

COMPUESTOS DE BENZOTIADIAZEPINA Y SU USO COMO MODULADORES DEL ÁCIDO BILIAR

REMISIÓN A SOLICITUDES RELACIONADAS

[0001] Esta solicitud reivindica prioridad a la solicitud de India n.º 201911004690, presentada el 6 de febrero de 2019; solicitud de Suecia n.º 1950464-6, presentada el 12 de abril de 2019; y solicitud de India n.º 201911049981, presentada el 4 de diciembre de 2019, cuyas divulgaciones se incorporan en la presente como referencia en su totalidad.

[0002] CAMPO DE LA TÉCNICA

[0003] La invención se refiere a los derivados 1,2,5 de benzotiadiazepina de la fórmula (I). Estos compuestos son moduladores del ácido biliar que tienen el transportador apical del ácido biliar dependiente del sodio (ASBT) y/o actividad inhibidora del transporte del ácido biliar del hígado (LBAT). La invención también se refiere a las composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos y con el uso de estos compuestos en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, metabolismo del ácido graso y trastornos debido al uso de la glucosa, enfermedades gastrointestinales y enfermedades hepáticas.

[0004] ANTECEDENTES

[0005] Los ácidos biliares son detergentes fisiológicos que cumplen un papel importante en la absorción intestinal y el transporte de lípidos, nutrientes y vitaminas. También son moléculas de transducción de señales que activan los receptores nucleares y las vías de transducción de señales que utilizan las células para regular los lípidos, la glucosa y el metabolismo energético. Los ácidos biliares son ácidos esteroideos que se sintetizan del colesterol en el hígado y se almacenan en la vesícula biliar como micelas mezcladas. Durante la digestión, el duodeno desencadena la liberación de hormonas que provocan que la vesícula biliar se contraiga, por lo tanto, libera los ácidos biliares en el intestino delgado donde permiten la absorción de las vitaminas y el colesterol solubles en grasa. Cuando llegan al íleon, el intestino reabsorbe los ácidos biliares y se

secretan en la sangre portal para regresar al hígado a través de la circulación venosa portal. Más del 90% de los ácidos biliares, por lo tanto, se reciclan y regresan al hígado. Estos ácidos biliares luego se transportan por la membrana sinusoidal de los hepatocitos y se vuelven a secretar por la membrana canalicular en la bilis. En este primer paso, del 75% al 90% de los ácidos biliares se absorben por los hepatocitos, y así se completa una ronda de circulación enterohepática. La fracción de los ácidos biliares que se escapa de ser depurada en el hígado, ingresa en la circulación sistémica en donde los ácidos biliares libres se filtran mediante el glomérulo renal, se recuperan eficientemente en los túbulos proximales y se exportan de nuevo en la circulación sistémica. Es interesante que la mayoría de los ácidos biliares secretados a través de la membrana canalicular en la bilis se deriven del grupo recirculante con menos del 10% que proviene de la síntesis hepática *de novo*. La pequeña fracción de los ácidos biliares que no se reabsorbe en el íleon llega al colon. Dentro del lumen intestinal, los ácidos biliares primarios se transforman en ácidos biliares secundarios debido a las acciones de las bacterias intestinales, principalmente mediante las reacciones individuales o duales de deshdroxilación del núcleo esteroide. Los ácidos biliares que se escapan de la absorción intestinal se excretan posteriormente a través de las heces.

[0006] En general, el sistema de transporte eficiente ayuda a mantener una reserva constante de ácido biliar, lo que garantiza niveles suficientemente altos de ácidos biliares conjugados en el intestino para promover la absorción de lípidos, así como reducir la carga bacteriana del intestino delgado. El sistema también minimiza la pérdida de ácido biliar fecal y urinario y protege al intestino y a los compartimientos hepatobiliares al eliminar detergentes potencialmente citotóxicos (según lo revisado por Kusters y Karpen (Xenobiotica 2008, vol. 38, p. 1043-1071); por Chiang (J. Lipid Res. 2009, vol. 50, p. 1955-1966); y por Dawson (Handb. Exp. Pharmacol. 2011, vol. 201, p. 169-203)).

[0007] Se ha descubierto que la regulación del tamaño de la reserva de ácido biliar cumple un papel clave en la homeostasis del colesterol mediante la

conversión hepática del colesterol en ácido biliar, que representa una vía importante de eliminación del colesterol del cuerpo. El hígado cumple un papel esencial en la eliminación de compuestos endógenos y xenobióticos del cuerpo. La secreción hepatobiliar normal y la circulación enterohepática son obligatorias para la eliminación de los compuestos endógenos, tales como el colesterol y la bilirrubina y sus metabolitos del cuerpo, por lo tanto, mantienen la homeostasis de los lípidos y ácidos biliares. (Kosters y Karpen, Xenobiotica 2008, vol. 38, p. 1043-1071).

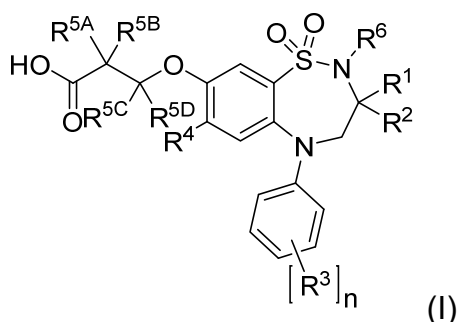
[0008] La reabsorción de los ácidos biliares en el íleon se puede inhibir mediante los compuestos inhibidores del transportador apical del ácido biliar dependiente del sodio (ASBT). Se informó que la inhibición de la reabsorción del ácido biliar fue útil para el tratamiento de varias enfermedades, incluidos dislipidemia, diabetes, obesidad, estreñimiento, enfermedades hepáticas colestásicas, esteatohepatitis no alcohólica y otras enfermedades hepáticas. Varios compuestos del inhibidor del ASBT se han divulgado en las últimas décadas, consulte, p. ej., WO 93/16055, WO 94/18183, WO 94/18184, WO 96/05188, WO 96/08484, WO 96/16051, WO 97/33882, WO 98/03818, WO 98/07449, WO 98/40375, WO 99/35135, WO 99/64409, WO 99/64410, WO 00/47568, WO 00/61568, WO 00/38725, WO 00/38726, WO 00/38727, WO 00/38728, WO 00/38729, WO 01/66533, WO 01/68096, WO 02/32428, WO 02/50051, WO 03/020710, WO 03/022286, WO 03/022825, WO 03/022830, WO 03/061663, WO 03/091232, WO 03/106482, WO 2004/006899, WO 2004/076430, WO 2007/009655, WO 2007/009656, WO 2011/137135, DE 19825804, EP 864582, EP 489423, EP 549967, EP 573848, EP 624593, EP 624594, EP 624595, EP 624596, EP 0864582, EP 1173205 y EP 1535913.

[0009] A pesar de la cantidad de compuestos inhibidores del ASBT que se han informado previamente, hay una necesidad de compuestos moduladores adicionales del ácido biliar que tengan un perfil optimizado con respecto a la potencia, selectividad y biodisponibilidad.

[0010] DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0011] Se descubrió que determinados derivados 1,2,5 de benzotiadiazepina son inhibidores potentes del transportador apical del ácido biliar dependiente del sodio (ASBT) y/o el transporte del ácido biliar del hígado (LBAT), y pueden ser útiles para tratar enfermedades donde se desee la inhibición de la circulación de ácido biliar.

[0012] En un primer aspecto, la invención se refiere a un compuesto de la fórmula (I)



[0013]

[0014] donde

[0015] R¹ y R² cada uno de manera independiente alquilo C₁₋₄;

[0016] R³ se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxi, alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, haloalcoxi C₁₋₄, ciano, nitro, amino, amino N-(alquilo C₁₋₄), amino N,N-di(alquilo C₁₋₄) y amino N-(aril-alquilo C₁₋₄);

[0017] n es un número entero 1, 2 o 3;

[0018] R⁴ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxi, ciano, alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₆, alcoxi C₁₋₄, cicloalquiloxi C₃₋₆, alquilotio C₁₋₄, cicloalquilotio C₃₋₆, amino, amino N-(alquilo C₁₋₄) y amino N,N-di(alquilo C₁₋₄);

[0019] R^{5A}, R^{5B}, R^{5C} y R^{5D} cada uno se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxi, amino y alquilo C₁₋₄; y

[0020] R⁶ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C₁₋₄;

- una sal farmacéuticamente aceptable de este.

[0021] En algunas realizaciones, R¹ es *n*-butilo.

[0022] En algunas realizaciones, R² es alquilo C₂₋₄. En una realización preferida, R² es metilo. En otra realización preferida, R² es etilo. En otra realización preferida, R² es *n*-propilo. En aún otra realización preferida, R² es *n*-butilo.

[0023] En algunas realizaciones, R³ se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amino, ciano, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄ y haloalcoxi C₁₋₄. En otra realización, R³ es hidrógeno. En una realización preferida, R³ se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en hidrógeno, fluro, cloro, bromo, hidroxilo, ciano, trifluorometilo, metoxi y trifluorometoxi.

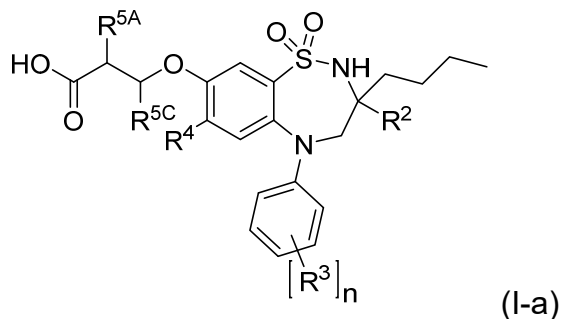
[0024] En una realización preferida, *n* es 1, es decir, el anillo de fenilo se sustituye con solo un sustituyente R³. En otra realización preferida, R³ está en la posición para.

[0025] En algunas realizaciones, R⁴ se selecciona del grupo que consiste en halógeno, hidroxilo, ciano, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, alquilotio C₁₋₄, amino, amino *N*-(C₁₋₄ alquilo) y amino *N,N*-di(alquilo C₁₋₄). En una realización preferida, R⁴ se selecciona del grupo que consiste en fluro, cloro, bromo, hidroxilo, ciano, metilo, metoxi, etoxi, metiltio, etiltio, amino, metilamino y dimetilamino. En otra realización, R⁴ se selecciona del grupo que consiste en fluro, cloro, bromo, metoxi, etoxi, metiltio, etiltio y dimetilamino. En otra realización preferida, R⁴ se selecciona del grupo que consiste en cloro, bromo, metiltio y dimetilamino.

[0026] En algunas realizaciones, R^{5A} y R^{5B} cada uno se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amino y metilo. En algunas realizaciones, R^{5A} y R^{5B} cada uno de manera independiente hidrógeno o hidroxilo. En otra realización, R^{5A} es hidrógeno o hidroxilo y R^{5B} es hidrógeno. En algunas realizaciones, R^{5C} y R^{5D} cada uno de manera independiente hidrógeno o metilo. En otra realización, R^{5C} es hidrógeno o metilo y R^{5D} es hidrógeno.

[0027] En una realización, R⁶ es hidrógeno. En otra realización, R⁶ es metilo.

[0028] En una realización preferida, el compuesto de la fórmula (I) es un compuesto de la fórmula (I-a)



[0029]

[0030] donde

[0031] R² es alquilo C₁₋₄;

[0032] R³ se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxilo, ciano, haloalquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄ y haloalcoxi C₁₋₄;

[0033] n es un número entero 1 o 2;

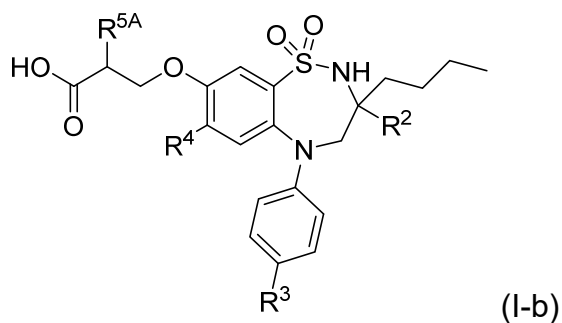
[0034] R⁴ se selecciona del grupo que consiste en halógeno, hidroxilo, ciano, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, alquilotio C₁₋₄, amino, amino N-(alquilo C₁₋₄) y amino N,N-di(alquilo C₁₋₄);

[0035] R^{5A} se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amino y alquilo C₁₋₄; y

[0036] R^{5C} es hidrógeno o alquilo C₁₋₄;

- una sal farmacéuticamente aceptable de este.

[0037] En otra realización preferida, el compuesto de la fórmula (I) es un compuesto de la fórmula (I-b)



[0038]

[0039] donde

[0040] R² es metilo, etilo, n-propilo o n-butilo;

[0041] R³ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, fluoro, cloro, bromo, hidroxilo, ciano, trifluorometil, metoxi, y trifluorometoxi;

[0042] R⁴ se selecciona del grupo que consiste en la selección del grupo que consta de fluoro, cloro, bromo, hidroxilo, ciano, metoxi, etoxi, metiltio, etiltio y dimetilamino; y

[0043] R^{5A} se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amino y metilo;

- una sal farmacéuticamente aceptable de este.

[0044] En otra realización preferida, el compuesto de la fórmula (I) es un compuesto de la fórmula (I-b) como se define arriba, pero donde

[0045] R³ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, fluoro, cloro, bromo, hidroxilo y metoxi; y

[0046] R⁴ se selecciona del grupo que consiste en fluoro, cloro, bromo, metoxi, etoxi, metiltio, etiltio y dimetilamino.

[0047] Los compuestos preferidos de la invención son compuestos de la fórmula (I-b), como se definen arriba, donde R² a R^{5A} son como se indican en la Tabla 1 a continuación, o una sal farmacéuticamente aceptable de este:

[0048] Tabla 1

R ²	R ³	R ⁴	R ^{5A}
CH ₃	H	SCH ₃	H
CH ₃	F	SCH ₃	H
CH ₃	OCH ₃	SCH ₃	H
CH ₃	OH	SCH ₃	H
CH ₃	Cl	SCH ₃	H
CH ₃	H	SCH ₃	OH
CH ₃	F	SCH ₃	OH
CH ₃	OCH ₃	SCH ₃	OH

R²	R³	R⁴	R^{5A}
CH ₃	OH	SCH ₃	OH
CH ₃	Cl	SCH ₃	OH
CH ₃	H	N(CH ₃) ₂	H
CH ₃	F	N(CH ₃) ₂	H
CH ₃	OCH ₃	N(CH ₃) ₂	H
CH ₃	OH	N(CH ₃) ₂	H
CH ₃	Cl	N(CH ₃) ₂	H
CH ₃	H	N(CH ₃) ₂	OH
CH ₃	F	N(CH ₃) ₂	OH
CH ₃	OCH ₃	N(CH ₃) ₂	OH
CH ₃	OH	N(CH ₃) ₂	OH
CH ₃	Cl	N(CH ₃) ₂	OH
CH ₂ CH ₃	H	SCH ₃	H
CH ₂ CH ₃	F	SCH ₃	H
CH ₂ CH ₃	OCH ₃	SCH ₃	H
CH ₂ CH ₃	OH	SCH ₃	H
CH ₂ CH ₃	Cl	SCH ₃	H
CH ₂ CH ₃	H	SCH ₃	OH
CH ₂ CH ₃	F	SCH ₃	OH
CH ₂ CH ₃	OCH ₃	SCH ₃	OH
CH ₂ CH ₃	OH	SCH ₃	OH
CH ₂ CH ₃	Cl	SCH ₃	OH
CH ₂ CH ₃	H	N(CH ₃) ₂	H
CH ₂ CH ₃	F	N(CH ₃) ₂	H
CH ₂ CH ₃	OCH ₃	N(CH ₃) ₂	H
CH ₂ CH ₃	OH	N(CH ₃) ₂	H
CH ₂ CH ₃	Cl	N(CH ₃) ₂	H

R²	R³	R⁴	R^{5A}
CH ₂ CH ₃	H	N(CH ₃) ₂	OH
CH ₂ CH ₃	F	N(CH ₃) ₂	OH
CH ₂ CH ₃	OCH ₃	N(CH ₃) ₂	OH
CH ₂ CH ₃	OH	N(CH ₃) ₂	OH
CH ₂ CH ₃	Cl	N(CH ₃) ₂	OH
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	H	SCH ₃	H
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	F	SCH ₃	H
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	OCH ₃	SCH ₃	H
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	OH	SCH ₃	H
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	Cl	SCH ₃	H
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	H	SCH ₃	OH
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	F	SCH ₃	OH
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	OCH ₃	SCH ₃	OH
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	OH	SCH ₃	OH
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	Cl	SCH ₃	OH
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	H	N(CH ₃) ₂	H
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	F	N(CH ₃) ₂	H
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	OCH ₃	N(CH ₃) ₂	H
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	OH	N(CH ₃) ₂	H
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	Cl	N(CH ₃) ₂	H
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	H	N(CH ₃) ₂	OH
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	F	N(CH ₃) ₂	OH
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	OCH ₃	N(CH ₃) ₂	OH
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	OH	N(CH ₃) ₂	OH
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	Cl	N(CH ₃) ₂	OH

[0049] En una realización particular, el compuesto de la fórmula (I) se selecciona del grupo que consiste en:

[0050] ácido propiónico 3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidrobenzo-1,2,5-tiadiazepin-8-il)oxi);

[0051] ácido propiónico 3-((3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi);

[0052] ácido propiónico (S)-3-((3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi);

[0053] ácido propiónico (R)-3-((3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi);

[0054] ácido hidroxipropiónico 3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2;

[0055] ácido hidroxipropiónico (S)-3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2;

[0056] ácido hidroxipropiónico (R)-3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2;

[0057] ácido butanoico 3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi);

[0058] ácido butanoico (S)-3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi);

[0059] ácido butanoico (R)-3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi);

[0060] ácido propiónico 3-((3,3-dibutil-7-cloro-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi);

[0061] ácido propiónico 3-((3,3-dibutil-5-(4-hidroxifenil)-7-(metiltio)-1,1-dióxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi);

[0062] ácido propiónico 3-((3-Butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi);

[0063] ácido propiónico (S)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi);

[0064] ácido propiónico (R)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi);

[0065] serina O-(3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il);

[0066] serina (S)-O-((R)-3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il);

[0067] serina (R)-O-((R)-3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il);

[0068] serina (S)-O-((S)-3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il); y

[0069] serina (R)-O-((S)-3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il);

- una sal farmacéuticamente aceptable de este.

[0070] Como se usa en la presente, el término “halo” se refiere a fluoro, cloro, bromo y yodo.

[0071] Como se usa en la presente, el término “alquilo C₁₋₆” se refiere a un grupo alquilo recto o ramificado que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, y el término “alquilo C₁₋₄” se refiere a un grupo de alquilo recto o ramificado que tiene de 1 a 4 átomos de carbono. Los ejemplos de alquilo C₁₋₄ incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo y tert-butilo.

[0072] Como se usa en la presente, el término “haloalquilo C₁₋₄” se refiere a un grupo de alquilo C₁₋₄ recto o ramificado, como se define en la presente, donde uno o más átomos de hidrógeno se han reemplazado con halógeno. Los ejemplos de haloalquilo C₁₋₄ incluyen clorometilo, fluoroetilo y trifluorometilo.

[0073] Como se usa en la presente, los términos “alcoxi C₁₋₄” y “alquilotio C₁₋₄” se refieren a un grupo de alquilo C₁₋₄ recto o ramificado adjunto al resto de la molécula a través de un átomo de oxígeno o azufre, respectivamente.

[0074] Como se usa en la presente, el término “cicloalquilo C₃₋₆” se refiere a un anillo de hidrocarburo saturado monocíclico que tiene de 3 a 6 átomos de

carbono. Los ejemplos de cicloalquilo C₃₋₆ incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

[0075] El término “arilo” denota un anillo monocíclico aromático compuesto de 6 átomos de carbono o un sistema de anillo bicíclico aromático compuesto de 10 átomos de carbono. Los ejemplos de arilo incluyen fenilo, naftilo y azuleno.

[0076] El término “amino” se refiere a un grupo de -NH₂. Como se usa en la presente, los términos “amino N-(alquilo C₁₋₄)” y “amino N,N-di(alquilo C₁₋₄)” se refiere a un grupo amino donde uno o los dos átomos de hidrógeno, respectivamente, se reemplazan por un grupo de alquilo C₁₋₄ recto o ramificado. Los ejemplos de amino N-(alquilo C₁₋₄) incluyen metilamino, etilamino y tert-butilamino, y ejemplos de amino N,N-di(alquilo C₁₋₄) incluyen dimetilamino y dietilamino.

[0077] Como se usa en la presente, el término “amino N-(aril-C₁₋₄ alquilo)” se refiere a un grupo amino donde un átomo de hidrógeno se reemplaza con un grupo de alquilo aril-C₁₋₄. Los ejemplos de amino N-(aril-C₁₋₄ alquilo) incluyen benzilamino y feniletilamino.

[0078] Como se usa en la presente, el término “farmacéuticamente aceptable” se refiere a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas posológicas que son adecuados para el uso farmacéutico en seres humanos y que en general son seguros, no tóxicos y no deseables biológicamente ni de otra manera.

[0079] Como se usa en la presente, el término “aproximadamente” se refiere a un valor o parámetro en la presente que incluye (y describe) realizaciones que están dirigidas a ese valor o parámetro *per se*. Por ejemplo, la descripción que se refiere a “aproximadamente 20” incluye la descripción de “20”. Los rangos numéricos incluyen los números que definen el rango. En general, el término “aproximadamente” se refiere al valor indicado de la variable y a todos los valores de la variable que se encuentran dentro del error experimental del valor indicado (p. ej., dentro del intervalo de confianza del 95% para la media) o dentro de 10% del valor indicado, lo que sea mayor.

