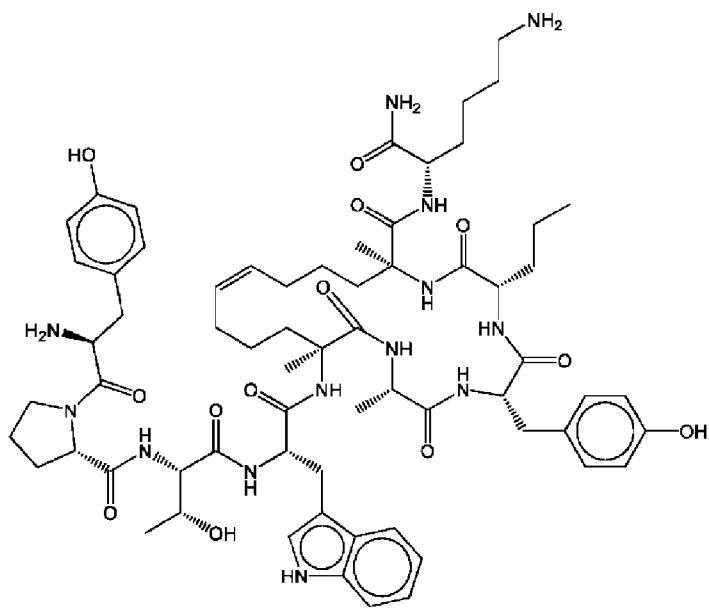
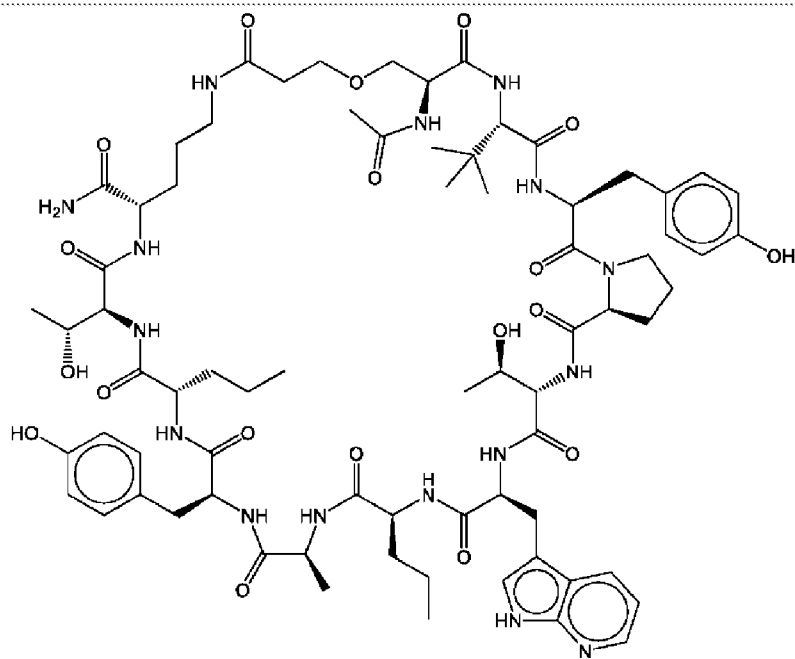
	
052	
053	

	
054	
055	

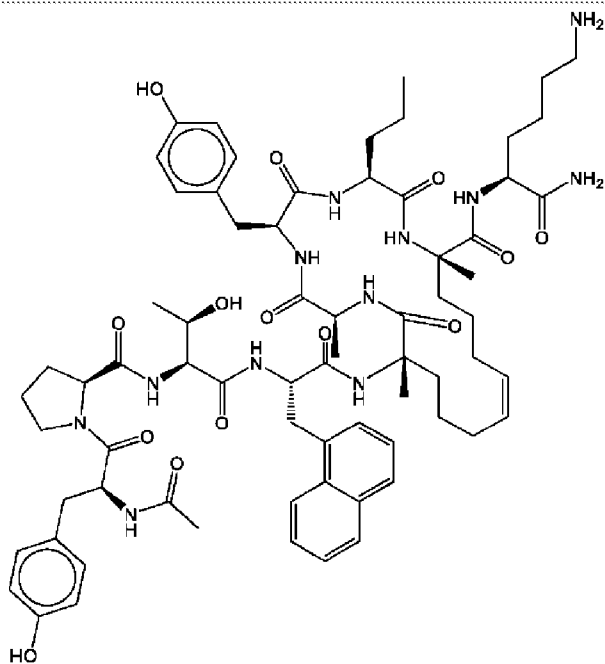
	
056	
057	



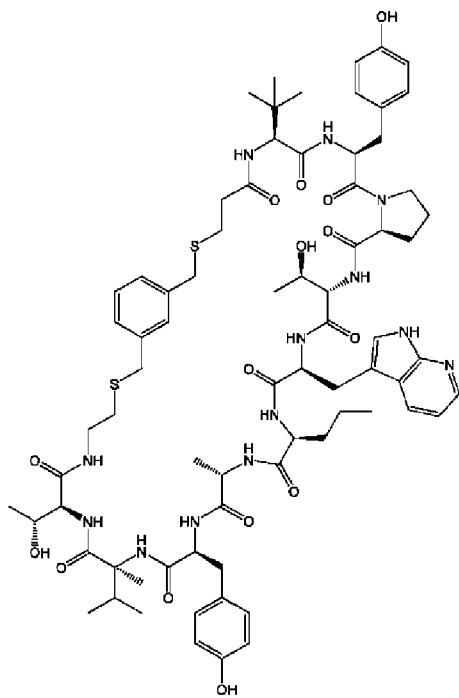




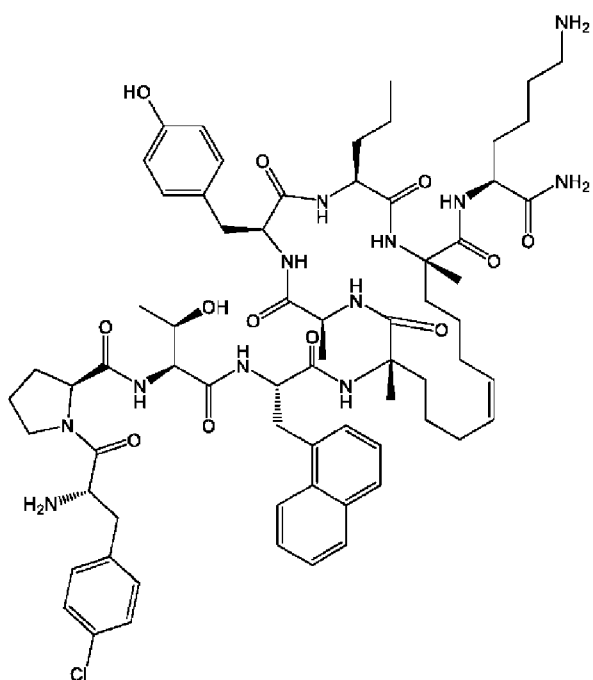
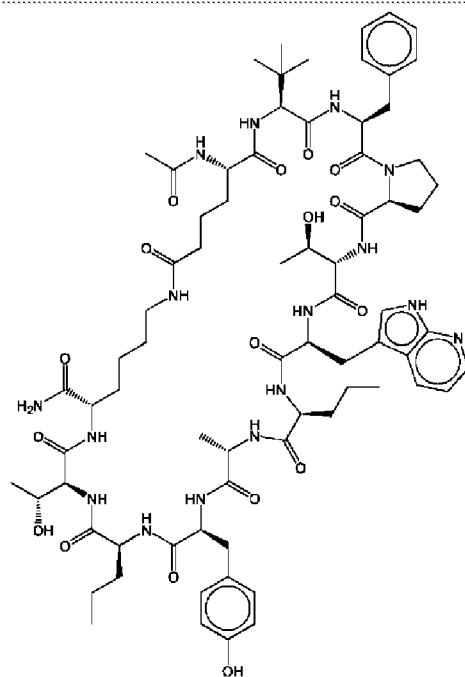
066

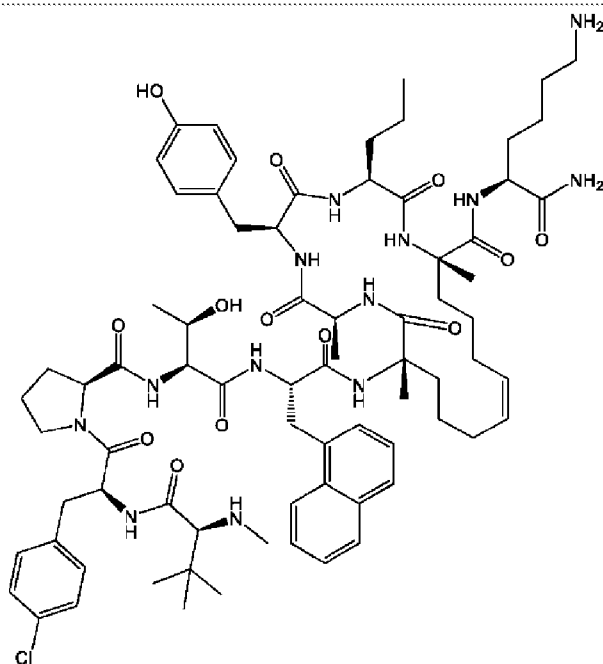


067

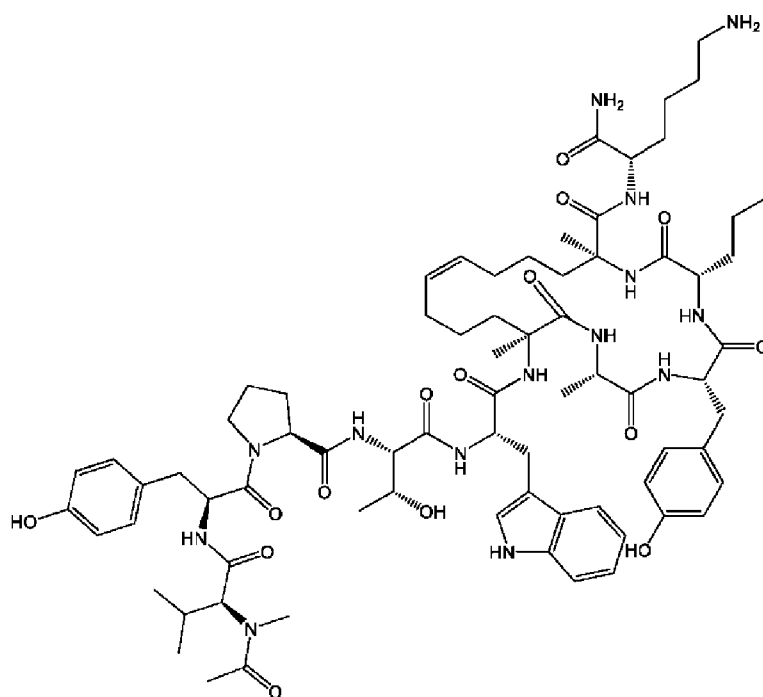


068

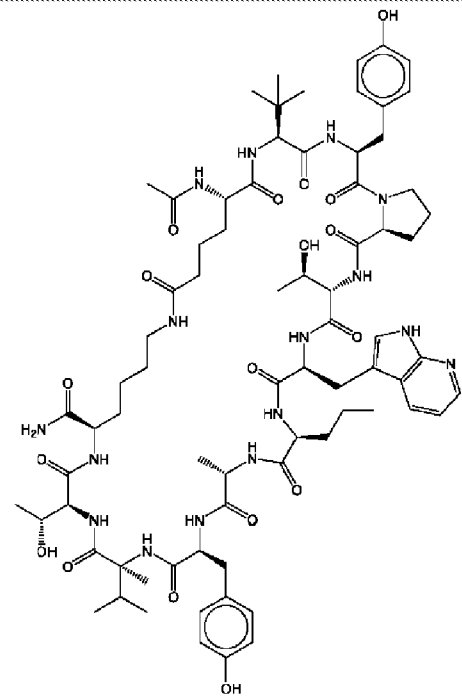
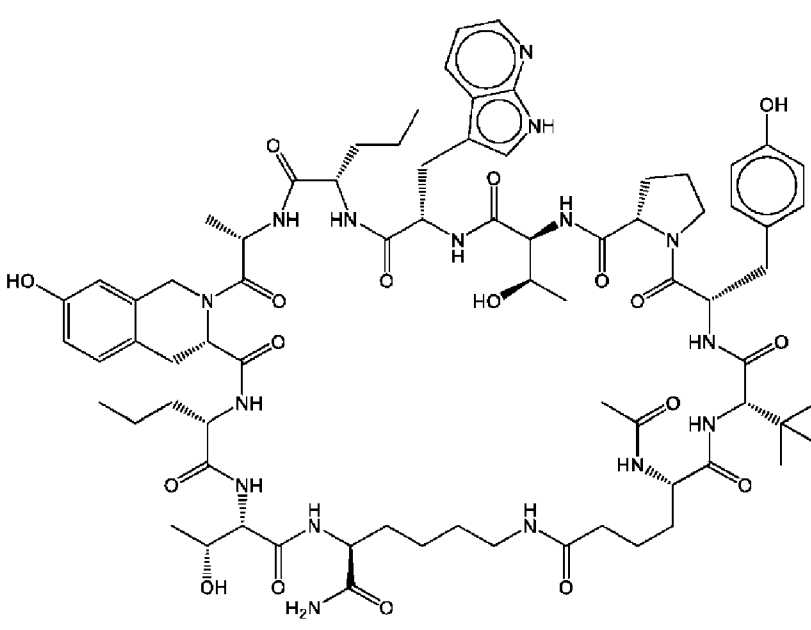


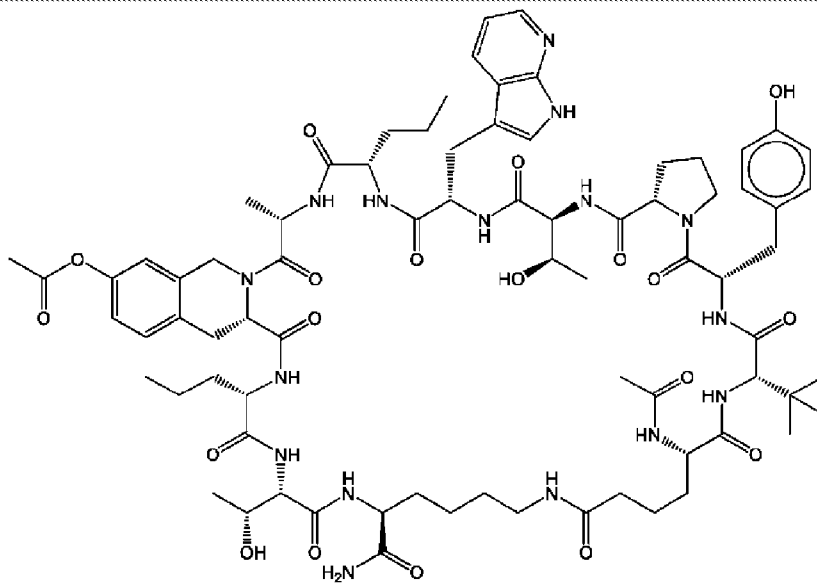


071

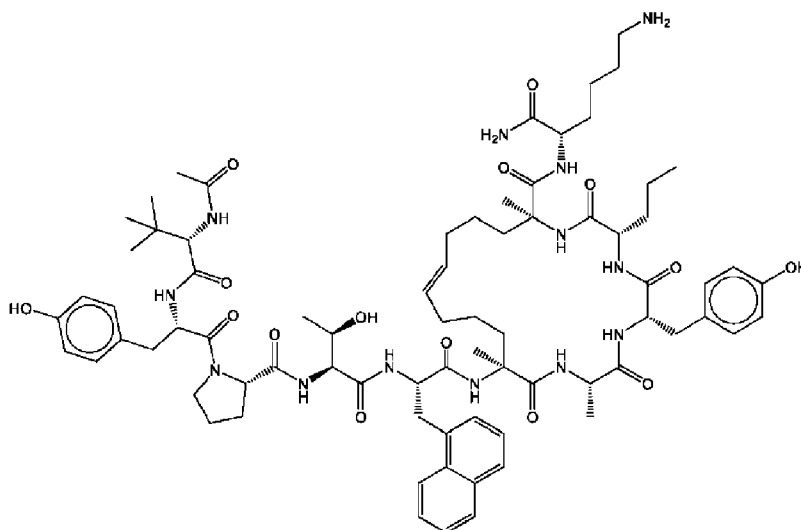


072

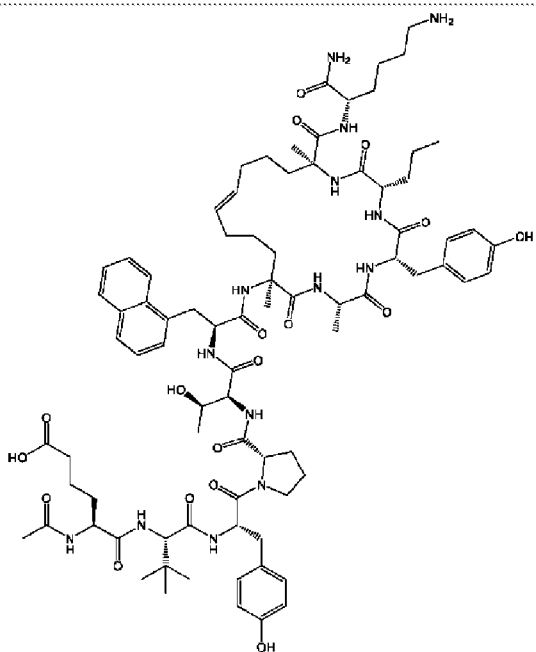
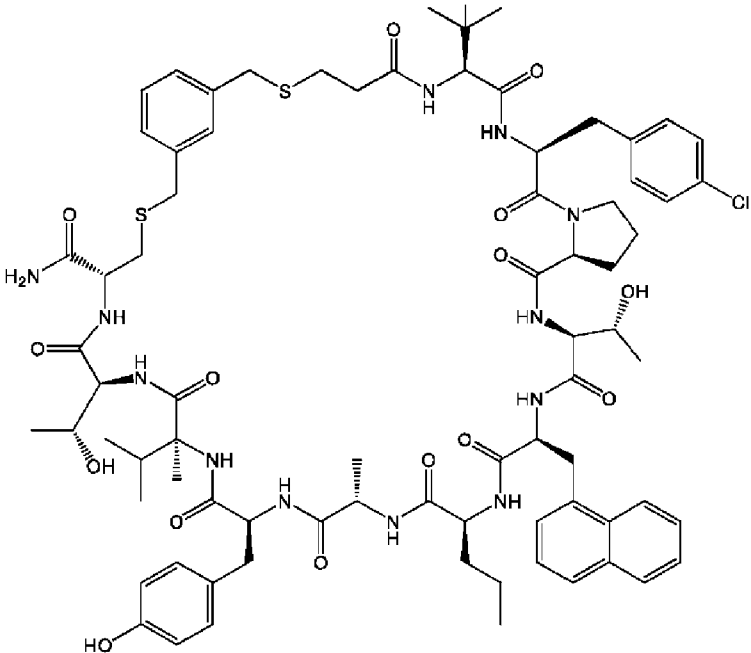
	
073	
074	

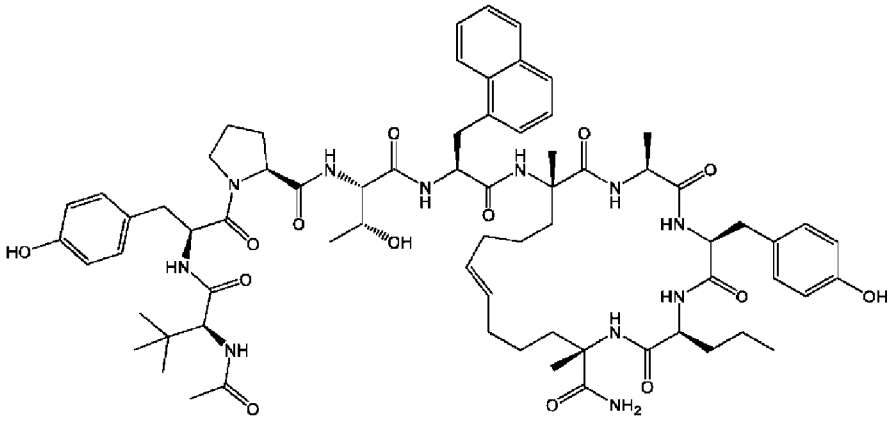
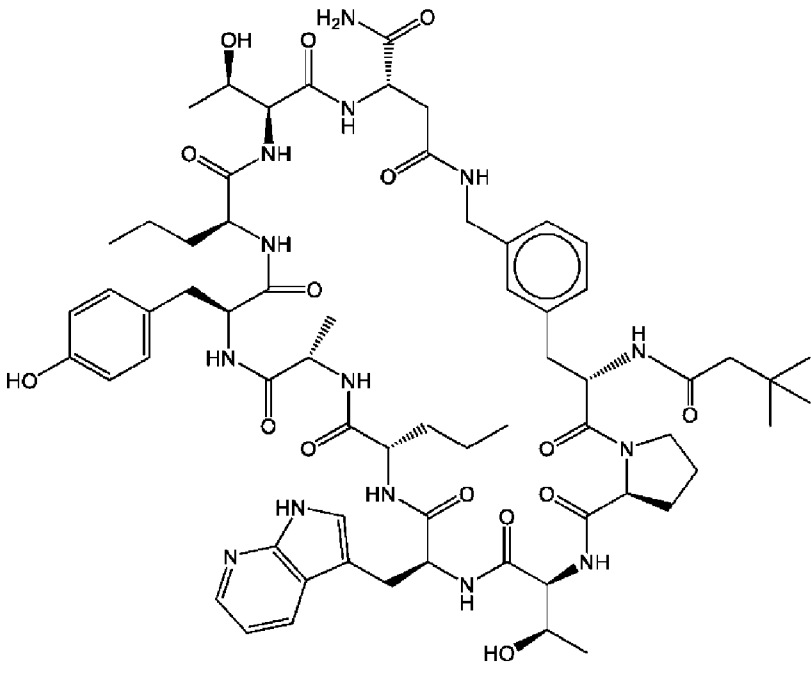


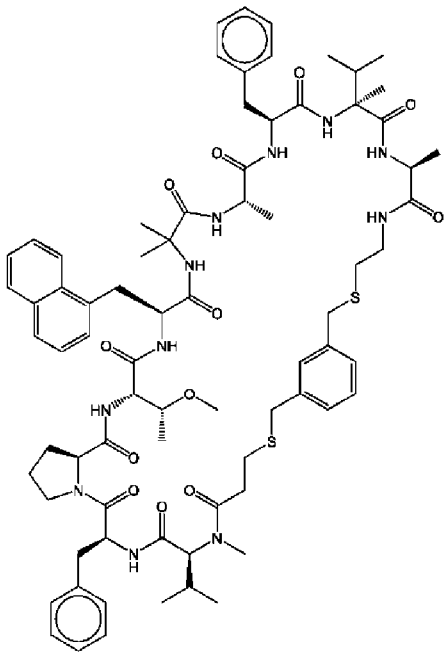
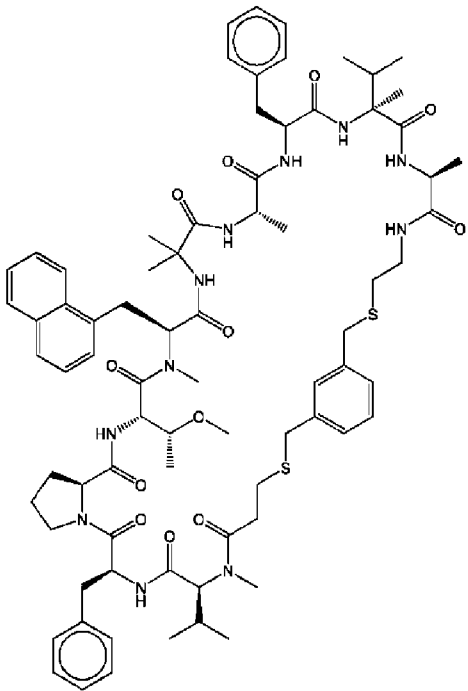
075

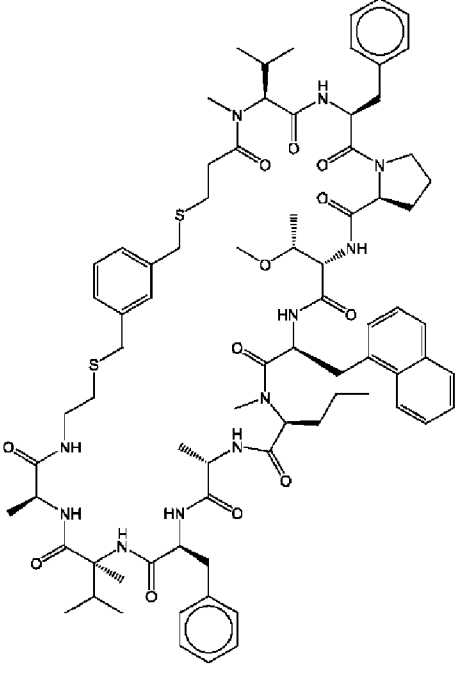
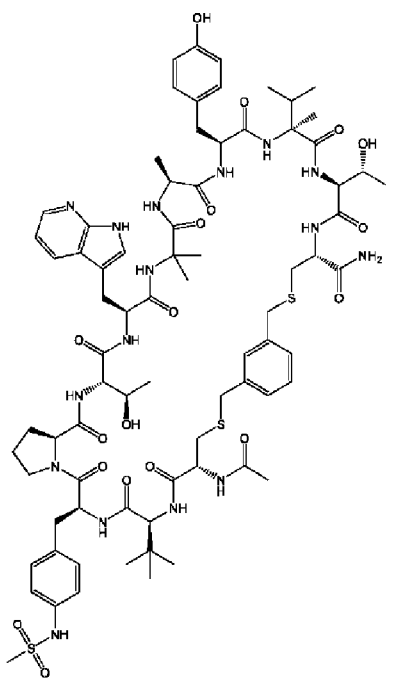


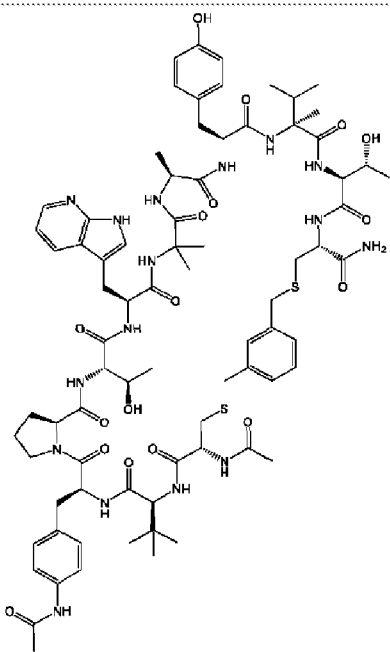
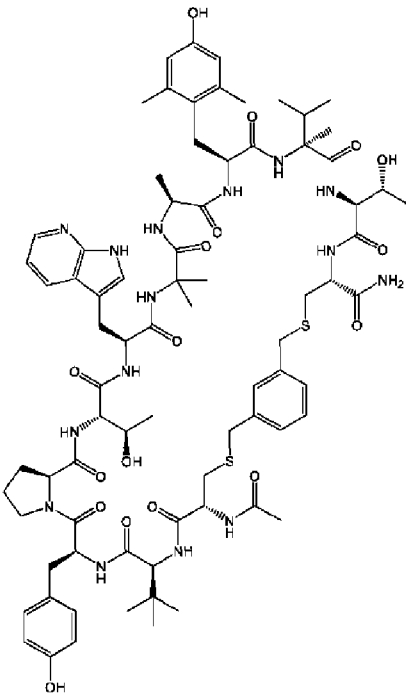
076

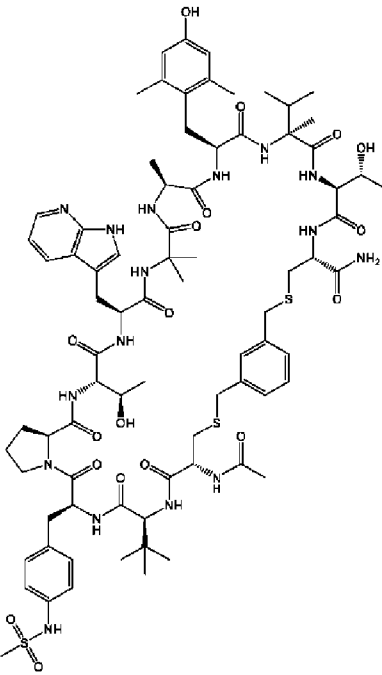
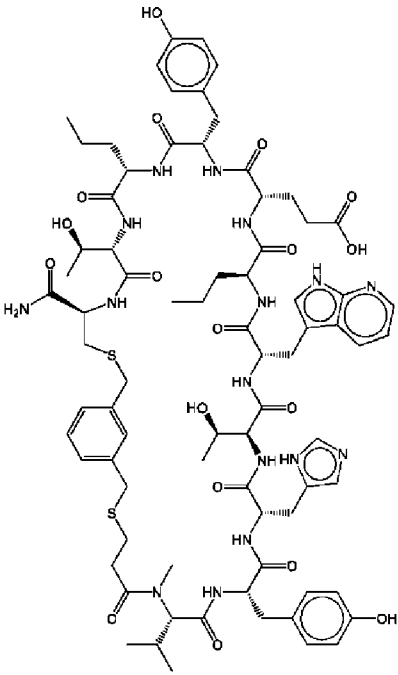
	