[0080] Los compuestos 1,2,5 de benzotiadiazepina de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, son inhibidores del transportador apical del ácido biliar dependiente del sodio (inhibidores de ASBT), del transporte del ácido biliar del hígado (inhibidores de LBAT), o de los dos, el transportador apical del ácido biliar dependiente del sodio y transporte del ácido biliar del hígado (inhibidores duales de ASBT/LBAT). Por lo tanto, son útiles en el tratamiento o la prevención de afecciones, trastornos y enfermedades donde se desea la inhibición de la circulación del ácido biliar, tal como enfermedades cardiovasculares, metabolismo del ácido graso y trastornos debido al uso de la glucosa, enfermedades gastrointestinales y enfermedades hepáticas.

[0081] Las enfermedades y los trastornos cardiovasculares del metabolismo del ácido graso y el uso de la glucosa incluyen, a mero título enunciativo, hipercolesterolemia; trastornos del metabolismo del ácido graso; diabetes mellitus tipo 1 y tipo 2; complicaciones de la diabetes, que incluye cataratas, enfermedades micro y macrovasculares, retinopatía, neuropatía, nefropatía y retraso en la curación de heridas, isquemia de tejidos, pie diabético, arteriosclerosis, infarto de miocardio, síndrome coronario agudo, angina de pecho inestable, angina de pecho estable, accidente cerebrovascular, enfermedad vascular periférica oclusiva, miocardiopatía, insuficiencia cardíaca, arritmias cardíacas y reestenosis vascular; enfermedades relacionadas con la diabetes tales como resistencia a la insulina (alteración de la homeostasis de la glucosa), hiperglucemia, hiperinsulinemia, niveles elevados de ácidos grasos o glicerol en la sangre, obesidad, dislipidemia, hiperlipidemia que incluye hipertrigliceridemia, síndrome metabólico (síndrome X), aterosclerosis e hipertensión; y por el aumento de los altos niveles en la densidad de lipoproteínas.

[0082] Las enfermedades y los trastornos gastrointestinales incluyen estreñimiento (que incluye estreñimiento crónico, estreñimiento funcional, estreñimiento idiopático crónico (CIC), estreñimiento intermitente/espórádico, estreñimiento debido a la diabetes mellitus, estreñimiento debido al accidente

cerebrovascular, estreñimiento debido a la enfermedad renal crónica, estreñimiento debido a la esclerosis múltiple, estreñimiento debido a la enfermedad de Parkinson, estreñimiento debido a la esclerosis sistémica, estreñimiento inducido por fármacos, síndrome de colon irritable con estreñimiento (IBS-C), síndrome de colon irritable mezclado (IBS-M), estreñimiento funcional pediátrico y estreñimiento inducido por opioides); enfermedad de Crohn; malabsorción primaria del ácido biliar; síndrome del colon irritable (IBS); enfermedad intestinal inflamatoria (EII); inflamación del íleon; y enfermedad de reflujo y complicaciones de este, tales como esófago de Barrett, esofagitis de reflujo biliar y gastritis de reflujo biliar.

[0083] Una enfermedad hepática como se define en la presente es cualquier enfermedad en el hígado y los órganos conectados con este, tales como el páncreas, la vena porta, las parénquimas hepáticas, el árbol biliar intrahepático, el árbol biliar extrahepático y la vesícula biliar. En algunos casos, una enfermedad hepática es una enfermedad hepática dependiente del ácido biliar. Las enfermedades y los trastornos hepáticos incluyen, a mero título enunciativo, un trastorno metabólico heredado del hígado; errores de nacimiento de la síntesis del ácido biliar; anomalías congénitas de las vías biliares; atresia biliar; atresia biliar posterior a Kasai; atresia biliar posterior a un trasplante de hígado; hepatitis neonatal; colestasis neonatal; formas hereditarias de colestasis; xantomatosis cerebrotendinosa; un defecto secundario de la síntesis del AB; síndrome de Zellweger; enfermedad hepática asociada con la fibrosis quística; deficiencia de alfa1-antitripsina; síndrome de Alagilles (ALGS); síndrome de Byler; un defecto primario de la síntesis del ácido biliar (AB); colestasis intrahepática familiar progresiva (PFIC) que incluye PFIC-1, PFIC-2, PFIC-3 y PFIC no especificado, PFIC posterior al desvío biliar y PFIC posterior al trasplante de hígado; colestasis intrahepática recurrente benigna (BRIC) que incluye BRIC1, BRIC2 y BRIC no especificado, posterior al desvío biliar BRIC y posterior al trasplante de hígado BRIC; hepatitis autoinmunitaria; cirrosis biliar primaria (PBC); fibrosis hepática; enfermedad de hígado graso no alcohólica

(NAFLD); esteatohepatitis no alcohólica (EHNA); hipertensión portal; colestasis; colestasis del síndrome de Down; colestasis inducida por el medicamento; colestasis intrahepática del embarazo (ictericia durante el embarazo); colestasis intrahepática; colestasis extrahepática; colestasis asociada con la nutrición parenteral (PNAC); colestasis asociada con un bajo nivel de fosfolípidos; síndrome de colestasis-linfedema 1 (LSC1); colangitis esclerosante primaria (PSC); colangitis asociada con la inmunoglobulina G4; colangitis biliar primaria; colelitiasis (piedras en la vesícula biliar); litiasis biliar; coledocolitiasis; pancreatitis de la vesícula biliar; enfermedad de Caroli; neoplasia maligna de las vías biliares; neoplasia maligna que obstruye el árbol biliar; estenosis biliar; colangiopatía por sida; colangiopatía isquémica; prurito debido a colestasis o ictericia; pancreatitis; enfermedad hepática autoinmunitaria crónica que conduce a una colestasis progresiva; esteatosis hepática; hepatitis alcohólica; hígado graso agudo; hígado graso durante el embarazo; hepatitis inducida por el medicamento; trastornos de sobrecarga de hierro; defecto congénito de la síntesis del ácido biliar tipo 1 (BAS tipo 1); lesión hepática inducida por el medicamento (DILI); fibrosis hepática; fibrosis hepática congénita; cirrosis hepática; histiocitosis de células de Langerhans (LCH); ictiosis neonatal-colangitis esclerosante (NISCH); protoporfiria eritropoyética (EPP); ductopenia idiopática del adulto (IAD); hepatitis idiopática neonatal (INH); escasez no sindrómica de las vías biliares interlobulares (NS PILBD); cirrosis de niños indios de América del Norte (NAIC); sarcoidosis hepática; amiloidosis; enterocolitis necrotizante; toxicidades causadas por el ácido biliar en suero, que incluye trastornos del ritmo cardíaco (p. ej., fibrilación atrial) en el entorno del perfil anormal del ácido biliar en suero, miocardiopatía asociada con la cirrosis hepática ("colecardia"), y atrofia de músculos esqueléticos asociada con la enfermedad hepática colestática; hepatitis vírica (que incluye hepatitis A, hepatitis B, hepatitis C, hepatitis D y hepatitis E); carcinoma hepatocelular (hepatoma); colangiocarcinoma; cánceres gastrointestinales relacionados con el ácido biliar; y colestasis causada por tumores y neoplasias del hígado, de la vía

biliar y del páncreas. Los compuestos de la fórmula (I), o las sales farmacéuticamente aceptables de este, también son útiles para mejorar la terapia con corticosteroides en la enfermedad hepática.

[0084] Otras enfermedades que se pueden tratar o prevenir mediante los compuestos de la fórmula (I), o las sales farmacéuticamente aceptables de este, incluyen síndromes de hiperabsorción (que incluye abetalipoproteinemia, hipobetalipoproteinemia familiar (FHBL), enfermedad de retención de quilomicrones (CRD) y sitosterolemia); hipervitaminosis y osteopetrosis; hipertensión; hiperfiltración glomerular; prurito de insuficiencia renal; los compuestos también son útiles para la protección contra la lesión renal asociada con la enfermedad metabólica o hepática.

[0085] El transporte de los ácidos biliares en el cuerpo humano se controla mediante la acción de los miembros de la familia de SLC10 de proteínas del portador de solutos, en particular mediante el polipéptido que cotransporta Na^+ -taurocolato (NTCP, también llamado transporte del ácido biliar del hígado (LBAT); símbolo del gen *SLC10A1*), que se expresa en la membrana sinusoidal de los hepatocitos, y mediante el transportador apical del ácido biliar dependiente del sodio (ASBT, también llamado transportador del íleon del ácido biliar (IBAT), ISBT, ABAT o NTCP2; símbolo del gen *SLC10A2*), que se expresa en la membrana apical de los enterocitos del íleon, células del túbulo renal proximal, epitelio biliar, colangiocitos grandes y células epiteliales de la vesícula biliar. En el hígado, los ácidos biliares se extraen de forma eficiente de la sangre portal mediante el transporte del ácido biliar del hígado (LBAT) y se vuelven a secretar por la membrana canalicular mediante la bomba de exportación de la sal biliar (BSEP; símbolo del gen *ABCB11*). La reabsorción de los ácidos biliares en el íleon se gestiona por el transportador apical del ácido biliar dependiente del sodio (ASBT), en donde se denomina con frecuencia transportador del íleon del ácido biliar (IBAT). Los LBAT y ASBT funcionan como cotransportadores del soluto de sodio electrogénico que mueven dos o más iones de Na^+ por molécula de soluto.

[0086] La xenobióticos y endobióticos, que incluye los ácidos biliares, se realizan por el hígado a partir de la sangre portal y se secretan en la bilis mediante diferentes proteínas de transporte con especificidades de sustrato individualizadas. Los ácidos biliares conjugados por glicina y taurina existen en forma aniónica y no pueden cruzar las membranas mediante difusión y, por lo tanto, dependen completamente de las proteínas transportadoras de la membrana para ingresar o egresar el hepatocitos (Kosters y Karpen, *Xenobiotica* 2008, vol. 38, p. 1043-1071). Los ASBT y LBAT prefieren sales biliares conjugadas por glicina y taurina por encima de sus contrapartes sin conjugar y demuestran una afinidad más alta para las sales biliares dihidroxi que para las sales biliares trihidroxi. Todavía no se han identificado sustratos de ácido no biliar para el ASBT; sin embargo, también se descubrió que LBAT transporta una variedad de sulfatos de esteroide, hormonas y xenobióticos.

[0087] El LBAT no se caracteriza con demasiados detalles como el ASBT en cuanto a los requisitos de inhibición del medicamento. Dong *et al.* han identificado medicamentos aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) que inhiben el LBAT humano y compararon los requisitos de inhibición del LBAT y ASBT. Se realizó una serie de estudios de inhibición del LBAT usando fármacos aprobados por la FDA en colaboración con el desarrollo del modelo computacional iterativo. Los estudios de detección identificaron 27 fármacos como nuevos inhibidores del LBAT, que incluyen irbesartan ($K_i = 11,9 \mu\text{m}$) y ezetimiba ($K_i = 25,0 \mu\text{m}$). La característica farmacófora frecuente indicó que dos hidrófobos y un aceptor de enlace de hidrógeno fueron importantes para la inhibición del LBAT. De los 72 fármacos detectados *in vitro*, un total de 31 fármacos inhibieron LBAT, mientras que 51 medicamentos (es decir, más de la mitad) inhibieron ASBT. Por lo tanto, aunque había una superposición de inhibidores, ASBT fue sorprendentemente más permisivo a la inhibición del medicamento que LBAT, y esto se puede relacionar a que el LBAT tenga menos características farmacóforas (Dong *et al.*, *Mol. Pharm.* 2013, vol. 10, p. 1008–1019).

[0088] Vaz *et al.* describen la identificación de la deficiencia del LBAT como un nuevo error congénito del metabolismo con un fenotipo clínico relativamente leve. La identificación de la deficiencia del LBAT confirma que este transportador es el sistema de importación principal para las sales biliares conjugadas en el hígado, pero también indica que los transportadores auxiliares son capaces de mantener el ciclo enterohepático en su ausencia (Vaz *et al.*, Hepatology 2015, vol. 61, p. 260-267). Estos hallazgos respaldan la hipótesis de que la inhibición del LBAT es un mecanismo de acción seguro, ya que los hepatocitos aún tienen la posibilidad de absorber la cantidad necesaria de ácidos biliares.

[0089] Liu *et al.* describen la identificación de un nuevo tipo de hipercolanemia que está asociado con la homocigosidad para la mutación de p.Ser267fe en *SLC10A1* (LBAT). La frecuencia alélica de su mutación en el gen *SLC10A1* varía en diferentes poblaciones, y la incidencia más alta ocurre en China del Sur (8% y 12% en chinos Han y Dai respectivamente) y en Vietnam (11%). Se creyó que esta hipercolanemia “oculta” afectó el 0,64% de Han del sur, 1,44% de la población china Dai y 1,21% de la población vietnamita. También se observó un aumento en los niveles de AB conjugados y no conjugados en suero en las personas homocigotas. Liu *et al.* Sugieren que este hallazgo se debe en su mayor parte a una reducción en el transporte del AB de la circulación portal en los hepatocitos. Esto respalda la hipótesis de que la función fisiológica de la circulación enterohepática no sirve solamente para reciclar los ácidos biliares sino también para eliminar los ácidos biliares de la circulación para lograr la homeostasis (Karpen y Dawson, Hepatology 2015, vol. 61, p. 24-27). De manera alternativa, el hígado puede sintetizar los niveles aumentados de los ácidos biliares para compensar la recirculación enterohepática reducida en los transportadores homocigotos. Ya que el LBAT también transporta ácidos biliares no conjugados, el aumento de los ácidos biliares no conjugados en este estudio no fue sorprendente (Liu *et al.*, Scientific Reports 2017, 7: 9214, p. 1-7).

[0090] Se descubrió que LBAT regula a la baja en varias formas de lesión hepática colestática y colestasis, mientras que se descubrió que el ASBT regula

a la baja en una variedad de trastornos gastrointestinales tales como la enfermedad de Crohn, malabsorción primaria del ácido biliar, enfermedad intestinal inflamatoria e inflamación del íleon, pero se regula a la alta en la colestasis. El LBAT también funciona como un receptor celular para la entrada vírica del virus de la hepatitis B (VHB) y el virus de la hepatitis D (VHD), que en cambio es la causa principal de la enfermedad hepática y el carcinoma hepatocelular.

[0091] Se investigó la inhibición del ASBT por una disminución de los niveles de colesterol en el plasma y una mejora en la resistencia a la insulina, así como el alivio de la carga del ácido biliar hepático en la enfermedad hepática colestática. Además, se descubrió que la inhibición del ASBT restaura los niveles de insulina y normoglucemia, y de esta manera determina la inhibición del ASBT como un tratamiento prometedor para la diabetes mellitus del tipo 2. Los inhibidores del ASBT también se usan para el tratamiento del estreñimiento funcional.

[0092] Como ASBT se expresa predominantemente en el íleon (donde a menudo se denomina IBAT), no es necesario que los inhibidores del ASBT estén disponibles sistémicamente. Por otro lado, el ASBT también se expresa en las células de túbulos proximales de los riñones. Los inhibidores del ASBT que están disponibles sistémicamente también pueden inhibir la reabsorción de los ácidos biliares en los riñones. Se considera que esto llevaría a un aumento en los niveles de los ácidos biliares en la orina y a un aumento de la eliminación de los ácidos biliares del cuerpo a través de la orina. Los inhibidores del ASBT disponibles sistémicamente que ejercen su efecto no solo en el íleon sino también en los riñones, se espera que conduzcan a una reducción mayor de los niveles de ácido biliar que los inhibidores del ASBT no disponibles sistémicamente que solo ejercen su efecto en el íleon.

[0093] Los compuestos que tienen una alta potencia de inhibición del ASBT son particularmente adecuados para el tratamiento de enfermedades hepáticas que provocan colestasis, tales como colestasis intrahepática familiar progresiva

(PFIC), síndrome de Alagilles, atresia biliar y esteatohepatitis no alcohólica (EHNA).

[0094] La atresia biliar es una enfermedad hepática pediátrica rara que implica un bloqueo parcial o total (o incluso ausencia) de vías biliares grandes. Este bloqueo o ausencia provoca colestasis que conduce a la acumulación de los ácidos biliares que dañan el hígado. En algunas realizaciones, la acumulación de los ácidos biliares ocurre en el árbol biliar extrahepático. En algunas realizaciones, la acumulación de los ácidos biliares ocurre en el árbol biliar intrahepático. El estándar de atención actual es el procedimiento Kasai, que es una cirugía que elimina las vías biliares bloqueadas y conecta directamente una parte del intestino delgado con el hígado. Por el momento, no hay tratamientos con fármacos aprobados para este trastorno.

[0095] En la presente se proporcionan métodos para tratar la atresia biliar en un sujeto que lo necesita, los métodos que comprenden la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas realizaciones, el sujeto se ha sometido al procedimiento Kasai antes de la administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas realizaciones, se le administra al sujeto un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, antes de someterse al procedimiento Kasai. En algunas realizaciones, el tratamiento de atresia biliar disminuye el nivel de ácidos biliares en suero en el sujeto. En algunas realizaciones, el nivel de ácidos biliares en suero se determina, por ejemplo, un ensayo enzimático de ELISA o los ensayos para la medición de los ácidos biliares totales según se describe en Danese *et al.*, PLoS One. 2017, vol. 12(6): e0179200, que se incorpora como referencia en su totalidad en la presente. En algunas realizaciones, el nivel de ácidos biliares en suero puede disminuir, por ejemplo, del 10% al 40%, del 20% al 50%, del 30% al 60%, del 40% al 70%, del 50% al 80%, o más del 90% del nivel de ácidos biliares en suero antes de la administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente

aceptable de este. En algunas realizaciones, el tratamiento de atresia biliar incluye el tratamiento del prurito.

[0096] PFIC es un trastorno genético raro que se calcula que afecta entre uno de cada 50.000 a 100.000 niños que nacen en todo el mundo y provoca una enfermedad hepática progresiva y potencialmente mortal.

[0097] Una manifestación del PFIC es el prurito, que a menudo genera una disminución severa de la calidad de vida. En algunos casos, el PFIC conduce a la cirrosis e insuficiencia hepática. Los tratamientos actuales incluyen la desviación biliar externa parcial (PEBD) y trasplante de hígado; sin embargo, estas opciones pueden tener un riesgo sustancial de complicaciones posquirúrgicas, así como problemas psicológicos y sociales.

[0098] Se han identificado tres defectos de genes alternativos que se correlacionan con tres subtipos de PFIC separados que se conocen como los tipos 1, 2 y 3.

[0099] PFIC, tipo 1, que a veces se denomina “enfermedad de Byler”, es causado por una secreción biliar defectuosa debido a las mutaciones en el gen ATP8B1, que codifica para una proteína que ayuda a mantener un equilibrio adecuado de las grasas conocidas como fosfolípidos en las membranas celulares de las vías biliares. Un desequilibrio de estos fosfolípidos está asociado con la colestasis y niveles elevados de ácidos biliares en el hígado. Los sujetos afectados por PFIC, tipo 1 en general desarrollan colestasis durante los primeros meses de vida y, si no hay un tratamiento quirúrgico, evolucionan a la cirrosis y enfermedad hepática en etapa terminal antes de que finalice la primera década de vida.

[00100] PFIC, tipo 2, que a veces se denomina “síndrome de Byler”, es causado por una secreción de sal biliar defectuosa debido a mutaciones en el gen ABCB11, que codifica para una proteína, conocida como bomba de exportación de sal biliar, que lleva a los ácidos biliares fuera del hígado. Los sujetos con PFIC, tipo 2 a menudo desarrollan insuficiencia hepática dentro de los primeros

años de vida y tienen un riesgo elevado de desarrollar un tipo de cáncer hepático conocido como carcinoma hepatocelular.

[00101] PFIC, tipo 3, que en general se presentan los primeros años de la infancia con colestasis progresiva, es causado por mutaciones en el gen ABCB4, que codifica para un transportador que mueve los fosfolípidos por las membranas celulares.

[00102] Además, las mutaciones del gen TJP2, el gen NR1H4 o el gen Myo5b se han propuesto como causas de PFIC. Además, algunos sujetos con PFIC no tienen una mutación en ninguno de los genes ATP8B1, ABCB11, ABCB4, TJP2, NR1H4 o Myo5b. En estos casos, se desconoce la causa de la afección.

[00103] Las mutaciones ejemplares del gen ATP8B1 o la proteína resultante se enumeran en las Tablas 2 y 3, con la enumeración según la proteína humana ATP8B1 de tipo natural (p. ej., la SEQ ID N.º: 1) o gen (p. ej., la SEQ ID N.º: 2). Las mutaciones ejemplares del gen ABCB11 o la proteína resultante se enumeran en las Tablas 4 y 5, con la enumeración según la proteína humana ABCB11 de tipo natural (p. ej., la SEQ ID N.º: 3) o gen (p. ej., la SEQ ID N.º: 4).

[00104] Como pueden apreciar los expertos en la técnica, una posición del aminoácido en una secuencia de proteína de referencia que corresponde a una posición del aminoácido específica en la SEQ ID N.º: 1 o 3 se puede determinar al alinear la secuencia de proteína de referencia con la SEQ ID N.º: 1 o 3 (p. ej., usando un programa de software, tal como ClustalW2). Los cambios en estos residuos (denominados en la presente como “mutaciones”) pueden incluir una sola sustitución de aminoácido o varias, inserciones dentro las secuencias o a los costados de estas y eliminaciones dentro de las secuencias o a los costados de estas. Como pueden apreciar los expertos en la técnica, una posición del nucleótido en una secuencia de gen de referencia que corresponde a una posición del nucleótido específica en la SEQ ID N.º: 2 o 4 se puede determinar al alinear la secuencia de gen de referencia con la SEQ ID N.º: 2 o 4 (p. ej., usando un programa de software, tal como ClustalW2). Los cambios en estos residuos (denominados en la presente como “mutaciones”) pueden incluir una

sola sustitución de nucleótido o varias, inserciones dentro las secuencias o a los costados de estas y eliminaciones dentro de las secuencias o a los costados de estas. Consulte también Kooistra, *et al.*, “KLIFS: A structural kinase-ligand interaction database,” *Nucleic Acids Res.* 2016, vol. 44, n.º D1, pp. D365-D371, que se incorpora como referencia en su totalidad en la presente.

[00105] Secuencia canónica de la proteína de ATP8B1 (la SEQ ID N.º: 1) –
Uniprot ID O43520

[00106] MSTERDSETT FDEDSQPNDE VVPYSDDETE DELDDQGSAV
EPEQNRVNRE AEENREPFRK ECTWQVKAND RKYHEQPHFM NTKFLCIKES
KYANNAIKTY KYNAFTFIPM NLFEQFKRAA NLYFLALLIL QAVPQISTLA
WYTTLVPLL VLGVTAIKDL VDDVARHKMD KEINNRTCEV IKDGRFKVAK
WKEIQVGDVI RLKKNDFVPA DILLSSSEP NSLCYVETAE LDGETNLKFK
MSLEITDQYL QREDTLATFD GFIECEEPNN RLDKFTGTLF WRNTSFPLDA
DKILLRGCVI RNTDFCHGLV IFAGADTKIM KNSGKTRFKR TKIDYLMNYM
VYTIFVVLIL LSAGLAIGHA YWEAQVGNSS WYLYDGEDDT PSYRGFLIFW
GYIIVLNTMV PISLYVSVEV IRLGQSHFIN WDLQMYAEEK DTPAKARTTT
LNEQLGQIH YFSDKTGTLT QNIMTFKKCC INGQIYGDHR DASQHNHNKI
EQVDFSWNTY ADGKLAFYDH YLIEQIQSGK EPEVRQFFFL LAVCHTVMVD
RTDGQLNYQA ASPDEGALVN AARNFGFAFL ARTQNTITIS ELGTERTYNV
LAILDFNSDR KRMSIIVRTP EGNIKLYCKG ADTVIYERLH RMNPTKQETQ
DALDIFANET LRTLCLCYKE IEEKEFTAWN KKFMAASVAS TNRDEALDKV
YEEIEKDLIL LGATAIEDKL QDGVPEISK LAKADIKIWW LTGDKKETAE
NIGFACELLT EDTTICYGED INSLHARME NQRNRGGVYA KFAPPVQESF
FPPGGNRALI ITGSWLNEIL LEKKTNRNKI LKLKFPRTTE ERRMRTQSKR
RLEAKKEQRQ KNFVDLACEC SAVICCRVTP KQKAMVVDLV KRYKKAITLA
IGDGANDVNM IKTAHIGVGI SGQEGMQAVM SSDYSFAQFR YLQRLLLVHG
RWSYIRMCKF LRYFFYKNFA FTLVHFWYSF FNGYSAQTAY EDWFITLYNV
LYTSLPVLLM GLLDQDVSDK LSLRFPGLYI VGQRDLLFNY KRFFVSLHIG
VLTSMLFFI PLGAYLQTVG QDGEAPSDYQ SFAVTIASAL VITVNFQIGL
DTSYWTFVNA FSIFGSIALY FGIMFDFHSA GIHVLFPSTAF QFTGTASNAL
RQPYIWLTI LAVAVCLLPV VAIRFLSMTI WPSESDKIQK HRKRLKAEEQ
WQRRQQVFRR GVSTRRSAYA FSHQRGYADL ISSGRSIRKK RSPLDAIVAD
GTAEYRRTGD S

[00107] Secuencia canónica de ADN para ATP8B1 (la SEQ ID N.º: 2)

[00108] ATG AGT ACA GAA AGA GAC TCA GAA ACG ACA TTT GAC GAG
GAT TCT CAG CCT AAT GAC GAA GTG GTT CCC TAC AGT GAT GAT GAA
ACA GAA GAT GAA CTT GAT GAC CAG GGG TCT GCT GTT GAA CCA GAA
CAA AAC CGA GTC AAC AGG GAA GCA GAG GAG AAC CGG GAG CCA TTC
AGA AAA GAA TGT ACA TGG CAA GTC AAA GCA AAC GAT CGC AAG TAC
CAC GAA CAA CCT CAC TTT ATG AAC ACA AAA TTC TTG TGT ATT AAG
GAG AGT AAA TAT GCG AAT AAT GCA ATT AAA ACA TAC AAG TAC AAC
GCA TTT ACC TTT ATA CCA ATG AAT CTG TTT GAG CAG TTT AAG AGA
GCA GCC AAT TTA TAT TTC CTG GCT CTT CTT ATC TTA CAG GCA GTT
CCT CAA ATC TCT ACC CTG GCT TGG TAC ACC ACA CTA GTG CCC CTG
CTT GTG GTG CTG GGC GTC ACT GCA ATC AAA GAC CTG GTG GAC GAT
GTG GCT CGC CAT AAA ATG GAT AAG GAA ATC AAC AAT AGG ACG TGT
GAA GTC ATT AAG GAT GGC AGG TTC AAA GTT GCT AAG TGG AAA GAA
ATT CAA GTT GGA GAC GTC ATT CGT CTG AAA AAA AAT GAT TTT GTT
CCA GCT GAC ATT CTC CTG CTG TCT AGC TCT GAG CCT AAC AGC CTC
TGC TAT GTG GAA ACA GCA GAA CTG GAT GGA GAA ACC AAT TTA AAA
TTT AAG ATG TCA CTT GAA ATC ACA GAC CAG TAC CTC CAA AGA GAA
GAT ACA TTG GCT ACA TTT GAT GGT TTT ATT GAA TGT GAA GAA CCC
AAT AAC AGA CTA GAT AAG TTT ACA GGA ACA CTA TTT TGG AGA AAC
ACA AGT TTT CCT TTG GAT GCT GAT AAA ATT TTG TTA CGT GGC TGT
GTA ATT AGG AAC ACC GAT TTC TGC CAC GGC TTA GTC ATT TTT GCA
GGT GCT GAC ACT AAA ATA ATG AAG AAT AGT GGG AAA ACC AGA TTT
AAA AGA ACT AAA ATT GAT TAC TTG ATG AAC TAC ATG GTT TAC ACG
ATC TTT GTT GTT CTT ATT CTG CTT TCT GCT GGT CTT GCC ATC GGC
CAT GCT TAT TGG GAA GCA CAG GTG GGC AAT TCC TCT TGG TAC CTC
TAT GAT GGA GAA GAC GAT ACA CCC TCC TAC CGT GGA TTC CTC ATT
TTC TGG GGC TAT ATC ATT GTT CTC AAC ACC ATG GTA CCC ATC TCT
CTC TAT GTC AGC GTG GAA GTG ATT CGT CTT GGA CAG AGT CAC TTC
ATC AAC TGG GAC CTG CAA ATG TAC TAT GCT GAG AAG GAC ACA CCC
GCA AAA GCT AGA ACC ACC ACA CTC AAT GAA CAG CTC GGG CAG ATC

CAT TAT ATC TTC TCT GAT AAG ACG GGG ACA CTC ACA CAA AAT ATC
ATG ACC TTT AAA AAG TGC TGT ATC AAC GGG CAG ATA TAT GGG GAC
CAT CGG GAT GCC TCT CAA CAC AAC CAC AAC AAA ATA GAG CAA GTT
GAT TTT AGC TGG AAT ACA TAT GCT GAT GGG AAG CTT GCA TTT TAT
GAC CAC TAT CTT ATT GAG CAA ATC CAG TCA GGG AAA GAG CCA GAA
GTA CGA CAG TTC TTC TTC TTG CTC GCA GTT TGC CAC ACA GTC ATG
GTG GAT AGG ACT GAT GGT CAG CTC AAC TAC CAG GCA GCC TCT CCC
GAT GAA GGT GCC CTG GTA AAC GCT GCC AGG AAC TTT GGC TTT GCC
TTC CTC GCC AGG ACC CAG AAC ACC ATC ACC ATC AGT GAA CTG GGC
ACT GAA AGG ACT TAC AAT GTT CTT GCC ATT TTG GAC TTC AAC AGT
GAC CGG AAG CGA ATG TCT ATC ATT GTA AGA ACC CCA GAA GGC AAT
ATC AAG CTT TAC TGT AAA GGT GCT GAC ACT GTT ATT TAT GAA CGG
TTA CAT CGA ATG AAT CCT ACT AAG CAA GAA ACA CAG GAT GCC CTG
GAT ATC TTT GCA AAT GAA ACT CTT AGA ACC CTA TGC CTT TGC TAC
AAG GAA ATT GAA GAA AAA GAA TTT ACA GAA TGG AAT AAA AAG TTT
ATG GCT GCC AGT GTG GCC TCC ACC AAC CGG GAC GAA GCT CTG GAT
AAA GTA TAT GAG GAG ATT GAA AAA GAC TTA ATT CTC CTG GGA GCT
ACA GCT ATT GAA GAC AAG CTA CAG GAT GGA GTT CCA GAA ACC ATT
TCA AAA CTT GCA AAA GCT GAC ATT AAG ATC TGG GTG CTT ACT GGA
GAC AAA AAG GAA ACT GCT GAA AAT ATA GGA TTT GCT TGT GAA CTT
CTG ACT GAA GAC ACC ACC ATC TGC TAT GGG GAG GAT ATT AAT TCT
CTT CTT CAT GCA AGG ATG GAA AAC CAG AGG AAT AGA GGT GGC GTC
TAC GCA AAG TTT GCA CCT CCT GTG CAG GAA TCT TTT TTT CCA CCC
GGT GGA AAC CGT GCC TTA ATC ATC ACT GGT TCT TGG TTG AAT GAA
ATT CTT CTC GAG AAA AAG ACC AAG AGA AAT AAG ATT CTG AAG CTG
AAG TTC CCA AGA ACA GAA GAA GAA AGA CGG ATG CGG ACC CAA AGT
AAA AGG AGG CTA GAA GCT AAG AAA GAG CAG CGG CAG AAA AAC TTT
GTG GAC CTG GCC TGC GAG TGC AGC GCA GTC ATC TGC TGC CGC GTC
ACC CCC AAG CAG AAG GCC ATG GTG GTG GAC CTG GTG AAG AGG TAC
AAG AAA GCC ATC ACG CTG GCC ATC GGA GAT GGG GCC AAT GAC GTG

AAC ATG ATC AAA ACT GCC CAC ATT GGC GTT GGA ATA AGT GGA CAA
GAA GGA ATG CAA GCT GTC ATG TCG AGT GAC TAT TCC TTT GCT CAG
TTC CGA TAT CTG CAG AGG CTA CTG CTG GTG CAT GGC CGA TGG TCT
TAC ATA AGG ATG TGC AAG TTC CTA CGA TAC TTC TTT TAC AAA AAC
TTT GCC TTT ACT TTG GTT CAT TTC TGG TAC TCC TTC TTC AAT GGC
TAC TCT GCG CAG ACT GCA TAC GAG GAT TGG TTC ATC ACC CTC TAC
AAC GTG CTG TAC ACC AGC CTG CCC GTG CTC CTC ATG GGG CTG CTC
GAC CAG GAT GTG AGT GAC AAA CTG AGC CTC CGA TTC CCT GGG TTA
TAC ATA GTG GGA CAA AGA GAC TTA CTA TTC AAC TAT AAG AGA TTC
TTT GTA AGC TTG TTG CAT GGG GTC CTA ACA TCG ATG ATC CTC TTC
TTC ATA CCT CTT GGA GCT TAT CTG CAA ACC GTA GGG CAG GAT GGA
GAG GCA CCT TCC GAC TAC CAG TCT TTT GCC GTC ACC ATT GCC TCT
GCT CTT GTA ATA ACA GTC AAT TTC CAG ATT GGC TTG GAT ACT TCT
TAT TGG ACT TTT GTG AAT GCT TTT TCA ATT TTT GGA AGC ATT GCA
CTT TAT TTT GGC ATC ATG TTT GAC TTT CAT AGT GCT GGA ATA CAT
GTT CTC TTT CCA TCT GCA TTT CAA TTT ACA GGC ACA GCT TCA AAC
GCT CTG AGA CAG CCA TAC ATT TGG TTA ACT ATC ATC CTG GCT GTT
GCT GTG TGC TTA CTA CCC GTC GTT GCC ATT CGA TTC CTG TCA ATG
ACC ATC TGG CCA TCA GAA AGT GAT AAG ATC CAG AAG CAT CGC AAG
CGG TTG AAG GCG GAG GAG CAG TGG CAG CGA CGG CAG CAG GTG
TTC CGC CGG GGC GTG TCA ACG CGG CGC TCG GCC TAC GCC TTC TCG
CAC CAG CGG GGC TAC GCG GAC CTC ATC TCC TCC GGG CGC AGC ATC
CGC AAG AAG CGC TCG CCG CTT GAT GCC ATC GTG GCG GAT GGC ACC
GCG GAG TAC AGG CGC ACC GGG GAC AGC TGA

[00109] Tabla 2. Mutaciones ejemplares de ATP8B1

Posición del aminoácido 3 (p. ej., T3K) ²⁷
Posición del aminoácido 23 (p. ej., P23L) ⁵
Posición del aminoácido 45 (p. ej., N45T) ^{5,8,9}
Posición del aminoácido 46 (p. ej., R46X) ^{A,25}

Posición del aminoácido 62 (p. ej., C62R) ²⁸
Posición del aminoácido 63 (p. ej., T63T) ⁴¹
Posición del aminoácido 70 (p. ej., D70N) ^{1,6}
Posición del aminoácido 71 (p. ej., R71H) ⁴³
Posición del aminoácido 78 (p. ej., H78Q) ¹⁹
Posición del aminoácido 82 (p. ej., T82T) ⁴¹
Posición del aminoácido 92 (p. ej., Y92Y) ⁴¹
Posición del aminoácido 93 (p. ej., A93A) ⁶
Posición del aminoácido 96 (p. ej., A96G) ²⁷
Posición del aminoácido 114 (p. ej., E114Q) ⁸
Posición del aminoácido 127 (p. ej., L127P ⁶ , L127V ³⁶)
Posición del aminoácido 177 (p. ej., T177T) ⁶
Posición del aminoácido 179 (p. ej., E179X) ²⁹
Δ Posición de los aminoácidos 185-282 ⁴⁴
Posición del aminoácido 197 (p. ej., G197Lfs*10) ²²
Posición del aminoácido 201 (p. ej., R201S ²⁷ , R201H ³⁵)
Posición del aminoácido 203 (p. ej., K203E ^{5,8} , K203R ⁹ , K203fs ²⁵)
Posición del aminoácido 205 (p. ej., N205fs ⁶ , N205Kfs*2 ³⁵)
Posición del aminoácido 209 (p. ej., P209T) ⁴
Posición del aminoácido 217 (p. ej., S217N) ⁴³
Posición del aminoácido 232 (p. ej., D232D) ³⁰
Posición del aminoácido 233 (p. ej., G233R) ³⁸
Posición del aminoácido 243 (p. ej., L243fs*28) ³³
Posición del aminoácido 265 (p. ej., C265R) ²⁵
Posición del aminoácido 271 (p. ej., R271X ¹³ , R271R ³⁰)
Posición del aminoácido 288 (p. ej., L288S) ⁶
Posición del aminoácido 294 (p. ej., L294S) ⁴³
Posición del aminoácido 296 (p. ej., R296C) ¹¹

Posición del aminoácido 305 (p. ej., F305I) ²⁸
Posición del aminoácido 306 (p. ej., C306R) ²³
Posición del aminoácido 307 (p. ej., H307L) ³⁵
Posición del aminoácido 308 (p. ej., G308V ¹ , G308D ⁶ , G308S ³⁵)
Posición del aminoácido 314 (p. ej., G314S) ¹³
Posición del aminoácido 320 (p. ej., M320Vfs*13) ¹¹
Posición del aminoácido 337 (p. ej., M337R) ¹⁸
Posición del aminoácido 338 (p. ej., N338K) ¹⁸
Posición del aminoácido 340 (p. ej., M340V) ¹⁸
Posición del aminoácido 344 (p. ej., I344F) ^{6,20}
Posición del aminoácido 349 (p. ej., I349T) ⁴¹
Posición del aminoácido 358 (p. ej., G358R) ²⁸
Posición del aminoácido 367 (p. ej., G367G) ⁴¹
Posición del aminoácido 368 (p. ej., N368D) ⁴¹
Posición del aminoácido 393 (p. ej., I393V) ²⁷
Posición del aminoácido 403 (p. ej., S403Y) ⁶
Posición del aminoácido 407 (p. ej., S407N) ⁴⁰
Posición del aminoácido 412 (p. ej., R412P) ⁶
Posición del aminoácido 415 (p. ej., Q415R) ²⁷
Posición del aminoácido 422 (p. ej., D422H) ³⁵
Posición del aminoácido 429 (p. ej., E429A) ⁶
Posición del aminoácido 446 (p. ej., G446R) ^{4,11}
Posición del aminoácido 453 (p. ej., S453Y) ⁶
Posición del aminoácido 454 (p. ej., D454G) ⁶
Posición del aminoácido 455 (p. ej., K455N) ⁴³
Posición del aminoácido 456 (p. ej., T456M ^{3,6} , T456K ³⁵)
Posición del aminoácido 457 (p. ej., G457G ⁶ , G457fs*6 ³³)
Posición del aminoácido 469 (p. ej., C469G) ⁴¹

Posición del aminoácido 478 (p. ej., H478H) ⁴¹
Posición del aminoácido 500 (p. ej., Y500H) ⁶
Posición del aminoácido 525 (p. ej., R525X) ⁴
Δ Posición del aminoácido 529 ⁶
Posición del aminoácido 535 (p. ej., H535L ⁶ , H535N ⁴¹)
Posición del aminoácido 553 (p. ej., P553P) ⁴³
Posición del aminoácido 554 (p. ej., D554N ^{1,6} , D554A ³⁵)
Δ Posición de los aminoácidos 556-628 ⁴⁴
Δ Posición de los aminoácidos 559-563 ³⁵
Posición del aminoácido 570 (p. ej., L570L) ⁴¹
Posición del aminoácido 577 (p. ej., I577V) ¹⁹
Posición del aminoácido 581 (p. ej., E581K) ³⁵
Posición de los aminoácidos 554 y 581 (p. ej., D554A+E581K) ³⁵
Posición del aminoácido 585 (p. ej., E585X) ²¹
Posición del aminoácido 600 (p. ej., R600W ^{2,4} , R600Q ⁶)
Posición del aminoácido 602 (p. ej., R602X) ^{3,6}
Posición del aminoácido 628 (p. ej., R628W) ⁶
Posición del aminoácido 631 (p. ej., R631Q) ²⁸
Δ Posición de los aminoácidos 645-699 ⁴
Posición del aminoácido 661 (p. ej., I661T) ^{1,4,6}
Posición del aminoácido 665 (p. ej., E665X) ^{4,6}
Posición del aminoácido 672 (p. ej., K672fs ⁶ , K672Vfs*1 ³⁵)
Posición del aminoácido 674 (p. ej., M674T) ¹⁹
Posición de los aminoácidos 78 y 674 (p. ej., H78Q/M674T) ¹⁹
Posición del aminoácido 684 (p. ej., D684D) ⁴¹
Posición del aminoácido 688 (p. ej., D688G) ⁶
Posición del aminoácido 694 (p. ej., I694T ⁶ , I694N ¹⁷)
Posición del aminoácido 695 (p. ej., E695K) ²⁷

Posición del aminoácido 709 (p. ej., K709fs ⁶ , K709Qfs*41 ¹³)
Posición del aminoácido 717 (p. ej., T717N) ⁴
Posición del aminoácido 733 (p. ej., G733R) ⁶
Posición del aminoácido 757 (p. ej., Y757X) ⁴
Posición del aminoácido 749 (p. ej., L749P) ²¹
Posición del aminoácido 792 (p. ej., P792fs) ⁶
Δ Posición del aminoácido 795-797 ⁶
Posición del aminoácido 809 (p. ej., I809L) ²⁷
Posición del aminoácido 814 (p. ej., K814N) ²⁸
Posición del aminoácido 833 (p. ej., R833Q ²⁷ , R833W ⁴¹)
Posición del aminoácido 835 (p. ej., K835Rfs*36) ³⁵
Posición del aminoácido 845 (p. ej., K845fs) ²⁵
Posición del aminoácido 849 (p. ej., R849Q) ²⁴
Posición del aminoácido 853 (p. ej., F853S, F853fs) ⁶
Posición del aminoácido 867 (p. ej., R867C ¹ , R867fs ⁶ , R867H ²³)
Posición del aminoácido 885 (p. ej., K885T) ⁴¹
Posición del aminoácido 888 (p. ej., T888T) ⁴¹
Posición del aminoácido 892 (p. ej., G892R) ⁶
Posición del aminoácido 912 (p. ej., G912R) ³⁵
Posición del aminoácido 921 (p. ej., S921S) ⁴¹
Posición del aminoácido 924 (p. ej., Y924C) ²⁸
Posición del aminoácido 930 (p. ej., R930X ⁶ , R930Q ²⁸)
Posición del aminoácido 941 (p. ej., R941X) ³⁵
Posición del aminoácido 946 (p. ej., R946T) ⁴¹
Posición del aminoácido 952 (p. ej., R952Q ^{5,9,15} , R952X ⁶)
Posición del aminoácido 958 (p. ej., N958fs) ⁶
POSICIÓN DEL AMINOÁCIDO 960 (p. ej., A960A) ⁴¹
Δ POSICIÓN DEL AMINOÁCIDO 971 ⁴³