077	
078	

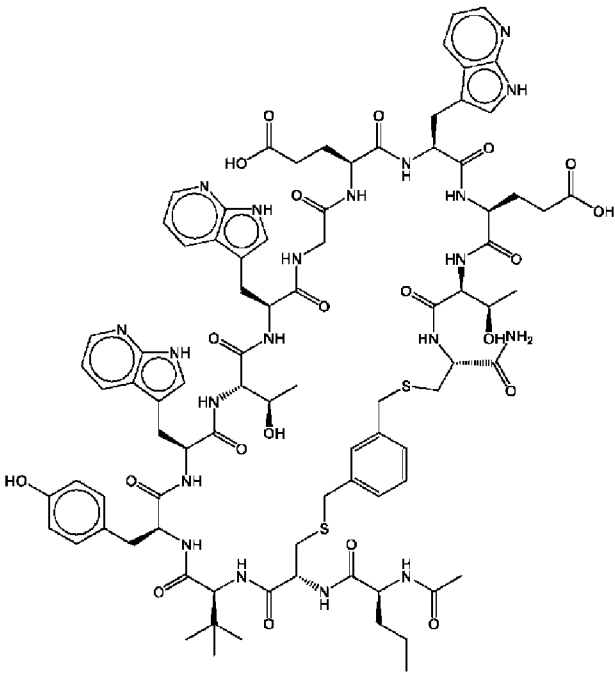
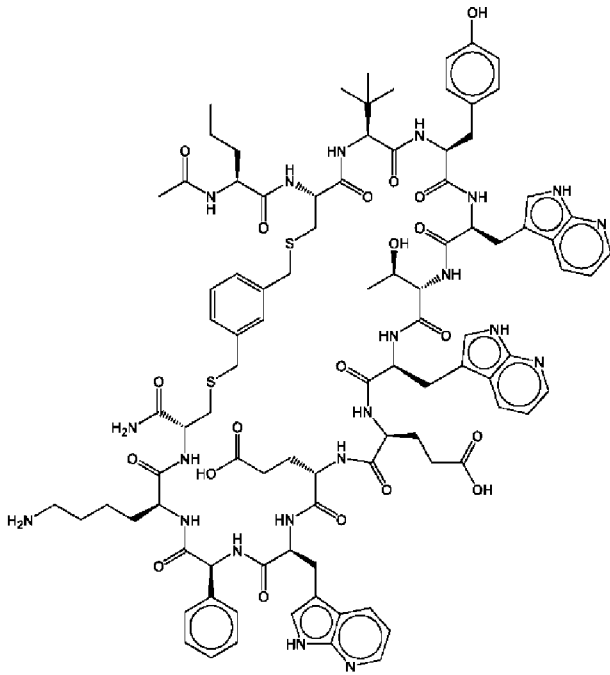
	
079	
080	

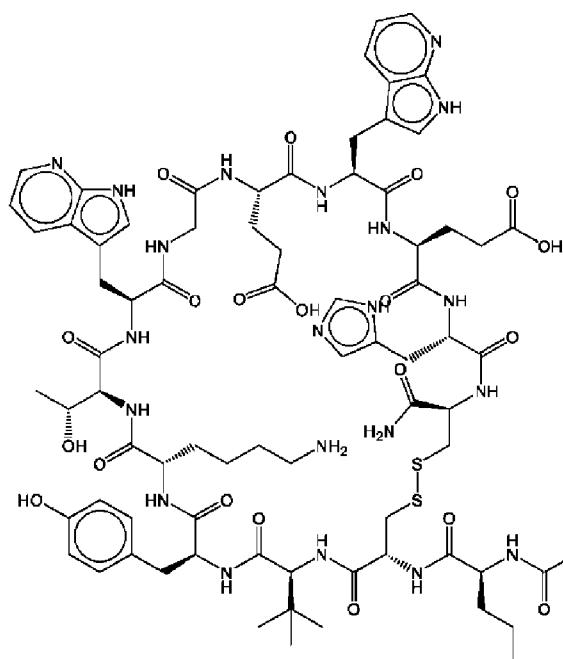
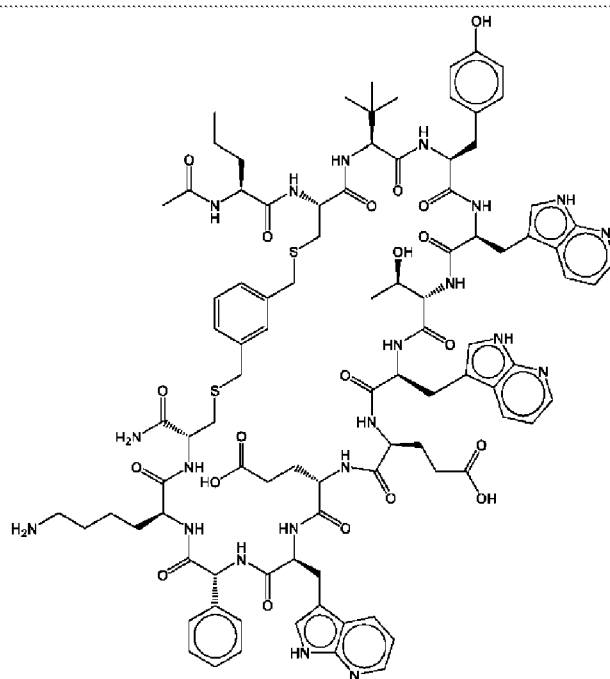
	
081	
082	

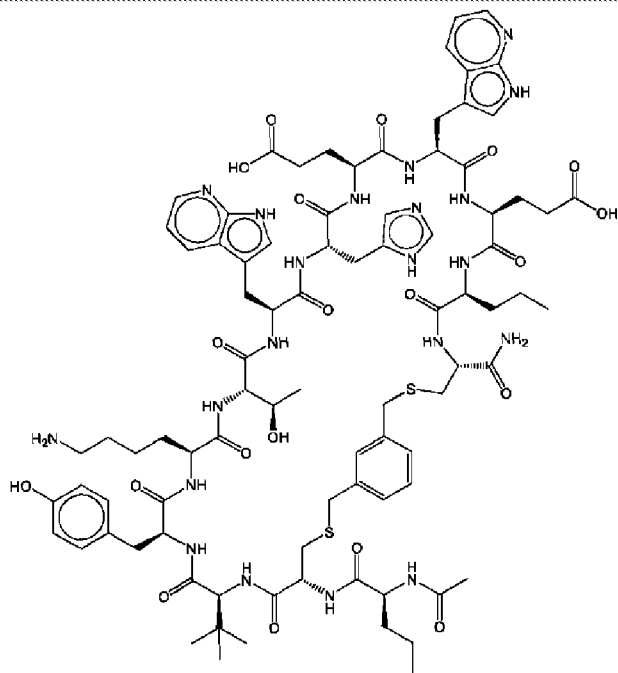
	
083	
084	

	
085	
086	

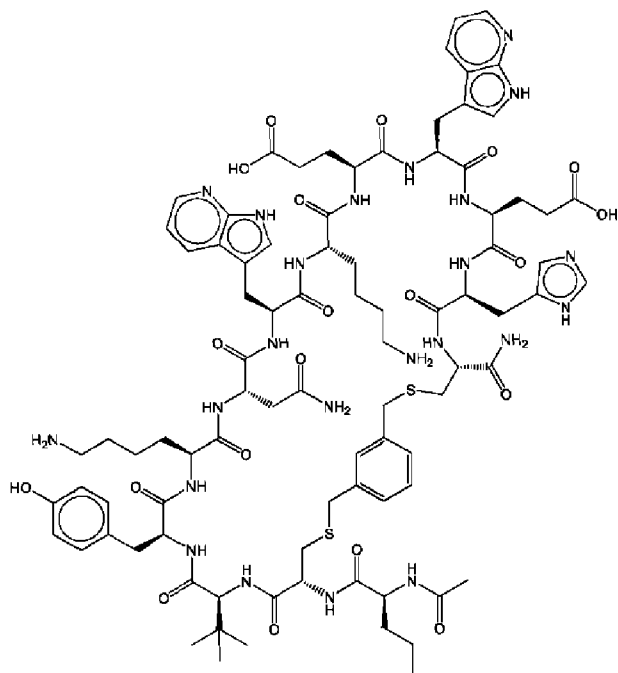
	
087	
088	

	
089	
090	

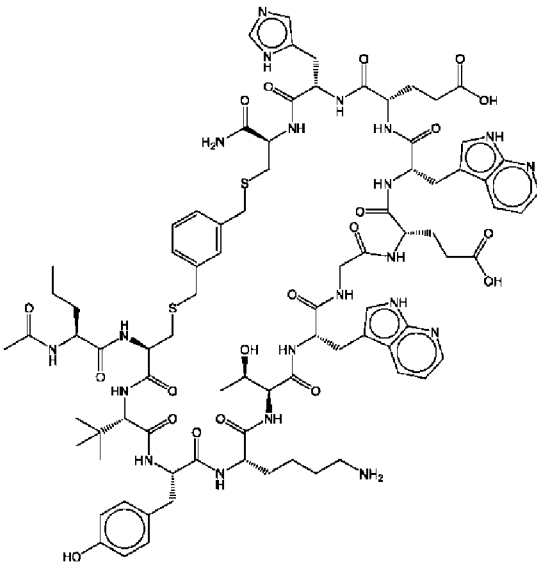
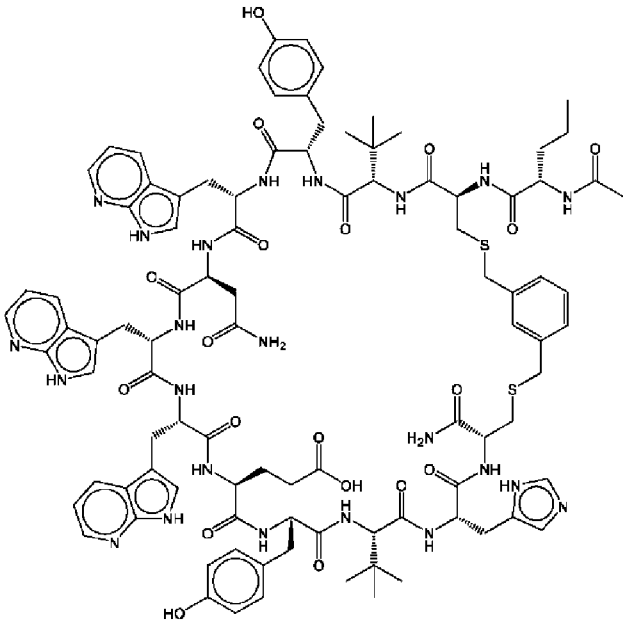


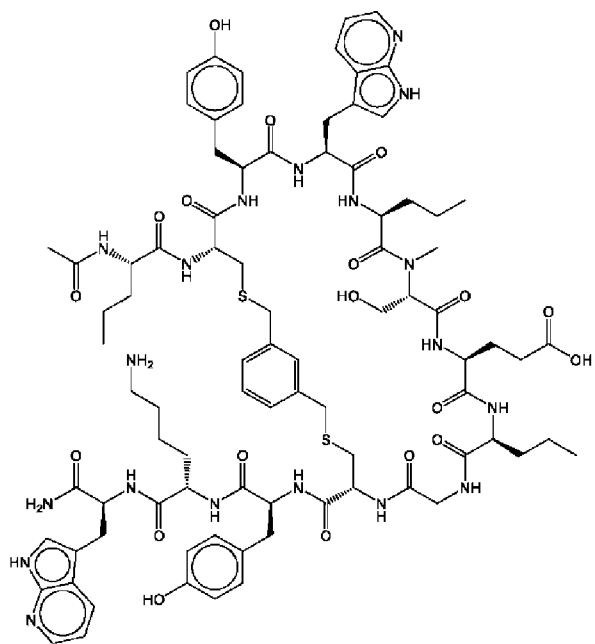
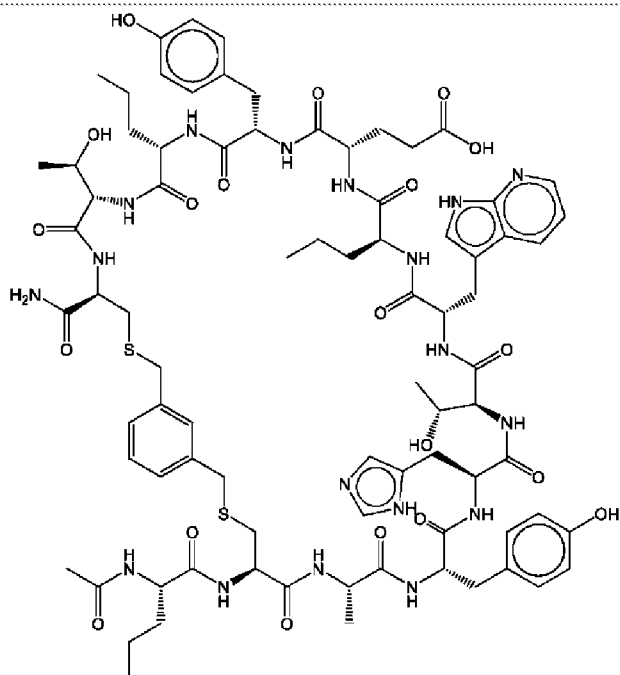


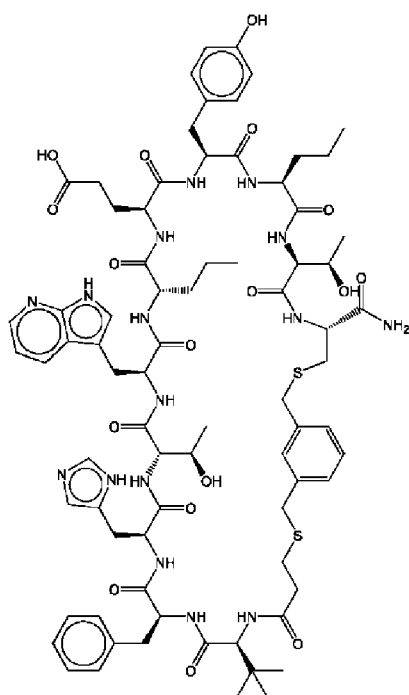
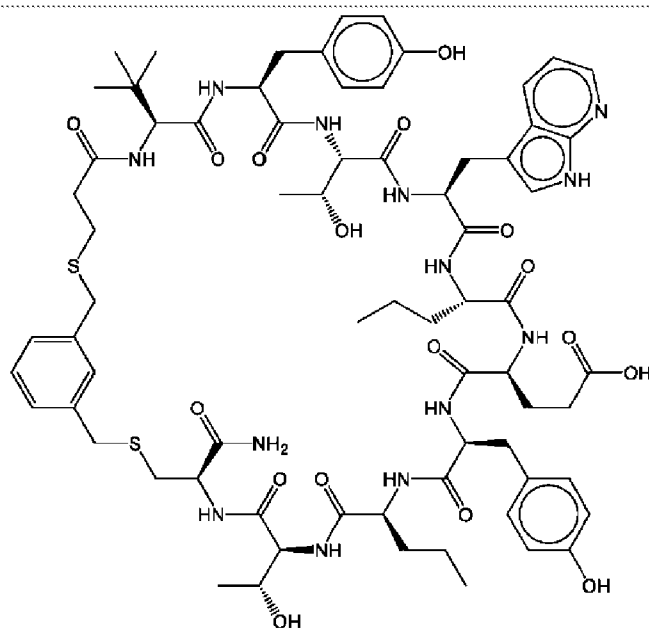
093

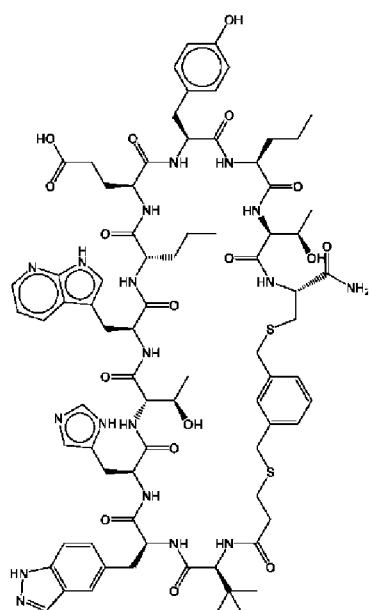
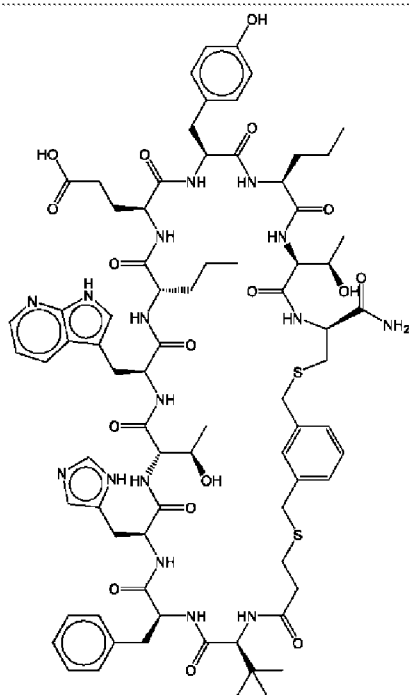


094

	
095	
096	

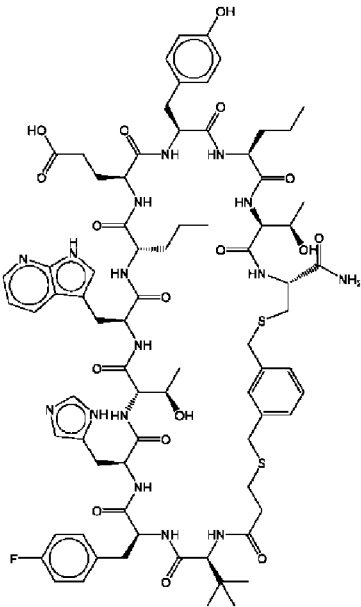
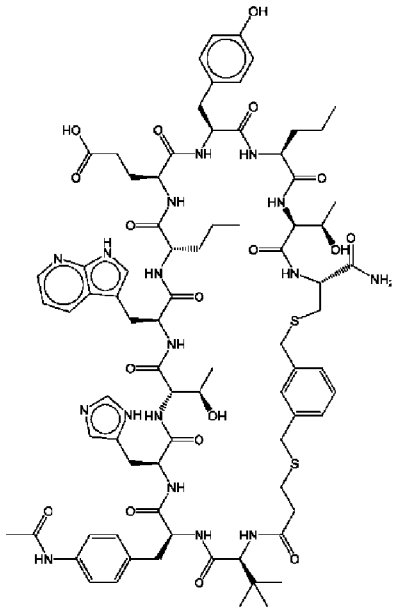


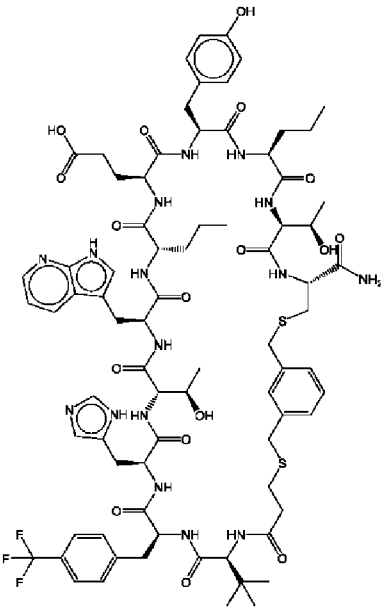
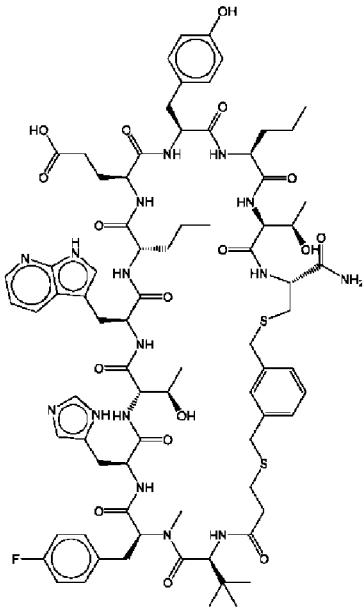


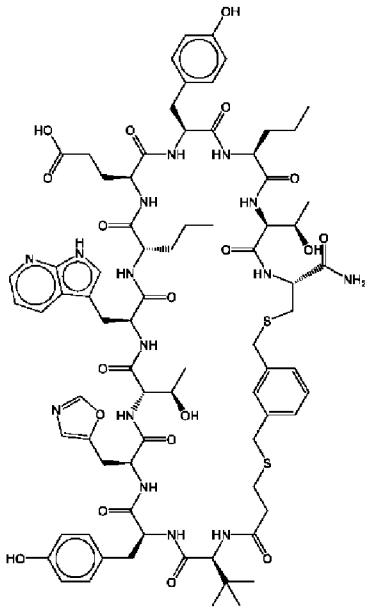
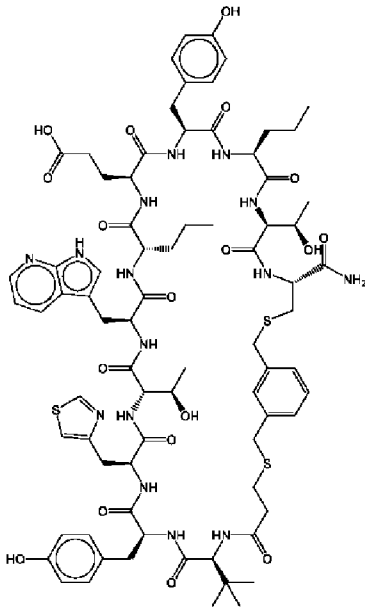


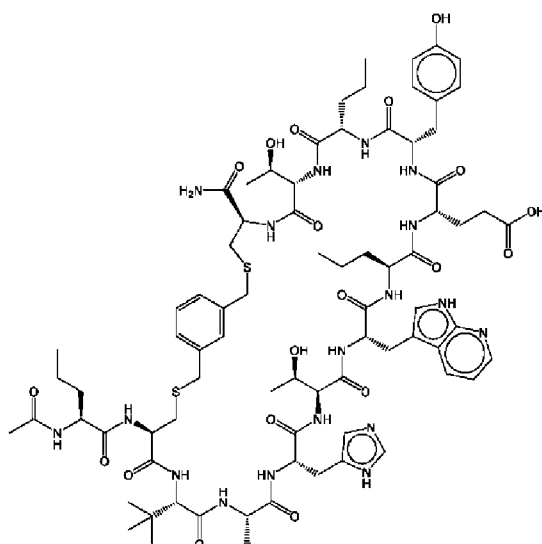
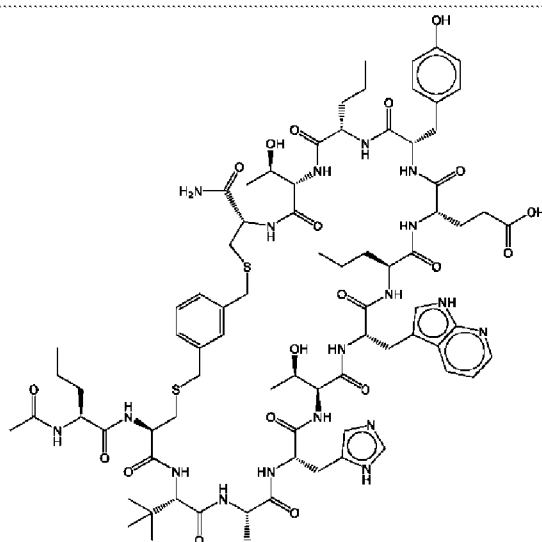
101

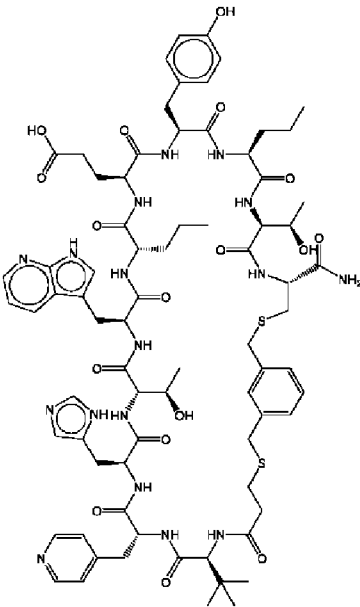
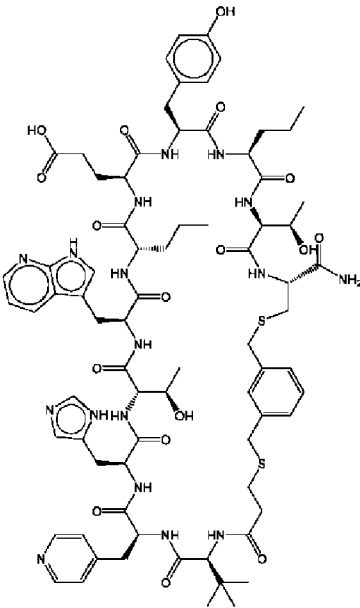
102

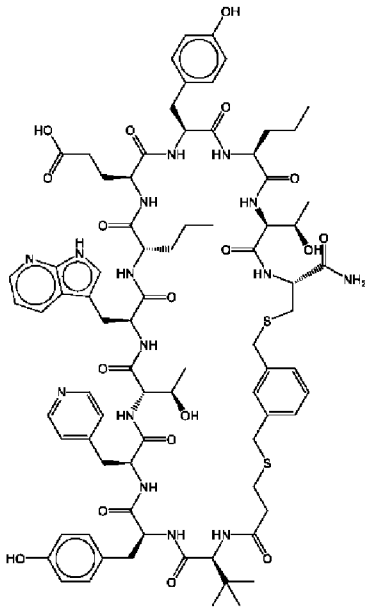
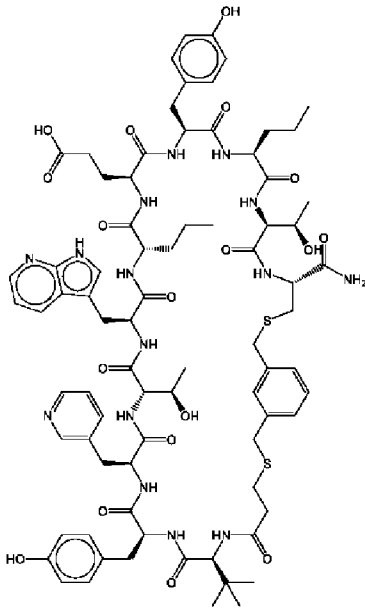
	
103	
104	

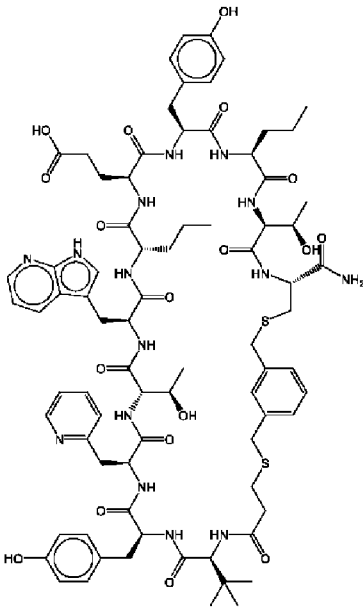
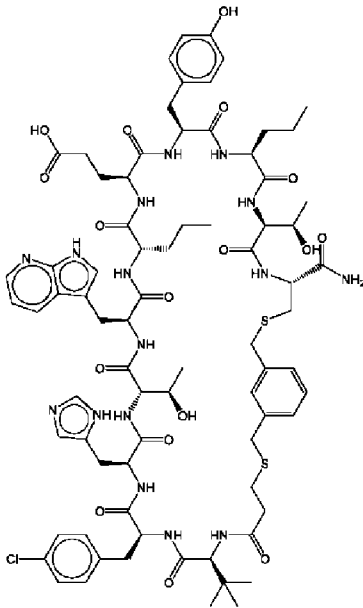
	
105	
106	

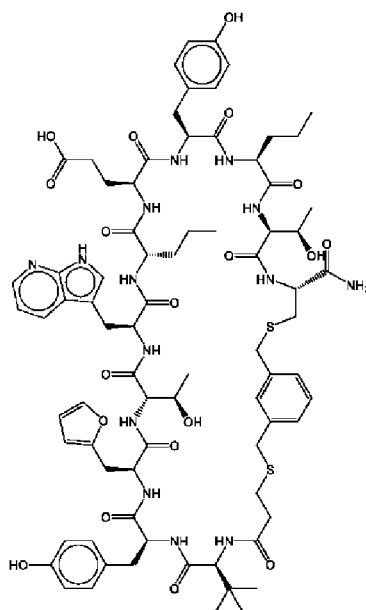
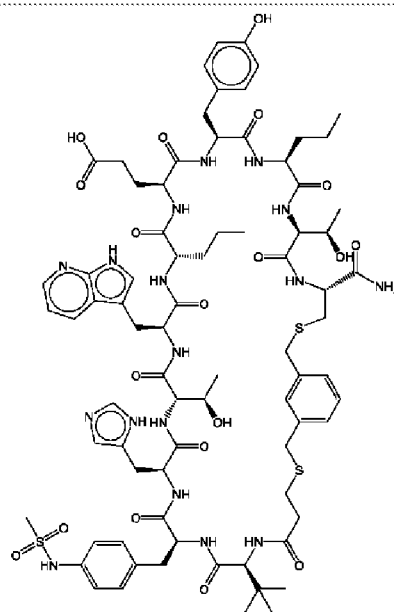
	