POSICIÓN DEL AMINOÁCIDO 976 (p. ej., A976E ⁴¹ , A976A ⁴³)
POSICIÓN DEL AMINOÁCIDO 981 (p. ej., E981K) ²⁰
Posición del aminoácido 994 (p. ej., S994R) ⁴
Posición del aminoácido 1011 (p. ej., L1011fs*18) ³³
Posición del aminoácido 1012 (p. ej., S1012I) ¹⁰
Posición del aminoácido 1014 (p. ej., R1014X) ^{6,11}
Posición del aminoácido 1015 (p. ej., F1015L) ²⁷
Posición del aminoácido 1023 (p. ej., Q1023fs) ⁶
Posición del aminoácido 1040 (p. ej., G1040R) ^{1,6}
Posición del aminoácido 1044 (p. ej., S0144L) ³⁴
Posición del aminoácido 1047 (p. ej., L1047fs) ⁶
Posición del aminoácido 1050 (p. ej., I1050K) ³¹
Posición del aminoácido 1052 (p. ej., L1052R) ²⁸
Posición del aminoácido 1095 (p. ej., W1095X) ¹¹
Posición del aminoácido 1098 (p. ej., V1098X) ³⁵
Posición del aminoácido 1131 (p. ej., Q1131X) ⁴⁴
Posición del aminoácido 1142 (p. ej., A1142Tfs*35) ⁴³
Posición del aminoácido 1144 (p. ej., Y1144Y) ⁴³
Posición del aminoácido 1150 (p. ej., I1150T) ⁴¹
Posición del aminoácido 1152 (p. ej., A1152T) ³⁰
Posición del aminoácido 1159 (p. ej., P1159P) ^{25,43}
Posición del aminoácido 1164 (p. ej., R1164X) ⁶
Posición del aminoácido 1193 (p. ej., R1193fs*39) ³³
Posición del aminoácido 1197 (p. ej., V1197L) ⁴¹
Posición del aminoácido 1208 (p. ej., A1208fs) ⁶
Posición del aminoácido 1209 (p. ej., Y1209Lfs*28) ⁴
Posición del aminoácido 1211 (p. ej., F1211L) ²⁷
Posición del aminoácido 1219 (p. ej., D1219H ⁵ , D1219G ²⁷)

Posición del aminoácido 1223 (p. ej., S1223S) ⁴¹
Posición del aminoácido 1233 (p. ej., P1233P) ⁴¹
Posición del aminoácido 1241 (p. ej., G1241fs) ⁶
Posición del aminoácido 1248 (p. ej., T1248T) ⁴³
Mutación del lugar de corte IVS3+1_+3delGTG ⁶
Mutación del lugar de corte IVS3-2A>G ⁶
IVS6+5T>G ^{17,25}
Mutación del lugar de corte IVS8+1G>T ⁶
IVS9-G>A ²⁶
IVS12+1G>A ²⁵
Mutación del lugar de corte IVS17-1G>A ⁶
Mutación del lugar de corte IVS18+2T>C ⁶
Mutación del lugar de corte IVS20-4CT>AA
Mutación del lugar de corte IVS21+5G>A ⁶
Mutación del lugar de corte IVS23-3C>A ⁶
Mutación del lugar de corte IVS26+2T>A ⁶
g.24774-42062del ⁴
c.-4C>G ⁴¹
c.145C>T ¹²
c.181-72G>A ⁹
c.182-5T>A ⁴¹
c.182-72G>A ⁴¹
c.246A>G ⁹
c.239G>A ³⁹
c.279+1_279+3delGTG ⁴⁶
c.280-2A>G ⁴⁶
c.625_62715delinsACAGTAAT ⁴⁶
c.554+122C>T ⁹

c.555-3T>C ²⁷
c.625+5 G>T ⁴
Posición del aminoácido 209 (p. ej., P209T) y c.625+5 G>T ⁴
c.628-30G>A ⁴¹
c.628-31C>T ⁴¹
c.698+1G>T ⁴⁶
c.698+20C>T ⁴¹
c.782-1G>A ⁴⁶
c.782-34G>A ⁴¹
Δ795-797 ¹⁴
c.782 -1G>A ⁴
c.852A>C ²⁷
c.941-1G>A ⁴⁶
c.1014C>T ⁹
c.1029+35G>A ⁹
c.1221-8C.G ⁴¹
1226delA ¹⁶
c.1429+1G>A ⁴⁶
c.1429+2T>G ¹³
c.1429+49G>A ⁴¹
c.1430-42A>G ⁴¹
c.1493T>C ¹²
c.1587_1589delCTT ⁴⁶
c.1630+2T>G ²⁷
c.1631-10T>A ⁴¹
c.1637-37T>C ⁴¹
1660 G>A ¹⁴
1798 C>T ¹⁴

1799 G>A ¹⁴
c.1819-39_41delAA ⁹
c.1819+1G>A ³¹
c.1820-27G>A ⁴¹
c.1918+8C>T ²⁷
c.1933-1G>A ^{K46}
c.2097+2T>C ³²
c.2097+60T>G ⁴¹
c.2097+89T>C ⁴¹
c.2097+97T>G ⁴¹
c.2210-114T>C ⁹
2210delA ¹⁶
c.2210-45_50dupATAAAA ⁹
c.2285+29C.T ⁴¹
c.2285+32A>G ⁴¹
c.2286-4_2286-3delinsAA ⁴⁶
c.2418+5G>A ⁴⁶
c.2707+3G>C ²⁷
c.2707+9T>G ⁴¹
c.2707+43A>G ⁴¹
c.2709-59T>C ⁴¹
c.2931+9A>G ⁴¹
c.2931+59T>A ⁴¹
c.2932-3C>A ⁴⁶
c.2932+59T>A ⁹
c.2937A>C ²⁷
c.3016-9C>A ³¹
c.3033-3034del ¹⁹

3122delTCCTA/ insACATCGATGTTGATGTTAGG ⁴⁵
3318 G>A ¹⁴
c.3400+2T>A ⁴⁶
c.3401-175C>T ⁹
c.3401-167C>T ⁹
c.3401-108C>T ⁹
c.3531+8G>T ^{9,15}
c.3532-15C>T ⁹
Δ Fe ex 15 ⁴
Ex1_Ex13del ⁶
Ex2_Ex6del ³³
Ex12_Ex14del ²⁷
Exón omitido 24 ⁴⁵
del5'UTR-ex18 ¹¹
c.*11C>T ⁴¹
c.*1101 + 366G > A ⁷
g.92918del565 ³¹
Exón que precede GC 16 (p. ej., que da como resultado la eliminación de 4 bp) ⁴²
Desplazamiento del marco desde el extremo 5' del exón 16 ⁴²
eliminación de 5' 1,4 kb ⁴⁶

[00110] Tabla 3. Mutaciones de ATP8B1 seleccionadas asociadas con PFIC-1

Posición del aminoácido 23 (p. ej., P23L) ⁵
Posición del aminoácido 78 (p. ej., H78Q) ¹⁹
Posición del aminoácido 93 (p. ej., A93A) ⁶
Posición del aminoácido 96 (p. ej., A96G) ²⁷

Posición del aminoácido 127 (p. ej., L127P) ⁶
Posición del aminoácido 197 (p. ej., G197Lfs*10) ²²
Posición del aminoácido 205 (p. ej., N205fs) ⁶
Posición del aminoácido 209 (p. ej., P209T) ⁴
Posición del aminoácido 233 (p. ej., G233R) ³⁸
Posición del aminoácido 243 (p. ej., L243fs*28) ³³
Posición del aminoácido 288 (p. ej., L288S) ⁶
Posición del aminoácido 296 (p. ej., R296C) ¹¹
Posición del aminoácido 308 (p. ej., G308V ^{1,6})
Posición del aminoácido 320 (p. ej., M320Vfs*13) ¹¹
Posición del aminoácido 403 (p. ej., S403Y) ⁶
Posición del aminoácido 407 (p. ej., S407N) ⁴⁰
Posición del aminoácido 412 (p. ej., R412P) ⁶
Posición del aminoácido 415 (p. ej., Q415R) ²⁷
Posición del aminoácido 429 (p. ej., E429A) ⁶
Posición del aminoácido 446 (p. ej., G446R) ⁴
Posición del aminoácido 456 (p. ej., T456M) ^{3,6}
Posición del aminoácido 457 (p. ej., G457G ⁶ , G457fs*6 ³³)
Posición del aminoácido 500 (p. ej., Y500H) ⁶
Posición del aminoácido 525 (p. ej., R525X) ⁴
Δ Posición del aminoácido 529 ⁶
Posición del aminoácido 535 (p. ej., H535L) ⁶
Posición del aminoácido 554 (p. ej., D554N) ^{1,6}
Posición del aminoácido 577 (p. ej., I577V) ¹⁹
Posición del aminoácido 585 (p. ej., E585X) ²¹
Posición del aminoácido 600 (p. ej., R600W) ⁴
Posición del aminoácido 602 (p. ej., R602X) ^{3,6}
Posición del aminoácido 661 (p. ej., I661T) ^{4,6}

Posición del aminoácido 665 (p. ej., E665X) ^{4,6}
Δ Posición de los aminoácidos 645-699 ⁴
Posición del aminoácido 672 (p. ej., K672fs) ⁶
Posición del aminoácido 674 (p. ej., M674T) ¹⁹
Posición de los aminoácidos 78 y 674 (p. ej., H78Q/M674T) ¹⁹
Posición del aminoácido 688 (p. ej., D688G) ⁶
Posición del aminoácido 694 (p. ej., I694N) ¹⁷
Posición del aminoácido 695 (p. ej., E695K) ²⁷
Posición del aminoácido 709 (p. ej., K709fs) ⁶
Posición del aminoácido 717 (p. ej., T717N) ⁴
Posición del aminoácido 733 (p. ej., G733R) ⁶
Posición del aminoácido 749 (p. ej., L749P) ²¹
Posición del aminoácido 757 (p. ej., Y757X) ⁴
Posición del aminoácido 792 (p. ej., P792fs) ⁶
Posición del aminoácido 809 (p. ej., I809L) ²⁷
Posición del aminoácido 853 (p. ej., F853S, F853fs) ⁶
Posición del aminoácido 867 (p. ej., R867fs) ⁶
Posición del aminoácido 892 (p. ej., G892R) ⁶
Posición del aminoácido 930 (p. ej., R930X ⁶ , R952Q ¹⁵)
Posición del aminoácido 952 (p. ej., R952X) ⁶
Posición del aminoácido 958 (p. ej., N958fs) ⁶
POSICIÓN DEL AMINOÁCIDO 981 (p. ej., E981K) ²⁰
Posición del aminoácido 994 (p. ej., S994R) ⁴
Posición del aminoácido 1014 (p. ej., R1014X) ^{6,11}
Posición del aminoácido 1015 (p. ej., F1015L) ²⁷
Posición del aminoácido 1023 (p. ej., Q1023fs) ⁶
Posición del aminoácido 1040 (p. ej., G1040R) ^{1,6}
Posición del aminoácido 1047 (p. ej., L1047fs) ⁶

Posición del aminoácido 1095 (p. ej., W1095X) ¹¹
Posición del aminoácido 1208 (p. ej., A1208fs) ⁶
Posición del aminoácido 1209 (p. ej., Y1209Lfs*28) ⁴
Posición del aminoácido 1211 (p. ej., F1211L) ²⁷
Posición del aminoácido 1219 (p. ej., D1219H ⁵ , D1219G ²⁷)
Mutación del lugar de corte IVS3+1_+3delGTG ⁶
Mutación del lugar de corte IVS3-2A>G ⁶
IVS6+5T>G ¹⁷
Mutación del lugar de corte IVS8+1G>T ⁶
IVS9-G>A ²⁶
Mutación del lugar de corte IVS17-1G>A ⁶
Mutación del lugar de corte IVS18+2T>C ⁶
Mutación del lugar de corte IVS21+5G>A ⁶
g.24774-42062del ⁴
c.145C>T ¹²
c.239G>A ³⁹
c.625+5 G>T ⁴
Posición del aminoácido 209 (p. ej., P209T) y c.625+5 G>T ⁴
c.782 -1G>A ⁴
c.1493T>C ¹²
c.1630+2T>G ²⁷
1660 G>A ¹⁴
c.2707+3G>C ²⁷
c.2097+2T>C ³²
c.3033-3034del ¹⁹
3318 G>A ¹⁴
c.3158+8G>T ¹⁵
Δ Fe ex 15 ⁴

Ex1_Ex13del ⁶
Ex2_Ex6del ³³
Ex12_Ex14del ²⁷
del5'UTR-ex18 ¹¹
c.*1101 + 366G > A ⁷
Exón que precede GC 16 (p. ej., que da como resultado la eliminación de 4 bp) ⁴²
Desplazamiento del marco desde el extremo 5' del exón 16 ⁴²

[00111] ^A Una mutación a 'X' denota un codón de detención temprano

[00112] *Referencias para las Tablas 2 y 3*

[00113] ¹ Folmer *et al.*, Hepatology. 2009, vol. 50(5), p. 1597-1605.

[00114] ² Hsu *et al.*, Hepatol Res. 2009, vol. 39(6), p. 625-631.

[00115] ³ Alvarez *et al.*, Hum Mol Genet. 2004, vol. 13(20), p. 2451-2460.

[00116] ⁴ Davit-Spraul *et al.*, Hepatology 2010, vol. 51(5), p. 1645-1655.

[00117] ⁵ Vitale *et al.*, J Gastroenterol. 2018, vol. 53(8), p. 945-958.

[00118] ⁶ Klomp *et al.*, Hepatology 2004, vol. 40(1), p. 27-38.

[00119] ⁷ Zarenezhad *et al.*, Hepatitis Monthly: 2017, vol. 17(2); e43500.

[00120] ⁸ Dixon *et al.*, Scientific Reports 2017, vol. 7, 11823.

[00121] ⁹ Painter *et al.*, Eur J Hum Genet. 2005, vol. 13(4), p. 435-439.

[00122] ¹⁰ Deng *et al.*, World J Gastroenterol. 2012, vol. 18(44), p. 6504-6509.

[00123] ¹¹ Giovannoni *et al.*, PLoS One. 2015, vol. 10(12): e0145021.

[00124] ¹² Li *et al.*, Hepatology International 2017, vol. 11, n.º 1, Supp. Supplement 1, pp. S180. Número de resumen: OP284.

[00125] ¹³ Togawa *et al.*, Journal of Pediatric Gastroenterology y Nutrition 2018, vol. 67, Supp. Supplement 1, pp. S363. Número de resumen: 615.

[00126] ¹⁴ Miloh *et al.*, Gastroenterology 2006, vol. 130, n.º 4, Suppl. 2, pp. A759-A760. Meeting Info.: Digestive Disease Week Meeting/107th Annual Meeting of the American-Gastroenterological-Association. Los Angeles, CA, USA. Mayo de 2019.

- [00127]** ¹⁵ Dröge *et al.*, Zeitschrift fur Gastroenterologie 2015, vol. 53, n.º 12. Número de resumen: A3-27. Meeting Info: 32. Jahrestagung der Deutschen Arbeitsgemeinschaft zum Studium der Leber. Dusseldorf, Germani. 22 de enero de 2016-23 de enero de 2016
- [00128]** ¹⁶ Mizuochi *et al.*, Clin Chim Acta. 2012, vol. 413(15-16), p. 1301-1304.
- [00129]** ¹⁷ Liu *et al.*, Hepatology International 2009, vol. 3, n.º 1, p. 184-185. Número de resumen: PE405. Meeting Info: 19th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver. Hong Kong, China. 13 de febrero de 2009-16 de febrero de 2009
- [00130]** ¹⁸ McKay *et al.*, Version 2. F1000Res. 2013; 2: 32. DOI: 10.12688/f1000research.2-32.v2
- [00131]** ¹⁹ Hasegawa *et al.*, Orphanet J Rare Dis. 2014, vol. 9:89.
- [00132]** ²⁰ Stone *et al.*, J Biol Chem. 2012, vol. 287(49), p. 41139-51.
- [00133]** ²¹ Kang *et al.*, J Pathol Transl Med. 16 de mayo de 2019. DOI: 10.4132/jptm.2019.05.03. [Epub antes de impresión]
- [00134]** ²² Sharma *et al.*, BMC Gastroenterol. 2018, vol. 18(1), p. 107.
- [00135]** ²³ Uegaki *et al.*, Intern Med. 2008, vol. 47(7), p. 599-602.
- [00136]** ²⁴ Goldschmidt *et al.*, Hepatol Res. 2016, vol. 46(4), p. 306-311.
- [00137]** ²⁵ Liu *et al.*, J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2010, vol. 50(2), p. 179-183.
- [00138]** ²⁶ Jung *et al.*, J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2007, vol. 44(4), p. 453-458.
- [00139]** ²⁷ Bounford. University of Birmingham. Dissertation Abstracts International, (2016) Vol. 75, n.º 1C. N.º de Orden: AAI10588329. ProQuest Dissertations & Theses.
- [00140]** ²⁸ Stolz *et al.*, Aliment Pharmacol Ther. 2019, vol. 49(9), p. 1195-1204.
- [00141]** ²⁹ Ivashkin *et al.*, Hepatology International 2016, vol. 10, n.º 1, Suppl. SUPPL. 1, pp. S461. Número de resumen: LBO-38. Meeting Info: 25th Annual Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, APASL 2016. Tokio, Japón. 20 de febrero de 2016-24 de febrero de 2016
- [00142]** ³⁰ Blackmore *et al.*, J Clin Exp Hepatol. 2013, vol. 3(2), p. 159-161.

- [00143] ³¹ Matte *et al.*, J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2010, vol. 51(4), p. 488-493.
- [00144] ³² Squires *et al.*, J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2017, vol. 64(3), p. 425-430.
- [00145] ³³ Hayshi *et al.*, EBioMedicine. 2018, vol. 27, p. 187-199.
- [00146] ³⁴ Nagasaka *et al.*, J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2007, vol. 45(1), p. 96-105.
- [00147] ³⁵ Wang *et al.*, PLoS One. 2016; vol. 11(4): e0153114.
- [00148] ³⁶ Narchi *et al.*, Saudi J Gastroenterol. 2017, vol. 23(5), p. 303-305.
- [00149] ³⁷ Alashkar *et al.*, Blood 2015, vol. 126, n.º 23. Meeting Info.: 57th Annual Meeting of the American-Society-of-Hematology. Orlando, FL, EE. UU. 05 al 08 de diciembre de 2015. Amer Soc Hematol.
- [00150] ³⁸ Ferreira *et al.*, Pediatric Transplantation 2013, vol. 17, Suppl. SUPPL. 1, pp. 99. Número de resumen: 239. Meeting Info: IPTA 7th Congress on Pediatric Transplantation. Varsovia, Polonia. 13 de julio de 2013-16 de julio de 2013.
- [00151] ³⁹ Pauli-Magnus *et al.*, J Hepatol. 2005, vol. 43(2), p. 342-357.
- [00152] ⁴⁰ Jericho *et al.*, Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 2015, vol. 60(3), p. 368-374.
- [00153] ⁴¹ van der Woerd *et al.*, PLoS One. 2013, vol. 8(11): e80553.
- [00154] ⁴² Copeland *et al.*, J Gastroenterol Hepatol. 2013, vol. 28(3), p. 560-564.
- [00155] ⁴³ Dröge *et al.*, J Hepatol. 2017, vol. 67(6), p. 1253-1264.
- [00156] ⁴⁴ Chen *et al.*, Journal of Pediatrics 2002, vol. 140(1), p. 119-124.
- [00157] ⁴⁵ Jirsa *et al.*, Hepatol Res. 2004, vol. 30(1), p. 1-3.
- [00158] ⁴⁶ van der Woerd *et al.*, Hepatology 2015, vol. 61(4), p. 1382-1391.
- [00159] En algunas realizaciones, la mutación en ATP8B1 se selecciona de L127P, G308V, T456M, D554N, F529del, I661T, E665X, R930X, R952X, R1014X y G1040R.
- [00160] Secuencia canónica de la proteína de ABCB11 (SEQ ID N.º: 3) – Uniprot ID O95342

[00161] MSDSVILRSI KKFGEENDGF ESDKSYNN DK KSRLQDEKKG
DGVRVGFFQL FRFSSSTDIW LMFVGSLCAF LHGIAQPGVL LIFGTMTDVF
IDYDVELQEL QIPGKACVNN TIVWTNSSLN QNMTNGTRCG LLNIESEMIK
FASYAGIAV AVLITGYIQI CFWWIAAARQ IQKMRKFYFR RIMRMEIGWF
DCNSVGELNT RFSDDINKIN DAIADQMALF IQRMTSTICG FLLGFFRGWK
LTLVIISVSP LIGIGAATIG LSVSKFTDYE LKAYAKAGVV ADEVISSMRT
VAAFGEKRE VERYEKNLVF AQRWGIRKGI VMGFFTGFVW CLIFLCYALA
FWYGSTLVLD EGEYTPGTLV QIFLSVIVGA LNLGNASPCL EAFATGRAAA
TSIFETIDRK PIIDCMSEDG YKLDRIKGEI EFHNVTFHYP SRPEVKILND
LNMVIKPGEM TALVGPSGAG KSTALQLIQR FYDPCEGMVT VDGHDIRSLN
IQWLRDQIGI VEQEPVLFST TIAENIRYGR EDATMEDIVQ AAKEANAYNF
IMDLPQQFDT LVGEGGGQMS GGQKQRVAIA RALIRNPKIL LLDMATSALD
NESEAMVQEV LSKIQHGHTI ISVAHRLSTV RAADTIIGFE HGTAVERGTH
EELLERKGVY FTLVTLQSQG NQALNEEDIK DATEDDMLAR TFSRGSYQDS
LRASIRQRSK SQLSYLVHEP PLAVVDHKST YEEDRKDKDI PVQEEVEPAP
VRRILKFSAP EWPYMLVGSV GAAVNGTVTP LYAFLFSQIL GTFSIPDKEE
QRSQINGVCL LFMVAMGCVSL FTQFLQGYAF AKSGELLTKR LRFKGFRAML
GQDIAWFDDL RNSPGALTTR LATDASQVQG AAGSQIGMIV NSFTNVTVM
IIAFSFSWKL SLVILCFFPF LALSGATQTR MLTGFA SRDK QALEMVGQIT
NEALSNIRTV AGIGKERRFI EALETELEKP FKTAIQKANI YGFCFAFAQC
IMFIANSASY RYGGY LISNE GLHFSYVFRV ISAVVLSATA LGRAFSYTPS
YAKAKISAAR FFQLLDRQPP ISVYNTAGEK WDNFQ GKIDF VDCKFTYPSR
PDSQVLNGLS VSISPGQTLA FVGSSGCGKS TSIQLLERFY DPDQ GKVMID
GHDSKKVNVQ FLRSNIGIVS QEPVLFACSI MDNIKYGDNT KEIPMERVIA
AAKQAQLHDF VMSLPEKYET NVGSQGSQLS RGEKQRIAIA RAIVRDPKIL
LLDEATSALD TESEKTVQVA LDKAREGRTC IVIAHRLSTI QNADIIVMA
QGVVIEKGTH EELMAQKGAY YKLVTTGSPI S

[00162] Secuencia canónica del ADN de ABCB11 (SEQ ID N.º: 4)

[00163] ATG TCT GAC TCA GTA ATT CTT CGA AGT ATA AAG AAA TTT GGA
GAG GAG AAT GAT GGT TTT GAG TCA GAT AAA TCA TAT AAT AAT GAT

AAG AAA TCA AGG TTA CAA GAT GAG AAG AAA GGT GAT GGC GTT AGA
GTT GGC TTC TTT CAA TTG TTT CGG TTT TCT TCA TCA ACT GAC ATT
TGG CTG ATG TTT GTG GGA AGT TTG TGT GCA TTT CTC CAT GGA ATA
GCC CAG CCA GGC GTG CTA CTC ATT TTT GGC ACA ATG ACA GAT GTT
TTT ATT GAC TAC GAC GTT GAG TTA CAA GAA CTC CAG ATT CCA GGA
AAA GCA TGT GTG AAT AAC ACC ATT GTA TGG ACT AAC AGT TCC CTC
AAC CAG AAC ATG ACA AAT GGA ACA CGT TGT GGG TTG CTG AAC ATC
GAG AGC GAA ATG ATC AAA TTT GCC AGT TAC TAT GCT GGA ATT GCT
GTC GCA GTA CTT ATC ACA GGA TAT ATT CAA ATA TGC TTT TGG GTC
ATT GCC GCA GCT CGT CAG ATA CAG AAA ATG AGA AAA TTT TAC TTT
AGG AGA ATA ATG AGA ATG GAA ATA GGG TGG TTT GAC TGC AAT TCA
GTG GGG GAG CTG AAT ACA AGA TTC TCT GAT GAT ATT AAT AAA ATC
AAT GAT GCC ATA GCT GAC CAA ATG GCC CTT TTC ATT CAG CGC ATG
ACC TCG ACC ATC TGT GGT TTC CTG TTG GGA TTT TTC AGG GGT TGG
AAA CTG ACC TTG GTT ATT ATT TCT GTC AGC CCT CTC ATT GGG ATT
GGA GCA GCC ACC ATT GGT CTG AGT GTG TCC AAG TTT ACG GAC TAT
GAG CTG AAG GCC TAT GCC AAA GCA GGG GTG GTG GCT GAT GAA GTC
ATT TCA TCA ATG AGA ACA GTG GCT GCT TTT GGT GGT GAG AAA AGA
GAG GTT GAA AGG TAT GAG AAA AAT CTT GTG TTC GCC CAG CGT TGG
GGA ATT AGA AAA GGA ATA GTG ATG GGA TTC TTT ACT GGA TTC GTG
TGG TGT CTC ATC TTT TTG TGT TAT GCA CTG GCC TTC TGG TAC GGC
TCC ACA CTT GTC CTG GAT GAA GGA GAA TAT ACA CCA GGA ACC CTT
GTC CAG ATT TTC CTC AGT GTC ATA GTA GGA GCT TTA AAT CTT GGC
AAT GCC TCT CCT TGT TTG GAA GCC TTT GCA ACT GGA CGT GCA GCA
GCC ACC AGC ATT TTT GAG ACA ATA GAC AGG AAA CCC ATC ATT GAC
TGC ATG TCA GAA GAT GGT TAC AAG TTG GAT CGA ATC AAG GGT GAA
ATT GAA TTC CAT AAT GTG ACC TTC CAT TAT CCT TCC AGA CCA GAG
GTG AAG ATT CTA AAT GAC CTC AAC ATG GTC ATT AAA CCA GGG GAA
ATG ACA GCT CTG GTA GGA CCC AGT GGA GCT GGA AAA AGT ACA GCA
CTG CAA CTC ATT CAG CGA TTC TAT GAC CCC TGT GAA GGA ATG GTG

ACC GTG GAT GGC CAT GAC ATT CGC TCT CTT AAC ATT CAG TGG CTT
AGA GAT CAG ATT GGG ATA GTG GAG CAA GAG CCA GTT CTG TTC TCT
ACC ACC ATT GCA GAA AAT ATT CGC TAT GGC AGA GAA GAT GCA ACA
ATG GAA GAC ATA GTC CAA GCT GCC AAG GAG GCC AAT GCC TAC AAC
TTC ATC ATG GAC CTG CCA CAG CAA TTT GAC ACC CTT GTT GGA GAA
GGA GGA GGC CAG ATG AGT GGT GGC CAG AAA CAA AGG GTA GCT ATC
GCC AGA GCC CTC ATC CGA AAT CCC AAG ATT CTG CTT TTG GAC ATG
GCC ACC TCA GCT CTG GAC AAT GAG AGT GAA GCC ATG GTG CAA GAA
GTG CTG AGT AAG ATT CAG CAT GGG CAC ACA ATC ATT TCA GTT GCT
CAT CGC TTG TCT ACG GTC AGA GCT GCA GAT ACC ATC ATT GGT TTT
GAA CAT GGC ACT GCA GTG GAA AGA GGG ACC CAT GAA GAA TTA CTG
GAA AGG AAA GGT GTT TAC TTC ACT CTA GTG ACT TTG CAA AGC CAG
GGA AAT CAA GCT CTT AAT GAA GAG GAC ATA AAG GAT GCA ACT GAA
GAT GAC ATG CTT GCG AGG ACC TTT AGC AGA GGG AGC TAC CAG GAT
AGT TTA AGG GCT TCC ATC CGG CAA CGC TCC AAG TCT CAG CTT TCT
TAC CTG GTG CAC GAA CCT CCA TTA GCT GTT GTA GAT CAT AAG TCT
ACC TAT GAA GAA GAT AGA AAG GAC AAG GAC ATT CCT GTG CAG GAA
GAA GTT GAA CCT GCC CCA GTT AGG AGG ATT CTG AAA TTC AGT GCT
CCA GAA TGG CCC TAC ATG CTG GTA GGG TCT GTG GGT GCA GCT GTG
AAC GGG ACA GTC ACA CCC TTG TAT GCC TTT TTA TTC AGC CAG ATT
CTT GGG ACT TTT TCA ATT CCT GAT AAA GAG GAA CAA AGG TCA CAG
ATC AAT GGT GTG TGC CTA CTT TTT GTA GCA ATG GGC TGT GTA TCT
CTT TTC ACC CAA TTT CTA CAG GGA TAT GCC TTT GCT AAA TCT GGG
GAG CTC CTA ACA AAA AGG CTA CGT AAA TTT GGT TTC AGG GCA ATG
CTG GGG CAA GAT ATT GCC TGG TTT GAT GAC CTC AGA AAT AGC CCT
GGA GCA TTG ACA ACA AGA CTT GCT ACA GAT GCT TCC CAA GTT CAA
GGG GCT GCC GGC TCT CAG ATC GGG ATG ATA GTC AAT TCC TTC ACT
AAC GTC ACT GTG GCC ATG ATC ATT GCC TTC TCC TTT AGC TGG AAG
CTG AGC CTG GTC ATC TTG TGC TTC TTC CCC TTC TTG GCT TTA TCA
GGA GCC ACA CAG ACC AGG ATG TTG ACA GGA TTT GCC TCT CGA GAT

AAG CAG GCC CTG GAG ATG GTG GGA CAG ATT ACA AAT GAA GCC CTC
 AGT AAC ATC CGC ACT GTT GCT GGA ATT GGA AAG GAG AGG CGG TTC
 ATT GAA GCA CTT GAG ACT GAG CTG GAG AAG CCC TTC AAG ACA GCC
 ATT CAG AAA GCC AAT ATT TAC GGA TTC TGC TTT GCC TTT GCC CAG
 TGC ATC ATG TTT ATT GCG AAT TCT GCT TCC TAC AGA TAT GGA GGT
 TAC TTA ATC TCC AAT GAG GGG CTC CAT TTC AGC TAT GTG TTC AGG
 GTG ATC TCT GCA GTT GTA CTG AGT GCA ACA GCT CTT GGA AGA GCC
 TTC TCT TAC ACC CCA AGT TAT GCA AAA GCT AAA ATA TCA GCT GCA
 CGC TTT TTT CAA CTG CTG GAC CGA CAA CCC CCA ATC AGT GTA TAC
 AAT ACT GCA GGT GAA AAA TGG GAC AAC TTC CAG GGG AAG ATT GAT
 TTT GTT GAT TGT AAA TTT ACA TAT CCT TCT CGA CCT GAC TCG CAA
 GTT CTG AAT GGT CTC TCA GTG TCG ATT AGT CCA GGG CAG ACA CTG
 GCG TTT GTT GGG AGC AGT GGA TGT GGC AAA AGC ACT AGC ATT CAG
 CTG TTG GAA CGT TTC TAT GAT CCT GAT CAA GGG AAG GTG ATG ATA
 GAT GGT CAT GAC AGC AAA AAA GTA AAT GTC CAG TTC CTC CGC TCA
 AAC ATT GGA ATT GTT TCC CAG GAA CCA GTG TTG TTT GCC TGT AGC
 ATA ATG GAC AAT ATC AAG TAT GGA GAC AAC ACC AAA GAA ATT CCC
 ATG GAA AGA GTC ATA GCA GCT GCA AAA CAG GCT CAG CTG CAT GAT
 TTT GTC ATG TCA CTC CCA GAG AAA TAT GAA ACT AAC GTT GGG TCC
 CAG GGG TCT CAA CTC TCT AGA GGG GAG AAA CAA CGC ATT GCT ATT
 GCT CGG GCC ATT GTA CGA GAT CCT AAA ATC TTG CTA CTA GAT GAA
 GCC ACT TCT GCC TTA GAC ACA GAA AGT GAA AAG ACG GTG CAG GTT
 GCT CTA GAC AAA GCC AGA GAG GGT CGG ACC TGC ATT GTC ATT GCC
 CAT CGC TTG TCC ACC ATC CAG AAC GCG GAT ATC ATT GCT GTC ATG
 GCA CAG GGG GTG GTG ATT GAA AAG GGG ACC CAT GAA GAA CTG ATG
 GCC CAA AAA GGA GCC TAC TAC AAA CTA GTC ACC ACT GGA TCC CCC
 ATC AGT TGA

[00164] Tabla 4. Mutaciones ejemplares de ABCB11

Posición del aminoácido 1 (p. ej., M1V) ⁹
--

Posición del aminoácido 4 (p. ej., S4X) ^{A,64}
Posición del aminoácido 8 (p. ej., R8X) ⁸⁸
Posición del aminoácido 19 (p. ej., G19R) ⁵⁶
Posición del aminoácido 24 (p. ej., K24X) ³⁵
Posición del aminoácido 25 (p. ej., S25X) ^{5,14}
Posición del aminoácido 26 (p. ej., Y26Ifs*7) ³⁸
Posición del aminoácido 36 (p. ej., D36D) ²⁷
Posición del aminoácido 38 (p. ej., K38Rfs*24) ⁷³
Posición del aminoácido 43 (p. ej., V43I) ⁵⁷
Posición del aminoácido 49 (p. ej., Q49X) ⁷³
Posición del aminoácido 50 (p. ej., L50S, L50W) ⁵⁷
Posición del aminoácido 52 (p. ej., R52W ²⁶ , R52R ²⁸)
Posición del aminoácido 56 (p. ej., S56L) ⁵⁸
Posición del aminoácido 58 (p. ej., D58N) ⁶²
Posición del aminoácido 62 (p. ej., M62K) ⁹
Posición del aminoácido 66 (p. ej., S66N) ¹⁷
Posición del aminoácido 68 (p. ej., C68Y) ⁴¹
Posición del aminoácido 50 (p. ej., L50S) ^{5,7}
Posición del aminoácido 71 (p. ej., L71H) ⁷³
Posición del aminoácido 74 (p. ej., I74R) ⁷¹
Posición del aminoácido 77 (p. ej., P77A) ⁷³
Posición del aminoácido 87 (p. ej., T87R) ⁶⁷
Posición del aminoácido 90 (p. ej., F90F) ^{7,27}
Posición del aminoácido 93 (p. ej., Y93S ¹³ , Y93X ⁸⁸)
Posición del aminoácido 96 (p. ej., E96X) ⁸⁸
Posición del aminoácido 97 (p. ej., L97X) ³⁹
Posición del aminoácido 101 (p. ej., Q101Dfs*8) ⁹
Posición del aminoácido 107 (p. ej., C107R) ³⁶

Posición del aminoácido 112 (p. ej., I112T) ⁹
Posición del aminoácido 114 (p. ej., W114R) ^{2,9}
Posición del aminoácido 123 (p. ej. M123T) ⁶⁷
Posición del aminoácido 127 (p. ej., T127Hfs*6) ⁵
Posición del aminoácido 129 (p. ej., C129Y) ²⁵
Posición del aminoácido 130 (p. ej., G130G) ⁷⁷
Posición del aminoácido 134 (p. ej., I134I) ²⁸
Posición del aminoácido 135 (p. ej., E135K ^{7,13} , E135L ¹⁷)
Posición del aminoácido 137 (p. ej., E137K) ⁷
Posición del aminoácido 157 (p. ej., Y157C) ⁵
Posición del aminoácido 161 (p. ej., C161X) ³⁹
Posición del aminoácido 164 (p. ej., V164Gfs*7 ³⁰ , V164I ⁸⁵)
Posición del aminoácido 167 (p. ej., A167S ⁴ , A167V ⁷ , A167T ^{9,17})
Posición del aminoácido 181 (p. ej., R181I) ³⁵
Posición del aminoácido 182 (p. ej., I182K) ⁹
Posición del aminoácido 183 (p. ej., M183V ⁸ , M183T ⁹)
Posición del aminoácido 185 (p. ej., M185I) ⁷³
Posición del aminoácido 186 (p. ej., E186G) ^{2,7,22}
Posición del aminoácido 188 (p. ej., G188W) ⁷³
Posición del aminoácido 194 (p. ej., S194P) ⁷
Posición del aminoácido 198 (p. ej., L198P) ⁷
Posición del aminoácido 199 (p. ej., N199Ifs*15X) ⁸⁸
Posición del aminoácido 206 (p. ej., I206V) ²⁸
Posición del aminoácido 212 (p. ej., A212T) ⁷³
Posición del aminoácido 217 (p. ej., M217R) ⁸⁸
Posición del aminoácido 225 (p. ej., T225P) ⁵⁷
Posición del aminoácido 226 (p. ej., S226L) ⁹
Posición del aminoácido 232 (p. ej., L232Cfs*9) ⁹

Posición del aminoácido 233 (p. ej., L233S) ⁸⁶
Posición del aminoácido 238 (p. ej., G238V) ^{2,7}
Posición del aminoácido 242 (p. ej., T242I) ^{5,7}
Posición del aminoácido 245 (p. ej., I245Tfs*26) ⁵⁷
Posición del aminoácido 256 (p. ej., A256G) ⁹
Posición del aminoácido 260 (p. ej., G260D) ⁷
Posición del aminoácido 269 (p. ej., Y269Y) ²⁷
Posición del aminoácido 277 (p. ej., A277E) ⁷⁷
Posición del aminoácido 283 (p. ej., E283D) ⁷³
Posición de los aminoácidos 212 y 283 (p. ej., A212T+E283D) ⁷³
Posición del aminoácido 284 (p. ej., V284L ^{7,39} , V284A ⁷ , V284D ²³)
Posición del aminoácido 297 (p. ej., E297G ^{1,2,5,7} , E297K ⁷)
Posición del aminoácido 299 (p. ej., R299K) ²⁸
Posición del aminoácido 303 (p. ej., R303K ⁸ , R303M ⁶³ R303fsX321 ⁸³)
Posición del aminoácido 304 (p. ej., Y304X) ²⁶
Posición del aminoácido 312 (p. ej., Q312H) ⁷
Posición del aminoácido 313 (p. ej., R313S) ^{5,7}
Posición del aminoácido 314 (p. ej., W314X) ⁵⁷
Posición del aminoácido 318 (p. ej., K318Rfs*26) ²⁹
Posición del aminoácido 319 (p. ej., G319G) ⁷
Posición del aminoácido 327 (p. ej., G327E) ^{5,7}
Posición del aminoácido 330 (p. ej., W330X) ²⁴
Posición del aminoácido 336 (p. ej., C336S) ^{2,7}
Posición del aminoácido 337 (p. ej., Y337H) ^{21,27}
Posición del aminoácido 342 (p. ej., W342G) ⁵⁰
Posición del aminoácido 354 (p. ej., R354X) ⁹
Posición del aminoácido 361 (p. ej., Q361X ⁵⁷ , Q361R ⁷⁴)
Posición del aminoácido 366 (p. ej., V366V ²⁸ , V366D ⁵⁷)

Posición del aminoácido 368 (p. ej., V368Rfs*27) ⁵
Posición del aminoácido 374 (p. ej., G374S) ³
Posición del aminoácido 380 (p. ej., L380Wfs*18) ⁵
Posición del aminoácido 382 (p. ej., A382G) ⁸⁸
Δ Posición de los aminoácidos 382-388 ⁵
Δ Posición de los aminoácidos 383-389 ^{5,7}
Posición del aminoácido 387 (p. ej., R387H) ⁹
Posición del aminoácido 390 (p. ej., A390P) ^{5,7}
Posición del aminoácido 395 (p. ej., E395E) ²⁸
Posición del aminoácido 404 (p. ej., D404G) ⁹
Posición del aminoácido 410 (p. ej., G410D) ^{5,7}
Posición del aminoácido 413 (p. ej., L413W) ^{5,7}
Posición del aminoácido 415 (p. ej., R415X) ⁴²
Posición del aminoácido 416 (p. ej., I416I) ²⁷
Posición del aminoácido 420 (p. ej., I420T) ⁹
Posición del aminoácido 423 (p. ej., H423R) ¹³
Posición del aminoácido 432 (p. ej., R432T) ^{1,2,7}
Posición del aminoácido 436 (p. ej., K436N) ⁴⁰
Posición del aminoácido 440 (p. ej., D440E) ⁸⁸
Posición del aminoácido 444 (p. ej., V444A) ²
Posición del aminoácido 454 (p. ej., V454X) ⁴⁹
Posición del aminoácido 455 (p. ej., G455E) ⁹
Posición del aminoácido 457 (p. ej., S457Vfs*23) ⁸⁸
Posición del aminoácido 461 (p. ej., K461E) ^{2,7}
Posición del aminoácido 462 (p. ej., S462R) ⁸⁸
Posición del aminoácido 463 (p. ej., T463I) ^{5,7}
Posición del aminoácido 466 (p. ej., Q466K) ^{5,7}
Posición del aminoácido 470 (p. ej., R470Q ^{5,7} , R470X ⁹)

Posición del aminoácido 471 (p. ej., Y472X) ⁵
Posición del aminoácido 472 (p. ej., Y472C ^{5,27} , Y472X ¹⁴)
Posición del aminoácido 473 (p. ej., D473Q ³⁵ , D473V ⁸⁸)
Posición del aminoácido 475 (p. ej., C475X) ²⁹
Posición del aminoácido 481 (p. ej., V481E) ^{5,7}
Posición del aminoácido 482 (p. ej., D482G) ^{2,5,7}
Posición del aminoácido 484 (p. ej., H484Rfs*5) ⁹
Posición del aminoácido 487 (p. ej., R487H ² , R487P ⁵)
Posición del aminoácido 490 (p. ej., N490D) ^{5,7}
Posición del aminoácido 493 (p. ej., W493X) ⁸
Posición del aminoácido 496 (p. ej., D496V) ⁸⁸
Posición del aminoácido 498 (p. ej., I498T) ^{2,7}
Posición del aminoácido 499 (p. ej., G499E) ⁷³
Posición del aminoácido 501 (p. ej., V501G) ⁶⁸
Posición del aminoácido 504 (p. ej., E504K) ⁷⁹
Posición del aminoácido 510 (p. ej., T510T) ⁷
Posición del aminoácido 512 (p. ej., I512T) ^{5,7}
Posición del aminoácido 515 (p. ej., N515T ^{5,7} , N515D ⁶⁴)
Posición del aminoácido 516 (p. ej., I516M) ¹⁷
Posición del aminoácido 517 (p. ej., R517H) ^{5,7}
Posición del aminoácido 520 (p. ej., R520X) ⁵
Posición del aminoácido 523 (p. ej., A523G) ¹³
Posición del aminoácido 528 (p. ej., I528Sfs*21 ⁵ , I528X ⁹ , I528T ⁷³)
Posición del aminoácido 535 (p. ej., A535A ⁷ , A535X ⁸⁹)
Posición del aminoácido 540 (p. ej., F540L) ⁴⁶
Posición del aminoácido 541 (p. ej., I541L ^{5,7} , I541T ^{5,17})
Posición del aminoácido 546 (p. ej., Q546K ³⁹ , Q546H ⁷³)
Posición del aminoácido 548 (p. ej., F548Y) ^{5,7}