107	
108	

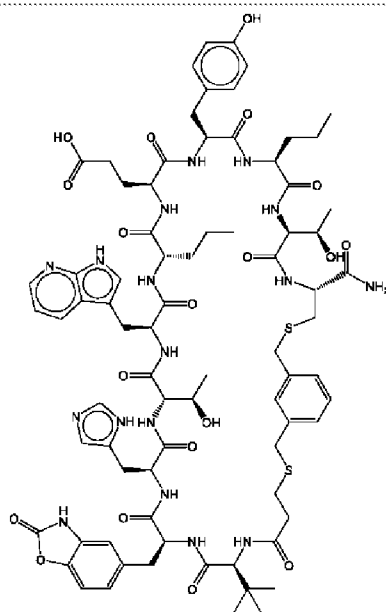


	
111	
112	

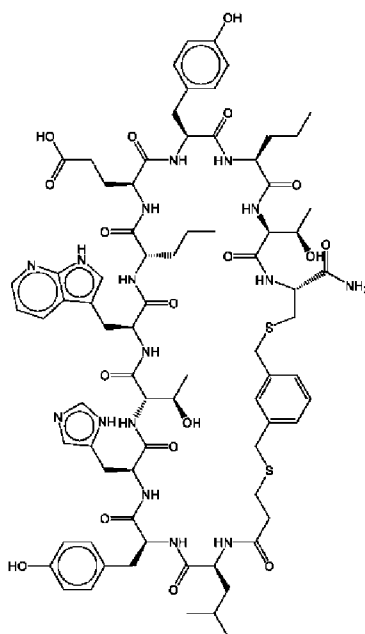
	
113	
114	

	
115	
116	

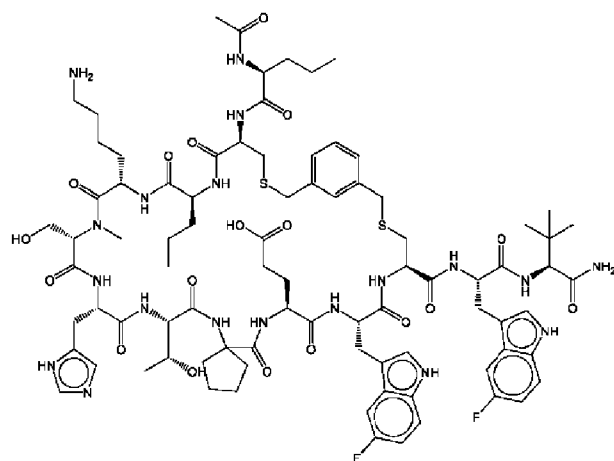
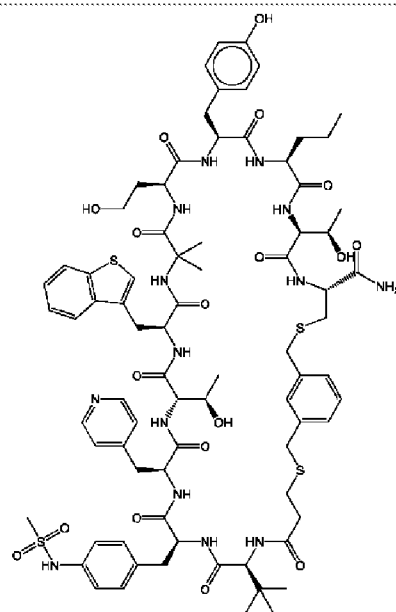


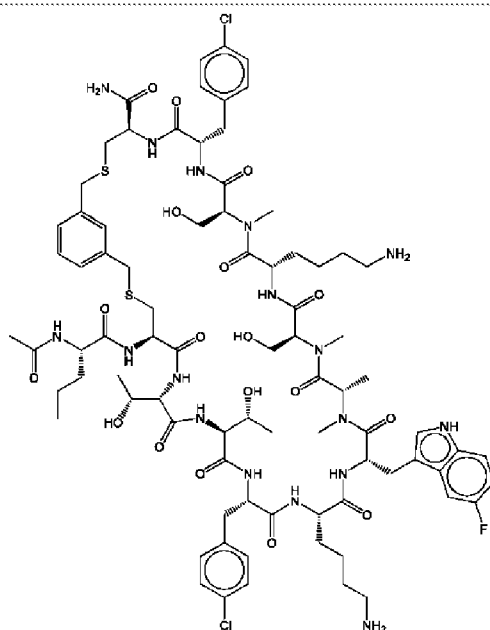


121

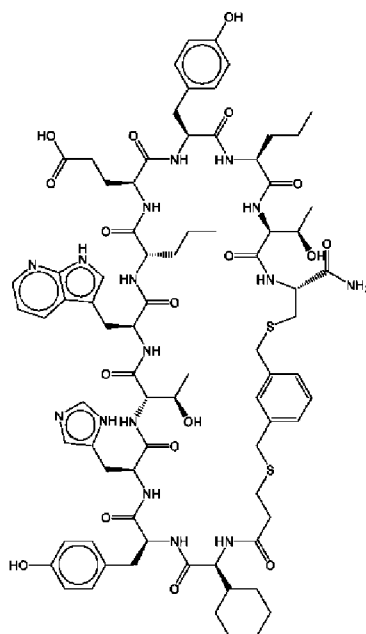


122

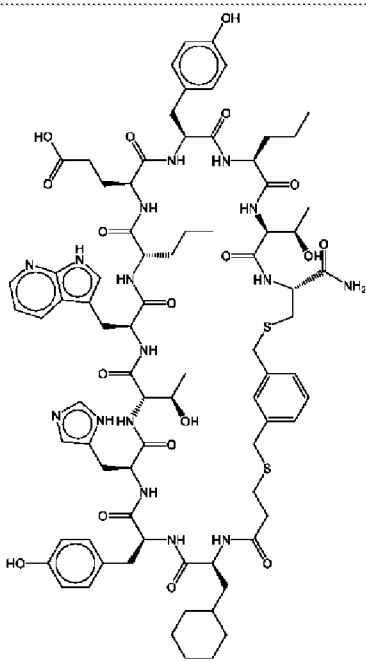
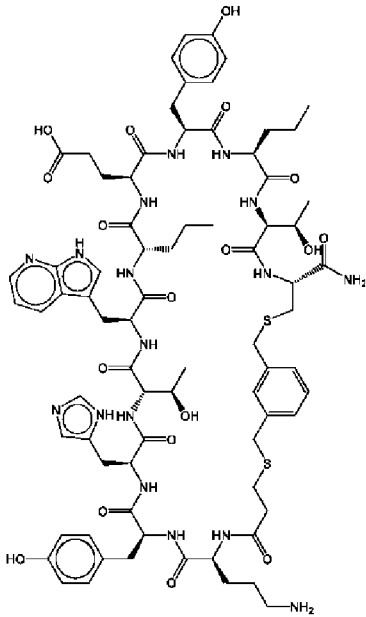


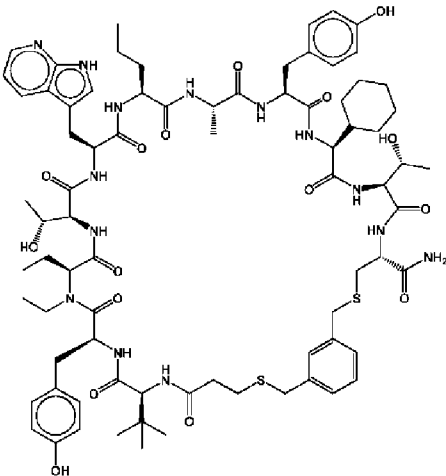
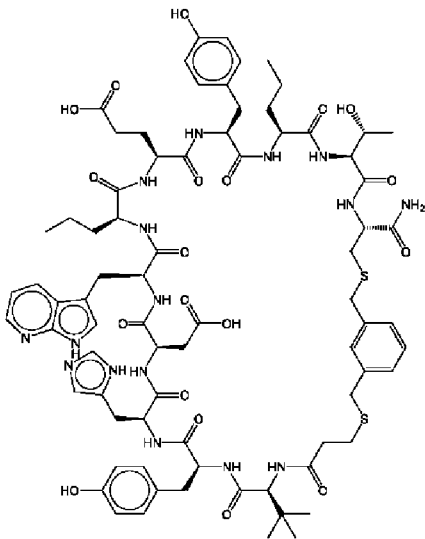


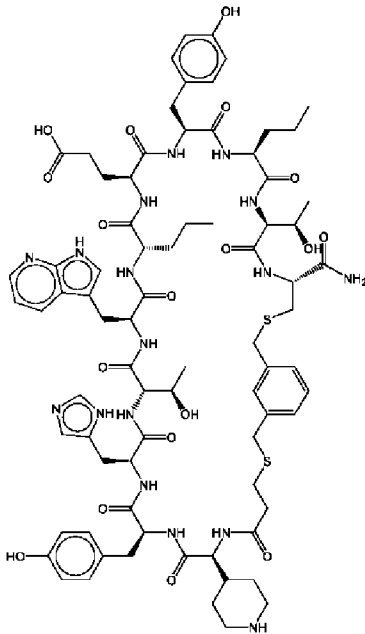
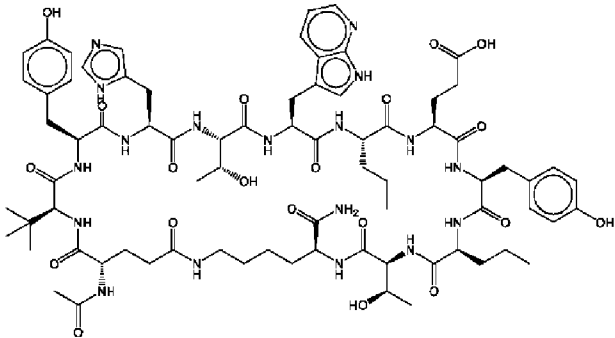
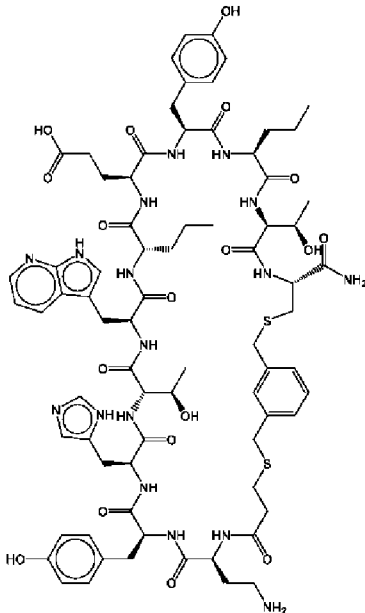
125



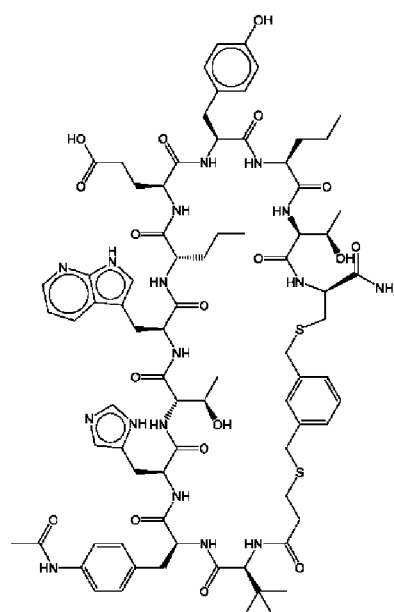
126

	
127	
128	

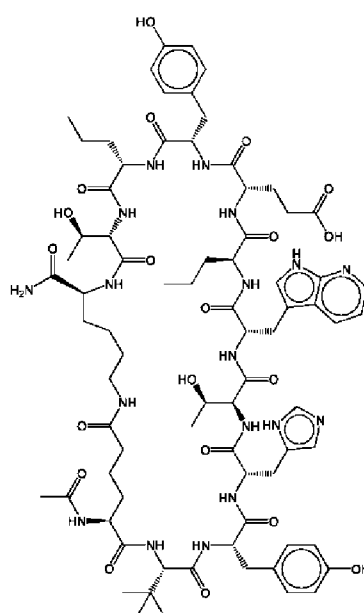
	
129	
130	

	
131	
132	

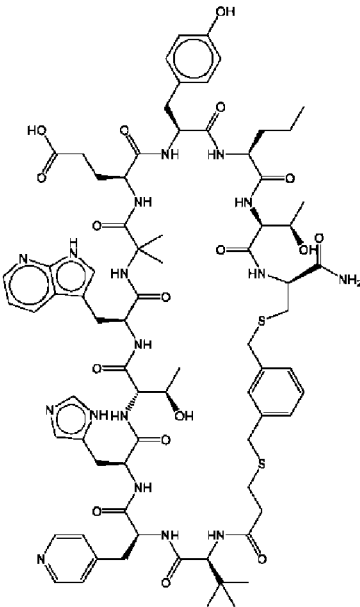
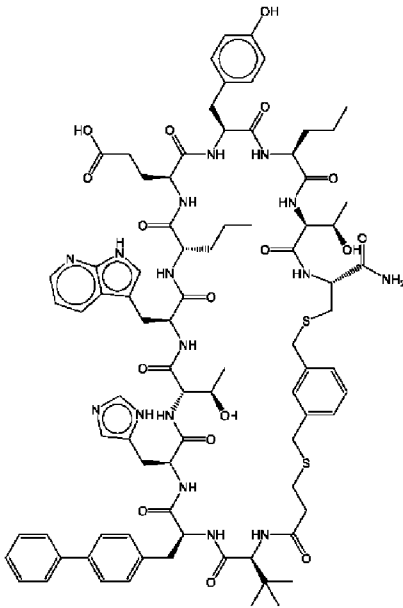
133

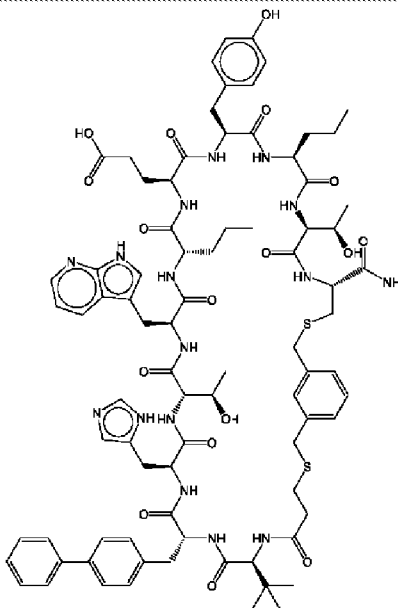
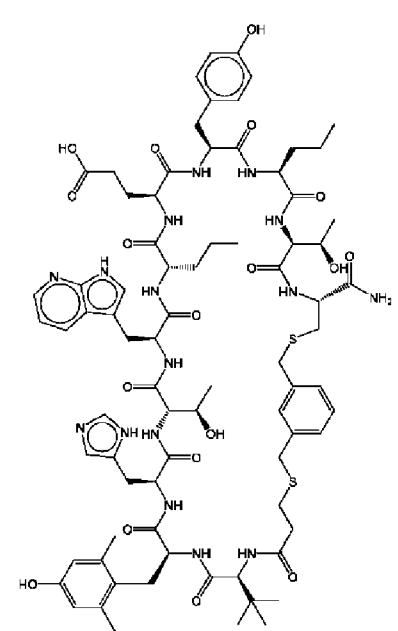


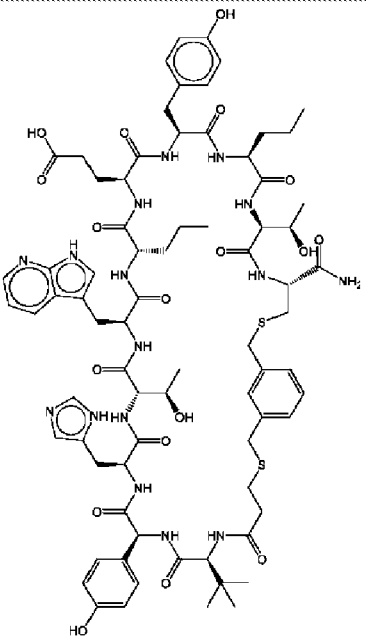
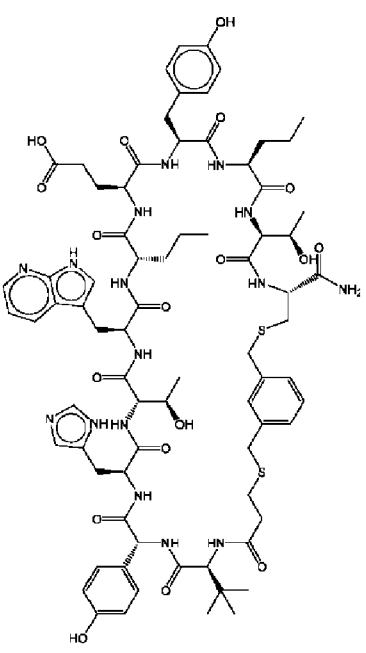
134

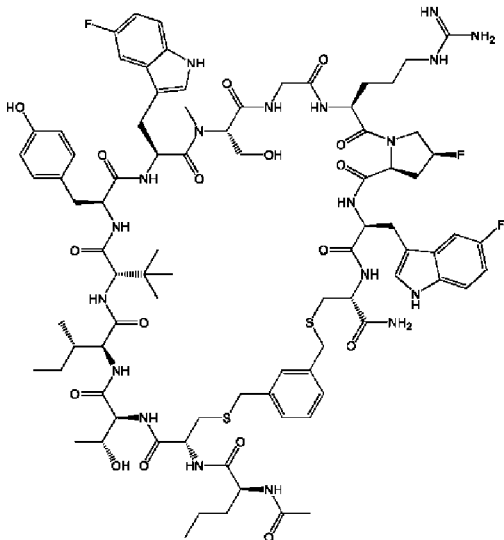
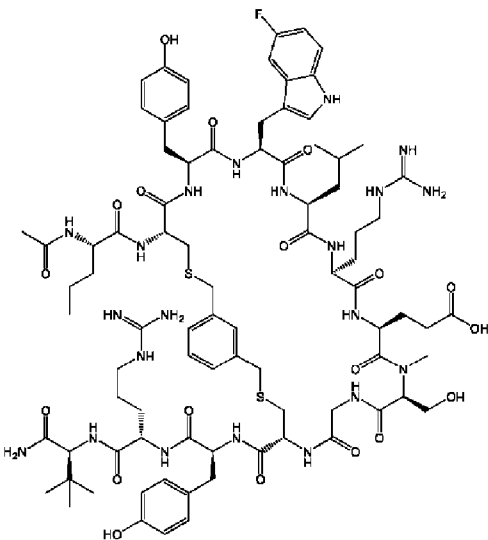
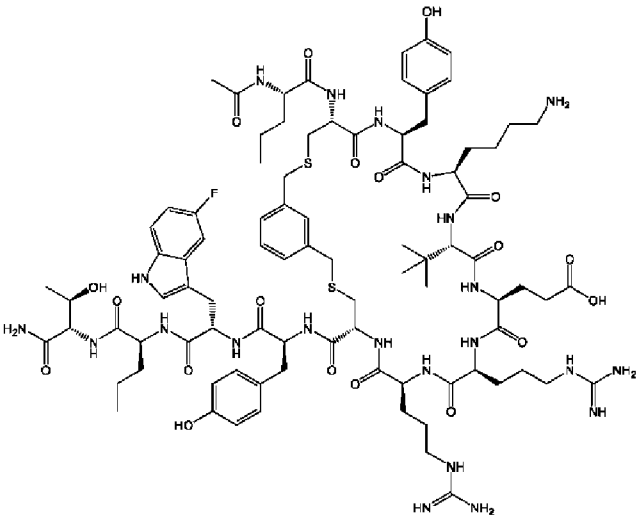


135

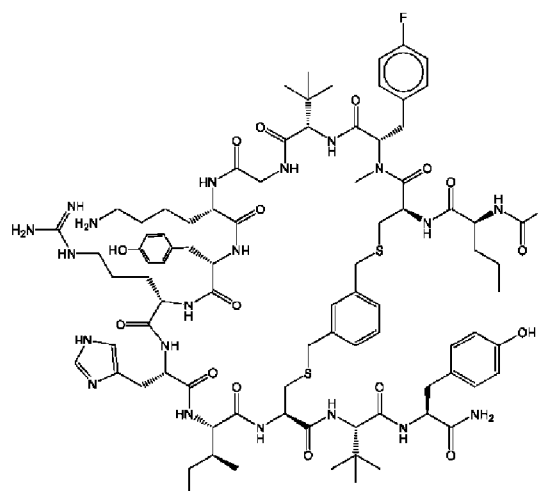
	
136	
137	

	
138	
139	

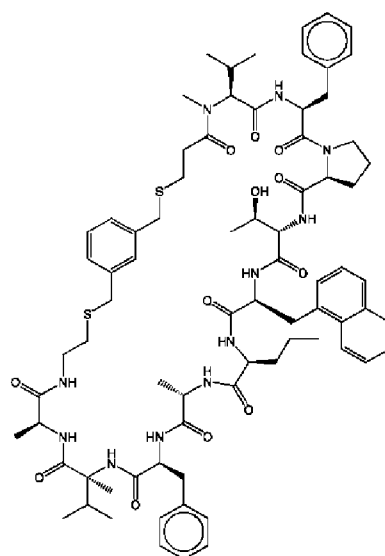
	
140	
337	

	 Chemical structure of compound 338, a complex molecule featuring multiple amide bonds, hydroxyl groups, and a central sulfur atom. The structure includes a 4-hydroxyphenyl group, a 5-fluoro-1H-indol-3-yl group, and a 4-aminophenyl group.
338	 Chemical structure of compound 338, a complex molecule featuring multiple amide bonds, hydroxyl groups, and a central sulfur atom. The structure includes a 4-hydroxyphenyl group, a 5-fluoro-1H-indol-3-yl group, and a 4-aminophenyl group.
339	 Chemical structure of compound 339, a complex molecule featuring multiple amide bonds, hydroxyl groups, and a central sulfur atom. The structure includes a 4-hydroxyphenyl group, a 5-fluoro-1H-indol-3-yl group, and a 4-aminophenyl group.

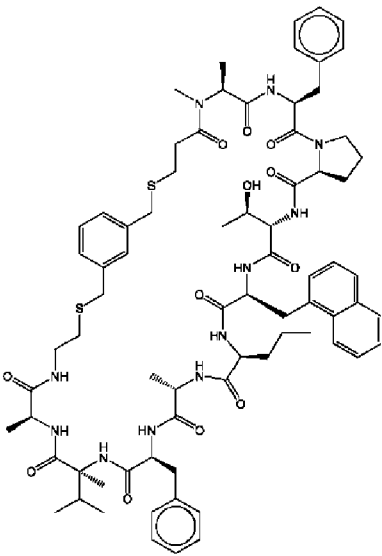
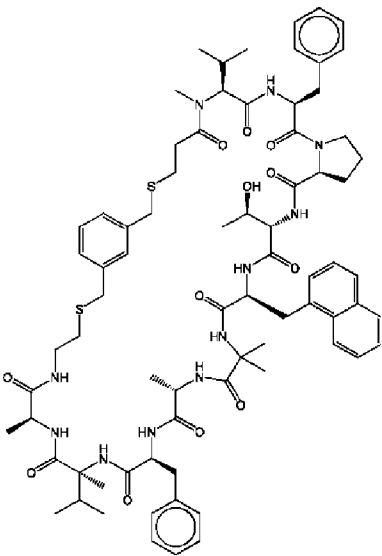
340

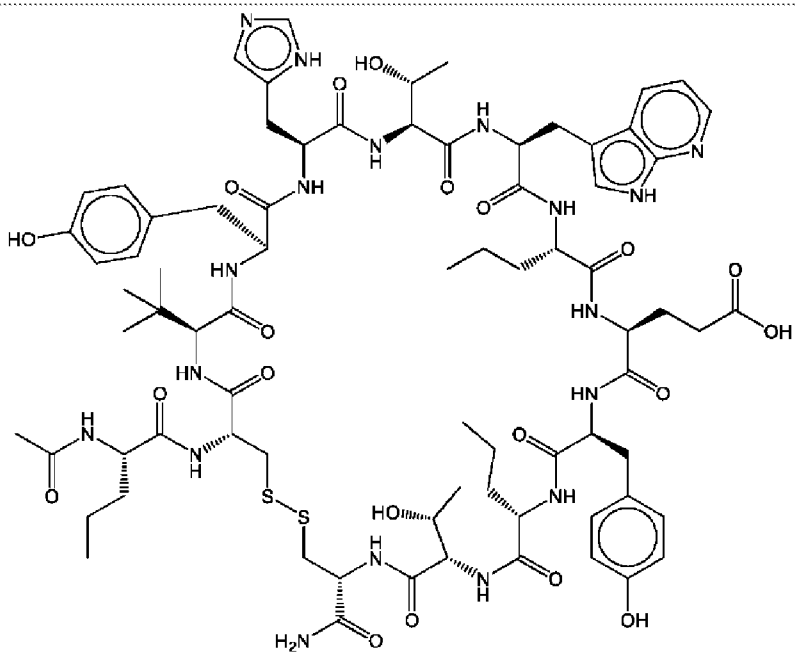
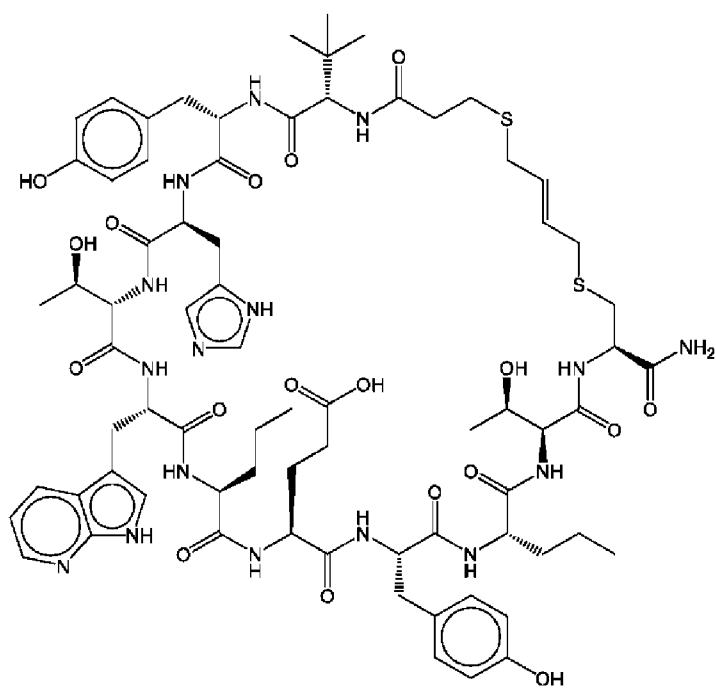


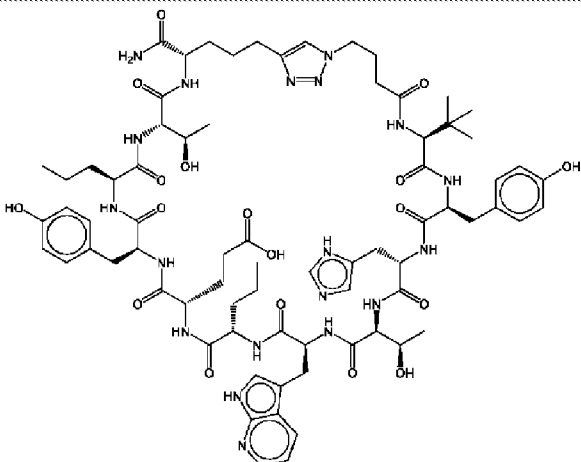
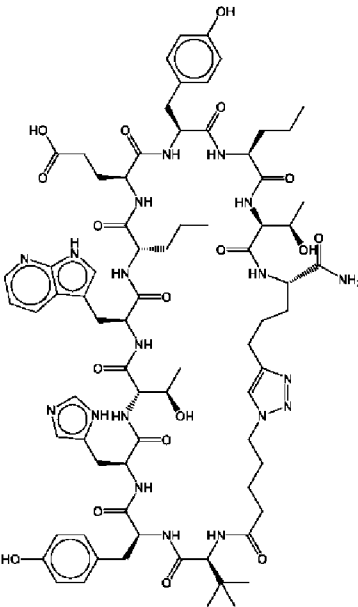
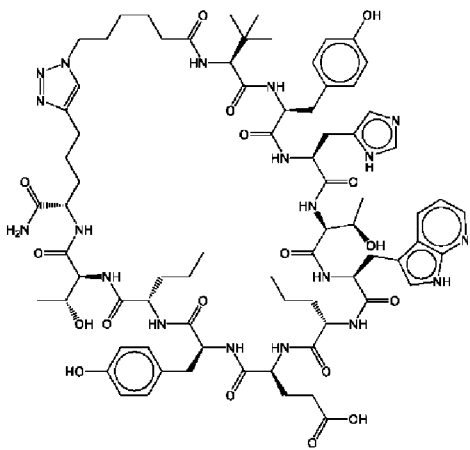
341