Posición del aminoácido 549 (p. ej., D549V) ⁹
Posición del aminoácido 554 (p. ej., E554K) ²¹
Posición del aminoácido 556 (p. ej., G556R) ⁶⁷
Posición del aminoácido 558 (p. ej., Q558H) ²³
Posición del aminoácido 559 (p. ej., M559T) ⁵⁷
Posición del aminoácido 562 (p. ej., G562D ^{5,7} , G562S ⁷³)
Posición del aminoácido 570 (p. ej., A570T ^{2,5,7} , A570V ²⁶)
Posición del aminoácido 575 (p. ej., R575X ^{2,5} , R575Q ²¹)
Posición del aminoácido 580 (p. ej., L580P) ⁵⁷
Posición del aminoácido 586 (p. ej., T586I) ⁷
Posición del aminoácido 587 (p. ej., S587X) ⁷³
Posición del aminoácido 588 (p. ej., A588V ^{5,7} , A588P ⁷³)
Posición del aminoácido 591 (p. ej., N591S) ^{2,7}
Posición del aminoácido 593 (p. ej., S593R) ^{2,7}
Posición del aminoácido 597 (p. ej., V597V ⁹ , V597L ¹³)
Posición del aminoácido 603 (p. ej., K603K) ⁵⁵
Posición del aminoácido 609 (p. ej., H609Hfs*46) ²⁶
Posición del aminoácido 610 (p. ej., I610Gfs*45 ⁹ , I610T ⁵⁷) ⁹
Posición del aminoácido 615 (p. ej., H615R) ²⁶
Posición del aminoácido 616 (p. ej., R616G ²⁸ , R616H ⁷³)
Posición del aminoácido 619 (p. ej., T619A) ²⁸
Posición del aminoácido 623 (p. ej., A623A) ²⁸
Posición del aminoácido 625 (p. ej., T625Nfs*5) ²⁶
Posición del aminoácido 627 (p. ej., I627T) ⁷
Posición del aminoácido 628 (p. ej., G628Wfs*3) ⁷⁰
Posición del aminoácido 636 (p. ej., E636G) ²
Posición del aminoácido 648 (p. ej., G648Vfs*6 ⁵ , G648V ⁵⁰)
Posición del aminoácido 655 (p. ej., T655I) ⁷

Posición del aminoácido 669 (p. ej., I669V) ²⁶
Posición del aminoácido 676 (p. ej., D676Y) ¹¹
Posición del aminoácido 677 (p. ej., M677V) ^{7,13}
Posición del aminoácido 679 (p. ej., A679V) ⁵⁸
Posición del aminoácido 685 (p. ej., G685W) ⁶⁰
Posición del aminoácido 696 (p. ej., R696W ²⁷ , R696Q ⁵⁸)
Posición del aminoácido 698 (p. ej., R698H ^{7,9} , R698K ⁶¹ , R698C ⁸⁸)
Posición del aminoácido 699 (p. ej., S699P) ⁹
Posición del aminoácido 701 (p. ej., S701P) ⁵⁸
Posición del aminoácido 702 (p. ej., Q702X) ⁸⁹
Posición del aminoácido 709 (p. ej., E709K) ⁷
Posición del aminoácido 710 (p. ej., P710P) ⁷
Posición del aminoácido 712 (p. ej., L712L) ²⁸
Posición del aminoácido 721 (p. ej., Y721C) ⁸⁸
Posición del aminoácido 729 (p. ej., D724N) ³⁹
Posición del aminoácido 731 (p. ej., P731S) ²³
Posición del aminoácido 740 (p. ej., P740Qfs*6) ⁷³
Posición del aminoácido 758 (p. ej., G758R) ⁵
Posición del aminoácido 766 (p. ej., G766R) ^{5,24}
Posición del aminoácido 772 (p. ej., Y772X) ⁵
Posición del aminoácido 804 (p. ej., A804A) ⁷
Posición del aminoácido 806 (p. ej., G806D ⁴⁴ , G806G ⁵⁵)
Posición del aminoácido 809 (p. ej., S809F) ⁸¹
Posición del aminoácido 817 (p. ej., G817G) ⁸⁸
Posición del aminoácido 818 (p. ej., Y818F) ⁷
Posición del aminoácido 824 (p. ej., G824E) ⁴²
Posición del aminoácido 825 (p. ej., G825G) ⁷³
Posición del aminoácido 830 (p. ej., R830Gfs*28) ⁷³

Posición del aminoácido 832 (p. ej., R832C ^{7,26} , R832H ⁴¹)
Posición del aminoácido 842 (p. ej., D842G) ²
Posición del aminoácido 848 (p. ej., D848N) ⁷³
Posición del aminoácido 855 (p. ej., G855R) ¹¹
Posición del aminoácido 859 (p. ej., T859R) ^{5,7}
Posición del aminoácido 865 (p. ej., A865V) ²⁷
Posición del aminoácido 866 (p. ej., S866A) ⁵⁷
Posición del aminoácido 868 (p. ej., V868D) ⁷³
Posición del aminoácido 869 (p. ej., Q869P) ⁷³
Posición del aminoácido 875 (p. ej., Q875X) ⁷³
Posición del aminoácido 877 (p. ej., G877R) ⁵⁶
Posición del aminoácido 879 (p. ej., I879R) ⁸⁸
Posición del aminoácido 893 (p. ej., A893V) ⁵⁷
Posición del aminoácido 901 (p. ej., S901R ¹⁷ , S901I ⁷³)
Posición del aminoácido 903 (p. ej., V903G) ⁵⁷
Δ Posición del aminoácido 919 ¹²
Posición del aminoácido 923 (p. ej., T923P) ^{2,7}
Posición del aminoácido 926 (p. ej., A926P) ^{2,7}
Posición del aminoácido 928 (p. ej., R928X ¹⁵ , R928Q ⁴⁰)
Posición del aminoácido 930 (p. ej., K930X ⁵ , K930Efs*79 ^{5,10} , K930Efs*49 ²⁶)
Posición del aminoácido 931 (p. ej., Q931P) ²⁷
Posición del aminoácido 945 (p. ej., S945N) ⁵⁷
Posición del aminoácido 948 (p. ej., R948C) ^{5,7,26}
Posición del aminoácido 958 (p. ej., R958Q) ²⁸
Posición del aminoácido 969 (p. ej., K969K) ⁸⁸
Δ Posición de los aminoácidos 969-972 ⁵
Posición del aminoácido 973 (p. ej., T973I) ⁵⁷
Posición del aminoácido 976 (p. ej., Q976R ⁵⁸ , Q976X ⁸⁸)

Posición del aminoácido 979 (p. ej., N979D) ^{5,7}
Posición del aminoácido 981 (p. ej., Y981Y) ²⁸
Posición del aminoácido 982 (p. ej., G982R) ^{2,5,7}
Posición de los aminoácidos 444 y 982 (p. ej., V444A+G982R) ³⁸
Posición del aminoácido 995 (p. ej., A995A) ²⁸
Posición del aminoácido 1001 (p. ej., R1001R) ⁹
Posición del aminoácido 1003 (p. ej., G1003R) ²⁴
Posición del aminoácido 1004 (p. ej., G1004D) ^{2,7}
Posición del aminoácido 1027 (p. ej., S1027R) ²⁶
Posición del aminoácido 1028 (p. ej., A1028A ^{7,10,88} , A1028E ⁸⁸)
Posición del aminoácido 1029 (p. ej., T1029K) ⁵
Posición del aminoácido 1032 (p. ej., G1032R) ¹²
Posición del aminoácido 1041 (p. ej., Y1041X) ⁹
Posición del aminoácido 1044 (p. ej., A1044P) ⁸⁸
Posición del aminoácido 1050 (p. ej., R1050C) ^{2,7,57}
Posición del aminoácido 1053 (p. ej., Q1053X) ⁵⁷
Posición del aminoácido 1055 (p. ej., L1055P) ³⁶
Posición del aminoácido 1057 (p. ej., R1057X ² , R1057Q ⁵⁸)
Posición del aminoácido 1058 (p. ej., Q1058Hfs*38 ⁹ , Q1058fs*38 ¹⁷ , Q1058X ⁷³)
Posición del aminoácido 1061 (p. ej., I1061Vfs*34) ⁹
Posición del aminoácido 1083 (p. ej., C1083Y) ⁴⁷
Posición del aminoácido 1086 (p. ej., T1086T) ²⁸
Posición del aminoácido 1090 (p. ej., R1090X) ^{2,5}
Posición del aminoácido 1099 (p. ej., L1099Lfs*38) ²⁶
Posición del aminoácido 1100 (p. ej., S1100Qfs*38) ¹³
Posición del aminoácido 1110 (p. ej., A1110E) ^{5,7}
Posición del aminoácido 1112 (p. ej., V1112F) ⁷⁰
Posición del aminoácido 1116 (p. ej., G1116R ⁷ , G1116F ^{9,17} , G1116E ³⁶)

Posición del aminoácido 1120 (p. ej., S1120N) ⁸⁸
Posición del aminoácido 1128 (p. ej., R1128H ^{2,7} , R1128C ^{5,7,13})
Posición del aminoácido 1131 (p. ej., D1131V) ²⁷
Posición del aminoácido 1144 (p. ej., S1144R) ⁷
Posición del aminoácido 1147 (p. ej., V1147X) ⁵
Posición del aminoácido 1153 (p. ej., R1153C ^{2,5,7} , R1153H ⁵)
Posición del aminoácido 1154 (p. ej., S1154P) ^{5,7}
Posición del aminoácido 1162 (p. ej., E1162X) ³⁹
Δ Posición del aminoácido 1165 ⁸⁸
Posición del aminoácido 1164 (p. ej., V1164Gfs*7)
Posición del aminoácido 1173 (p. ej., N1173D) ⁵⁷
Posición del aminoácido 1175 (p. ej., K1175T) ⁵⁸
Posición del aminoácido 1186 (p. ej., E1186K) ⁷
Posición del aminoácido 1192 (p. ej., A1192Efs*50) ⁹
Posición del aminoácido 1196 (p. ej., Q1196X) ⁸⁸
Posición del aminoácido 1197 (p. ej., L1197G) ⁷
Posición del aminoácido 1198 (p. ej., H1198R) ²⁷
Posición del aminoácido 1204 (p. ej., L1204P) ⁸⁸
Posición del aminoácido 1208 (p. ej., Y1208C) ⁷³
Posición del aminoácido 1210 (p. ej., T1210P ^{5,7} , T1210F ⁵⁷)
Posición del aminoácido 1211 (p. ej., N1211D) ⁷
Posición del aminoácido 1212 (p. ej., V1212F) ³⁶
Posición del aminoácido 1215 (p. ej., Q1215X) ⁵
Posición del aminoácido 1221 (p. ej., R1221K) ⁵³
Posición del aminoácido 1223 (p. ej., E1223D) ⁷
Posición del aminoácido 1226 (p. ej., R1226P) ⁷³
Posición del aminoácido 1228 (p. ej., A1228V) ⁷
Posición del aminoácido 1231 (p. ej., R1231W ^{5,7} , R1231Q ^{5,7})

Posición del aminoácido 1232 (p. ej., A1232D) ¹⁷
Posición del aminoácido 1235 (p. ej., R1235X) ^{5,12}
Posición del aminoácido 1242 (p. ej., L1242I) ^{5,7}
Posición del aminoácido 1243 (p. ej., D1243G) ⁶⁷
Posición del aminoácido 1249 (p. ej., L1249X) ⁷³
Posición del aminoácido 1256 (p. ej., T1256fs*1296) ⁸³
Posición del aminoácido 1268 (p. ej., R1268Q) ^{2,7}
Posición del aminoácido 1276 (p. ej., R1276H) ³⁰
Posición del aminoácido 1283 (p. ej., A1283A ²⁸ , A1283V ⁸⁸)
Posición del aminoácido 1292 (p. ej., G1292V) ⁷³
Posición del aminoácido 1298 (p. ej., G1298R) ⁵
Posición del aminoácido 1302 (p. ej., E1302X) ⁵
Posición del aminoácido 1311 (p. ej., Y1311X) ⁵⁷
Posición del aminoácido 1316 (p. ej., T1316Lfs*64) ¹⁵
Posición del aminoácido 1321 (p. ej., S1321N) ⁵⁷
Intrón 4 ((+3)A>C) ¹
IVS4-74A>T ⁸⁹
Mutación del lugar de corte 3' Intrón 5 c.3901G>A ⁵
Mutación del lugar de corte 5; Intrón 7 c.6111G>A ⁵
Mutación del lugar de corte IVS7+1G>A ¹⁴
IVS7+5G>A ⁴⁰
IVS8+1G>C ⁷⁶
Mutación del lugar de corte 5' Intrón 9 c.9081delG ⁵
Mutación del lugar de corte 5' Intrón 9 c.9081G>T ⁵
Mutación del lugar de corte 5' Intrón 9 c.9081G>A ⁵
Mutación del lugar de corte IVS9+1G>T ¹⁴
Mutación del lugar de corte 3' Intrón 13 c.143513_1435-8del ⁵
Mutación del lugar de corte IVS13del-13^8 ¹⁴

Mutación del lugar de corte 3' Intrón 16 c.20128T>G ⁵
Mutación del lugar de corte IVS16-8T>G ¹⁴
Mutación del lugar de corte 5' Intrón 18 c.21781G>T ⁵
Mutación del lugar de corte 5' Intrón 18 c.21781G>A ⁵
Mutación del lugar de corte 5' Intrón 18 c.21781G>C ⁵
Mutación del lugar de corte 3' Intrón 18 c.21792A>G ⁵
Mutación del lugar de corte IVS18+1G>A ¹⁴
Mutación del lugar de corte 5' Intrón 19 c.2343+1G>T ⁵
Mutación del lugar de corte 5' Intrón 19 c.2343+2T>C ⁵
Mutación del lugar de corte IVS19+2T>C ¹⁴
Mutación del lugar de corte IVS19+1G>A ²²
Mutación del lugar de corte 3' Intrón 21 c.26112A>T ⁵
IVS22+3A>G ⁸⁹
IVS 23-8 G-A ³⁶
IVS24+5G>A ⁵¹
Mutación del lugar de corte 5' Intrón 24 c.32131delG ⁵
IVS35-6C>G ⁸⁹
Mutación de corte putativo 1198-1G>C ¹⁷
Mutación de corte putativo 1810-3C>G ¹⁷
Mutación de corte putativo 2178+1G>A ¹⁷
Mutación de corte putativo 2344-1G>T ¹⁷
Mutación de corte putativo c.2611-2A>T ³⁹
Mutación de corte putativo 3213+1_3213+2delinsA ¹⁷
c.-24C>A ^{44,78}
c.76 13 G>T ⁹
c.77-19T>A ⁵²
c.90_93delGAAA ¹⁸
c.124G>A ⁶⁹

c.150 +3 A>C ¹⁰
174C>T ⁵⁴
c.245T>C ⁸⁷
c.249_250insT ¹⁸
270T>C ⁵⁴
402C>T ⁵⁴
585G>C ⁵⁴
c.611+1G>A ⁷⁰
c.611+4A>G ³⁶
c.612-15_-6del10bp ⁵⁵
c.625A>C ³¹
c.627+5G>T ³¹
c.625A>C/c.627+5G>T ³¹
696G>T ⁵⁴
c. 784+1G>C ⁴⁹
807T>C ⁵⁴
c.886C>T ³¹
c.890A>G ⁵⁹
c.908+1G>A ⁵⁷
c.908+5G>A ⁵⁵
c.908delG ⁵⁹
c.909-15A>G ⁶⁶
957A>G ⁵⁴
c.1084-2A>G ⁵⁷
eliminación de 1145 1 bp ⁹⁰
1281C>T ^{54,57}
c.1309-165C > T ¹⁹
c.1434 + 174G > A ¹⁹

c.1434 + 70C > T ¹⁹
c.1530C>A ⁵⁷
c.1587-1589delCTT ³¹
c.1621A>C ^{33,59}
c.1638+32T>C ⁶⁶
c.1638+80C>T ⁶⁶
1671C>T ⁵⁴
1791G>T ⁵⁴
1939delA ¹⁴
c.2075+3A>G ⁵³
c.2081T>A ³¹
c.2093G>A ⁶⁵
2098delA ¹⁶
c.2138-8T>G ⁶⁷
2142A>G ⁵⁴
c.2178+1G>T ^{36,39}
c.2179-17C>A ⁶⁶
c.2344-157T>G ⁶⁶
c.2344-17T>C ⁶⁶
c.2417G>A ⁷⁸
c.2541delG ⁸⁷
c.2620C>T ^{32,33}
c.2815-8A>G ⁵⁵
c.3003A>G ³⁷
c.3084A>G ^{48,54}
c.3213 +4 A>G ^{9,37}
c.3213 +5 G>A ⁹
c.3268C>T ⁷⁵

3285A>G ⁵⁴
c.3382C>T ⁷⁵
3435A>G ⁵⁴
c.3491delT ⁷²
c.3589C>T ⁵⁷
c.3765(+1 +5)del5 ⁴²
c.3766-34A>G ⁶⁶
c.3767-3768insC ⁶
c.3770delA ⁶⁷
c.3826C>T ⁷²
c.3846C>T ⁵⁷
c.3929delG ⁶⁷
c.*236A>G ⁶⁶
1145delC ⁸
Ex13_Ex17del ⁸²

[00165] Tabla 5. Mutaciones de ABCB11 seleccionadas asociadas con PFIC-2

Posición del aminoácido 1 (p. ej., M1V) ⁹
Posición del aminoácido 4 (p. ej., S4X) ⁶⁴
Posición del aminoácido 19 (p. ej., G19R) ⁵⁶
Posición del aminoácido 25 (p. ej., S25X) ¹⁴
Posición del aminoácido 26 (p. ej., Y26Ifs*7) ³⁸
Posición del aminoácido 50 (p. ej., L50S) ^{7,57}
Posición del aminoácido 52 (p. ej., R52W) ²⁶
Posición del aminoácido 58 (p. ej., D58N) ⁶²
Posición del aminoácido 62 (p. ej., M62K) ⁹
Posición del aminoácido 66 (p. ej., S66N) ¹⁷
Posición del aminoácido 68 (p. ej., C68Y) ⁴¹

Posición del aminoácido 93 (p. ej., Y93S) ¹³
Posición del aminoácido 101 (p. ej., Q101Dfs*8) ⁹
Posición del aminoácido 107 (p. ej., C107R) ³⁶
Posición del aminoácido 112 (p. ej., I112T) ⁹
Posición del aminoácido 114 (p. ej., W114R) ^{2,9}
Posición del aminoácido 129 (p. ej., C129Y) ²⁵
Posición del aminoácido 135 (p. ej., E135K ¹³ , E135L ¹⁷)
Posición del aminoácido 167 (p. ej., A167V ⁷ , A167T ^{9,17})
Posición del aminoácido 182 (p. ej., I182K) ⁹
Posición del aminoácido 183 (p. ej., M183V ⁸ , M183T ⁹)
Posición del aminoácido 225 (p. ej., T225P) ⁵⁷
Posición del aminoácido 226 (p. ej., S226L) ⁹
Posición del aminoácido 232 (p. ej., L232Cfs*9) ⁹
Posición del aminoácido 233 (p. ej., L233S) ⁸⁶
Posición del aminoácido 238 (p. ej., G238V) ^{2,7}
Posición del aminoácido 242 (p. ej., T242I) ⁷
Posición del aminoácido 245 (p. ej., I245Tfs*26) ⁵⁷
Posición del aminoácido 256 (p. ej., A256G) ⁹
Posición del aminoácido 260 (p. ej., G260D) ⁵⁷
Posición del aminoácido 284 (p. ej., V284L) ⁷
Posición del aminoácido 297 (p. ej., E297G) ^{2,7}
Posición del aminoácido 303 (p. ej., R303K ⁸ , R303M ⁶³ , R303fsX321 ⁸³)
Posición del aminoácido 304 (p. ej., Y304X) ²⁶
Posición del aminoácido 312 (p. ej., Q312H) ⁷
Posición del aminoácido 313 (p. ej., R313S) ⁷
Posición del aminoácido 314 (p. ej., W314X) ⁵⁷
Posición del aminoácido 318 (p. ej., K318Rfs*26) ²⁹
Posición del aminoácido 327 (p. ej., G327E) ⁷

Posición del aminoácido 330 (p. ej., V330X) ²⁴
Posición del aminoácido 336 (p. ej., C336S) ^{2,7}
Posición del aminoácido 337 (p. ej., Y337H) ²¹
Posición del aminoácido 342 (p. ej., W342G) ⁵⁰
Posición del aminoácido 354 (p. ej., R354X) ⁹
Posición del aminoácido 361 (p. ej., Q361X) ⁵⁷
Posición del aminoácido 366 (p. ej., V366D) ⁵⁷
Posición del aminoácido 386 (p. ej., G386X) ³⁴
Δ Posición de los aminoácidos 383-389 ⁵⁷
Posición del aminoácido 387 (p. ej., R387H) ⁹
Posición del aminoácido 390 (p. ej., A390P) ⁷
Posición del aminoácido 410 (p. ej., G410D) ⁷
Posición del aminoácido 413 (p. ej., L413W) ⁷
Posición del aminoácido 415 (p. ej., R415X) ⁴²
Posición del aminoácido 420 (p. ej., I420T) ⁹
Posición del aminoácido 454 (p. ej., V454X) ⁴⁹
Posición del aminoácido 455 (p. ej., G455E) ⁹
Posición del aminoácido 461 (p. ej., K461E) ^{2,7}
Posición del aminoácido 463 (p. ej., T463I) ⁷
Posición del aminoácido 466 (p. ej., Q466K) ⁷
Posición del aminoácido 470 (p. ej., R470Q ⁷ , R470X ⁹)
Posición del aminoácido 472 (p. ej., Y472X ¹⁴ , Y472C ²⁷)
Posición del aminoácido 475 (p. ej., C475X) ²⁹
Posición del aminoácido 481 (p. ej., V481E) ⁷
Posición del aminoácido 482 (p. ej., D482G) ^{2,7}
Posición del aminoácido 484 (p. ej., H484Rfs*5) ⁹
Posición del aminoácido 487 (p. ej., R487H ² , R487P ⁸⁴)
Posición del aminoácido 490 (p. ej., N490D) ⁷