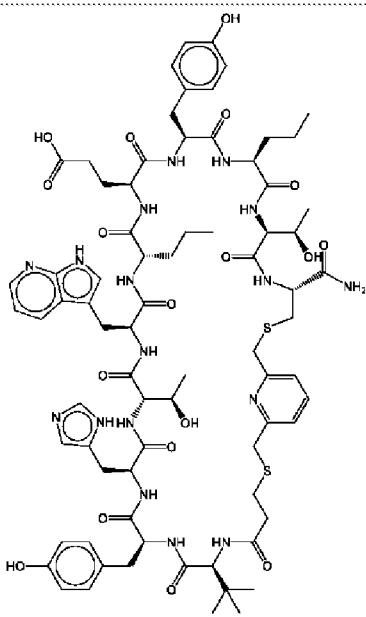
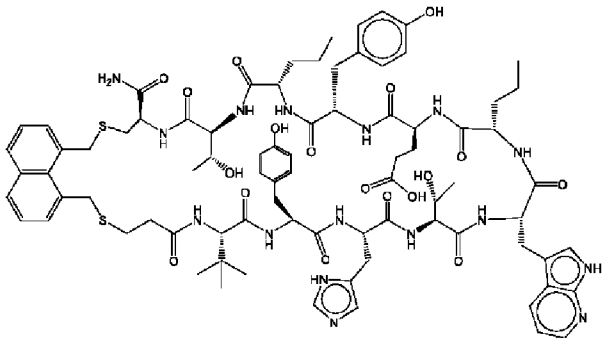
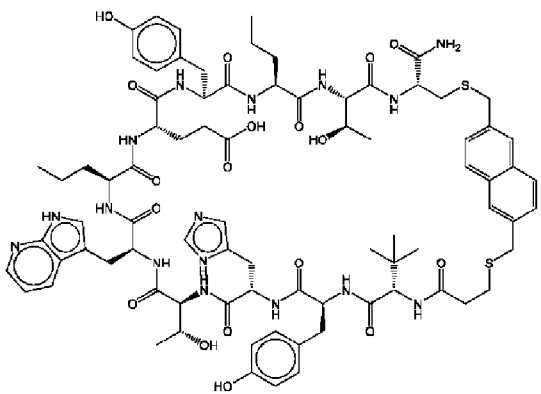


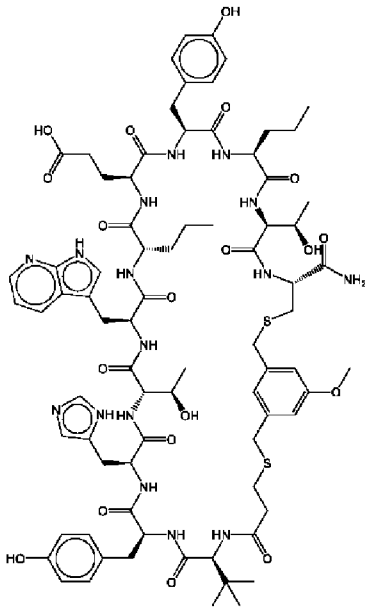
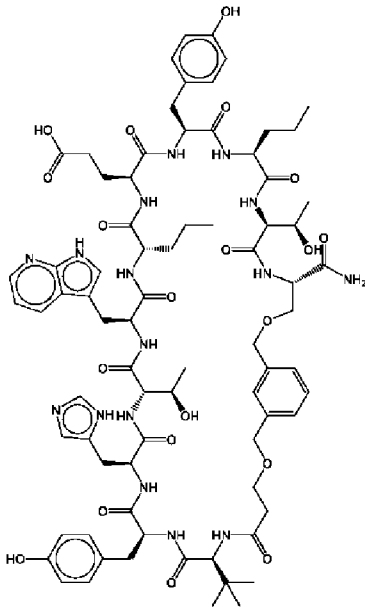
142

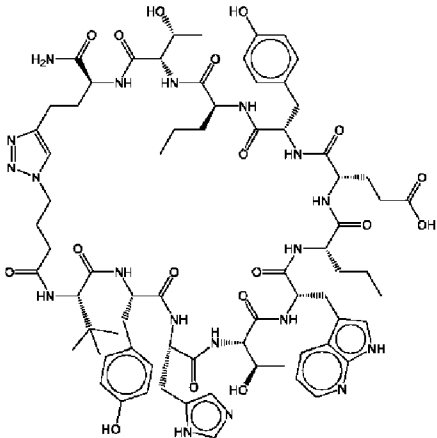
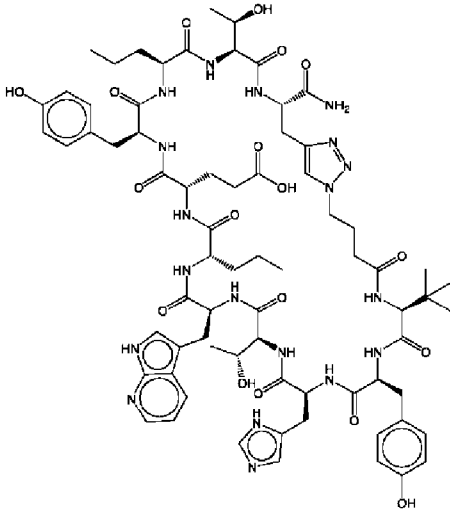
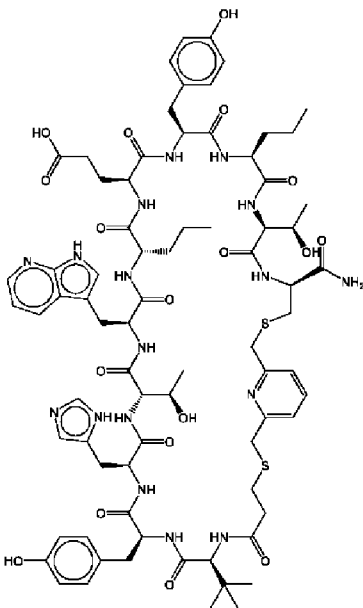
	
143	
244	

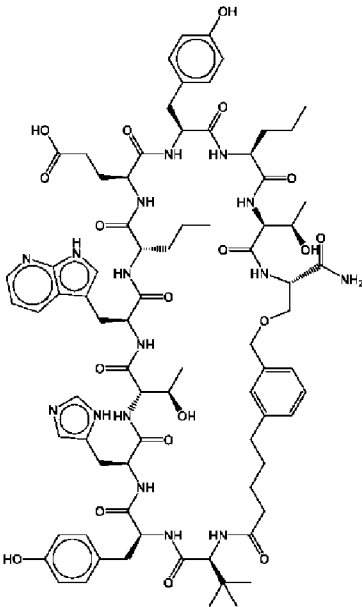
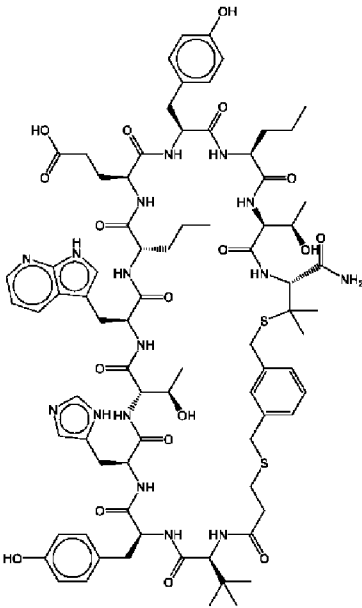
	
252	
282	

	
283	
284	
292	

	
294	
301	
306	

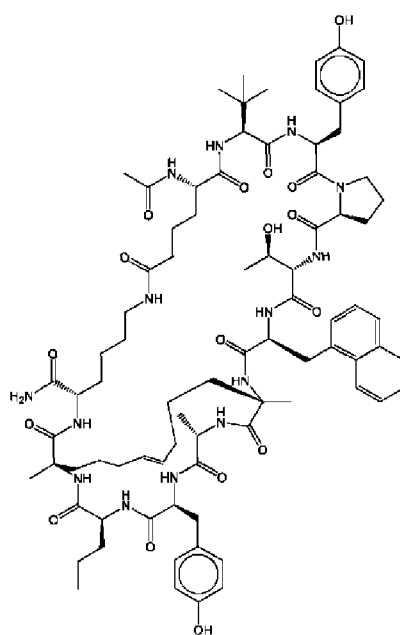
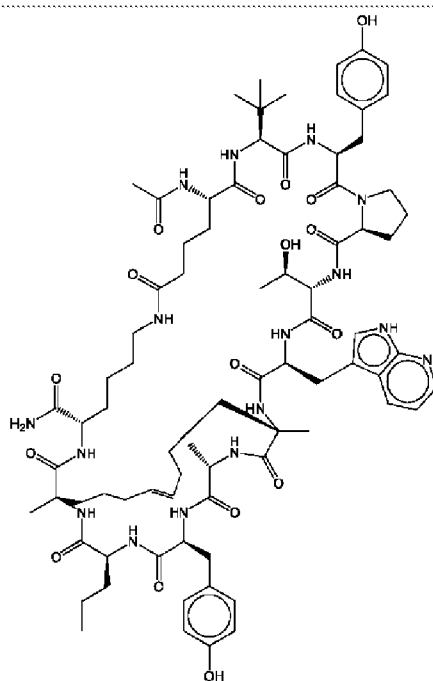
	
308	
310	

	
311	
312	
314	

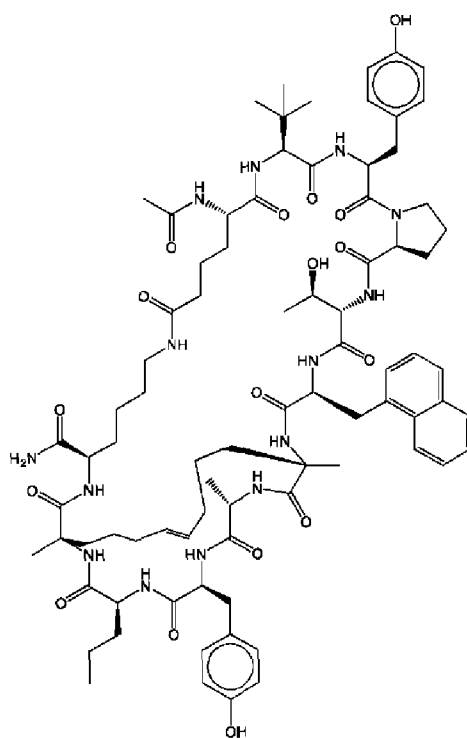
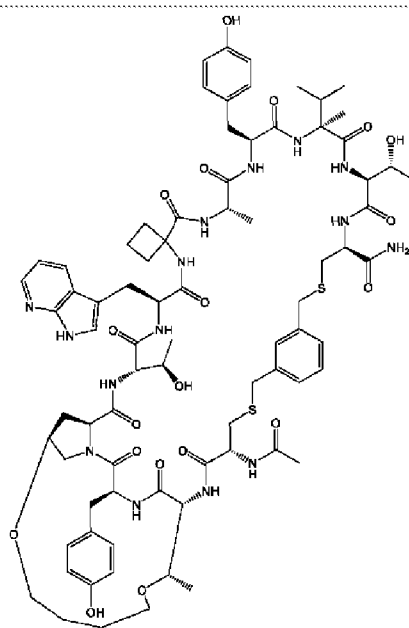
	
317	

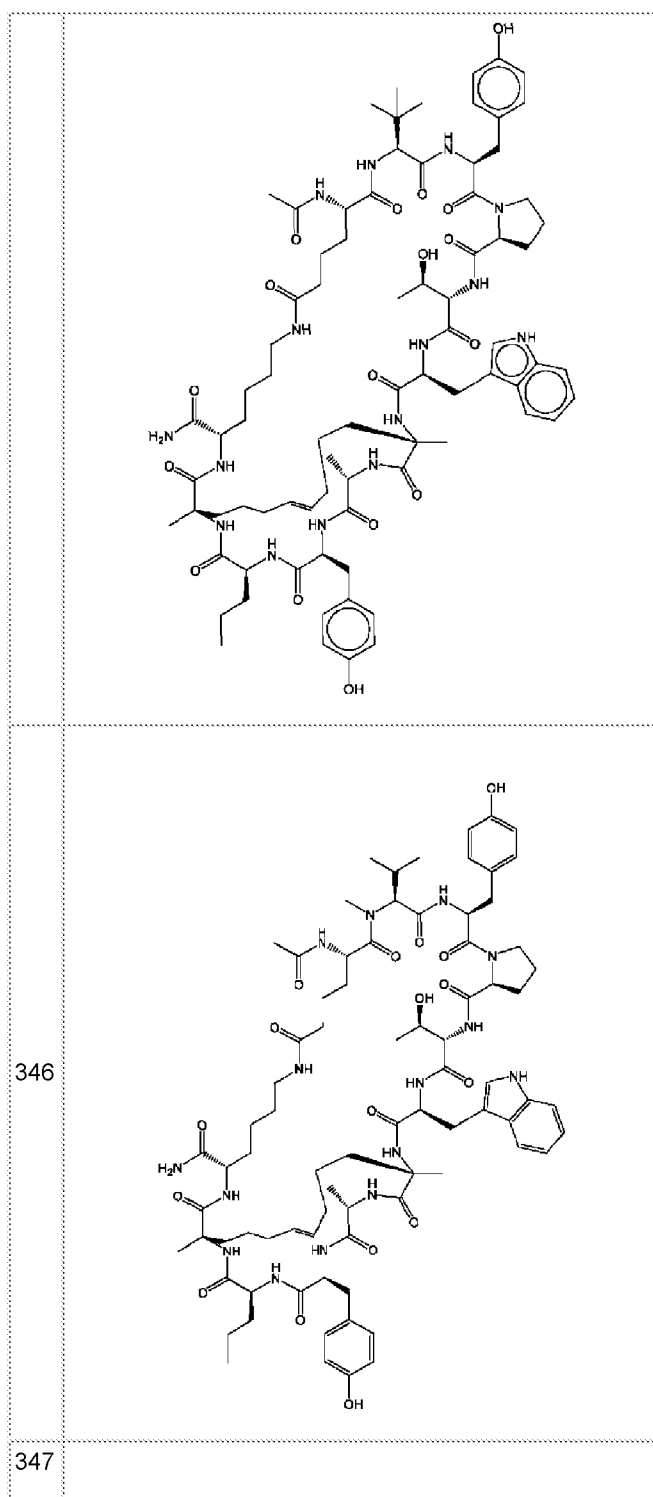
En otro aspecto, los compuestos de la invención se seleccionan de los siguientes compuestos de la tabla 5 a continuación:

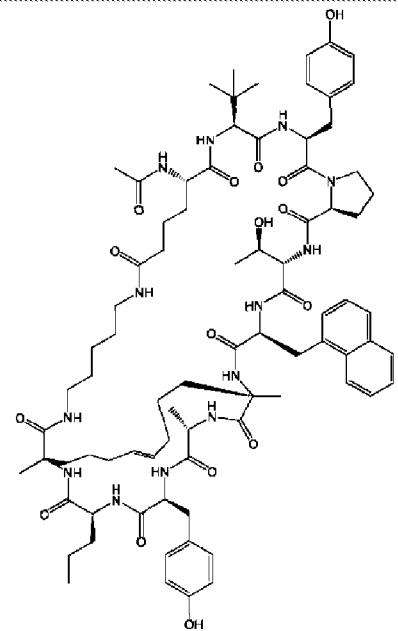
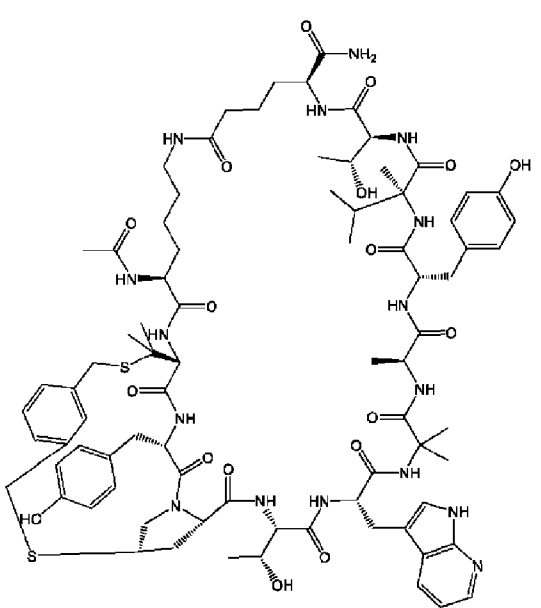
341	
-----	--

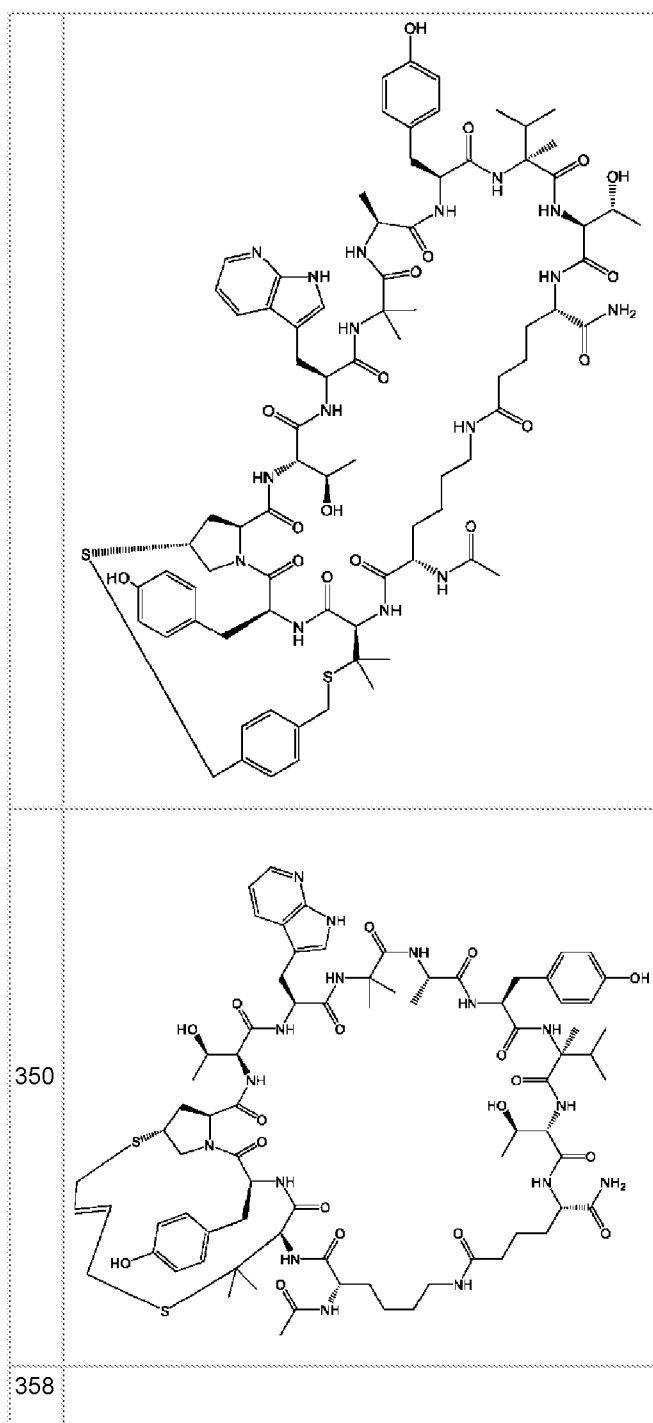


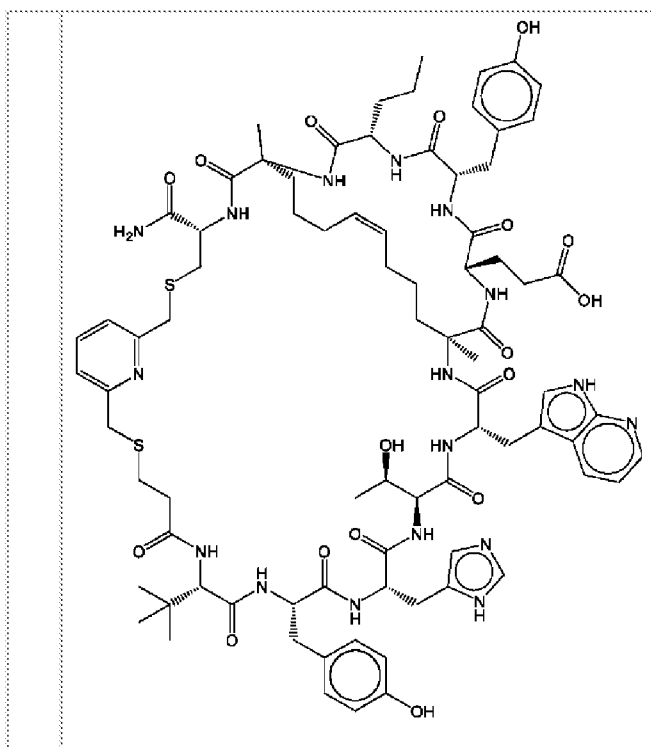
343





	
348	
349	





Los compuestos de las fórmulas (I), (II) y (III), así como los compuestos 001-358, se denominan en el presente documento "compuestos de la invención."

Debe entenderse que los compuestos descritos en el presente documento incluyen las formas racémicas, ópticamente activas, regioisoméricas y estereoisoméricas o combinaciones de las mismas que poseen las propiedades terapéuticamente útiles descritas en el presente documento.

La preparación de formas ópticamente activas se consigue de cualquier manera adecuada, incluidos, a modo de ejemplo no limitante, por resolución de la forma racémica con técnicas de recristalización, síntesis a partir de materiales de partida ópticamente activos, síntesis quiral o separación cromatográfica usando una fase estacionaria quiral. En una realización, se utiliza una mezcla de uno o más isómeros como compuesto de la invención descrito en el presente documento. En otra realización, los compuestos descritos en el presente documento contienen uno o más centros quirales. Estos compuestos se preparan por cualquier medio, incluida la síntesis estereoselectiva, la síntesis enantioselectiva o la separación de una mezcla de enantiómeros o diastereómeros. La resolución de los compuestos y sus isómeros se consigue por cualquier medio, incluidos, a modo de ejemplo no limitante, procesos químicos, procesos enzimáticos, cristalización fraccionada, destilación y cromatografía.

Dentro de la presente divulgación, cualquier valencia abierta que aparezca en un átomo de carbono, oxígeno o nitrógeno en cualquier estructura descrita en el presente documento indica la presencia de un átomo de hidrógeno. Cuando existe un centro quiral en una estructura, pero no se muestra una estereoquímica específica para ese centro, ambos enantiómeros, por separado o como mezcla, están incluidos en esa estructura. Los procedimientos para la determinación de la estereoquímica y la separación de los estereoisómeros son bien conocidos en la técnica.

En realizaciones, los compuestos de la invención pueden existir como tautómeros. Todos los tautómeros están incluidos en el alcance de los compuestos presentados en el presente documento.

Los compuestos descritos en el presente documento también incluyen compuestos marcados isotópicamente, en los que uno o más átomos se sustituyen por un átomo que tiene el mismo número atómico, pero una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico que se encuentra normalmente en la naturaleza. Algunos ejemplos de isótopos adecuados para su inclusión en los compuestos descritos en el presente documento incluyen, entre otros, ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{36}Cl , ^{18}F , ^{123}I , ^{125}I , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{32}P y ^{35}S . Los compuestos marcados isotópicamente son útiles en estudios de distribución tisular de fármacos o sustratos. En otra realización, la sustitución con isótopos más pesados, como el deuterio, proporciona una mayor estabilidad metabólica (por ejemplo, un aumento de la semivida *in vivo* o una reducción de los requisitos de dosis).

En otra realización, la sustitución con isótopos emisores de positrones, tales como ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O y ^{13}N , es útil en estudios de topografía por emisión de positrones ("Positron Emission Topography", PET) para examinar la ocupación del receptor de sustrato. Los compuestos isotópicamente marcados se preparan mediante cualquier procedimiento

adecuado o mediante procesos que utilizan un reactivo isotópicamente marcado apropiado en lugar del reactivo no marcado empleado en otras circunstancias.

En una realización, los compuestos descritos en el presente documento se marcan por otros medios, incluidos, entre otros, el uso de cromóforos o restos fluorescentes, marcadores bioluminiscentes o marcadores quimioluminiscentes.

- 5 Los compuestos descritos en el presente documento y otros compuestos relacionados que tienen diferentes sustituyentes se sintetizan usando técnicas y materiales descritos en el presente documento y como se describe, por ejemplo, en Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis, volúmenes 1-17 (John Wiley and Sons, 1991); Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, volúmenes 1-5 y suplementos (Elsevier Science Publishers, 1989); Organic Reactions, volúmenes 1-40 (John Wiley and Sons, 1991), Larock's Comprehensive Organic Transformations (VCH Publishers Inc., 1989), March, Advanced Organic Chemistry, 4ª ed. (Wiley 1992); Carey y Sundberg, Advanced Organic Chemistry, 4ª ed., vols. A y B (Plenum 2000, 2001), y Green y Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3ª ed. (Wiley 1999). Los procedimientos generales para la preparación del compuesto como se describe en el presente documento se modifican por el uso de reactivos y de condiciones apropiados, para la introducción de los diferentes restos que aparecen en la fórmula según lo proporcionado en el presente documento.
- 10
- 15 Los compuestos descritos en el presente documento se sintetizan utilizando cualquier procedimiento adecuado a partir de compuestos que están disponibles a partir de fuentes comerciales, o se preparan utilizando procedimientos descritos en el presente documento.

- 20 Sin querer ceñirse a ningún mecanismo de acción específico, los compuestos polipeptídicos cíclicos proporcionados en el presente documento pueden inhibir la interacción entre PCSK9 (por ejemplo, PCSK9 humana) y LDLR (por ejemplo, LDLR humano) con una CI_{50} de menos de 50 μM , menos de 45 μM , menos de 40 μM , menos de 35 μM , menos de 30 μM , menos de 25 μM , menos de 20 μM , menos de 15 μM , menos de 10 μM , menos de 9 μM , menos de 8 μM , menos de 7 μM , menos de 6 μM , menos de 5 μM , menos de 4 μM , menos de 3 μM , menos de 2 μM , menos de 1 μM , menos de 900 nM, menos de 800 nM, menos de 700 nM, menos de 600 nM o menos de 500 nM (por ejemplo, según se determina utilizando el ensayo descrito en los ejemplos). En cualquiera de estos ejemplos, la CI_{50} puede ser tan baja como 10 nM, 25 nM, 50 nM o 100 nM (por ejemplo, según se determina usando el ensayo descrito en los ejemplos). En la técnica se conocen otros procedimientos para determinar la CI_{50} de cualquiera de los compuestos para inhibir la interacción entre PCSK9 (por ejemplo, PCSK9 humana) y LDLR (por ejemplo, LDLR humana).
- 25

Composiciones farmacéuticas

- 30 También se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden al menos uno (por ejemplo, uno, dos, tres o cuatro) de los compuestos polipeptídicos cíclicos proporcionados en el presente documento. Dos o más (por ejemplo, dos, tres o cuatro) de cualquiera de los compuestos polipeptídicos cíclicos pueden estar presentes en una composición farmacéutica en cualquier combinación. Las composiciones farmacéuticas pueden formularse de cualquier manera conocida en la técnica.

- 35 Las composiciones farmacéuticas para su uso de acuerdo con un procedimiento divulgado en el presente documento pueden formularse así de manera convencional usando uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, incluidos excipientes y sustancias auxiliares, que facilitan el procesamiento del compuesto en preparados que pueden usarse farmacéuticamente. La formulación adecuada depende de la vía de administración elegida.

En una realización, la administración de la composición farmacéutica se selecciona del grupo que consiste en oral, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, transdérmica e intravítrea.

- 40 En una realización, la composición farmacéutica comprende al menos uno de los compuestos de fórmula (I), fórmula (II), fórmula (III), o compuestos 001-358 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

- 45 Una composición farmacéutica como se divulga en el presente documento comprende al menos un compuesto de la invención. Dicha composición farmacéutica puede fabricarse de una manera conocida, por ejemplo, mediante procesos convencionales de mezcla, disolución, granulación, levigación, emulsión, encapsulación, atrapamiento o liofilización.

- 50 Para la administración intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, transdérmica e intravítrea, los agentes divulgados en el presente documento pueden formularse en soluciones acuosas, por ejemplo, en tampones fisiológicamente compatibles, tales como solución de Hanks, solución de Ringer o tampón de solución salina fisiológica. Para la administración transmucosa, se utilizan en la formulación penetrantes adecuados a la barrera que se desea atravesar. Tales penetrantes son generalmente conocidos en la técnica.

Para la administración oral, el compuesto puede formularse con facilidad combinando el compuesto con vehículos farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica. Dichos vehículos permiten que los compuestos de la invención se formen en forma de comprimidos, píldoras, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, suspensiones espesas o suspensiones, para su ingestión oral por el sujeto a tratar.

- 55 Las formas farmacéuticas sólidas pueden prepararse con recubrimientos y cubiertas, tales como recubrimientos entéricos y otros bien conocidos en la técnica. Pueden contener agentes calmantes y tener una composición tal que

liberen el principio o principios activos en una parte determinada del tracto intestinal de forma retardada. Algunos ejemplos de composiciones inmersas que pueden utilizarse son las sustancias poliméricas y las ceras. Los principios activos también pueden estar en forma microencapsulada, si procede, con uno o más de los excipientes antes mencionados. Por ejemplo, una composición farmacéutica de un compuesto de la invención puede encapsularse mediante una cápsula de calidad farmacéutica en forma de polvo seco.

Las formulaciones de compuestos incluyen formulaciones de liberación duodenal controlada, formulaciones de liberación prolongada, sistemas de administración de liberación osmótica controlada, microemulsiones, microesferas, liposomas, nanopartículas, parches, bombas, depósitos de liberación prolongada de fármacos y similares. Específicamente, en el presente documento se incluyen formas sólidas de administración oral, tales como polvos, cápsulas blandas, cápsulas de gel, cápsulas, píldoras y comprimidos.

En una realización, el péptido se formula en forma de una solución acuosa estéril. En una realización, el péptido se formula en una formulación no lipídica. En otra realización, el péptido se formula en una formulación lipídica catiónica o no catiónica. En ambos casos, la solución acuosa estéril puede contener principios activos o componentes inactivos adicionales. Los componentes inactivos ("excipientes") pueden incluir, entre otros, sales fisiológicamente compatibles, azúcares, agentes de carga, tensioactivos o tampones.

Procedimientos de tratamiento

Las referencias a procedimientos de tratamiento en los párrafos siguientes de la presente descripción deben interpretarse como referencias a los compuestos, las composiciones farmacéuticas y los medicamentos de la presente invención para su uso en un procedimiento para el tratamiento del cuerpo humano (o animal) mediante terapia.

Se proporciona en el presente documento un procedimiento para reducir el nivel de colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL) en un sujeto que lo necesite, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto polipeptídico cíclico, o una composición farmacéutica que comprende un compuesto polipeptídico cíclico.

En una realización, el sujeto tiene hipercolesterolemia. A algunos sujetos de la realización se les puede diagnosticar una enfermedad que presenta comorbilidad con la hipercolesterolemia, tal como el síndrome nefrótico, la insuficiencia renal, la enfermedad arterial coronaria, la aterosclerosis, la apoplejía, la enfermedad vascular periférica, la diabetes y la hipertensión arterial.

En otra realización, el compuesto inhibe la interacción entre la PCSK9 humana y el dominio de repetición A similar al factor de crecimiento epidérmico (EGF-A) de la lipoproteína de baja densidad (LDLR) humana en un sujeto.

En otra realización, el compuesto inhibe la interacción entre la PCSK9 humana y el dominio de repetición A similar al factor de crecimiento epidérmico (EGF-A) de la lipoproteína de baja densidad (LDLR) humana en una célula.

También se proporciona en el presente documento un procedimiento para tratar la hipercolesterolemia en un sujeto que lo necesite que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención.

La hipercolesterolemia es una enfermedad caracterizada por la presencia de niveles elevados de colesterol (niveles de colesterol total y/o LDL) en una muestra obtenida de un sujeto (por ejemplo, en comparación con un nivel de referencia que es un nivel umbral preseleccionado). En algunos ejemplos de hipercolesterolemia, el sujeto también puede tener un nivel disminuido de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL) en comparación con un nivel de referencia, por ejemplo, un nivel umbral preseleccionado. La hipercolesterolemia suele ser diagnosticada por un profesional médico mediante la determinación de uno o varios niveles de colesterol en un sujeto. En una población general de pacientes, un nivel umbral preseleccionado de colesterol total (LDL más HDL) puede ser, por ejemplo, de 180 mg/dl, 185 mg/dl, 190 mg/dl, 195 mg/dl, 200 mg/dl, 205 mg/dl, 210 mg/dl, 215 mg/dl, 220 mg/dl, 225 mg/dl, 230 mg/dl, 235 mg/dl, 240 mg/dl, 245 mg/dl, 250 mg/dl, 255 mg/dl o 260 mg/dl. En una población general de pacientes, un nivel umbral preseleccionado de colesterol LDL puede ser, por ejemplo, de 125 mg/dl, 130 mg/dl, 135 mg/dl, 140 mg/dl, 145 mg/dl, 150 mg/dl, 155 mg/dl, 160 mg/dl, 165 mg/dl, 170 mg/dl, 175 mg/dl, 180 mg/dl, 185 mg/dl, 190 mg/dl, 195 mg/dl, 200 mg/dl, 205 mg/ml, 210 mg/dl, 215 mg/dl, 220 mg/dl, 225 mg/dl o 230 mg/dl. En una población general de pacientes, un nivel umbral preseleccionado de colesterol HDL puede ser, por ejemplo, de 60 mg/dl, 58 mg/dl, 56 mg/dl, 54 mg/dl, 52 mg/dl, 50 mg/dl, 48 mg/dl, 46 mg/dl, 44 mg/dl, 42 mg/dl, 40 mg/dl, 38 mg/dl, 36 mg/dl, 34 mg/dl, 32 mg/dl, 30 mg/dl, 28 mg/dl, 26 mg/dl o 24 mg/dl.

Para sujetos que tienen un alto riesgo de enfermedad coronaria (por ejemplo, un sujeto que tiene más de un 20 % de riesgo de infarto de miocardio en 10 años, o un sujeto que padece enfermedad arterial coronaria, diabetes, enfermedad arterial periférica, enfermedad arterial carotídea o aneurisma aórtico), el nivel umbral preseleccionado de colesterol LDL puede ser, por ejemplo, de 60 mg/dl, 65 mg/dl, 70 mg/dl, 75 mg/dl, 80 mg/dl, 85 mg/dl, 90 mg/dl, 95 mg/dl o 100 mg/dl. Para sujetos con un riesgo moderadamente alto de enfermedad coronaria (por ejemplo, un sujeto con un riesgo del 10 % al 20 % de infarto de miocardio en 10 años y dos o más factores de riesgo de enfermedad coronaria), el nivel umbral preseleccionado de LDL puede ser, por ejemplo, de 90 mg/dl, 95 mg/dl, 100 mg/dl, 105 mg/dl, 110 mg/dl, 115 mg/dl, 120 mg/dl, 125 mg/dl, 130 mg/dl, 135 mg/dl, 140 mg/dl, 145 mg/dl o 150 mg/dl. Para sujetos con un riesgo

moderado de enfermedad coronaria (por ejemplo, un sujeto con un riesgo inferior al 10 % de sufrir un infarto de miocardio en 10 años y con más de un factor de riesgo de enfermedad coronaria), el nivel umbral preseleccionado de colesterol LDL puede ser, por ejemplo, de 115 mg/dl, 120 mg/dl, 125 mg/dl, 130 mg/dl, 135 mg/dl, 140 mg/dl, 145 mg/dl o 150 mg/dl. Los factores de riesgo de la enfermedad coronaria incluyen, entre otros, los antecedentes familiares, el

5 hábito de fumar, la hipertensión, la diabetes, la obesidad, la inactividad física y el estrés elevado.

En cualquiera de los procedimientos, el sujeto puede ser un sujeto que ya padece, al que se le ha diagnosticado o que se ha identificado que padece una hipercolesterolemia causada, por ejemplo, por la dieta y/o una mutación genética (por ejemplo, hipercolesterolemia familiar) (por ejemplo, cualquiera de las mutaciones genéticas descritas en el presente documento o conocidas en la técnica que dan lugar a un nivel de colesterol LDL aumentado).

10 En algunos de los ejemplos de cualquiera de los procedimientos, el sujeto que ya padece, al que se le ha diagnosticado o que se ha identificado que padece una enfermedad que presenta comorbilidad con la hipercolesterolemia. Algunos ejemplos no limitantes de enfermedades que presentan comorbilidad con la hipercolesterolemia son la hipertensión, las cardiopatías, la artritis, la diabetes, la enfermedad arterial coronaria, el accidente cerebrovascular, el cáncer de mama y el infarto de miocardio.

15 Por consiguiente, en el presente documento se proporciona un procedimiento para tratar una enfermedad que presenta comorbilidad con la hipercolesterolemia, tal como síndrome nefrótico, insuficiencia renal, enfermedad arterial coronaria, aterosclerosis, accidente cerebrovascular, enfermedad vascular periférica, diabetes e hipertensión arterial, en un sujeto que lo necesite que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención.

20 Los procedimientos para diagnosticar la hipertensión, la enfermedad cardíaca, la artritis, la diabetes, la enfermedad arterial coronaria, el accidente cerebrovascular, el cáncer de mama y el infarto de miocardio son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, la hipertensión puede diagnosticarse en un sujeto midiendo la presión sanguínea del sujeto en uno o más puntos temporales. Las cardiopatías pueden diagnosticarse en un sujeto, por ejemplo, mediante análisis de sangre, radiografías de tórax, electrocardiograma, ecocardiografía, una prueba de esfuerzo, ventriculografía con radionúclidos, exploración de adquisición múltiple o cateterismo cardíaco. La diabetes (de tipo I o de tipo II) puede

25 diagnosticarse, por ejemplo, midiendo los niveles de glucosa en sangre de un sujeto (por ejemplo, los niveles de glucosa en sangre en ayunas) y/o detectando cetonas en la orina del sujeto. La artritis puede diagnosticarse en un sujeto, por ejemplo, mediante exploración física para detectar dolor, rigidez, hinchazón, enrojecimiento y disminución de la amplitud de movimiento en una o más articulaciones, pruebas de laboratorio, radiografías, tomografía

30 computarizada, resonancia magnética, ecografía o artroscopia. La enfermedad arterial coronaria puede diagnosticarse en un sujeto, por ejemplo, mediante electrocardiograma, ecocardiograma, prueba de esfuerzo, cateterismo cardíaco, angiograma, escáner cardíaco (por ejemplo, mediante tomografía computarizada) o angiografía por resonancia magnética. El accidente cerebrovascular puede diagnosticarse, por ejemplo, mediante exploración, análisis de sangre, tomografía computarizada, resonancia magnética, ecografía carotídea, angiograma cerebral o ecocardiograma. El

35 cáncer de mama puede diagnosticarse, por ejemplo, mediante exploración mamaria, mamografía, ecografía mamaria, biopsia o resonancia magnética. El infarto de miocardio se diagnostica, por ejemplo, mediante electrocardiograma, análisis de sangre, radiografía de tórax, ecocardiograma, cateterismo coronario, prueba de esfuerzo, tomografía computarizada cardíaca o resonancia magnética.

Se proporcionan procedimientos para tratar una enfermedad que presenta comorbilidad con la hipercolesterolemia, en los que los procedimientos incluyen administrar a un sujeto que lo necesite (por ejemplo, un sujeto que padece hipercolesterolemia) un compuesto polipeptídico cíclico o una composición farmacéutica proporcionados en el presente documento. La administración reduce el riesgo en comparación con el riesgo de desarrollar dicha enfermedad en un sujeto que tenga niveles similares de colesterol, pero al que se le ha administrado un tratamiento diferente o al que no se le ha administrado ningún tratamiento. También se proporcionan procedimientos para retrasar la aparición

40 o el empeoramiento de una enfermedad que presenta comorbilidad con la hipercolesterolemia, en los que los procedimientos incluyen la administración a un sujeto que los necesita (por ejemplo, un sujeto que padece hipercolesterolemia y, opcionalmente, uno o más factores de riesgo de desarrollar una enfermedad que presenta comorbilidad con la hipercolesterolemia, o un sujeto que ya padece, al que se le ha diagnosticado o que se ha

45 identificado que padece una enfermedad que presenta comorbilidad con la hipercolesterolemia) un compuesto o una composición farmacéutica proporcionados en el presente documento (por ejemplo, en comparación con un sujeto que padece la misma enfermedad que presenta comorbilidad con la hipercolesterolemia, pero al que se le ha administrado un tratamiento diferente o al que no se le ha administrado ningún tratamiento).

50

También se proporcionan procedimientos para reducir el nivel de colesterol LDL en un sujeto que lo necesite que incluyen administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o composiciones farmacéuticas descritos en el presente documento (la reducción se comprueba en comparación, por ejemplo, con un nivel en un sujeto de control o un nivel de referencia en el sujeto antes del tratamiento con cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas proporcionados en el presente documento). La reducción satisfactoria del nivel de colesterol LDL en un sujeto puede ser determinada por un profesional sanitario (por ejemplo, un enfermero, un médico o un auxiliar médico). Por ejemplo, un tratamiento exitoso puede producir al menos

55 un 2 %, al menos un 3 %, al menos un 4 %, al menos un 5 %, al menos un 6 %, al menos un 7 %, al menos un 8 %, al menos un 9 %, al menos un 10 %, al menos un 11 %, al menos un 12 %, al menos un 13 %, al menos un 14 %, al

60

- menos un 15 %, al menos un 16 %, al menos un 17 %, al menos un 18 %, al menos un 19 %, al menos un 20 %, al menos un 21 %, al menos un 22 %, al menos un 23 %, al menos un 24 %, al menos un 25 %, al menos un 26 %, al menos un 27 %, al menos un 28 %, al menos un 29 % o al menos un 30 % de reducción en el nivel de colesterol LDL de un sujeto (por ejemplo, en comparación con un sujeto de control o en comparación con un nivel de colesterol LDL en el sujeto antes de la administración de cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas proporcionados en el presente documento). En cualquiera de estos ejemplos, la reducción del nivel de LDL de un sujeto puede llegar al 40 %, al 45 %, al 50 %, al 55 %, al 60 % o al 65 % (por ejemplo, en comparación con un sujeto de control o en comparación con un nivel de colesterol LDL en el sujeto antes de la administración de cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas proporcionados en el presente documento). Además, los procedimientos pueden proporcionar además una reducción del nivel de colesterol total de un sujeto, por ejemplo, una reducción de al menos el 2 %, al menos el 3 %, al menos el 4 %, al menos el 5 %, al menos el 6 %, al menos el 7 %, al menos el 8 %, al menos el 9 %, al menos el 10 %, al menos el 11 %, al menos el 12 %, al menos el 13 %, al menos el 14 % o al menos el 15 % (por ejemplo, en comparación con un sujeto de control o en comparación con un nivel de colesterol total en el sujeto antes de la administración de cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas proporcionados en el presente documento). En cualquiera de estos ejemplos, la reducción del nivel de colesterol total de un sujeto puede llegar al 40 %, al 45 %, al 50 %, al 55 %, al 60 % o al 65 % (por ejemplo, en comparación con un sujeto de control o en comparación con un nivel de colesterol total en el sujeto antes de la administración de cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas proporcionados en el presente documento).
- Los procedimientos para determinar los niveles de colesterol LDL y colesterol total son bien conocidos en la técnica. Algunos ejemplos no limitantes de kits para determinar los niveles de colesterol LDL y colesterol total están disponibles en el mercado en Abeam (Cambridge, MA), Sigma Aldrich (St. Louis, MO), Cell Biolabs, Inc. (San Diego, CA), Genway Biotech (San Diego, CA), Biolabo (Lawrenceville, Georgia), BioAssay Systems (Hayward, CA), Medibena (Viena, Austria) y Abnova (Taipéi, Taiwán).
- El sujeto en estos procedimientos puede ser, por ejemplo, un sujeto que ya padece, al que se le ha diagnosticado o que se ha identificado que padece una hipercolesterolemia (por ejemplo, hipercolesterolemia familiar) o un sujeto en el que se ha identificado o en el que previamente se ha identificado un mayor riesgo de desarrollar hipercolesterolemia. En algunos ejemplos, el sujeto de estos procedimientos puede ser, por ejemplo, un sujeto que ya padece, al que se le ha diagnosticado o que se ha identificado que padece una enfermedad que presenta comorbilidad con la hipercolesterolemia (por ejemplo, cualquiera de los ejemplos de enfermedades que presentan comorbilidad con la hipercolesterolemia descritos en el presente documento o conocidos en la técnica).
- También se proporcionan procedimientos para reducir el riesgo de desarrollar una enfermedad que presenta comorbilidad con la hipercolesterolemia (por ejemplo, en comparación con el riesgo en un paciente de control o población de pacientes que no ha recibido tratamiento con ninguno de los compuestos o no ha recibido ninguna de las composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento) que incluyen administrar a un sujeto que lo necesite un compuesto o una composición farmacéutica proporcionados en el presente documento. El sujeto de estos procedimientos puede ser un sujeto que ya padece, al que se le ha diagnosticado o que se ha identificado que padece una hipercolesterolemia o en el que se ha identificado o en el que previamente se ha identificado un mayor riesgo de desarrollar hipercolesterolemia. En algunos ejemplos, el sujeto puede ser un sujeto en el que se ha identificado o en el que previamente se ha identificado un mayor riesgo de desarrollar una enfermedad que presenta comorbilidad con la hipercolesterolemia (por ejemplo, un sujeto que tiene uno o más factores de riesgo de desarrollar una enfermedad que presenta comorbilidad con la hipercolesterolemia o que tiene uno o más factores de riesgo de desarrollar hipercolesterolemia).
- En algunos ejemplos, el sujeto puede estar recibiendo ya o haber recibido un tratamiento para la hipercolesterolemia (por ejemplo, una estatina, niacina, resinas de ácidos biliares, fibratos e inhibidores de la adsorción de colesterol). En algunos ejemplos, el tratamiento previo para la hipercolesterolemia no dio como resultado una reducción significativa del nivel de colesterol LDL en el sujeto que lo necesitaba (por ejemplo, cualquiera de los sujetos descritos en el presente documento) y/o una reducción insuficiente del nivel de colesterol LDL en el sujeto (por ejemplo, cualquiera de los sujetos descritos en el presente documento) (es decir, no fue suficiente para reducir el nivel de colesterol LDL por debajo de un nivel de referencia que es un nivel umbral preseleccionado).
- En algunas realizaciones, se administra al sujeto una dosis de entre 1 mg y 400 mg de cualquiera de los compuestos o de cualquiera de las composiciones farmacéuticas (por ejemplo, entre 1 mg y 300 mg, entre 1 mg y 250 mg, entre 1 mg y 200 mg, entre 1 mg y 150 mg, entre 1 mg y 100 mg, entre 1 mg y 80 mg, entre 1 mg y 70 mg, entre 1 mg y 60 mg, entre 1 mg y 50 mg, entre 1 mg y 40 mg, entre 1 mg y 30 mg, entre 1 mg y 20 mg, entre 1 mg y 10 mg, entre 20 mg y 120 mg, entre 30 mg y 90 mg, o entre 40 mg y 80 mg). En algunos ejemplos, se administra al sujeto una dosis del compuesto o de la composición farmacéutica descritos en el presente documento de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 4,0 mg/kg (por ejemplo, entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 3,5 mg/kg, entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 3,0 mg/kg, entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 2,5 mg/kg, entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 2,0 mg/kg, entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 1,5 mg/kg, entre aproximadamente 0,5 mg/kg y aproximadamente 1,5 mg/kg, o entre aproximadamente 0,7 mg/kg y aproximadamente 1,3 mg/kg).

También se proporcionan procedimientos de inhibición de la interacción entre PCSK9 (por ejemplo, cualquiera de los ejemplos de PCSK9 de mamífero descritos en el presente documento, tal como PCSK9 humana) y LDLR (por ejemplo, cualquiera de los ejemplos de LDLR de mamífero descritos en el presente documento, tal como LDLR humano) que incluyen poner en contacto PCSK9 y LDLR con cualquiera de los compuestos o composiciones farmacéuticas proporcionados en el presente documento (por ejemplo, la inhibición se compara, por ejemplo, con un nivel de interacción entre PCSK9 y LDLR en ausencia de los compuestos o de la composición farmacéutica). En algunos ejemplos, el contacto tiene lugar *in vitro* (por ejemplo, en un cultivo celular). En otros ejemplos, el contacto tiene lugar *in vivo* (por ejemplo, en cualquiera de los ejemplos de sujetos descritos en el presente documento o cualquiera de los modelos animales descritos en el presente documento). En cualquiera de estos procedimientos, el LDLR puede estar presente en la membrana plasmática de una célula de mamífero (por ejemplo, un hepatocito, una célula epitelial o una célula endotelial) y orientado en la membrana plasmática de manera que el LDLR pueda interactuar con la PCSK9 presente en el medio extracelular (por ejemplo, un medio de cultivo).

En el presente documento se describen procedimientos no limitantes para detectar la interacción (o cantidad de interacción) entre PCSK9 y LDLR. Por ejemplo, el LDLR puede fijarse a un sustrato sólido (por ejemplo, una placa, película o esfera) (por ejemplo, de tal manera que permita que el LDLR interactúe con la PCSK9) y ponerse en contacto con la PCSK9 en presencia o ausencia de cualquiera de los compuestos o composiciones farmacéuticas descritos en el presente documento, y la cantidad de PCSK9 unida al LDLR en presencia del compuesto o composición farmacéutica puede compararse con la cantidad unida en un ensayo de control que no incluya el compuesto ni la composición farmacéutica. La detección de la cantidad de PCSK9 unida al LDLR en presencia o ausencia del compuesto o la composición farmacéutica puede realizarse mediante inmunoprecipitación e inmunotransferencia, resonancia de plasmón de superficie o transferencia de energía de fluorescencia resuelta en el tiempo (TR-FRET).

Como es conocido en la técnica, la inhibición de la interacción entre PCSK9 y LDLR puede medirse como un aumento del valor de K_D y/o una disminución del valor de K_A para la interacción entre PCSK9 (por ejemplo, PCSK9 humana) y LDLR (por ejemplo, LDLR humana) (por ejemplo, el dominio EGF-A de LDLR) en presencia de cualquiera de los compuestos o composiciones farmacéuticas proporcionados en el presente documento (por ejemplo, en comparación con los niveles de interacción en ausencia del compuesto o composición farmacéutica).

La interacción entre PCSK9 y LDLR puede detectarse indirectamente cuando la interacción entre PCSK9 y LDLR se produce *in vitro*. Por ejemplo, la interacción entre PCSK9 y LDLR, cuando el LDLR se expresa en la membrana plasmática de un hepatocito, puede detectarse indirectamente determinando la cantidad de LDLR remanente en el hepatocito que ha estado en contacto con PCSK9 en presencia o ausencia de cualquiera de los compuestos o composiciones farmacéuticas proporcionados en el presente documento (en el que un mayor nivel de LDLR en el hepatocito tras la incubación en presencia del compuesto o composición farmacéutica, en comparación con el nivel de LDLR en el hepatocito tras la incubación en ausencia del compuesto o composición farmacéutica, indica que se ha inhibido la interacción entre LDLR y PCSK9).

La cantidad de inhibición de la interacción entre LDLR y PCSK9 *in vivo* también puede determinarse indirectamente midiendo el nivel de colesterol LDL en un sujeto al que se le administra el compuesto o composición farmacéutica en comparación con un nivel de control de LDL (por ejemplo, un nivel de colesterol LDL en el mismo sujeto antes del tratamiento con el compuesto o composición farmacéutica). En dicho ensayo, una disminución del nivel de colesterol LDL en el sujeto después del tratamiento, en comparación con el nivel de colesterol LDL en el sujeto antes del tratamiento, indica que el compuesto o la composición farmacéutica administrados al sujeto inhibió la interacción entre PCSK9 y LDLR en el sujeto.

En una realización de estos procedimientos, la administración se selecciona del grupo que consiste en administración oral, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, transdérmica e intravítrea.

En una realización de estos procedimientos, se proporciona en el presente documento un procedimiento para tratar la hipercolesterolemia en un sujeto que lo necesite que comprende administrar al sujeto al menos uno de los compuestos de fórmula (I), fórmula (II), fórmula (III) o compuestos 001-358 o una composición farmacéutica que comprende al menos uno de los compuestos de fórmula (I), fórmula (II), fórmula (III) o compuestos 001-358.

Debe entenderse que los procedimientos descritos en la presente divulgación no se limitan a los procedimientos y las condiciones experimentales concretos divulgados en el presente documento, ya que dichos procedimientos y condiciones pueden variar. También debe entenderse que la terminología empleada en el presente documento tiene por objeto describir únicamente realizaciones concretas y no pretende ser limitante.

Además, los experimentos descritos en el presente documento, a menos que se indique lo contrario, utilizan técnicas inmunológicas y biológicas moleculares y celulares convencionales dentro de los conocimientos de la técnica. Estas técnicas son bien conocidas por los trabajadores cualificados y se explican detalladamente en la bibliografía. Véase, por ejemplo, Ausubel, *et al.*, ed., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc., NY, N.Y. (1987-2008), incluidos todos los suplementos, Molecular Cloning: A Laboratory Manual (cuarta edición), de M.R. Green y J. Sambrook; y Harlow *et al.*, Antibodies: A Laboratory Manual, capítulo 14, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor (2013, 2ª edición).

A menos que se definan de otro modo en el presente documento, los términos y expresiones científicos y técnicos utilizados en el presente documento tienen los significados que se entienden habitualmente aquellos con conocimientos ordinarios en la materia. En caso de ambigüedad latente, las definiciones contenidas en el presente documento prevalecen sobre cualquier definición de diccionario o extrínseca. Salvo que el contexto exija lo contrario, los términos en singular incluirán los plurales y los términos en plural incluirán el singular. El uso de "o" significa "y/o" a menos que se indique lo contrario. El uso del término "incluido", así como de otras formas, como "incluye" e "inclusive", no es limitante. Salvo que se indique lo contrario, las formas en singular "un/una" y "el/la" incluyen las referencias en plural. Así, por ejemplo, una referencia a "una proteína" incluye una pluralidad de moléculas de proteínas.

En general, las nomenclaturas utilizadas en relación con el cultivo de células y tejidos, la biología molecular, la inmunología, la microbiología, la genética y la química e hibridación de proteínas y ácidos nucleicos descritas en el presente documento son bien conocidas y se utilizan habitualmente en la técnica. Los procedimientos y técnicas que se proporcionan en el presente documento se llevan a cabo generalmente de acuerdo con procedimientos convencionales bien conocidos en la técnica y como se describe en diversas referencias generales y más específicas que se citan y analizan a lo largo de la presente memoria descriptiva a menos que se indique lo contrario. Las reacciones enzimáticas y las técnicas de purificación se realizan según las especificaciones del fabricante, como se realiza habitualmente en la técnica o como se describe en el presente documento. Las nomenclaturas utilizadas en relación con los procedimientos y técnicas de laboratorio de química analítica, química orgánica sintética y química medicinal y farmacéutica descritos en el presente documento son conocidas y se utilizan habitualmente en la técnica. Se usan técnicas convencionales para las síntesis químicas, los análisis químicos, la preparación, formulación y administración de productos farmacéuticos y el tratamiento de pacientes.

Será evidente para los expertos en la materia que pueden realizarse otras modificaciones y adaptaciones adecuadas de los procedimientos descritos en el presente documento utilizando equivalentes adecuados sin apartarse del alcance de las realizaciones divulgadas en el presente documento. Habiendo descrito en detalle determinadas realizaciones, estas se entenderán más claramente remitiéndose a los siguientes ejemplos, que se incluyen únicamente con fines ilustrativos y no pretenden ser limitantes.

Ejemplos

La invención se describe a continuación con referencia a los ejemplos siguientes. Estos ejemplos se proporcionan únicamente con fines ilustrativos, y la invención no se limita a los mismos.

Los compuestos de la invención pueden prepararse según los ejemplos siguientes.

Ejemplo 1: Síntesis de compuestos polipeptídicos cíclicos

Procedimiento E:

Etapas 1: Síntesis de péptidos

Los péptidos se sintetizaron utilizando aminoácidos protegidos con Fmoc sobre una fase sólida Rink Amide MBHA (NovaBiochem, aproximadamente 0,5 meq/g, malla 100-200) o AM (NovaBiochem, aproximadamente 0,73 meq/g, malla 100-200) o resina de 2-aminoetanotiol-2-clorotritilo (AnaSpec, aproximadamente 0,9 meq/g, malla 200-400) con un sintetizador de péptidos por microondas automatizado CEM Liberty Blue. Normalmente, los péptidos se sintetizaron en una escala de 0,1 mmol. Las condiciones típicas de reacción fueron las siguientes: Condiciones de desprotección: piperidina al 20 % (v/v) en DMF (2 X 2 min a 75 °C); Condiciones de acoplamiento de residuos: Se administraron 5 eq (en relación con la resina) de aminoácido activado (2,5 ml de una solución madre de aminoácido 0,2 M en DMF) a la resina, seguidos de 5 eq de activador de DIC (1 ml de una solución 0,5 M en DMF) y 5 eq de oxima pura (0,5 ml de una solución 1 M en DMF) y se dejaron reaccionar durante 5 min a 75 °C. El producto resultante se utilizó directamente en la etapa siguiente.

Etapas 2: Escisión del soporte sólido

La resina de la etapa 1 se transfirió a un tubo de centrifuga de polipropileno de 50 ml o a una jeringa fritada de 10 ml. Los péptidos se separaron de su soporte sólido utilizando una mezcla de ácido trifluoroacético/trisopropilsilano/DL-ditiotreitol/agua (92,5/2,5/2,5 (p/v)/2,5). Para una escala de 0,1 mmol de resina, se utilizaron aproximadamente 10 ml de solución de escisión. La resina suspendida se mecía en la solución de escisión durante 3 horas a temperatura ambiente. El filtrado se recogió en tubos de centrifuga de polipropileno de 50 ml y se precipitó con éter dietílico enfriado (aproximadamente 50 ml por aproximadamente 5 ml de filtrado de escisión). El péptido bruto precipitado se recogió por centrifugación. A continuación, el precipitado blanco se suspendió en éter dietílico enfriado y se recogió por centrifugación dos veces más. El sólido resultante se secó al aire para obtener el péptido bruto.

Etapas 3: Ciclación

Para una escala de 0,1 mmol: se sintetizó el péptido lineal, se separó del soporte sólido y se aisló según la etapa 2. El péptido bruto sólido se disolvió con agitación en 30 ml de una solución desgasificada de agua:acetonitrilo (1:1) en un tubo de centrifuga de polipropileno de 50 ml. Se añadió más acetonitrilo según fuera necesario para garantizar la

disolución completa del péptido. A esta solución agitada se le añadió gota a gota bicarbonato de amonio acuoso (200 mM, desgasificado) para llevar el pH a aproximadamente 8. Se añadió gota a gota a la reacción el reactivo alquilante 1,3-bis(bromometil)benceno (0,1 mmol/1 eq) en acetonitrilo (1 ml) durante aproximadamente 2 min. Tras la adición completa, se comprobó la reacción para asegurar que el pH se mantenía en aproximadamente 8. Si el pH era inferior a aproximadamente 8, se añadió gota a gota más bicarbonato de amonio acuoso (200 mM, desgasificado) a la reacción hasta que el pH alcanzó aproximadamente 8. Se tapó el tubo de centrifuga y la mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. A continuación, la reacción se acidificó a un pH de aproximadamente 1 con ácido trifluoroacético y se liofilizó para obtener el péptido bruto en forma de polvo. El producto deseado se purificó mediante cromatografía de fase inversa C18.