Posición del aminoácido 493 (p. ej., W493X) ⁸
Posición del aminoácido 498 (p. ej., I498T) ⁷
Posición del aminoácido 501 (p. ej., V501G) ⁶⁸
Posición del aminoácido 512 (p. ej., I512T) ⁷
Posición del aminoácido 515 (p. ej., N515T ⁷ , N515D ⁶⁴)
Posición del aminoácido 516 (p. ej., I516M) ¹⁷
Posición del aminoácido 517 (p. ej., R517H) ⁷
Posición del aminoácido 520 (p. ej., R520X) ⁵⁷
Posición del aminoácido 523 (p. ej., A523G) ¹³
Posición del aminoácido 528 (p. ej., I528X) ⁹
Posición del aminoácido 540 (p. ej., F540L) ⁴⁶
Posición del aminoácido 541 (p. ej., I541L ⁷ , I541T ¹⁷)
Posición del aminoácido 548 (p. ej., F548Y) ⁷
Posición del aminoácido 549 (p. ej., D549V) ⁹
Posición del aminoácido 554 (p. ej., E554K) ²¹
Posición del aminoácido 559 (p. ej., M559T) ⁵⁷
Posición del aminoácido 562 (p. ej., G562D) ⁷
Posición del aminoácido 570 (p. ej., A570T ⁷ , A570V ²⁶)
Posición del aminoácido 575 (p. ej., R575X ² , R575Q ²¹)
Posición del aminoácido 588 (p. ej., A588V) ⁷
Posición del aminoácido 591 (p. ej., N591S) ^{9,17}
Posición del aminoácido 593 (p. ej., S593R) ^{2,7}
Posición del aminoácido 597 (p. ej., V597V ⁹ , V597L ¹³)
Posición de los aminoácidos 591 y 597 (p. ej., N591S+V597V) ⁹
Posición del aminoácido 603 (p. ej., K603K) ⁵⁵
Posición del aminoácido 609 (p. ej., H609Hfs*46) ²⁶
Posición del aminoácido 610 (p. ej., I610Gfs*45) ⁹
Posición del aminoácido 615 (p. ej., H615R) ²⁶

Posición del aminoácido 625 (p. ej., T625Nfs*5) ²⁶
Posición del aminoácido 627 (p. ej., I627T) ⁷
Posición del aminoácido 636 (p. ej., E636G) ²
Posición del aminoácido 669 (p. ej., I669V) ²⁶
Posición del aminoácido 698 (p. ej., R609H) ⁹
Posición de los aminoácidos 112 y 698 (p. ej., I112T+R698H) ⁹
Posición del aminoácido 699 (p. ej., S699P) ⁹
Posición del aminoácido 766 (p. ej., G766R) ²⁴
Posición del aminoácido 806 (p. ej., G806G) ⁵⁵
Posición del aminoácido 824 (p. ej., G824E) ⁴²
Posición del aminoácido 832 (p. ej., R832C ^{7,26} , R832H ⁴¹)
Posición del aminoácido 842 (p. ej., D842G) ²
Posición del aminoácido 859 (p. ej., T859R) ⁷
Posición del aminoácido 865 (p. ej., A865V) ⁴⁵
Posición del aminoácido 877 (p. ej., G877R) ⁵⁶
Posición del aminoácido 893 (p. ej., A893V) ⁵⁷
Posición del aminoácido 901 (p. ej., S901R) ¹⁷
Posición del aminoácido 903 (p. ej., V903G) ⁵⁷
Δ Posición del aminoácido 919 ¹²
Posición del aminoácido 928 (p. ej., R928X) ^{15,21}
Posición del aminoácido 930 (p. ej., K930Efs*79 ¹⁰ , K930Efs*49 ²⁶)
Posición del aminoácido 948 (p. ej., R948C) ^{7,26}
Posición del aminoácido 979 (p. ej., N979D) ⁷
Posición del aminoácido 982 (p. ej., G982R) ^{2,7}
Posición de los aminoácidos 444 y 982 (p. ej., V444A+G982R) ³⁸
Posición del aminoácido 1001 (p. ej., R1001R) ⁹
Posición del aminoácido 1003 (p. ej., G1003R) ²⁴
Posición del aminoácido 1004 (p. ej., G1004D) ^{2,7}

Posición del aminoácido 1027 (p. ej., S1027R) ²⁶
Posición del aminoácido 1028 (p. ej., A1028A) ¹⁰
Posición del aminoácido 1032 (p. ej., G1032R) ¹²
Posición del aminoácido 1041 (p. ej., Y1041X) ⁹
Posición del aminoácido 1050 (p. ej., R1050C) ⁵⁷
Posición del aminoácido 1053 (p. ej., Q1053X) ⁵⁷
Posición del aminoácido 1055 (p. ej., L1055P) ³⁶
Posición del aminoácido 1057 (p. ej., R1057X) ²
Posición del aminoácido 1058 (p. ej., Q1058Hfs*38 ⁹ , Q1058fs*38 ¹⁷)
Posición del aminoácido 1061 (p. ej., I1061Vfs*34) ⁹
Posición del aminoácido 1083 (p. ej., C1083Y) ⁴⁷
Posición del aminoácido 1090 (p. ej., R1090X) ²
Posición del aminoácido 1099 (p. ej., L1099Lfs*38) ²⁶
Posición del aminoácido 1100 (p. ej., S1100Qfs*38) ¹³
Posición del aminoácido 1110 (p. ej., A1110E) ⁷
Posición del aminoácido 1116 (p. ej., G1116R ⁷ , G1116F ^{9,17} , G1116E ³⁶)
Posición del aminoácido 1128 (p. ej., R1128C) ^{7,13}
Posición del aminoácido 1131 (p. ej., D1131V) ²⁷
Posición del aminoácido 1144 (p. ej., S1144R) ⁷
Posición del aminoácido 1153 (p. ej., R1153C ^{2,7} , R1153H ^{7,26})
Posición del aminoácido 1154 (p. ej., S1154P) ⁷
Posición del aminoácido 1173 (p. ej., N1173D) ⁵⁷
Posición del aminoácido 1192 (p. ej., A1192Efs*50) ⁹
Posición del aminoácido 1198 (p. ej., H1198R) ²⁷
Posición del aminoácido 1210 (p. ej., T1210P ⁷ , T1210F ⁵⁷)
Posición del aminoácido 1211 (p. ej., N1211D) ⁷
Posición del aminoácido 1212 (p. ej., V1212F) ³⁶
Posición del aminoácido 1231 (p. ej., R1231W ⁷ , R1223Q ⁷)

Posición del aminoácido 1232 (p. ej., A1232D) ¹⁷
Posición del aminoácido 1235 (p. ej., R1235X) ¹²
Posición del aminoácido 1242 (p. ej., L1242I) ⁷
Posición del aminoácido 1256 (p. ej., T1256fs*1296) ⁸³
Posición del aminoácido 1268 (p. ej., R1268Q) ^{2,7}
Posición del aminoácido 1302 (p. ej. E1302X) ⁵⁷
Posición del aminoácido 1311 (p. ej., Y1311X) ⁵⁷
Posición del aminoácido 1316 (p. ej., T1316Lfs*64) ¹⁵
Intrón 4 ((+3)A>C) ¹
Mutación del lugar de corte IVS7+1G>A ¹⁴
IVS8+1G>C ⁷⁶
Mutación del lugar de corte IVS9+1G>T ¹⁴
Mutación del lugar de corte IVS13del-13 [^] -8 ¹⁴
Mutación del lugar de corte IVS16-8T>G ¹⁴
Mutación del lugar de corte IVS18+1G>A ¹⁴
Mutación del lugar de corte IVS19+2T>C ¹⁴
IVS 23-8 G-A ³⁶
IVS24+5G>A ⁵¹
Mutación de corte putativo 1198-1G>C ¹⁷
Mutación de corte putativo 1810-3C>G ¹⁷
Mutación de corte putativo 2178+1G>A ¹⁷
Mutación de corte putativo 2344-1G>T ¹⁷
Mutación de corte putativo 3213+1_3213+2delinsA ¹⁷
c.-24C>A ⁷⁸
c.76 13 G>T ⁹
c.77-19T>A ⁵²
c.90_93delGAAA ¹⁸
c.124G>A ⁶⁹

c.150 +3 A>C ¹⁰
c.249_250insT ¹⁸
c.611+1G>A ⁸⁴
c.611+4A>G ³⁶
c.612-15_-6del10bp ⁵⁵
c.625A>C ³¹
c.627+5G>T ³¹
c.625A>C/c.627+5G>T ³¹
c.886C>T ³¹
c.890A>G ⁵⁹
c.908+1G>A ⁵⁷
c.908+5G>A ⁵⁵
c.908delG ⁵⁹
eliminación de 1273 1 bp ⁹¹
c.1084-2A>G ⁵⁷
c.1445A>G ⁵⁹
c.1587-1589delCTT ³¹
c.1621A>C ⁵⁹
1939delA ¹⁴
c.2081T>A ³¹
2098delA ¹⁶
c.2343+1 G>T ⁸⁰
c.2178+1G>T ³⁶
c.2417G>A ⁷⁸
c.2620C>T ³²
c.2815-8A>G ⁵⁵
c.3003A>G ³⁷
c.3213 +4 A>G ^{9,37}

c.3213 +5 G>A ⁹
c.3268C>T ⁷⁵
c.3382C>T ⁷⁵
c.3765(+1 +5)del5 ⁴²
c.3767-3768insC ⁶
1145delC ⁸
Ex13_Ex17del ⁸²

[00166] ^A Una mutación a 'X' denota un codón de detención temprano

[00167] *Referencias para las Tablas 4 y 5*

[00168] ¹ Noe *et al.*, J Hepatol. 2005, vol. 43(3), p. 536-543.

[00169] ² Lam *et al.*, Am J Physiol Cell Physiol. 2007, vol. 293(5), p. C1709-16.

[00170] ³ Stindt *et al.*, Liver Int. 2013, vol. 33(10), p. 1527-1735.

[00171] ⁴ Gao *et al.*, Shandong Yiyao 2012, vol. 52(10), p. 14-16.

[00172] ⁵ Strautnieks *et al.*, Gastroenterology. 2008, vol. 134(4), p. 1203-1214.

[00173] ⁶ Kagawa *et al.*, Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2008, vol. 294(1), p. G58-67.

[00174] ⁷ Byrne *et al.*, Hepatology. 2009, vol. 49(2), p. 553-567.

[00175] ⁸ Chen *et al.*, J Pediatr. 2008, vol. 153(6), p. 825-832.

[00176] ⁹ Davit-Spraul *et al.*, Hepatology 2010, vol. 51(5), p. 1645-1655.

[00177] ¹⁰ Dröge *et al.*, Sci Rep. 2016, vol. 6: 24827.

[00178] ¹¹ Lang *et al.*, Pharmacogenet Genomics. 2007, vol. 17(1), p. 47-60.

[00179] ¹² Ellinger *et al.*, World J Gastroenterol. 2017, vol. 23(29), p. :5295-5303.

[00180] ¹³ Vitale *et al.*, J Gastroenterol. 2018, vol. 53(8), p. 945-958.

[00181] ¹⁴ Knisely *et al.*, Hepatology. 2006, vol. 44(2), p. 478-86.

[00182] ¹⁵ Ellis *et al.*, Hepatology. 2018, vol. 67(4), p. 1531-1545.

[00183] ¹⁶ Lam *et al.*, J Hepatol. 2006, vol. 44(1), p. 240-242.

[00184] ¹⁷ Varma *et al.*, Hepatology 2015, vol. 62(1), p. 198-206.

[00185] ¹⁸ Treepongkaruna *et al.*, World J Gastroenterol. 2009, vol. 15(34), p. 4339-4342.

- [00186] ¹⁹ Zarenezhad *et al.*, Hepatitis Monthly: 2017, vol. 17(2); e43500.
- [00187] ²⁰ Hayashi *et al.*, Hepatol Res. 2016, vol. 46(2), p. 192-200.
- [00188] ²¹ Guorui *et al.*, Linchuang Erke Zazhi 2013, vol. 31(10), 905-909.
- [00189] ²² van Mil *et al.*, Gastroenterology. 2004, vol. 127(2), p. 379-384.
- [00190] ²³ Anzivino *et al.*, Dig Liver Dis. 2013, vol. 45(3), p. 226-232.
- [00191] ²⁴ Park *et al.*, World J Gastroenterol. 2016, vol. 22(20), p. 4901-4907.
- [00192] ²⁵ Imagawa *et al.*, J Hum Genet. 2018, vol. 63(5), p. 569-577.
- [00193] ²⁶ Giovannoni *et al.*, PLoS One. 2015, vol. 10(12): e0145021.
- [00194] ²⁷ Hu *et al.*, Mol Med Rep. 2014, vol. 10(3), p. 1264-1274.
- [00195] ²⁸ Lang *et al.*, Drug Metab Dispos. 2006, vol. 34(9), p. 1582-1599.
- [00196] ²⁹ Masahata *et al.*, Transplant Proc. 2016, vol. 48(9), p. 3156-3162.
- [00197] ³⁰ Holz *et al.*, Hepatol Commun. 2018, vol. 2(2), p. 152-154.
- [00198] ³¹ Li *et al.*, Hepatology International 2017, vol. 11, n.º 1, Supp. Supplement 1, pp. S180. Número de resumen: OP284.
- [00199] ³² Francalanci *et al.*, Laboratory Investigation 2011, vol. 91, Supp. SUPPL. 1, pp. 360A. Número de resumen: 1526.
- [00200] ³³ Francalanci *et al.*, Digestive and Liver Disease 2010, vol. 42, Supp. SUPPL. 1, pp. S16. Número de resumen: T.N.5.
- [00201] ³⁴ Shah *et al.*, J Pediatr Genet. 2017, vol. 6(2), p. 126-127.
- [00202] ³⁵ Gao *et al.*, Hepatitis Monthly 2017, vol. 17(10), e55087/1-e55087/6.
- [00203] ³⁶ Evason *et al.*, Am J Surg Pathol. 2011, vol. 35(5), p. 687-696.
- [00204] ³⁷ Davit-Spraul *et al.*, Mol Genet Metab. 2014, vol. 113(3), p. 225-229.
- [00205] ³⁸ Maggiore *et al.*, J Hepatol. 2010, vol. 53(5), p. 981-6.
- [00206] ³⁹ McKay *et al.*, Version 2. F1000Res. 2013; 2: 32. DOI: 10.12688/f1000research.2-32.v2
- [00207] ⁴⁰ Liu *et al.*, Pediatr Int. 2013, vol. 55(2), p. 138-144.
- [00208] ⁴¹ Waisbourd-Zinman *et al.*, Ann Hepatol. 2017, vol. 16(3), p. 465-468.
- [00209] ⁴² Griffin, *et al.*, Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology 2016, vol. 2016. Número de resumen: A200. Meeting Info: 2016 Canadian

Digestive Diseases Week, CDDW 2016. Montreal, QC, Estados Unidos. 26 de febrero de 2016-29 de febrero de 2016

[00210] ⁴³ Qiu *et al.*, Hepatology 2017, vol. 65(5), p. 1655-1669.

[00211] ⁴⁴ Imagawa *et al.*, Sci Rep. 2017, 7:41806.

[00212] ⁴⁵ Kang *et al.*, J Pathol Transl Med. 16 de mayo de 2019. DOI: 10.4132/jptm.2019.05.03. [Epub antes de impresión]

[00213] ⁴⁶ Takahashi *et al.*, Eur J Gastroenterol Hepatol. 2007, vol. 19(11), p. 942-6.

[00214] ⁴⁷ Shimizu *et al.*, Am J Transplant. 2011, vol. 11(2), p. 394-398.

[00215] ⁴⁸ Krawczyk *et al.*, Ann Hepatol. 2012, vol. 11(5), p. 710-744.

[00216] ⁴⁹ Sharma *et al.*, BMC Gastroenterol. 2018, vol. 18(1), p. 107.

[00217] ⁵⁰ Sattler *et al.*, Journal of Hepatology 2017, vol. 66, n.º 1, Suppl. S, pp. S177. Meeting Info.: International Liver Congress/52nd Annual Meeting of the European-Association-for-the-Study-of-the-Liver. Amsterdam, PAÍSES BAJOS. 19 al 23 de abril de 2017. European Assoc Study Liver.

[00218] ⁵¹ Jung *et al.*, J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2007, vol. 44(4), p. 453-458.

[00219] ⁵² Sciveres. Digestive and Liver Disease 2010, vol. 42, Suppl. SUPPL. 5, pp. S329. Número de resumen: CO18. Meeting Info: 17th National Congress SIGENP. Pescara, Italia. 07 de octubre de 2010-09 de octubre de 2010

[00220] ⁵³ Sohn *et al.*, Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr. 2019, vol. 22(2), p. 201-206.

[00221] ⁵⁴ Ho *et al.*, Pharmacogenet Genomics. 2010, vol. 20(1), p. 45-57.

[00222] ⁵⁵ Wang *et al.*, Hepatol Res. 2018, vol. 48(7), p. 574-584.

[00223] ⁵⁶ Shaprio *et al.*, J Hum Genet. 2010, vol. 55(5), p. 308-313.

[00224] ⁵⁷ Bounford. University of Birmingham. Dissertation Abstracts International, (2016) Vol. 75, n.º 1C. N.º de Orden: AAI10588329. ProQuest Dissertations & Theses.

[00225] ⁵⁸ Stolz *et al.*, Aliment Pharmacol Ther. 2019, vol. 49(9), p. 1195-1204.

[00226] ⁵⁹ Jankowska *et al.*, J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2014, vol. 58(1), p. 92-95.

- [00227]** ⁶⁰ Kim. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 2016, vol. 62, Suppl. SUPPL. 1, pp. 620. Número de resumen: H-P-045. Meeting Info: 49th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, ESPGHAN 2016. Atenas, Grecia. 25 de mayo de 2016-28 de mayo de 2016.
- [00228]** ⁶¹ Pauli-Magnus *et al.*, Hepatology 2003, vol. 38, n.º 4 Suppl. 1, pp. 518A. Impreso. Meeting Info.: 54th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Boston, MA, EE. UU. 24 al 28 de octubre de 2003. American Association for the Study of Liver Diseases.
- [00229]** ⁶² Li *et al.*, Hepatology International 2017, vol. 11, n.º 1, Suppl. Supplement 1, pp. S362. Número de resumen: PP0347. Meeting Info: 26th Annual Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, APASL 2017. Shanghái, China. 15 de febrero de 2017-19 de febrero de 2017.
- [00230]** ⁶³ Rumbo *et al.*, Transplantation 2018, vol. 102, n.º 7, Suppl. Supplement 1, pp. S848. Número de resumen: P.752. Meeting Info: 27th International Congress of The Transplantation Society, TTS 2018. Madrid, España. 30 de junio de 2018-05 de julio de 2018.
- [00231]** ⁶⁴ Lee *et al.*, Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr. 2017, vol. 20(2), p. 114-123.
- [00232]** ⁶⁵ Sherref *et al.*, Liver international: official journal of the International Association for the Study of the Liver 2013, vol. 33, n.º 8, pp. 1266-1270.
- [00233]** ⁶⁶ Blackmore *et al.*, J Clin Exp Hepatol. 2013, vol. 3(2), p. 159-161.
- [00234]** ⁶⁷ Matte *et al.*, J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2010, vol. 51(4), p. 488-493.
- [00235]** ⁶⁸ Lin *et al.*, Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi. 2018, vol. 20(9), p. 758-764.
- [00236]** ⁶⁹ Harmanci *et al.*, Experimental y Clinical Transplantation 2015, vol. 13, Suppl. SUPPL. 2, pp. 76. Número de resumen: P62. Meeting Info: 1st Congress of the Turkic World Transplantation Society. Astana, Kazajistán. 20 de mayo de 2015-22 de mayo de 2015.

- [00237]** ⁷⁰ Herbst *et al.*, Mol Cell Probes. 2015, vol. 29(5), p. 291-298.
- [00238]** ⁷¹ Moghadamrad *et al.*, Hepatology. 2013, vol. 57(6), p. 2539-2541.
- [00239]** ⁷² Holz *et al.*, Zeitschrift fur Gastroenterologie 2016, vol. 54, n.º 8. Número de resumen: KV275. Meeting Info: Viszeralmedizin 2016, 71. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft fur Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten mit Sektion Endoskopie - 10. Herbsttagung der Deutschen Gesellschaft fur Allgemein- und Viszeralchirurgie. Hamburgo, Alemania. 21 de septiembre de 2016-24 de septiembre de 2016.
- [00240]** ⁷³ Wang *et al.*, PLoS One. 2016; vol. 11(4): e0153114.
- [00241]** ⁷⁴ Hao *et al.*, International Journal of Clinical and Experimental Pathology 2017, vol. 10(3), p. 3480-3487.
- [00242]** ⁷⁵ Arnell *et al.*, J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2010, vol. 51(4), p. 494-499.
- [00243]** ⁷⁶ Sharma *et al.*, Indian Journal of Gastroenterology 2017, vol. 36, n.º 1, Supp. Supplement 1, pp. A99. Número de resumen: M-20. Meeting Info: 58th Annual Conference of the Indian Society of Gastroenterology, ISGCON 2017. Bhubaneswar, India. 14 de diciembre de 2017-17 de diciembre de 2017.
- [00244]** ⁷⁷ Beauséjour *et al.*, Can J Gastroenterol. 2011, vol. 25(6), p. 311-314.
- [00245]** ⁷⁸ Imagawa *et al.*, Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 2016, vol. 63, Supp. Supplement 2, pp. S51. Número de resumen: 166. Meeting Info: World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition 2016. Montreal, QC, Canadá. 05 de octubre de 2016-08 de octubre de 2016.
- [00246]** ⁷⁹ Peng *et al.*, Zhonghua er ke za zhi (Chinese journal of pediatrics) 2018, vol. 56, n.º 6, pp. 440-444.
- [00247]** ⁸⁰ Tibesar *et al.*, Case Rep Pediatr. 2014, vol. 2014: 185923.
- [00248]** ⁸¹ Ng *et al.*, Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 2018, vol. 66, Supp. Supplement 2, pp. 860. Número de resumen: H-P-127. Meeting Info: 51st Annual Meeting European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, ESPGHAN 2018. Ginebra, Suiza. 9 de mayo de 2018-12 de mayo de 2018.