10 Procedimiento F:

Etapas 1: Síntesis de péptidos

Los péptidos se sintetizaron utilizando aminoácidos protegidos con Fmoc sobre una fase sólida Rink Amide MBHA (NovaBiochem, aproximadamente 0,5 meq/g, malla 100-200) o AM (NovaBiochem, aproximadamente 0,73 meq/g, malla 100-200) o resina de 2-aminoetanotiol-2-clorotritilo (AnaSpec, aproximadamente 0,9 meq/g, malla 200-400) con un sintetizador de péptidos por microondas automatizado CEM Liberty Blue. Normalmente, los péptidos se sintetizaron en una escala de 0,1 mmol. Las condiciones típicas de reacción fueron las siguientes: Condiciones de desprotección: piperidina al 20 % (v/v) en DMF (2 × 2 min a 75 °C); Condiciones de acoplamiento de residuos: Se administraron 5 eq (en relación con la resina) de aminoácido activado (2,5 ml de una solución madre de aminoácido 0,2 M en DMF) a la resina, seguidos de 5 eq de activador de DIC (1 ml de una solución 0,5 M en DMF) y 5 eq de oxima pura (0,5 ml de una solución 1 M en DMF) y se dejaron reaccionar durante 5 min a 75 °C. El producto resultante se utilizó directamente en la etapa siguiente.

Etapas 2: Escisión del soporte sólido

La resina de la etapa 1 se transfirió a un tubo de centrifuga de polipropileno de 50 ml o a una jeringa fritada de 10 ml. Los péptidos se separaron de su soporte sólido utilizando una mezcla de ácido trifluoroacético/triisopropilsilano/DL-ditiotreitol/agua (92,5/2,5/2,5 (p/v)/2,5). Para una escala de 0,1 mmol de resina, se utilizaron aproximadamente 10 ml de solución de escisión. La resina suspendida se mecía en la solución de escisión durante 3 horas a temperatura ambiente. El filtrado se recogió en tubos de centrifuga de polipropileno de 50 ml y se precipitó con éter dietílico enfriado (aproximadamente 50 ml por aproximadamente 5 ml de filtrado de escisión). El péptido bruto precipitado se recogió por centrifugación. A continuación, el precipitado blanco se suspendió en éter dietílico enfriado y se recogió por centrifugación dos veces más. El sólido resultante se secó al aire para obtener el péptido bruto.

Etapas 3: Ciclación

A un matraz de fondo redondo de 250 ml provisto de una barra agitadora se le añadió PyAOP (210 mg, 0,4 mmol; hexafluorofosfato de (7-azabenzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfonio), HOAt (14 mg, 0,1 mmol; 1-hidroxi-7-azabenzotriazol) y DIPEA (90 µl, 0,5 mmol) en DMF (80 ml). El péptido bruto sólido precipitado de la etapa 3 se disolvió en DMF (25 ml) y se añadió gota a gota a la solución de activador utilizando una bomba de jeringa (adición a lo largo de 1,5 h). La solución amarilla resultante se agitó durante toda la noche a temperatura ambiente. Una vez completada la ciclación (controlada por LCMS), la mezcla de reacción se acidificó mediante adición de TFA (100 µl). El disolvente de DMF se evaporó a un vacío elevado y el residuo bruto resultante se purificó mediante HPLC de fase inversa C18.

Procedimiento G:

40 *Etapas 1: Síntesis de péptidos*

Los péptidos se sintetizaron utilizando aminoácidos protegidos con Fmoc sobre una fase sólida Rink Amide MBHA (NovaBiochem, aproximadamente 0,5 meq/g, malla 100-200) o AM (NovaBiochem, aproximadamente 0,73 meq/g, malla 100-200) o resina de 2-aminoetanol-2-clorotritilo (AnaSpec, aproximadamente 0,9 meq/g, malla 200-400) con un sintetizador de péptidos por microondas automatizado CEM Liberty Blue. Normalmente, los péptidos se sintetizaron en una escala de 0,1 mmol. Las condiciones típicas de reacción fueron las siguientes: Condiciones de desprotección: piperidina al 20 % (v/v) en DMF (2 × 2 min a 75 °C); Condiciones de acoplamiento de residuos: Se administraron 5 eq (en relación con la resina) de aminoácido activado (2,5 ml de una solución madre de aminoácido 0,2 M en DMF) a la resina, seguidos de 5 eq de activador de DIC (1 ml de una solución 0,5 M en DMF) y 5 eq de oxima pura (0,5 ml de una solución 1 M en DMF) y se dejaron reaccionar durante 5 min a 75 °C. El producto resultante se utilizó directamente en la etapa siguiente.

Etapas 2: Metátesis de olefinas

Para una escala de 0,1 mmol: El péptido lineal se sintetizó en soporte sólido según la etapa 1. El péptido no se separó de la resina. Se preparó una solución de benciliden-bis(triciclohexilfosfina)-diclororutenio (catalizador de generación I de Grubb) disolviendo 16 mg (0,2 equiv) (sobre la resina peptídica de 0,1 mmol) en 1,2-dicloroetano anhidro (5 ml). La solución se desgasificó burbujeando nitrógeno a través de la solución durante 10 minutos. A continuación, se añadió la solución desgasificada al péptido unido a la resina en una jeringa fritada de 10 ml. Se dejó que la reacción se desarrollase a 45 °C durante dos horas y después se filtró el catalizador. A continuación, se volvió a someter la resina

a las condiciones de metátesis añadiendo 5 ml más de solución catalizadora recién preparada (16 mg de catalizador de generación I de Grubb en 5 ml de 1,2-dicloroetano anhidro desgasificado). Se dejó que la reacción se desarrollase durante 2 horas a 45 °C. A continuación, el péptido unido a la resina se lavó con diclorometano (5 × 10 ml). La reacción puede controlarse hasta su finalización retirando algunas esferas, escindiendo el péptido (TFA al 95 %/H₂O al 2,5 %/triisopropilsilano al 2,5 %) y analizando por LCMS. El producto resultante se utilizó directamente en la siguiente etapa.

Etapas 3: Escisión del soporte sólido

La resina de la etapa 2 se transfirió a un tubo de centrifuga de polipropileno de 50 ml o a una jeringa fritada de 10 ml. Los péptidos se separaron de su soporte sólido utilizando una mezcla de ácido trifluoroacético/triisopropilsilano/DL-ditiotreitol/agua (92,5/2,5/2,5 (p/v)/2,5). Para una escala de 0,1 mmol de resina, se utilizaron aproximadamente 10 ml de solución de escisión. La resina suspendida se mecía en la solución de escisión durante 3 horas a temperatura ambiente. El filtrado se recogió en tubos de centrifuga de polipropileno de 50 ml y se precipitó con éter dietílico enfriado (aproximadamente 50 ml por aproximadamente 5 ml de filtrado de escisión). El péptido bruto precipitado se recogió por centrifugación. A continuación, el precipitado blanco se suspendió en éter dietílico enfriado y se recogió por centrifugación dos veces más. El sólido resultante se secó al aire para obtener el péptido bruto.

Procedimiento H:

Etapas 1: Síntesis de péptidos

Los péptidos se sintetizaron utilizando aminoácidos protegidos con Fmoc sobre una fase sólida Rink Amide MBHA (NovaBiochem, aproximadamente 0,5 meq/g, malla 100-200) o AM (NovaBiochem, aproximadamente 0,73 meq/g, malla 100-200) o resina de 2-aminoetanotiol-2-clorotritilo (AnaSpec, aproximadamente 0,9 meq/g, malla 200-400) con un sintetizador de péptidos por microondas automatizado CEM Liberty Blue. Normalmente, los péptidos se sintetizaron en una escala de 0,1 mmol. Las condiciones típicas de reacción fueron las siguientes: Condiciones de desprotección: piperidina al 20 % (v/v) en DMF (2 × 2 min a 75 °C); Condiciones de acoplamiento de residuos: Se administraron 5 eq (en relación con la resina) de aminoácido activado (2,5 ml de una solución madre de aminoácido 0,2 M en DMF) a la resina, seguidos de 5 eq de activador de DIC (1 ml de una solución 0,5 M en DMF) y 5 eq de oxima pura (0,5 ml de una solución 1 M en DMF) y se dejaron reaccionar durante 5 min a 75 °C. El producto resultante se utilizó directamente en la etapa siguiente.

Etapas 2: Ciclación

Para una escala de 0,1 mmol: El péptido lineal se sintetizó en soporte sólido según la etapa 1. El péptido no se separó de la resina. Se preparó una solución de Cu-TBTA preparando primero por separado dos soluciones. La solución 1 se preparó disolviendo 53 mg de tris[(1-bencil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil]amina (TBTA) en 5 ml de DCM. La solución 2 se preparó disolviendo 50 mg de sulfato de cobre(II) pentahidratado y 74 mg de hexafluorofosfato de potasio en 2 ml de H₂O (disolución por sonicación breve). La solución 1 y la solución 2 se mezclaron y agitaron durante 30 segundos. Se eliminó la capa de agua y la capa de DCM cambia a aproximadamente 20 mM en un complejo de Cu-TBTA. La solución de DCM se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró al vacío. Este complejo puede redisolverse en 5 ml de DMF.

El péptido unido a resina se lavó con DCM (3 × 5 ml) y DMF (3 × 5 ml). A continuación, se añadieron aproximadamente 5 ml de DMF a la resina, seguidos de 2,5 μmol de complejo de Cu-TBTA (125 μl de una solución 20 mM). A continuación, la suspensión de resina se purgó con nitrógeno durante 5 minutos. Se añadieron 5 μmol de ácido ascórbico (125 μl de una solución 40 mM en agua) a la resina. A continuación, la reacción se mecía suavemente durante 2 horas. A continuación, se filtró la resina y se volvió a someter a las condiciones de reacción de clic descritas anteriormente. La resina se filtró, se lavó con DMF (3 × 5 ml), DCM (3 × 5 ml) y se secó. El producto resultante se utilizó directamente en la siguiente etapa.

Etapas 3: Escisión del soporte sólido La resina de la etapa 2 se transfirió a un tubo de centrifuga de polipropileno de 50 ml o a una jeringa fritada de 10 ml. Los péptidos se separaron de su soporte sólido utilizando una mezcla de ácido trifluoroacético/triisopropilsilano/DL-ditiotreitol/agua (92,5/2,5/2,5 (p/v)/2,5). Para una escala de 0,1 mmol de resina, se utilizaron aproximadamente 10 ml de solución de escisión. La resina suspendida se mecía en la solución de escisión durante 3 horas a temperatura ambiente. El filtrado se recogió en tubos de centrifuga de polipropileno de 50 ml y se precipitó con éter dietílico enfriado (aproximadamente 50 ml por aproximadamente 5 ml de filtrado de escisión). El péptido bruto precipitado se recogió por centrifugación. A continuación, el precipitado blanco se suspendió en éter dietílico enfriado y se recogió por centrifugación dos veces más. El sólido resultante se secó al aire para obtener el péptido bruto.

Procedimiento A1

Etapas 1: Síntesis de péptidos

Los péptidos se sintetizaron utilizando aminoácidos protegidos con Fmoc sobre una fase sólida Rink Amide MBHA (NovaBiochem, aproximadamente 0,5 meq/g, malla 100-200) o AM (NovaBiochem, aproximadamente 0,73 meq/g, malla 100-200) o resina de 2-aminoetanotiol-2-clorotritilo (AnaSpec, aproximadamente 0,9 meq/g, malla 200-400) con

un sintetizador automatizado de péptidos por microondas CEM Liberty Blue. Normalmente, los péptidos se sintetizaron en una escala de 0,1 mmol. Las condiciones típicas de reacción fueron las siguientes: Condiciones de desprotección: piperidina al 20 % (v/v) en DMF (2 × 2 min a 75 °C); Condiciones de acoplamiento de residuos: Se administraron 5 eq (en relación con la resina) de aminoácido activado (2,5 ml de una solución madre de aminoácido 0,2 M en DMF) a la resina, seguidos de 5 eq de activador de DIC (1 ml de una solución 0,5 M en DMF) y 5 eq de oxima pura (0,5 ml de una solución 1 M en DMF) y se dejaron reaccionar durante 5 min a 75 °C. El producto resultante se utilizó directamente en la etapa siguiente.

Etapas 2: Desprotección y ciclación

El péptido de la etapa 1 no se escindió de la resina. El péptido unido a la resina se transfirió a un tubo de centrifuga de polipropileno de 15 ml. Para desproteger los grupos protectores de aloc/alilo, la resina se trató con una solución de tetrakis(trifenilfosfina)paladio (0) (55 mg, 0,05 mmol) y fenilsilano (125 µl, 1,0 mmol) en DCM seco (desgasificado por burbujeo de gas N₂ durante 5 min). El recipiente de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h (liberando la presión cada 15 min). La solución se drenó y la resina se lavó con DCM (3 × 5 ml). Se repitió la etapa de desprotección, tras lo cual la resina se lavó con DCM (5 × 5 ml), DMF (5 × 5 ml), sal de sódica de ácido dietilditiocarbámico 1 M en DMF (2 × 5 ml), DMF (5 × 5 ml) y DCM (2 × 5 ml).

A continuación, se añadió a la resina una solución de PyAOP (105 mg, 0,2 mmol; hexafluorofosfato de (7-azabenzotriazol-1-iloxi)tripirrolidino-fosfonio), HOAt (14 mg, 0,1 mmol; 1-hidroxi-7-azabenzotriazol) y DIPEA (90 µl, 0,5 mmol) en DMF (5 ml) y la mezcla se agitó durante 3 h a temperatura ambiente. La solución se drenó y la resina se lavó con DMF (3 × 5 ml) y DCM (3 × 5 ml). La etapa de ciclación se repitió durante 12 h, tras lo cual la resina se lavó con DMF (5 × 5 ml) y DCM (5 × 5 ml) y se secó. El producto resultante se utilizó directamente en la siguiente etapa.

Etapas 3: Escisión del soporte sólido La resina de la etapa 2 se transfirió a un tubo de centrifuga de polipropileno de 50 ml o a una jeringa fritada de 10 ml. Los péptidos se separaron de su soporte sólido utilizando una mezcla de ácido trifluoroacético/triisopropilsilano/DL-ditiotreitol/agua (92,5/2,5/2,5 (p/v)/2,5). Para una escala de 0,1 mmol de resina, se utilizaron aproximadamente 10 ml de solución de escisión. La resina suspendida se mecía en la solución de escisión durante 3 horas a temperatura ambiente. El filtrado se recogió en tubos de centrifuga de polipropileno de 50 ml y se precipitó con éter dietílico enfriado (aproximadamente 50 ml por aproximadamente 5 ml de filtrado de escisión). El péptido bruto precipitado se recogió por centrifugación. A continuación, el precipitado blanco se suspendió en éter dietílico enfriado y se recogió por centrifugación dos veces más. El sólido resultante se secó al aire para obtener el péptido bruto.

Etapas 4: Ciclación

Para una escala de 0,1 mmol: Se sintetizó el péptido lineal, se separó del soporte sólido y se aisló según las etapas 1-3. El péptido bruto sólido se disolvió con agitación en 30 ml de una solución desgasificada de agua:acetonitrilo (1:1) en un tubo de centrifuga de polipropileno de 50 ml. Se añadió más acetonitrilo según fuera necesario para garantizar la disolución completa del péptido. A esta solución agitada se le añadió gota a gota bicarbonato de amonio acuoso (200 mM, desgasificado) para llevar el pH a aproximadamente 8. Se añadió gota a gota a la reacción el reactivo alquilante 1,3-bis(bromometil)benceno (0,1 mmol/1 eq) en acetonitrilo (1 ml) durante aproximadamente 2 min. Tras la adición completa, se comprobó la reacción para asegurar que el pH se mantenía en aproximadamente 8. Si el pH era inferior a aproximadamente 8, se añadió gota a gota más bicarbonato de amonio acuoso (200 mM, desgasificado) a la reacción hasta que el pH alcanzó aproximadamente 8. Se tapó el tubo de centrifuga y la mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. A continuación, la reacción se acidificó a un pH de aproximadamente 1 con ácido trifluoroacético y se liofilizó para obtener el péptido bruto en forma de polvo. El producto deseado se purificó mediante cromatografía de fase inversa C18.

Procedimiento B1

Etapas 1: Síntesis de péptidos

Los péptidos se sintetizaron utilizando aminoácidos protegidos con Fmoc sobre una fase sólida Rink Amide MBHA (NovaBiochem, aproximadamente 0,5 meq/g, malla 100-200) o AM (NovaBiochem, aproximadamente 0,73 meq/g, malla 100-200) o resina de 2-aminoetanotiol-2-clorotritilo (AnaSpec, aproximadamente 0,9 meq/g, malla 200-400) con un sintetizador de péptidos por microondas automatizado CEM Liberty Blue. Normalmente, los péptidos se sintetizaron en una escala de 0,1 mmol. Las condiciones típicas de reacción fueron las siguientes: Condiciones de desprotección: piperidina al 20 % (v/v) en DMF (2 × 2 min a 75 °C); Condiciones de acoplamiento de residuos: Se administraron 5 eq (en relación con la resina) de aminoácido activado (2,5 ml de una solución madre de aminoácido 0,2 M en DMF) a la resina, seguidos de 5 eq de activador de DIC (1 ml de una solución 0,5 M en DMF) y 5 eq de oxima pura (0,5 ml de una solución 1 M en DMF) y se dejaron reaccionar durante 5 min a 75 °C. El producto resultante se utilizó directamente en la etapa siguiente.

Etapas 2: Metátesis de olefinas

Para una escala de 0,1 mmol: El péptido lineal se sintetizó en soporte sólido según la etapa 1. El péptido no se separó de la resina. Se preparó una solución de benciliden-bis(triciclohexilfosfina)-diclororutenio (catalizador de generación I

de Grubb) disolviendo 16 mg (0,2 equiv) (basado en una resina peptídica de 0,1 mmol) en 1,2-dicloroetano anhidro (5 ml). La solución se desgasificó burbujeando nitrógeno a través de la solución durante 10 minutos. A continuación, se añadió la solución desgasificada al péptido unido a la resina en una jeringa fritada de 10 ml. Se dejó que la reacción se desarrollase a 45 °C durante dos horas y después se filtró el catalizador. A continuación, se volvió a someter la resina a las condiciones de metátesis añadiendo 5 ml más de solución catalizadora recién preparada (16 mg de catalizador de generación I de Grubb en 5 ml de 1,2-dicloroetano anhidro desgasificado). Se dejó que la reacción se desarrollase durante 2 horas a 45 °C. A continuación, el péptido unido a la resina se lavó con diclorometano (5 × 10 ml). La reacción puede controlarse para ver si se ha completado retirando algunas esferas, escindiendo el péptido (TFA al 95 %/H₂O al 2,5 %/triisopropilsilano al 2,5 %) y analizando por LCMS. El producto resultante se utilizó directamente para la siguiente etapa.

Etapas 3: Escisión del soporte sólido

La resina de la etapa 2 se transfirió a un tubo de centrifuga de polipropileno de 50 ml o a una jeringa fritada de 10 ml. Los péptidos se separaron de su soporte sólido utilizando una mezcla de ácido trifluoroacético/triisopropilsilano/DL-ditiotreitol/agua (92,5/2,5/2,5 (p/v)/2,5). Para una escala de 0,1 mmol de resina, se utilizaron aproximadamente 10 ml de solución de escisión. La resina suspendida se mecía en la solución de escisión durante 3 horas a temperatura ambiente. El filtrado se recogió en tubos de centrifuga de polipropileno de 50 ml y se precipitó con éter dietílico enfriado (aproximadamente 50 ml por aproximadamente 5 ml de filtrado de escisión). El péptido bruto precipitado se recogió por centrifugación. A continuación, el precipitado blanco se suspendió en éter dietílico enfriado y se recogió por centrifugación dos veces más. El sólido resultante se secó al aire para obtener el péptido bruto.

Etapas 4: Ciclación

A un matraz de fondo redondo de 250 ml provisto de una barra agitadora se le añadió PyAOP (210 mg, 0,4 mmol; hexafluorofosfato de (7-azabenzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfonio), HOAt (14 mg, 0,1 mmol; 1-hidroxi-7-azabenzotriazol) y DIPEA (90 µl, 0,5 mmol) en DMF (80 ml). El péptido bruto sólido precipitado de la etapa 3 se disolvió en DMF (25 ml) y se añadió gota a gota a la solución de activador utilizando una bomba de jeringa (adición a lo largo de 1,5 h). La solución amarilla resultante se agitó durante toda la noche a temperatura ambiente. Una vez completada la ciclación (controlada por LCMS), la mezcla de reacción se acidificó mediante adición de TFA (100 µl). El disolvente de DMF se evaporó a un vacío elevado y el residuo bruto resultante se purificó mediante HPLC de fase inversa C18.

Procedimiento C1

Etapas 1: Síntesis de péptidos

Los péptidos se sintetizaron utilizando aminoácidos protegidos con Fmoc sobre una fase sólida Rink Amide MBHA (NovaBiochem, aproximadamente 0,5 meq/g, malla 100-200) o AM (NovaBiochem, aproximadamente 0,73 meq/g, malla 100-200) o resina de 2-aminoetanotiol-2-clorotriilo (AnaSpec, aproximadamente 0,9 meq/g, malla 200-400) con un sintetizador de péptidos por microondas automatizado CEM Liberty Blue. Normalmente, los péptidos se sintetizaron en una escala de 0,1 mmol. Las condiciones típicas de reacción fueron las siguientes: Condiciones de desprotección: piperidina al 20 % (v/v) en DMF (2 × 2 min a 75 °C); Condiciones de acoplamiento de residuos: Se administraron 5 eq (en relación con la resina) de aminoácido activado (2,5 ml de una solución madre de aminoácido 0,2 M en DMF) a la resina, seguidos de 5 eq de activador de DIC (1 ml de una solución 0,5 M en DMF) y 5 eq de oxima pura (0,5 ml de una solución 1 M en DMF) y se dejaron reaccionar durante 5 min a 75 °C. El producto resultante se utilizó directamente en la etapa siguiente.

Etapas 2: Ciclación

Para una escala de 0,1 mmol: El péptido lineal se sintetizó en soporte sólido según la etapa 1. El péptido no se separó de la resina. Se preparó una solución de Cu-TBTA preparando primero por separado dos soluciones. La solución 1 se preparó disolviendo 53 mg de tris[(1-bencil-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil]amina (TBTA) en 5 ml de DCM. La solución 2 se preparó disolviendo 50 mg de sulfato de cobre(II) pentahidratado y 74 mg de hexafluorofosfato de potasio en 2 ml de H₂O (disolución por sonicación breve). La solución 1 y la solución 2 se mezclaron y agitaron durante 30 segundos. Se eliminó la capa de agua y la capa de DCM cambia a aproximadamente 20 mM en un complejo de Cu-TBTA. La solución de DCM se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró al vacío. Este complejo puede redisolverse en 5 ml de DMF.

El péptido unido a resina se lavó con DCM (3 × 5 ml) y DMF (3 × 5 ml). A continuación, se añadieron aproximadamente 5 ml de DMF a la resina, seguidos de 2,5 µmol de complejo de Cu-TBTA (125 µl de una solución 20 mM). A continuación, la suspensión de resina se purgó con nitrógeno durante 5 minutos. Se añadieron 5 µmol de ácido ascórbico (125 µl de una solución 40 mM en agua) a la resina. A continuación, la reacción se mecía suavemente durante 2 horas. A continuación, se filtró la resina y se volvió a someter a las condiciones de reacción de clic descritas anteriormente. La resina se filtró, se lavó con DMF (3 × 5 ml), DCM (3 × 5 ml) y se secó. El producto resultante se utilizó directamente en la siguiente etapa.

Etapas 3: Escisión del soporte sólido

La resina de la etapa 2 se transfirió a un tubo de centrifuga de polipropileno de 50 ml o a una jeringa fritada de 10 ml. Los péptidos se separaron de su soporte sólido utilizando una mezcla de ácido trifluoroacético/triisopropilsilano/DL-ditiotreitol/agua (92,5/2,5/2,5 (p/v)/2,5). Para una escala de 0,1 mmol de resina, se utilizaron aproximadamente 10 ml de solución de escisión. La resina suspendida se mecía en la solución de escisión durante 3 horas a temperatura ambiente. El filtrado se recogió en tubos de centrifuga de polipropileno de 50 ml y se precipitó con éter dietílico enfriado (aproximadamente 50 ml por aproximadamente 5 ml de filtrado de escisión). El péptido bruto precipitado se recogió por centrifugación. A continuación, el precipitado blanco se suspendió en éter dietílico enfriado y se recogió por centrifugación dos veces más. El sólido resultante se secó al aire para obtener el péptido bruto.

Etapas 4: Ciclación

Para una escala de 0,1 mmol: se sintetizó el péptido lineal, se separó del soporte sólido y se aisló según la etapa 3. El péptido bruto sólido se disolvió con agitación en 30 ml de una solución desgasificada de agua:acetonitrilo (1:1) en un tubo de centrifuga de polipropileno de 50 ml. Se añadió más acetonitrilo según fuera necesario para garantizar la disolución completa del péptido. A esta solución agitada se le añadió gota a gota bicarbonato de amonio acuoso (200 mM, desgasificado) para llevar el pH a aproximadamente 8. Se añadió gota a gota a la reacción el reactivo alquilante 1,3-bis(bromometil)benceno (0,1 mmol/1 eq) en acetonitrilo (1 ml) durante aproximadamente 2 min. Tras la adición completa, se comprobó la reacción para asegurar que el pH se mantenía en aproximadamente 8. Si el pH era inferior a aproximadamente 8, se añadió gota a gota más bicarbonato de amonio acuoso (200 mM, desgasificado) a la reacción hasta que el pH alcanzó aproximadamente 8. Se tapó el tubo de centrifuga y la mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. A continuación, la reacción se acidificó a un pH de aproximadamente 1 con ácido trifluoroacético y se liofilizó para obtener el péptido bruto en forma de polvo. El producto deseado se purificó mediante cromatografía de fase inversa C18.

Procedimiento D1

Etapas 1: Síntesis de péptidos

Los péptidos se sintetizaron utilizando aminoácidos protegidos con Fmoc sobre una fase sólida Rink Amide MBHA (NovaBiochem, aproximadamente 0,5 meq/g, malla 100-200) o AM (NovaBiochem, aproximadamente 0,73 meq/g, malla 100-200) o resina de 2-aminoetanotiol-2-clorotritilo (AnaSpec, aproximadamente 0,9 meq/g, malla 200-400) con un sintetizador automatizado de péptidos por microondas CEM Liberty Blue. Normalmente, los péptidos se sintetizaron en una escala de 0,1 mmol. Las condiciones típicas de reacción fueron las siguientes: Condiciones de desprotección: piperidina al 20 % (v/v) en DMF (2 × 2 min a 75 °C); Condiciones de acoplamiento de residuos: Se administraron 5 eq (en relación con la resina) de aminoácido activado (2,5 ml de una solución madre de aminoácido 0,2 M en DMF) a la resina, seguidos de 5 eq de activador de DIC (1 ml de una solución 0,5 M en DMF) y 5 eq de oxima pura (0,5 ml de una solución 1 M en DMF) y se dejaron reaccionar durante 5 min a 75 °C. El producto resultante se utilizó directamente en la etapa siguiente.

Etapas 2: Metátesis de olefinas

Para una escala de 0,1 mmol: El péptido lineal se sintetizó en soporte sólido según la etapa 1. El péptido no se separó de la resina. Se preparó una solución de benciliden-bis(triciclohexilfosfina)-diclororutenio (catalizador de generación I de Grubb) disolviendo 16 mg (0,2 equiv) (sobre la resina peptídica de 0,1 mmol) en 1,2-dicloroetano anhidro (5 ml). La solución se desgasificó burbujeando nitrógeno a través de la solución durante 10 minutos. A continuación, se añadió la solución desgasificada al péptido unido a la resina en una jeringa fritada de 10 ml. Se dejó que la reacción se desarrollase a 45 °C durante dos horas y después se filtró el catalizador. A continuación, se volvió a someter la resina a las condiciones de metátesis añadiendo 5 ml adicionales de solución catalizadora recién preparada (16 mg de catalizador de generación I de Grubb en 5 ml de 1,2-dicloroetano anhidro desgasificado). Se dejó que la reacción se desarrollase durante 2 horas a 45 °C. A continuación, el péptido unido a la resina se lavó con diclorometano (5 × 10 ml). La reacción puede controlarse para ver si se ha completado retirando algunas esferas, escindiendo el péptido (TFA al 95 %/H₂O al 2,5 %/triisopropilsilano al 2,5 %) y analizando por LCMS. El producto resultante se utilizó directamente para la siguiente etapa.

Etapas 3: Escisión del soporte sólido

La resina de la etapa 2 se transfirió a un tubo de centrifuga de polipropileno de 50 ml o a una jeringa fritada de 10 ml. Los péptidos se separaron de su soporte sólido utilizando una mezcla de ácido trifluoroacético/triisopropilsilano/DL-ditiotreitol/agua (92,5/2,5/2,5 (p/v)/2,5). Para una escala de 0,1 mmol de resina, se utilizaron aproximadamente 10 ml de solución de escisión. La resina suspendida se mecía en la solución de escisión durante 3 horas a temperatura ambiente. El filtrado se recogió en tubos de centrifuga de polipropileno de 50 ml y se precipitó con éter dietílico enfriado (aproximadamente 50 ml por aproximadamente 5 ml de filtrado de escisión). El péptido bruto precipitado se recogió por centrifugación. A continuación, el precipitado blanco se suspendió en éter dietílico enfriado y se recogió por centrifugación dos veces más. El sólido resultante se secó al aire para obtener el péptido bruto.

Etapas 4: Ciclación

- 5 Para una escala de 0,1 mmol: Se sintetizó el péptido lineal, se separó del soporte sólido y se aisló según las etapas 1-3. El péptido bruto sólido se disolvió con agitación en 30 ml de una solución desgasificada de agua:acetonitrilo (1:1) en un tubo de centrifuga de polipropileno de 50 ml. Se añadió más acetonitrilo según fuera necesario para garantizar la disolución completa del péptido. A esta solución agitada se le añadió gota a gota bicarbonato de amonio acuoso (200 mM, desgasificado) para llevar el pH a aproximadamente 8. Se añadió gota a gota a la reacción el reactivo alquilante 1,3-bis(bromometil)benceno (0,1 mmol/1 eq) en acetonitrilo (1 ml) durante aproximadamente 2 min. Tras la adición completa, se comprobó la reacción para garantizar que el pH se mantenía en aproximadamente 8. Si el pH era inferior a aproximadamente 8, se añadió gota a gota bicarbonato de amonio acuoso (200 mM, desgasificado) a la reacción hasta que el pH alcanza aproximadamente 8. Se tapó el tubo de centrifuga y la mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. A continuación, la reacción se acidificó a pH aproximadamente 1 con ácido trifluoroacético y se liofilizó para obtener el péptido bruto en forma de polvo. El producto deseado se purificó mediante cromatografía de fase inversa C18.
- 10

La tabla 5 muestra el procedimiento sintético que se utilizó para sintetizar los compuestos divulgados en el presente documento.

Tabla 5	
Compuesto	Procedimiento sintético
001	E
002	E
003	E
004	E
005	E
006	E
007	E
008	E
009	E
010	E
011	E
012	E
013	E
014	E
015	E
016	E
017	E
018	E
019	E
020	E

Tabla 5	
Compuesto	Procedimiento sintético
021	E
022	E
023	E
024	F
025	F
026	E
027	F
028	F
029	F
030	F
031	F
032	E
033	E
034	F
035	E
036	F
037	E
038	F
039	F
040	F
041	F
042	F
043	F
044	F
045	F
046	F
047	G

Tabla 5	
Compuesto	Procedimiento sintético
048	F
049	F
050	F
051	F
052	F
053	F
054	E
055	E
056	E
057	F
058	E
059	F
060	F
061	F
062	F
063	F
064	F
065	G
066	G
067	E
068	F
069	G
070	G
071	G
072	F
073	F
074	F

Tabla 5	
Compuesto	Procedimiento sintético
075	G
076	E
077	E
078	G
079	F
080	E
081	E
082	E
083	E
084	E
085	E
086	E
087	E
088	E
089	E
090	E
091	E
092	E
093	E
094	E
095	E
096	E
097	E
098	E
099	E
100	E
101	E

Tabla 5	
Compuesto	Procedimiento sintético
102	E
103	E
104	E
105	E
106	E
107	E
108	E
109	E
110	E
111	E
112	E
113	E
114	E
115	E
116	E
117	E
118	E
119	E
120	E
121	E
122	E
123	E
124	E
125	E
126	E
127	E
128	E

Tabla 5	
Compuesto	Procedimiento sintético
129	E
130	E
131	E
132	E
133	E
134	E
135	E
136	E
137	E
138	E
139	E
140	E
141	E
142	E
143	E
144	E
145	E
146	E
147	E
148	E
149	E
150	E
151	E
152	E
153	E
154	E
155	E

Tabla 5	
Compuesto	Procedimiento sintético
156	E
157	E
158	E
159	E
160	E
161	E
162	E
163	E
164	E
165	E
166	E
167	E
168	E
169	E
170	E
171	E
172	E
173	E
174	E
175	E
176	E
177	E
178	E
179	E
180	E
181	E
182	E

Tabla 5	
Compuesto	Procedimiento sintético
183	E
184	E
185	E
186	E
187	E
188	E
189	E
190	E
191	E
192	E
193	E
194	E
195	E
196	E
197	E
198	E
199	E
200	E
201	E
202	E
203	E
204	E
205	E
206	E
207	E
208	E
209	E

Tabla 5	
Compuesto	Procedimiento sintético
210	E
211	E
212	E
213	E
214	E
215	E
216	E
217	E
218	E
219	E
220	E
221	E
222	E
223	E
224	E
225	E
226	E
227	E
228	E
229	E
230	E
231	E
232	E
233	E
234	E
235	E
236	E

Tabla 5	
Compuesto	Procedimiento sintético
237	E
238	E
239	E
240	E
241	E
242	E
243	E
244	E
245	E
246	E
247	E
248	E
249	E
250	E
251	E
252	E
253	E
254	E
255	E
256	E
257	E
258	E
259	E
260	E
261	E
262	E
263	E

Tabla 5	
Compuesto	Procedimiento sintético
264	E
265	E
266	E
267	E
268	E
269	E
270	E
271	E
272	E
273	E
274	E
275	E
276	E
277	E
278	E
279	E
280	E
281	E
282	E
283	E
284	E
285	E
286	E
287	E
288	E
289	E
290	E

Tabla 5	
Compuesto	Procedimiento sintético
291	E
292	E
293	E
294	E
295	E
296	E
297	E
298	E
299	E
300	E
301	E
302	E
303	E
304	E
305	E
306	E
307	E
308	E
309	E
310	H
311	H
312	E
313	E
314	E
315	E
316	E
317	E

Tabla 5	
Compuesto	Procedimiento sintético
318	E
319	E
320	E
321	E
322	E
323	E
324	E
325	E
326	E
327	E
328	E
329	E
330	E
331	E
332	E
333	E
334	E
335	E
336	E
337	E
338	E
339	E
340	E
341	B1
342	B1
343	A1
344	B1

Tabla 5	
Compuesto	Procedimiento sintético
345	B1
346	B1
347	B1
348	A1
349	A1
350	A1
351	C1
352	C1
353	C1
354	C1
355	D1
356	D1
357	C1
358	D1
359	D1
360	D1
361	D1
362	A1
363	A1
364	A1
341	B1

Análisis de LC/MS: (M)⁺: Compuesto 040, esperado: 1438,625, encontrado: 1437,729 (M+1)¹⁺; Compuesto 041, esperado: 1547,794; encontrado: 1546,818 (M+1)¹⁺; Compuesto 042, esperado: 1577,863; encontrado: 1576,865 (M+1)¹⁺; Compuesto 052, esperado: 1505,78; encontrado: 1504,81 (M+1)¹⁺; Compuesto 057, esperado: 1334,559; encontrado: 1333,728 (M+1)¹⁺; Compuesto 075, esperado: 1442,77; encontrado: 1441,8 (M+1)¹⁺; Compuesto 077, esperado: 1548,31; encontrado: 1546,68 (M+1)¹⁺; Compuesto 082, esperado: 1452,88; encontrado: 1451,74 (M+1)¹⁺; Compuesto 093, esperado: 1883,159; encontrado: 1881,844 (M+1)¹⁺; Compuesto 109, esperado: 1667,947; encontrado: 1666,764 (M+1)¹⁺; Compuesto 110, esperado: 1588,849; encontrado: 1587,7 (M+1)¹⁺; Compuesto 123, esperado: 1795,08; encontrado: 1793,823 (M+1)¹⁺; Compuesto 125, esperado: 1629,9; encontrado: 1628,716 (M+1)¹⁺; Compuesto 131, esperado: 1591,763; encontrado: 1590,783 (M+1)¹⁺; Compuesto 144, esperado: 1533,81; encontrado: 1532,683 (M+1)¹⁺; Compuesto 157, esperado: 1505,8; encontrado: 1504,688 (M+1)¹⁺; Compuesto 158, esperado: 1535,826; encontrado: 1534,699 (M+1)¹⁺; Compuesto 161, esperado: 1519,827; encontrado: 1518,704 (M+1)¹⁺; Compuesto 175, esperado: 1576,878; encontrado: 1575,725 (M+1)¹⁺; Compuesto 203, esperado: 1617,887;

encontrado: 1616,716 (M+1)¹⁺; Compuesto 219, esperado: 1603,86; encontrado: 1602,7 (M+1)¹⁺; Compuesto 236, esperado: 1731,989; encontrado: 1730,759 (M+1)¹⁺; Compuesto 251, esperado: 1416,662; encontrado: 1415,625 (M+1)¹⁺; Compuesto 285, esperado: 1643,924; encontrado: 1642,731 (M+1)¹⁺; Compuesto 315, esperado: 1616,94; encontrado: 1615,73 (M+1)¹⁺; Compuesto 319, esperado: 1693,96; encontrado: 1692,68 (M+1)¹⁺; Compuesto 320, esperado: 1682,02; encontrado: 1680,78 (M+1)¹⁺; Compuesto 351, esperado: 1626,81; encontrado: 1625,654 (M+1)¹⁺; Compuesto 353, esperado: 1638,868; encontrado: 1637,691 (M+1)¹⁺; Compuesto 357, esperado: 1666,921; encontrado: 1665,722 (M+1)¹⁺.

Ejemplo 2. Identificación de polipéptidos que se unen específicamente a la PCSK9 humana e inhiben la interacción entre la PCSK9 humana y el LDLR humano

- 10 Se identificó un conjunto de polipéptidos cíclicos para inhibir la interacción entre la PCSK9 humana y el LDLR humano. Cada polipéptido tiene un aminoácido o resto N-terminal y un aminoácido o resto C-terminal que está unido por un enlace covalente al otro.

Se utilizó un ensayo de energía de resonancia de fluorescencia resuelta en el tiempo (TR-FRET) para medir la inhibición de la interacción proteína-proteína de PCSK9-LDLR. Brevemente, se incubó PCSK9 humana biotinilada con Avitag 20 nM con el dominio EGFA de LDLR humano marcado con his 20 nM en presencia de estreptavidina LANCE Ulight 5 nM (Perkin Elmer) y europio-Anti-6xHis 5 nM (Perkin Elmer) durante 2 horas bajo cubierta a temperatura ambiente en tampón que contenía HEPES 50 mM, NaCl 150 mM, CaCl₂ 5 mM, BSA al 0,01 % y tensioactivo P20 al 0,01 %. Los compuestos se ensayaron para la dosis-respuesta y se calcularon las concentraciones que producían la inhibición semimáxima utilizando una ecuación de ajuste de 4 parámetros.

- 20 La tabla 6 muestra los valores de CI₅₀ obtenidos mediante el ensayo para un grupo de compuestos seleccionados. En la tabla 6, "AA". representa 0,01 nM < CI₅₀ < 1 nM; "A" representa 1 nM < CI₅₀ ≤ 100 nM; "B" representa 100 nM < CI₅₀ ≤ 1000 nM; "C" representa 1000 nM < CI₅₀ < 21 000 nM; "D" representa 21 000 nM < CI₅₀ < 50 000 nM; y "E" representa 50 000 nM < CI₅₀ < 100 000 nM.

Tabla 6	
Compuesto	CI ₅₀
006	C
007	C
008	C
009	C
010	B
011	D
016	C
018	C
020	B
024	B
028	B
032	B
034	C
036	D
037	B

Tabla 6	
Compuesto	Cl ₅₀
040	A
042	B
044	B
045	B
049	B
050	C
053	D
054	C
055	B
057	C
059	D
060	C
061	B
062	B
064	C
072	C
073	B
074	B
075	C
078	C
087	C
099	B
103	B
106	B
107	C
111	C
112	B

Tabla 6	
Compuesto	Cl ₅₀
115	B
116	B
117	C
118	C
119	C
120	C
133	C
135	C
136	C
137	C
140	C
141	C
143	C
150	C
151	B
152	A
153	B
154	B
155	C
157	B
158	C
159	C
160	B
161	B
162	B
163	B
164	C

Tabla 6	
Compuesto	Cl ₅₀
169	B
171	C
172	C
173	B
177	C
179	D
181	D
182	D
183	D
184	B
185	A
186	A
187	A
188	C
189	D
190	D
191	A
192	A
193	A
194	A
195	C
196	B
204	C
205	C
206	E
207	E
208	E

Tabla 6	
Compuesto	Cl ₅₀
209	E
210	E
211	E
212	D
213	E
214	E
215	E
216	E
217	E
218	C
219	C
220	C
221	C
222	E
223	E
227	B
229	B
234	B
235	B
241	B
247	B
250	B
253	B
254	B
259	B
260	C
261	C

Tabla 6	
Compuesto	Cl ₅₀
263	B
264	B
265	B
273	B
274	B
275	B
276	C
277	B
278	D
279	D
280	E
281	C
282	E
283	E
284	E
285	B
287	B
288	E
289	B
290	B
291	B
292	B
293	A
299	B
300	B
305	C
307	C

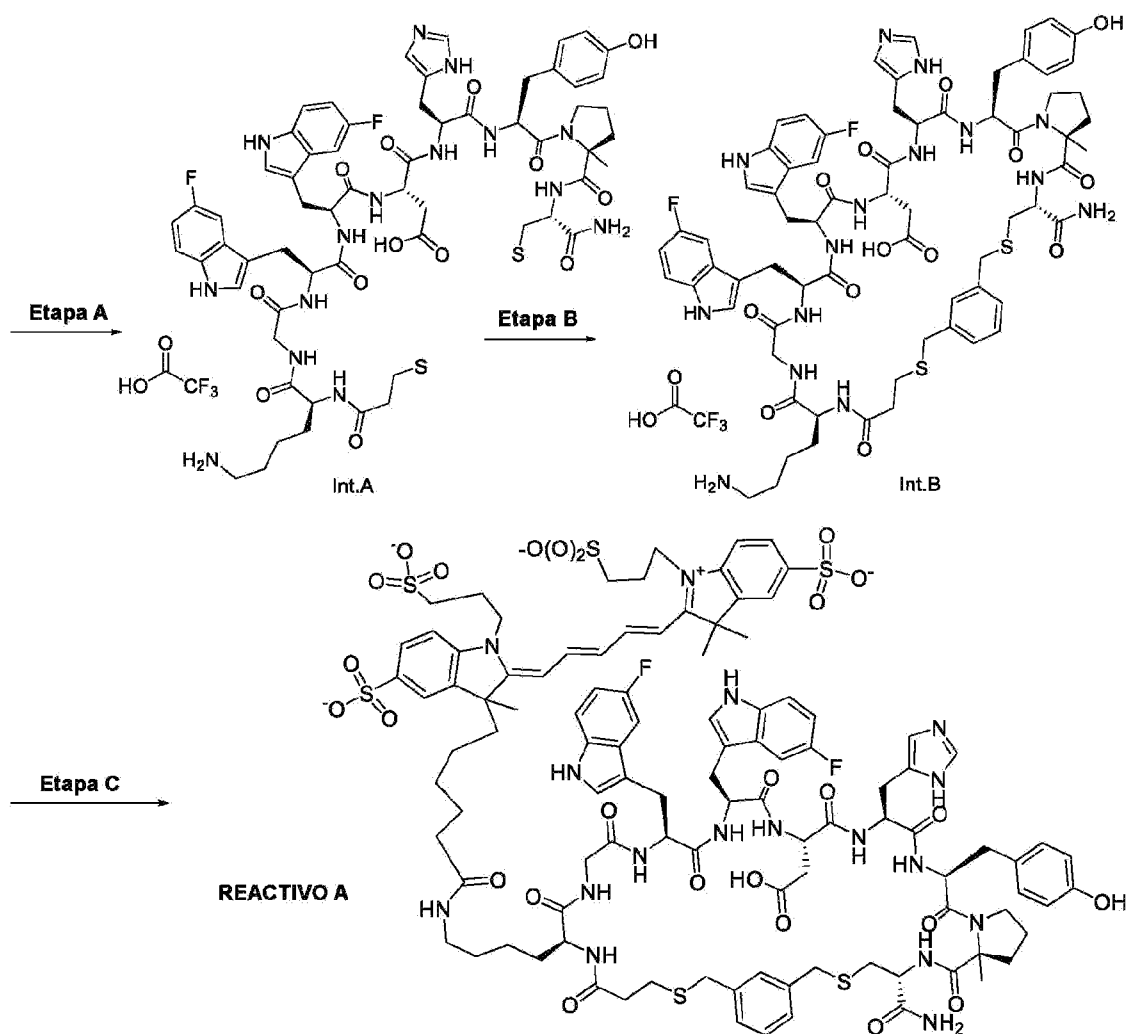
Tabla 6	
Compuesto	Cl ₅₀
312	A
313	C
315	C
323	C
325	B
331	C
332	B
333	C
337	A
338	A
339	AA
340	AA
343	D
345	B
347	B
348	D
349	A
350	B
351	C
352	C
353	B
354	B
355	B
359	C
362	B
363	B
364	B

Ejemplo 3. ALEXA FRET

El ensayo PCSK9 Alexa FRET Standard midió la interacción entre PCSK9 y un péptido cíclico marcado con AlexaFluor647 (AF), reactivo A ($K_D = 83$ nM). Se preparó una solución que contenía PCSK9 biotinilada 1 nM + estreptavidina-europio Lance 2,5 nM (Estrep-Eu) en HEPES 50 mM, pH 7,4, NaCl 0,15 M, CaCl₂ 5 mM, BSA al 0,01 % y tensioactivo P20 al 0,01 %. En el mismo sistema tampón se preparó una solución separada que contenía 40 nM del péptido cíclico marcado con AlexaFluor. Se utilizó un Echo para transferir 0,750 ul de compuesto a una placa de ensayo, seguido de la adición de 15 ul de PCSK9+Estrep-Eu y 15 ul de péptido AF. El volumen final del ensayo fue de 30,750 ul que contenía PCSK9 0,5 nM, Estrep-Eu 1,25 nM y péptido cíclico AF 20 nM. La reacción se incubó a temperatura ambiente durante al menos dos horas antes de las mediciones de fluorescencia utilizando un lector Envision Multilabel Reader. Los valores de Cl_{50} se determinaron ajustando los datos a una curva sigmoidea de dosis-respuesta mediante regresión no lineal. A continuación, se calculó la K_i a partir de la Cl_{50} y la K_D del péptido cíclico AF. Se realizó un seguimiento de los recuentos (recuentos B) de la PCSK9 marcada con europio para observar si los compuestos afectaban negativamente a la PCSK9. Una caída de los recuentos B indicaba probablemente un falso positivo de inhibición.

Los datos de este procedimiento se comunicaron como "A = 'valor numérico' (nanomolar)"

El reactivo A se preparó de acuerdo con el procedimiento siguiente:



Etapa A - Síntesis del compuesto intermedio Int-A

El péptido se sintetizó en una escala de 0,250 mmol en CEM Liberty Blue, sintetizador de microondas que emplea la química de Fmoc/tBu sobre una resina PS Rink-Amide MBHA, 0,32 mmol g⁻¹. El ensamblaje se realizó mediante acoplamientos simples utilizando 4 eq de aminoácido protegido con Fmoc 0,2 M en DMF, 4 eq de HATU 0,5 M en DMF, 4 eq de DIPEA 2 M (doble acoplamiento para Tyr). Los ciclos de desprotección de Fmoc se realizaron utilizando piperidina al 20 % (v/v) en DMF.

La secuencia de aminoácidos protegidos con Fmoc y las unidades constituyentes utilizados fueron:

1. N-(((9H-Fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-S-tritil-L-cisteína
2. Ácido (S)-1((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-2-metilpirrolidin-2-carboxílico
3. (((9H-Fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-L-tirosina
- 5 4. N-(((9H-Fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-N-tritil-L-histidina
5. Ácido (S)-2-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-4-(terc-butoxi)-4-oxobutanoico
6. Ácido (S)-2-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-3-(5-fluoro-1H-indol-3-il)propanoico
7. Ácido (S)-2-((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-3-(5-fluoro-1H-indol-3-il)propanoico
8. (((9H-Fluoren-9-il)metoxi)carbonil)glicina
- 10 9. N²-((((9H-Fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-N⁶-(terc-butoxicarbonil)-L-lisina
10. Ácido 3-(tritilitio)propanoico

Al final del montaje, la resina se lavó con DMF, MeOH, DCM, Et₂O. El péptido se escindió del soporte sólido utilizando 50 ml de solución de TFA (v/v) (TFA al 91 %, H₂O al 5 %, TIPS al 4 %) durante aproximadamente 1,5 horas, a temperatura ambiente. La resina se filtró, se lavó con TFA y la solución se concentró hasta la sequedad y se liofilizó. La liofilización proporcionó el compuesto intermedio Int. A (399 mg), que se utilizó bruto en la etapa siguiente. Se calculó el análisis LCMS para C₆₁H₇₅F₂N₁₅O₁₃S₂: 1328,48, encontrado: 1328,2 (M+1)⁺

Etapa B - Síntesis del compuesto intermedio Int-B

Se redisolvió Int-A bruto (0,22 mmol) en 24 ml de DMF. Se añadieron 6 ml de solución acuosa 1 M de bicarbonato de sodio para elevar el pH a 7. A continuación, se añadieron gota a gota 0,26 mmol de 1,3-bis(bromometil)benceno (0,1 M en DMF). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 20 minutos, se inactivó con TFA (pH a 3-4) y después se concentró al vacío para proporcionar Int-B bruto, que se purificó por RP-HPLC (Waters XBridge, C18, 50 × 150 mm, 5 μm, 130 Å; ACN del 25 % al 40 %/agua + modificador de TFA al 0,1 % durante 20 min). Las fracciones recogidas se liofilizaron para obtener 35 mg del compuesto intermedio Int-B. El análisis LCMS calculó, para C₇₁H₈₅F₂N₁₅O₁₃S₂: 1458,67; encontrado: 1458,8 (M+1)⁺.

Etapa C - Síntesis del compuesto Reactivo A: El compuesto intermedio Int-B (15 mg) se disolvió en 0,2 ml de DMSO seco. A continuación, se añadieron 15 mg de ALEXAFLUOR 647NHS Ester (A37566, Life technology) disueltos en 1,5 ml de DMSO seco. Se añadieron 20 μl de DIPEA seca. La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 12 horas en una atmósfera de nitrógeno en la oscuridad. Se inactivó con TFA (pH a 3-4) y se purificó por RP-HPLC (Dr Maish, Reprosil Gold C18, 250 × 20 mm, 120 Å, 10 μm; del 20 % al 35 % de TFA al 0,1 % en ACN/TFA al 0,1 % en H₂O, durante 20min, luego del 35 % al 40 % durante 5 min con un caudal de 20 ml/min). Las fracciones recogidas se liofilizaron para obtener 16,1 mg del compuesto reactivo A. Se calculó el análisis LCMS para C₁₀₅H₁₂₂F₂N₁₇O₂₆S₆³⁻: 2268,58; 1135,8 (M+2)²⁺.

La tabla 6 muestra los valores de CI₅₀ obtenidos mediante el ensayo para un grupo de compuestos seleccionados. En la tabla 7, "AA" representa 0,0001 nM < CI₅₀ < 1 nM; "A" representa 1 nM < CI₅₀ < 100 nM; "B" representa 100 nM < CI₅₀ ≤ 1000 nM; "C" representa 1000 nM < CI₅₀ < 21 000 nM; "D" representa 21 000 nM < CI₅₀ < 50 000 nM; y "E" representa 50 000 nM < CI₅₀ < 100 000 nM.

Tabla 7	
Compuesto	CI ₅₀
001	C
002	C
003	E
004	E
005	D

Tabla 7	
Compuesto	Cl ₅₀
006	C
008	C
024	B
040	A
053	C
055	A
061	B
074	B
088	C
089	C
090	D
091	E
092	C
093	C
095	C
096	E
097	E
098	E
099	C
100	D
101	C
102	C
103	B
104	E
105	E
106	C
107	C

Tabla 7	
Compuesto	Cl ₅₀
108	E
109	E
110	E
111	C
112	B
113	E
114	D
150	C
151	C
155	C
156	C
179	C
181	C
182	C
183	C
184	A
185	A
186	A
187	A
188	C
189	C
190	C
191	A
192	A
205	C
207	E
208	E

Tabla 7	
Compuesto	Cl ₅₀
209	E
210	E
211	E
212	E
224	E
225	E
226	C
227	C
228	C
229	C
230	E
231	C
232	E
233	C
234	C
235	C
236	C
237	C
238	C
239	C
240	C
241	C
242	C
243	E
244	E
245	E
246	E

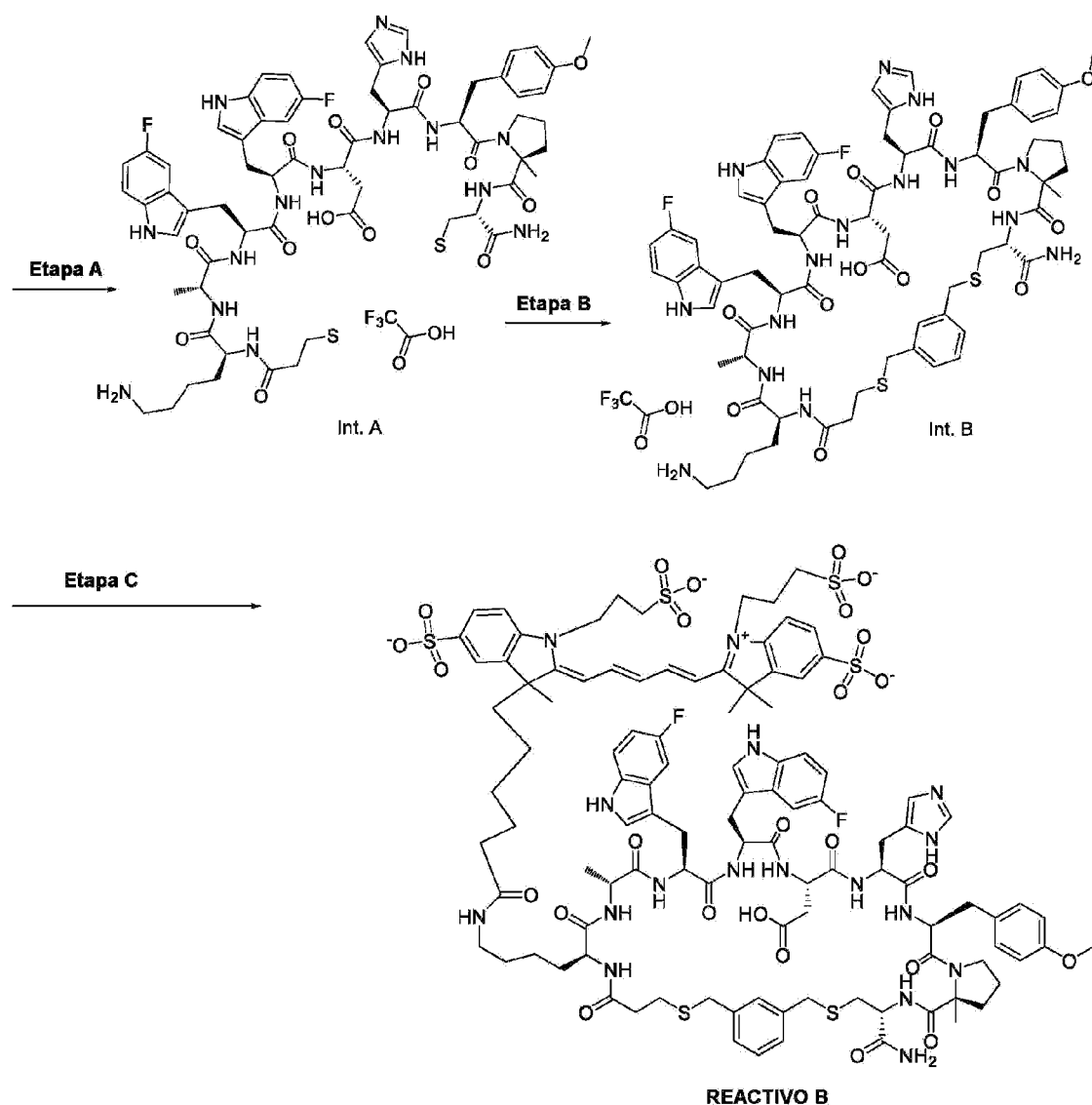
Tabla 7	
Compuesto	Cl ₅₀
247	C
248	E
249	E
250	C
251	E
252	E
253	C
254	C
255	B
256	C
257	E
258	E
259	C
260	C
261	C
262	C
263	C
264	C
265	C
266	C
267	E
268	B
269	C
270	E
271	E
272	E
273	B

Tabla 7	
Compuesto	Cl ₅₀
337	A
338	A
339	AA
340	AA
343	C
347	B
348	C
349	A
350	B
362	C

Ejemplo 4. ALEXA PLUS FRET

El ensayo PCSK9 Alexa FRET Plus midió la interacción entre PCSK9 y un péptido cíclico marcado con AlexaFluor647 (AF), reactivo B ($K_D = 35$ nM). Se preparó una solución que contenía PCSK9 biotinilada 1 nM + estreptavidina-europio Lance 2,5 nM (Estrep-Eu) en HEPES 50 mM, pH 7,4, NaCl 0,15 M, CaCl₂ 5 mM, BSA al 0,01 % y tensioactivo P20 al 0,01 %. En mismo sistema tampón se preparó una solución separada que contenía 1920 nM del péptido cíclico marcado con AlexaFluor. Se utilizó un Echo para transferir 0,075 ul de compuesto más 0,675 ul de DMSO a cada pocillo de una placa de ensayo, seguido de la adición de 15 ul de PCSK9+Estrep-Eu y 15 ul de péptido AF. El volumen final del ensayo fue de 30,750 ul que contenía PCSK9 0,5 nM, Estrep-Eu 1,25 nM y péptido cíclico AF 20 nM. La reacción se incubó a temperatura ambiente durante al menos dos horas antes de las mediciones de fluorescencia utilizando un lector Envision Multilabel Reader. Los valores de Cl₅₀ se determinaron ajustando los datos a una curva sigmoidea de dosis-respuesta mediante regresión no lineal. A continuación, se calculó la K_i a partir de la Cl₅₀ y la K_D del péptido cíclico AF. Se siguieron los recuentos (recuentos B) de la PCSK9 marcada con europio para observar si los compuestos afectaban negativamente a la PCSK9. Una caída de los recuentos B indicaba probablemente un falso positivo de inhibición. Los datos de este procedimiento se notificaron como "P = 'valor numérico' (nanomolar)".

El reactivo B se preparó mediante el procedimiento siguiente.



Etapa A - Síntesis del compuesto intermedio Int-A

El péptido se sintetizó en una escala de 0,250 mmol en CEM Liberty Blue, sintetizador de microondas que emplea la química de Fmoc/tBu sobre una resina PS Rink-Amide MBHA, 0,32 mmol g⁻¹. El ensamblaje se realizó mediante acoplamientos simples utilizando 4 eq de aminoácido protegido con Fmoc 0,2 M en DMF, 4 eq de oxima 1 M en DMF, 4 eq de *N,N*-diisopropilcarbodiimida (DIC) 0,5 M (doble acoplamiento para Y01). Los ciclos de desprotección de Fmoc se realizaron utilizando piperidina al 20 % (v/v) en DMF.

La secuencia de aminoácidos protegidos con Fmoc y las unidades constituyentes utilizados fueron:

1. N-(((9H-Fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-S-tritil-L-cisteína
2. Ácido (S)-1((((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-2-metilpirrolidin-2-carboxílico
3. Ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-3-(4-metoxifenil)propanoico
4. N-(((9H-Fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-N-tritil-L-histidina
5. Ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-4-(terc-butoxi)-4-oxobutanoico
6. Ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-3-(5-fluoro-1H-indol-3-il)propanoico
7. Ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil)amino)-3-(5-fluoro-1H-indol-3-il)propanoico
8. (((9H-Fluoren-9-il)metoxi)carbonil)-D-alanina

9. N²-(((9H-Fluoren-9-yl)metoxi)carbonil)-N⁶-(terc-butoxicarbonil)-L-lisina

10. Ácido 3-(trilitio)propanoico

Al final del montaje, la resina se lavó con DMF, MeOH, DCM, Et₂O. El péptido se escindió del soporte sólido utilizando 50 ml de solución de TFA (v/v) (TFA al 91 %, H₂O al 5 %, TIPS al 4 %) durante aproximadamente 1,5 horas, a temperatura ambiente. La resina se filtró, se lavó con TFA y la solución se concentró hasta la sequedad y se liofilizó. La liofilización proporcionó el compuesto intermedio Int. A (300 mg), que se utilizó bruto en la etapa siguiente. Se calculó el análisis LCMS para C₆₃H₇₉F₂N₁₅O₁₃S₂: 1356,53, encontrado: 1356,9 (M+1)⁺.

Etapa B - Síntesis del compuesto intermedio Int-B

Se redisolvió Int-A bruto (0,22 mmol) en 24 ml de DMF. Se añadieron 6 ml de solución acuosa 1 M de bicarbonato de sodio para elevar el pH a 7. A continuación, se añadieron gota a gota 0,26 mmol de 1,3-bis(bromometil)benceno (0,1 M en DMF). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 20 minutos, se inactivó con TFA (pH a 3-4) y después se concentró al vacío para proporcionar Int-B bruto, que se purificó por RP-HPLC (Waters XBridge, C18, 50 × 150 mm, 5 μm, 130 Å; ACN del 25 % al 40 %/agua + modificador de TFA al 0,1 % durante 20 min). Las fracciones recogidas se liofilizaron para obtener 35 mg del compuesto intermedio Int-B. Se calculó el análisis LCMS para C₇₁H₈₅F₂N₁₅O₁₃S₂: 1458,67; encontrado: 1458,8 (M+1)⁺.

Etapa C - Síntesis del compuesto reactivo B

El compuesto intermedio Int-B (15 mg) se disolvió en 0,2 ml de DMSO seco. A continuación, se añadieron 15 mg de ALEXAFLUOR 647NHS Ester (A37566, Life technology) disueltos en 1,5 ml de DMSO seco. Se añadieron 20 μl de DIPEA seca. La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 12 horas en una atmósfera de nitrógeno en la oscuridad. Se inactivó con TFA (pH a 3-4) y se purificó por RP-HPLC (Dr Maish, Reprosil Gold C18, 250 × 20 mm, 120 Å, 10 μm; del 20 % al 35 % de TFA al 0,1 % en ACN/TFA al 0,1 % en H₂O, durante 20 min, luego del 35 % al 40 % durante 5 min con un caudal de 20 ml/min). Las fracciones recogidas se liofilizaron para obtener 16,1 mg del compuesto reactivo B. Análisis LCMS para C₁₀₇H₁₂₆F₂N₁₇O₂₆S₆³⁻: 2296,64; encontrado: 1150,6 (M+2)²⁺. Los datos de actividad obtenidos mediante uno o ambos de los procedimientos descritos anteriormente se notificaron para ejemplos de compuestos de la invención seleccionados en el siguiente formato:

La tabla 6 muestra los valores de CI₅₀ obtenidos mediante el ensayo para un grupo de compuestos seleccionados.

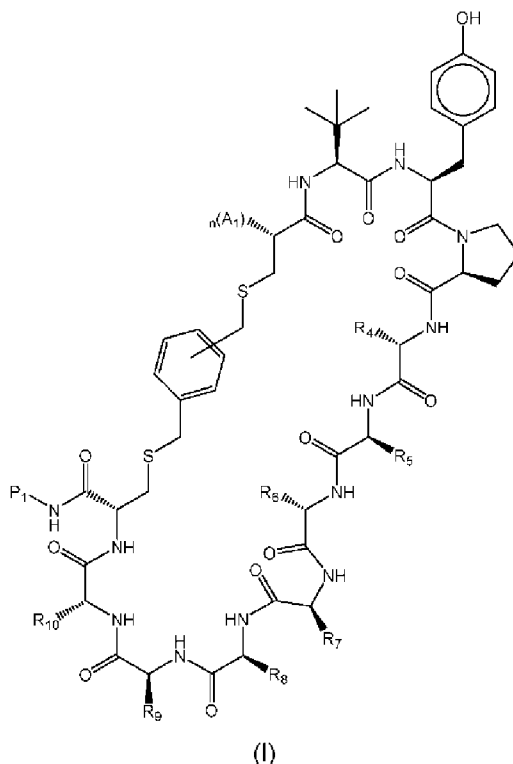
En la tabla 8, "A" representa 1 nM < CI₅₀ ≤ 100 nM; "B" representa 100 nM < CI₅₀ ≤ 250 nM, "C" representa 250 nM < CI₅₀ ≤ 2000 nM.

Tabla 8	
Compuesto	CI ₅₀
006	C
024	B
040	A
187	A
190	C
348	C

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto seleccionado entre:

a) un polipéptido cíclico que tiene la estructura de fórmula (I):



5 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;

en la que:

A₁ es un aminoácido protegido con acilo o sulfonilo seleccionado del grupo que consiste en NVA y GUF, o es una amina protegida con acilo;

R₄ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de ALA, THR, 7AW y 3HV;

10 R₅ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de 7AW, ALA, 1NA, TRP, THR y NVA;

R₆ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de NVA, ALA, GLU, AIB, 2AD, 7AW, APC, APCE, ACB, DPGL, AMPG, ACPR, 2MB, DFCB, NA1, NA2, ACHP y ADHI;

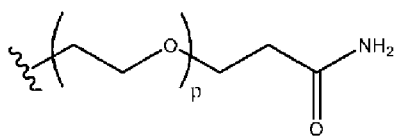
15 R₇ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de GLU, NVA, ALA, TYR, HIS y HSE;

R₈ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de HIS, GLU, TYR, 23B, DMT, 7AW, ALA;

R₉ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de 7AW, TYR, 23B, THR, AIB, ACHP, CHG, NVA, ALA y GLU;

20 R₁₀ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de PHG, CHG, NVA, THR, ALA, GLU y 23B;

P₁ es H, metilo, un grupo acetilo o

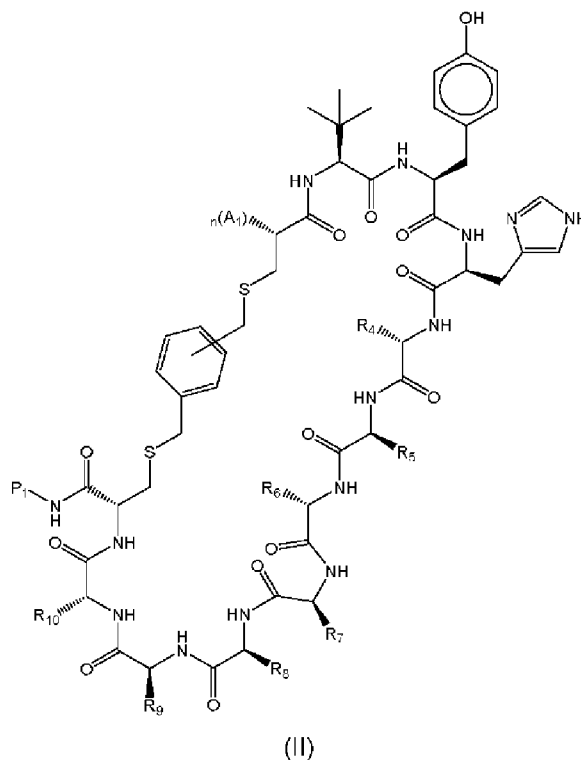


n es 0 o 1;

p es 2, 3 o 4;

en el que cada residuo de aminoácido es opcionalmente un aminoácido N-metilado; y en el que cada residuo de aminoácido puede estar en la configuración R o S; o

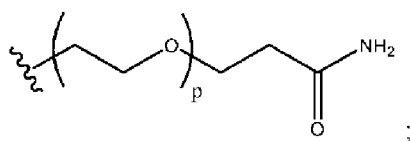
- 5 b) un polipéptido cíclico que tiene la estructura de fórmula (II):



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;

en la que:

- 10 A₁ es un aminoácido protegido con acilo o sulfonilo seleccionado del grupo que consiste en NVA y GUF, o es una amina protegida con acilo;
- R₄ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de ALA, ASN, ASP, CMB, 3HV, BHL, ATHR, BHT, OMT, THR y 7AW;
- R₅ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de 7AW, TFMA, AIB, ALA, 2NA, 1NA, AQPA, NVA, 5FW, 1MW, BTA, AMW, BODP, DQPA, 2PA, 3PA, 4PA y TRP;
- 15 R₆ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de ACPR, 2MB, AIB, ALA, ASN, CHG, 4FF, GLU, HIS, AMPG, APCE, APC, CPRA, NVA, PRO, 23B, 7AW, y 26E;
- R₇ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de ALA, ASP, TZA, AMD, HGLU, CAF, GLU, HSE y TYR;
- 20 R₈ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de ALA, 4FF, MFF, F3MF, AMF, BPA, GUF, 4AMF, NVA, PHE, GMF, TYR, 23B, 7AW, 5FW, 2AW y DMT;
- R₉ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de TFMA, ALA, CHG, AMPG, ATPG, PIG, CPRA, NVA, PHG, THR y 23B;
- R₁₀ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de ALA, HIS, THR y 26E;
- P₁ es H, metilo, un grupo acetilo, o

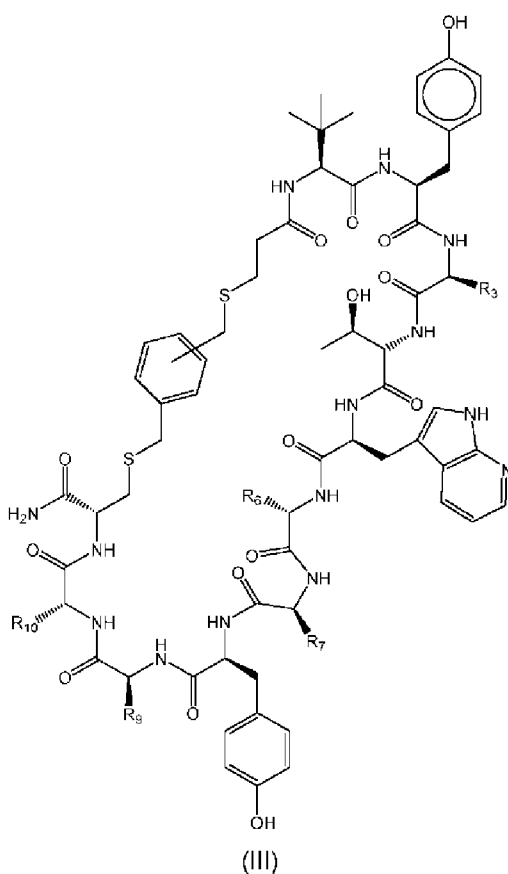


n es 0 o 1;

p es 2, 3, 4, 5 o 6;

5 en el que cada residuo de aminoácido es opcionalmente un aminoácido N-metilado; y en el que cada residuo de aminoácido puede estar en la configuración R o S; o

c) un polipéptido cíclico que tiene la estructura de fórmula (III):



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;

en la que:

10 R₃ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de PRO e HIS;

R₆ es la cadena lateral de aminoácidos del NVA;

R₇ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de ALA e GLU;

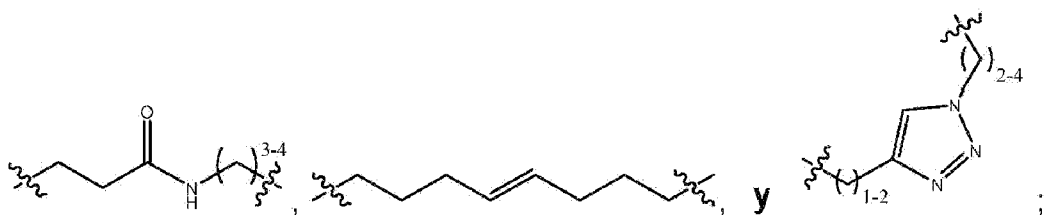
R₉ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de NVA y 23B;

R₁₀ es la cadena lateral de aminoácidos del THR;

15 en el que cada residuo de aminoácido es opcionalmente un aminoácido N-metilado;

en el que cada residuo de aminoácido puede estar en la configuración R o S; y

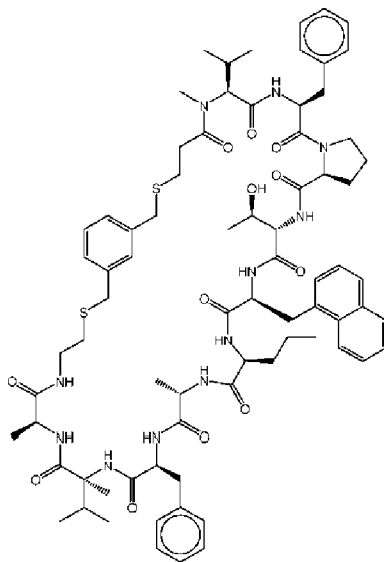
con la condición de que R₃ y R₇, o R₆ y R₁₀ estén unidos covalentemente por un resto conector seleccionado del grupo que consiste en:



o

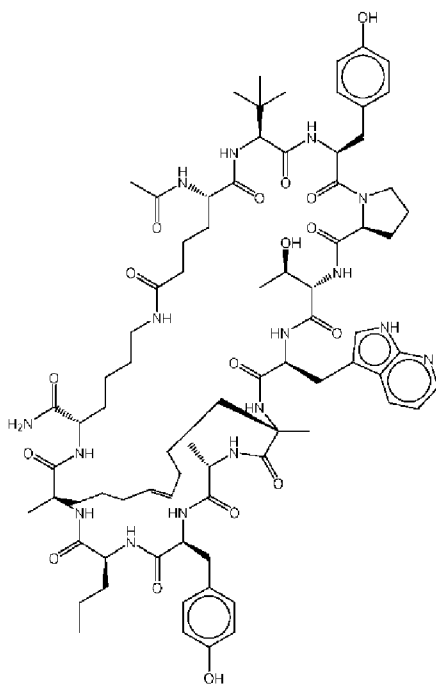
d) un compuesto polipeptídico cíclico 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 150, 151, 152, 153, 165, 192, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 236, 237, 238, 239, 240, 243, 244, 252, 258, 282, 283, 284, 292, 294, 295, 296, 297, 301, 306, 308, 310, 311, 312, 314, 317, 327, 328, 337, 338, 339, 340, en el que las fórmulas de dichos compuestos las representadas en las tablas 1, 2, 3, y/o 4,

o que tiene la estructura:



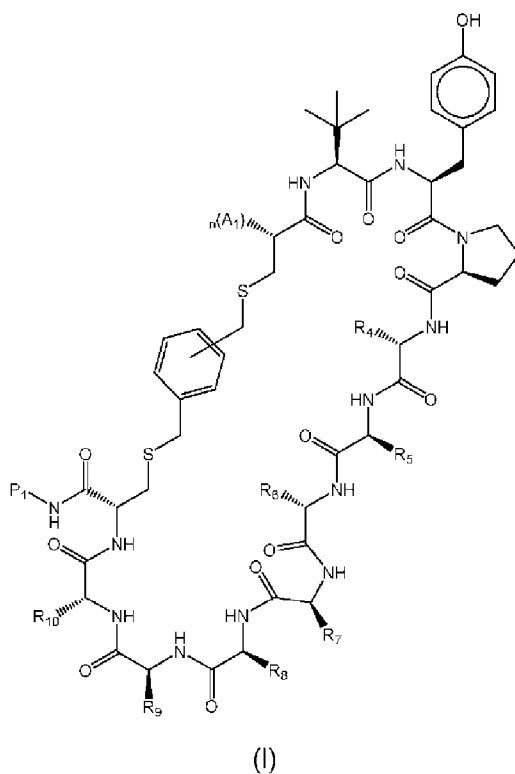
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; o

e) un compuesto polipeptídico bicíclico 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 355, 356, 358, 359, 360 o que tiene la estructura:



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto es un polipéptido cíclico que tiene la estructura de fórmula (I):



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

en el que:

A₁ es un aminoácido protegido con acilo o sulfonilo seleccionado del grupo que consiste en NVA y GUF, o es una amina protegida con acilo;

R₄ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de ALA, THR, 7AW y 3HV;

R₅ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de 7AW, ALA, 1NA, TRP, THR y NVA;

R₆ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de NVA, ALA, GLU, AIB, 2AD, 7AW, APC, APCE, ACB, DPGL, AMPG, ACPR, 2MB, DFCB, NA1, NA2, ACHP y ADHI;

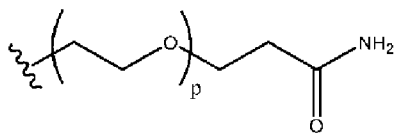
5 R₇ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de GLU, NVA, ALA, TYR, HIS y HSE;

R₈ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de HIS, GLU, TYR, 23B, DMT, 7AW, ALA;

10 R₉ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de 7AW, TYR, 23B, THR, AIB, ACHP, CHG, NVA, ALA y GLU;

R₁₀ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de PHG, CHG, NVA, THR, ALA, GLU y 23B;

P₁ es H, metilo, un grupo acetilo o



15 n es 0 o 1;

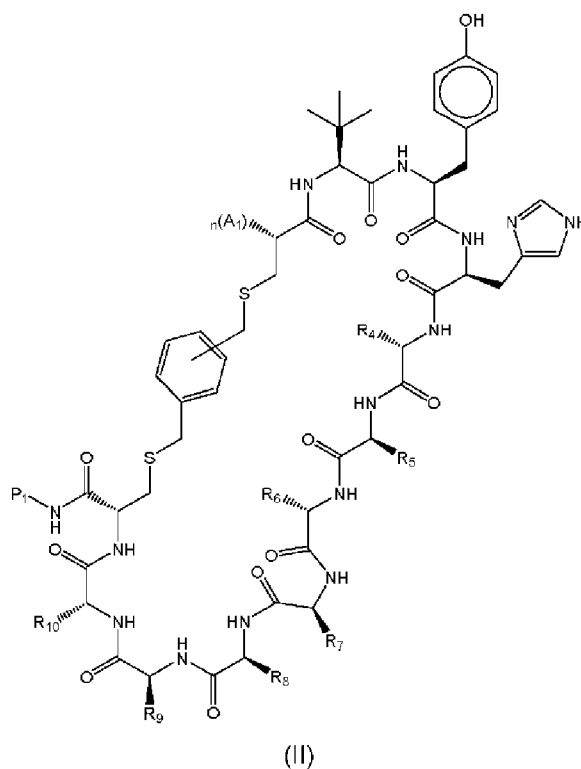
p es 2, 3 o 4;

en el que cada residuo de aminoácido es opcionalmente un aminoácido N-metilado; y

en el que cada residuo de aminoácido puede estar en la configuración R o S.

20 3. El compuesto de la reivindicación 2, en el que el compuesto se selecciona de 010, 085, 144, 145, 146, 147, 148, 149, , 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201 y 202, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; opcionalmente, el compuesto se selecciona entre 163, 169, 173, 183, 184, 185, 186, 187, 191, 193 y 194, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

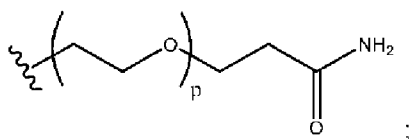
25 4. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto es un polipéptido cíclico que tiene la estructura de fórmula (II):



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;

en la que:

- 5 A_1 es un aminoácido protegido con acilo o sulfonilo seleccionado del grupo que consiste en NVA y GUF, o es una amina protegida con acilo;
- R_4 se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de ALA, ASN, ASP, CMB, 3HV, BHL, ATHR, BHT, OMT, THR y 7AW;
- R_5 se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de 7AW, TFMA, AIB, ALA, 2NA, 1NA, AQPA, NVA, 5FW, 1MW, BTA, AMW, BODP, DQPA, 2PA, 3PA, 4PA y TRP;
- 10 R_6 se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de ACPR, 2MB, AIB, ALA, ASN, CHG, 4FF, GLU, HIS, AMPG, APCE, APC, CPRA, NVA, PRO, 23B, 7AW, y 26E;
- R_7 se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de ALA, ASP, TZA, AMD, HGLU, CAF, GLU, HSE y TYR;
- 15 R_8 se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de ALA, 4FF, MFF, F3MF, AMF, BPA, GUF, 4AMF, NVA, PHE, GMF, TYR, 23B, 7AW, 5FW, 2AW y DMT;
- R_9 se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de TFMA, ALA, CHG, AMPG, ATPG, PIG, CPRA, NVA, PHG, THR y 23B;
- R_{10} se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de ALA, HIS, THR y 26E;
- P_1 es H, metilo, un grupo acetilo, o



20

n es 0 o 1;

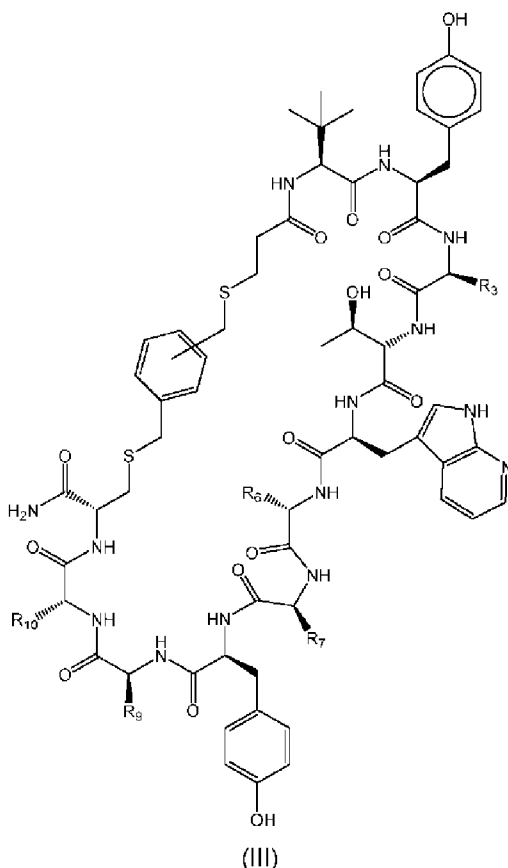
p es 2, 3, 4, 5 o 6;

en el que cada residuo de aminoácido es opcionalmente un aminoácido N-metilado; y

en el que cada residuo de aminoácido puede estar en la configuración R o S.

5. El compuesto de la reivindicación 4, en el que el compuesto se selecciona de 129, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 235, 241, 242, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 253, 254, 255, 256, 257, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 293, 298, 299, 300, 302, 303, 304, 305, 307, 309, 313, 315, 316, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335 y 336, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; opcionalmente, el compuesto se selecciona entre 221, 241, 253, 293 y 300, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

6. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto es un polipéptido cíclico que tiene la estructura de fórmula (III):



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;

en la que:

R₃ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de PRO e HIS;

R_6 es la cadena lateral de aminoácidos del NVA;

R₇ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de ALA e GLU;

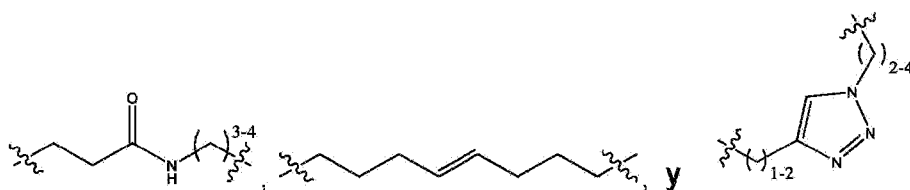
R₉ se selecciona del grupo que consiste en las cadenas laterales de aminoácidos de NVA y 23B;

R_{10} es la cadena lateral de aminoácidos del THR;

en el que cada residuo de aminoácido es opcionalmente un aminoácido N-metilado;

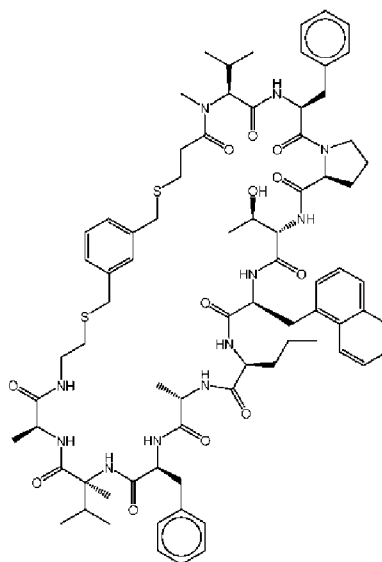
en el que cada residuo de aminoácido puede estar en la configuración R o S; y

con la condición de que R₃ y R₇, o R₆ y R₁₀ estén unidos covalentemente por un resto conector seleccionado del grupo que consiste en:



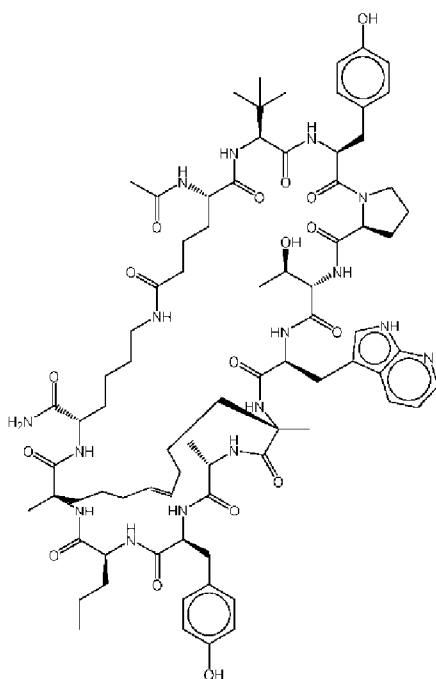
7. El compuesto de la reivindicación 6, en el que el compuesto se selecciona entre 353, 354, 357, 361, 362, 363 y 364, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; opcionalmente, en el que el compuesto se selecciona entre 354 y 364, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 8. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto es un compuesto polipeptídico cíclico 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 011, 012, 013, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 020, 021, 022, 023, 024, 025, 026, 027, 028, 029, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 038, 039, 040, 041, 042, 043, 044, 045, 046, 047, 048, 049, 050, 051, 052, 053, 054, 055, 056, 057, 058, 059, 060, 061, 062, 063, 064, 065, 066, 067, 068, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 077, 078, 079, 080, 081, 082, 083, 084, 086, 087, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 10 098, 099, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 150, 151, 152, 153, 165, 192, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 236, 237, 238, 239, 240, 243, 244, 252, 258, 282, 283, 284, 292, 294, 295, 296, 297, 301, 306, 308, 310, 311, 312, 314, 317, 327, 328, 337, 338, 339, 340, o que tiene la estructura:



15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; opcionalmente, en el que el compuesto se selecciona de entre 024, 040, 055, 103, 337, 338, 339 y 340, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

9. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto es un compuesto polipeptídico bicíclico 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 355, 356, 358, 359, 360, o que tiene la estructura:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; opcionalmente, en el que el compuesto se selecciona entre 349 y 350, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 10. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto polipeptídico cíclico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
11. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o la composición farmacéutica de la reivindicación 10 para su uso en un procedimiento de reducción del nivel de colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL) en un sujeto; opcionalmente, en el que el sujeto tiene hipercolesterolemia; opcionalmente, en el que el compuesto polipeptídico cíclico inhibe la interacción entre la PCSK9 humana y el dominio de repetición A similar al factor de crecimiento epidérmico (EGF-A) de la lipoproteína de baja densidad (LDLR) humana.
- 10 12. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o la composición farmacéutica de la reivindicación 10 para su uso en un procedimiento de tratamiento de la hipercolesterolemia en un sujeto.
13. El compuesto o la composición farmacéutica de la reivindicación 12, en el que el sujeto padece además una enfermedad que presenta comorbilidad con la hipercolesterolemia; opcionalmente, en el que la enfermedad que
- 15 14. Un procedimiento *in vitro* de inhibición de la actividad de PCSK9 en una célula que comprende poner en contacto la célula con el compuesto polipeptídico cíclico de las reivindicaciones 1 a 9 o la composición farmacéutica de la
- 20 15. El compuesto o la composición farmacéutica para el uso de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, en el que el compuesto o la composición farmacéutica se administra por vía oral, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, transdérmica o intravítrea.