- [00249]** ⁸² Wong *et al.*, Clin Chem. 2008, vol. 54(7), p. 1141-1148.
- [00250]** ⁸³ Pauli-Magnus *et al.*, J Hepatol. 2005, vol. 43(2), p. 342-357.
- [00251]** ⁸⁴ Jericho *et al.*, Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. 60, vol. 3, p. 368-374.
- [00252]** ⁸⁵ Scheimann *et al.*, Gastroenterology 2007, vol. 132, n.º 4, Suppl. 2, pp. A452. Meeting Info.: Digestive Disease Week Meeting/108th Annual Meeting of the American-Gastroenterological-Association. Washington, DC, EE. UU. 19 al 24 de mayo de 2007. Amer Gastroenterol Assoc; Amer Assoc Study Liver Dis; Amer Soc Gastrointestinal Endoscopy; Soc Surg Alimentary Tract.
- [00253]** ⁸⁶ Jaquotot-Haerranz *et al.*, Rev Esp Enferm Dig. 2013, vol. 105(1), p. 52-54.
- [00254]** ⁸⁷ Khosla *et al.*, American Journal of Gastroenterology 2015, vol. 110, n.º Suppl. 1, pp. S397. Meeting Info.: 80th Annual Scientific Meeting of the American-College-of-Gastroenterology. Honolulu, HI, EE. UU. 16 al 21 de octubre de 2015.
- [00255]** ⁸⁸ Dröge *et al.*, J Hepatol. 2017, vol. 67(6), p. 1253-1264.
- [00256]** ⁸⁹ Liu *et al.*, Liver International 2010, vol. 30(6), p. 809-815.
- [00257]** ⁹⁰ Chen *et al.*, Journal of Pediatrics 2002, vol. 140(1), p. 119-124.
- [00258]** ⁹¹ Patente de los EE. UU. n.º 9,295,677
- [00259]** En algunas realizaciones, la mutación en ABCB11 se selecciona de A167T, G238V, V284L, E297G, R470Q, R470X, D482G, R487H, A570T, N591S, A865V, G982R, R1153C y R1268Q.
- [00260]** Se proporcionan los métodos para tratar PFIC (p. ej., PFIC-1 y PFIC-2) en un sujeto que incluyen realizar un ensayo en una muestra obtenida del sujeto para determinar si el sujeto tiene una mutación asociada con PFIC (p. ej., a ATP8B1, ABCB11, ABCB4, TJP2, NR1H4 o Myo5b mutación), y administrar (p. ej., administrar de forma específica o selectiva) una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, al sujeto que tiene la determinación de tener una mutación asociada con PFIC. En algunas realizaciones, la mutación

es una mutación ATP8B1 o ABCB11. Por ejemplo, se proporciona una mutación en cualesquiera de las Tablas 1-4. En algunas realizaciones, la mutación en ATP8B1 se selecciona de L127P, G308V, T456M, D554N, F529del, I661T, E665X, R930X, R952X, R1014X y G1040R. En algunas realizaciones, la mutación en ABCB11 se selecciona de A167T, G238V, V284L, E297G, R470Q, R470X, D482G, R487H, A570T, N591S, A865V, G982R, R1153C y R1268Q.

[00261] También se proporcionan los métodos para tratar PFIC (p. ej., PFIC-1 y PFIC-2) en un sujeto que lo necesita, el método que comprende: (a) detectar una mutación asociada con PFIC (p. ej., una mutación ATP8B1, ABCB11, ABCB4, TJP2, NR1H4 o Myo5b) en el sujeto; y (b) administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas realizaciones, los métodos para tratar PFIC pueden incluir una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, a un sujeto que tiene una mutación asociada con PFIC (p. ej., una mutación ATP8B1, ABCB11, ABCB4, TJP2, NR1H4 o Myo5b). En algunas realizaciones, la mutación es una mutación ATP8B1 o ABCB11. Por ejemplo, se proporciona una mutación en cualesquiera de las Tablas 1-4. En algunas realizaciones, la mutación en ATP8B1 se selecciona de L127P, G308V, T456M, D554N, F529del, I661T, E665X, R930X, R952X, R1014X y G1040R. En algunas realizaciones, la mutación en ABCB11 se selecciona de A167T, G238V, V284L, E297G, R470Q, R470X, D482G, R487H, A570T, N591S, A865V, G982R, R1153C y R1268Q.

[00262] En algunas realizaciones, el sujeto tiene la determinación de tener una mutación asociada con PFIC en un sujeto o una muestra de biopsia del sujeto mediante el uso de todas las pruebas reconocidas de la técnica, incluido el proceso secuencial de la generación (NGS). En algunas realizaciones, el sujeto tiene la determinación de tener una mutación asociada con PFIC usando una prueba aprobada por un organismo regulador, p. ej., una prueba o un ensayo aprobado por la FDA para identificar una mutación asociada con PFIC en un sujeto o una muestra de biopsia del sujeto o al realizar cualesquiera de los

ejemplos no limitantes de los ensayos que se describen en la presente. Los métodos adicionales para diagnosticar PFIC se describen en Gunaydin, M. *et al.*, *Hepat Med.* 2018, vol. 10, p. 95-104, incorporado en el presente como referencia en su totalidad.

[00263] En algunas realizaciones, el tratamiento de PFIC (p. ej., PFIC-1 o PFIC-2) disminuye el nivel de ácidos biliares en suero en el sujeto. En algunas realizaciones, el nivel de ácidos biliares en suero se determina, por ejemplo, un ensayo enzimático de ELISA o los ensayos para la medición de los ácidos biliares totales según se describe en Danese et al., *PLoS One.* 2017, vol. 12(6): e0179200, que se incorpora como referencia en su totalidad en la presente. En algunas realizaciones, el nivel de ácidos biliares en suero puede disminuir, por ejemplo, del 10% al 40%, del 20% al 50%, del 30% al 60%, del 40% al 70%, del 50% al 80%, o más del 90% del nivel de ácidos biliares en suero antes de la administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas realizaciones, el tratamiento de PFIC incluye el tratamiento del prurito.

[00264] Ya que el LBAT se expresa en hepatocitos, el LBAT y las sustancias duales inhibitoras de ASBT/LBAT deben tener al menos algo de biodisponibilidad y una fracción libre en la sangre. Debido a que los compuestos del inhibidor de LBAT solo deben sobrevivir del intestino al hígado, se espera que una exposición sistémica relativamente baja de dichos compuestos sea suficiente, por lo tanto, minimiza el posible riesgo de cualquier efecto secundario en el resto del cuerpo. Se espera que la inhibición del LBAT y ASBT tenga al menos efectos aditivos en la disminución de la concentración del ácido biliar intrahepático. También se espera que un inhibidor dual de ASBT/LBAT sea capaz de reducir los niveles de ácido biliar sin inducir diarrea, como se observa a veces con los inhibidores de ASBT.

[00265] Los compuestos que tienen una potencia inhibitoria alta del LBAT y suficiente biodisponibilidad se espera que sean particularmente idóneos para el tratamiento de hepatitis. Los compuestos que tienen una potencia inhibitoria dual

del ASBT/LBAT y suficiente biodisponibilidad se espera que sean particularmente idóneos para el tratamiento de la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA).

[00266] La EHNA es una enfermedad hepática crónica grave y frecuente que se asemeja a la enfermedad hepática alcohólica, pero que ocurre en personas que beben poco alcohol o no beben alcohol. En pacientes con EHNA, la acumulación de grasa en el hígado, conocida como enfermedad de hígado graso no alcohólica (NAFLD) o esteatosis, y otros factores tales como colesterol LDL alto y resistencia a la insulina inducen a la inflamación crónica en el hígado y puede conducir a la cicatrización del tejido, conocida como fibrosis, y cirrosis, seguida finalmente por insuficiencia hepática y la muerte. Se descubrió que los pacientes con EHNA tienen concentraciones significativamente más altas de ácido biliar total en suero que los sujetos sanos en condiciones de ayuno (aumento de 2,2 a 2,4 veces en EHNA) y en todos los puntos temporales después de la ingesta (aumento de 1,7 a 2,2 veces en EHNA). Estos son impulsados por un aumento en los ácidos biliares primarios y secundarios conjugados por glicina y taurina. Los pacientes con la EHNA mostraron una mayor variabilidad en los ayunos y en el perfil del ácido biliar después de la ingesta. Estos resultados indican que los pacientes con la EHNA tienen una exposición mayor en ayuno y después de la ingesta a los ácidos biliares, que incluyen las especies más hidrofóbicas y citotóxicas secundarias. Un aumento en la exposición del ácido biliar puede estar implicada en una lesión hepática y la patogénesis de NAFLD y EHNA (Ferslew *et al.*, Dig Dis Sci. 2015, vol. 60, p. 3318–3328). Por lo tanto, es probable que la inhibición de ASBT y/o LBAT sea beneficiosa para el tratamiento de la EHNA.

[00267] NAFLD se caracteriza por la esteatosis hepática sin causas secundarias de esteatosis hepática que incluye consumo excesivo de alcohol, otras enfermedades hepáticas conocidas o uso a largo plazo de un medicamento esteatogénico (Chalasani *et al.*, Hepatology 2018, vol. 67(1), p. 328-357). NAFLD se puede categorizar en hígado graso no alcohólico (NAFL) y esteatohepatitis no

alcohólica (EHNA). De acuerdo con Chalasani *et al.*, NAFL se define como la presencia de $\geq 5\%$ de esteatosis hepática sin evidencia de lesión hepatocelular en la forma de degeneración vacuolar de hepatocitos. La EHNA se define como la presencia de $\geq 5\%$ de esteatosis hepática e inflamación con lesión de hepatocitos (p. ej., degeneración vacuolar), con o sin ninguna fibrosis hepática. La EHNA también está asociada con frecuencia con inflamación hepática y fibrosis hepática, que puede evolucionar a cirrosis, enfermedad hepática en etapa terminal y carcinoma hepatocelular. Aunque la fibrosis hepática no siempre te presente en la EHNA, la gravedad de la fibrosis, cuando está presente, se puede vincular con los resultados a largo plazo.

[00268] Hay muchos métodos que se usan para evaluar y examinar si un sujeto tiene NAFLD y si es así, la gravedad de la enfermedad, que incluye diferenciar si NAFLD es NAFL o EHNA. En algunas realizaciones, la gravedad de NAFLD se puede evaluar usando el NAS. En algunas realizaciones, el tratamiento de NAFLD se puede evaluar usando el NAS. En algunas realizaciones, el NAS se puede determinar como se describe en Kleiner *et al.*, *Hepatology*. 2005, 41(6):1313-1321, que se incorpora como referencia en su totalidad. Consulte, por ejemplo, la Tabla 6 para obtener un esquema de NAS simplificado adaptado de Kleiner.

[00269] Tabla 6. Ejemplo del puntaje de la actividad de NAFLD (NAS) con fibrosis Etapa

Característica	Grado	Puntaje
Esteatosis	<5%	0
	5-33%	1
	>33-66%	2
	>66%	3
Inflamación globular	Sin foco	0
	<2 de foco/200x	1
	2-4 de foco/200x	2

	>4 de foco/200x	3
Degeneración vacuolar	Ninguna	0
	Un poco	1
	Muchas células/degeneración vacuolar prominente	2
Fibrosis	Ninguna	0
	Perisinusoidal o periportal	1
	Perisinusoidal y portal/periportal	2
	Conexión de fibrosis	3
	Cirrosis	4

[00270] En algunas realizaciones, el NAS se determina de forma no invasiva, por ejemplo, como se describe en la publicación de la solicitud de los EE. UU. n.º 2018/0140219, que se incorpora en la presente como referencia en su totalidad. En algunas realizaciones, el NAS se determina por una muestra del sujeto antes de la administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas realizaciones, el NAS se determina durante el periodo de administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, o después de este periodo. En algunas realizaciones, un puntaje más bajo de NAS durante el periodo de administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, o después de este periodo, en comparación con antes de la administración del compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este indica el tratamiento de NAFLD (p. ej., EHNA). Por ejemplo, una disminución en el NAS por 1, por 2, por 3, por 4, por 5, por 6 o por 7 indica un tratamiento de NAFLD (p. ej., EHNA). En algunas realizaciones, el NAS después de la administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, es 7 o menos. En algunas realizaciones, el NAS durante el periodo de administración de un compuesto de la fórmula (I),

o una sal farmacéuticamente aceptable de este, es 5 o menos, 4 o menos, 3 o menos, o 2 o menos. En algunas realizaciones, el NAS durante el periodo de administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, es 7 o menos. En algunas realizaciones, el NAS durante el periodo de administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, es 5 o menos, 4 o menos, 3 o menos, o 2 o menos. En algunas realizaciones, el NAS después del periodo de administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, es 7 o menos. En algunas realizaciones, el NAS después del periodo de administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, es 5 o menos, 4 o menos, 3 o menos, o 2 o menos.

[00271] Los métodos adicionales para evaluar y examinar la EHNA en un sujeto incluyen determinar una o más esteatosis hepática (p. ej., acumulación de grasa en el hígado); inflamación hepática; biomarcadores que indiquen uno o más de daño hepático, inflamación hepática, fibrosis hepática, y/o cirrosis hepática (p. ej., marcadores y paneles en suero). Ejemplos adicionales de los indicadores fisiológicos de la EHNA pueden incluir morfología hepática, rigidez hepática y el tamaño o peso del hígado del sujeto.

[00272] En algunas realizaciones, la EHNA en el sujeto se evidencia por una acumulación de grasa hepática y detección de un biomarcador que indica daño hepático. Por ejemplo, aumento de ferritina en suero y valores bajos de autoanticuerpos en suero pueden ser características frecuentes de la EHNA.

[00273] En algunas realizaciones, los métodos para evaluar la EHNA incluyen diagnóstico por imágenes por resonancia magnética, ya sea por espectroscopia o fracción de la grasa de la densidad de protones (MRI-PDFF) para cuantificar la esteatosis, elastografía transitoria (FIBROSCAN®), gradiente de la presión venosa hepática (HPVG), medición de la rigidez hepática con MRE para el diagnóstico de fibrosis hepática y/o cirrosis significativa, y evaluación de las características histológicas de la biopsia hepática. En algunas realizaciones, el

diagnóstico por imágenes por resonancia magnética se usa para detectar una o más de esteatohepatitis (EHNA-MRI), fibrosis hepática (Fibro-MRI) y esteatosis. Consulte, por ejemplo, la publicación de la solicitud de EE. UU. n.º 2016/146715 y 2005/0215882, cada una de las cuales se incorpora en la presente como referencia en su totalidad.

[00274] En algunas realizaciones, el tratamiento de la EHNA puede incluir una disminución de uno o más síntomas asociados con la EHNA; reducción en la cantidad de esteatosis hepática; una disminución en el NAS; una disminución en la inflamación hepática; una disminución en el nivel de biomarcadores que indican uno o más de daño hepático, inflamación hepática, fibrosis hepática, y/o cirrosis hepática; y una reducción en la fibrosis y/o cirrosis, una falta de evolución adicional de la fibrosis y/o cirrosis, o un retraso en la evolución de la fibrosis y/o cirrosis en el sujeto después de la administración de una o más dosis de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

[00275] En algunas realizaciones, el tratamiento de la EHNA comprende una disminución de uno o más síntomas asociados con la EHNA en el sujeto. Los síntomas ejemplares pueden incluir uno o más de un agrandamiento del hígado, fatiga, dolor en la parte superior derecha del abdomen, hinchazón abdominal, engrosamiento de los vasos sanguíneos justo debajo de la superficie de la piel, agrandamiento de los pechos en hombres, agrandamiento del bazo, palmas rojas, ictericia y prurito. En algunas realizaciones, el sujeto es asintomático. En algunas realizaciones, el peso corporal total del sujeto no aumenta. En algunas realizaciones, el peso corporal total del sujeto disminuye. En algunas realizaciones, el índice de masa corporal (BMI) del sujeto no aumenta. En algunas realizaciones, el índice de masa corporal (BMI) del sujeto disminuye. En algunas realizaciones, la proporción de la cintura y cadera (WTH) del sujeto no aumenta. En algunas realizaciones, la proporción de la cintura y cadera (WTH) del sujeto disminuye.

[00276] En algunas realizaciones, el tratamiento de la EHNA se puede evaluar al medir la esteatosis hepática. En algunas realizaciones, el tratamiento de la

EHNA comprende una reducción en la esteatosis hepática después de la administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, como se describe en la presente. En algunas realizaciones, la esteatosis hepática se determina por uno o más métodos seleccionados del grupo que consta de ultrasonografía, tomografía computada (TC), diagnóstico por imágenes por resonancia magnética, espectroscopia de resonancia magnética (MRS), elastografía de resonancia magnética (MRE), elastografía transitoria (TE) (p. ej., FIBROSCAN®), medición del tamaño o el peso del hígado o mediante una biopsia hepática (consulte, p. ej., Di Lascio *et al.*, *Ultrasound Med Biol.* 2018, vol. 44(8), p. 1585-1596; Lv *et al.*, *J Clin Transl Hepatol.* 2018, vol. 6(2), p. 217-221; Reeder *et al.*, *J Magn Reson Imaging.* 2011, vol. 34(4), spcone; y de Lédinghen V, *et al.*, *J Gastroenterol Hepatol.* 2016, vol. 31(4), p. 848-855, cada uno se incorpora en la presente como referencia en su totalidad). Un sujeto diagnosticado con la EHNA puede tener más de aproximadamente 5% de esteatosis hepática, por ejemplo, más de aproximadamente 5% a aproximadamente 25%, aproximadamente 25% a aproximadamente 45%, aproximadamente 45% a aproximadamente 65%, o más de aproximadamente 65% de esteatosis hepática. En algunas realizaciones, un sujeto con más de aproximadamente 5% a aproximadamente 33% de esteatosis hepática tiene esteatosis hepática en etapa 1, un sujeto con aproximadamente 33% a aproximadamente 66% de esteatosis hepática tiene esteatosis hepática en etapa 2 y un sujeto con más de aproximadamente 66% de esteatosis hepática tiene esteatosis hepática en etapa 3.

[00277] En algunas realizaciones, la cantidad de esteatosis hepática se determina antes de la administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas realizaciones, la cantidad de esteatosis hepática se determina durante el periodo de administración del compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, o después de este periodo. En algunas realizaciones, una reducción en la cantidad de esteatosis hepática durante el periodo de administración del compuesto de la

fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, o después de este periodo, en comparación con antes de la administración del compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este indica el tratamiento de la EHNA. Por ejemplo, una reducción en la cantidad de esteatosis hepática de aproximadamente 1% a aproximadamente 50%, aproximadamente 25% a aproximadamente 75%, o aproximadamente 50% a aproximadamente 100% indica el tratamiento de la EHNA. En algunas realizaciones, una reducción en la cantidad de esteatosis hepática a aproximadamente 5%, aproximadamente 10%, aproximadamente 15%, aproximadamente 20%, aproximadamente 25%, aproximadamente 30%, aproximadamente 35%, aproximadamente 40%, aproximadamente 45%, aproximadamente 50%, aproximadamente 55%, aproximadamente 60%, aproximadamente 65%, aproximadamente 70%, aproximadamente 75%, aproximadamente 80%, aproximadamente 85%, aproximadamente 90%, o aproximadamente 95% indica el tratamiento de la EHNA.

[00278] En algunas realizaciones, la presencia de la inflamación hepática se determina por uno o más métodos seleccionados del grupo que consta de biomarcadores que indican inflamación hepática y una muestra de biopsia hepática del sujeto. En algunas realizaciones, la gravedad de la inflamación hepática se determina mediante una muestra de biopsia hepática del sujeto. Por ejemplo, la inflamación hepática en una muestra de biopsia hepática se puede evaluar como se describe en Kleiner *et al.*, Hepatology 2005, vol. 41(6), p. 1313-1321 y Brunt *et al.*, Am J Gastroenterol 1999, vol. 94, p. 2467-2474, cada uno de los cuales se incorporan en la presente como referencia en su totalidad. En algunas realizaciones, la gravedad de inflamación hepática se determina antes de la administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas realizaciones, la gravedad de inflamación hepática se determina durante el periodo de administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, o después de este periodo. En algunas realizaciones, una disminución en la

gravedad de inflamación hepática durante el periodo de administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, o después de este periodo, en comparación con antes de la administración del compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este indica el tratamiento de la EHNA. Por ejemplo, una disminución en la gravedad de la inflamación hepática de aproximadamente 1% a aproximadamente 50%, aproximadamente 25% a aproximadamente 75%, o aproximadamente 50% a aproximadamente 100% indica el tratamiento de la EHNA. En algunas realizaciones, una disminución en la gravedad de la inflamación hepática de aproximadamente 5%, aproximadamente 10%, aproximadamente 15%, aproximadamente 20%, aproximadamente 25%, aproximadamente 30%, aproximadamente 35%, aproximadamente 40%, aproximadamente 45%, aproximadamente 50%, aproximadamente 55%, aproximadamente 60%, aproximadamente 65%, aproximadamente 70%, aproximadamente 75%, aproximadamente 80%, aproximadamente 85%, aproximadamente 90%, o aproximadamente 95% indica el tratamiento de la EHNA.

[00279] En algunas realizaciones, el tratamiento de la EHNA comprende el tratamiento de la fibrosis y/o cirrosis, p. ej., una disminución en la gravedad de la fibrosis, una falta de evolución adicional de la fibrosis y/o cirrosis, o un retraso en la evolución de la fibrosis y/o cirrosis. En algunas realizaciones, la presencia de la fibrosis y/o cirrosis se determina por uno o más métodos seleccionados del grupo que constan de elastografía transitoria (p. ej., FIBROSCAN®), marcadores no invasivos de la fibrosis hepática y características histológicas de una biopsia hepática. En algunas realizaciones, la gravedad (p. ej., etapa) de la fibrosis se determina por uno o más métodos seleccionados del grupo que consta de elastografía transitoria (p. ej., FIBROSCAN®), un sistema de puntaje de la fibrosis, biomarcadores de la fibrosis hepática (p. ej., biomarcadores no invasivos), y gradiente de la presión venosa hepática (HVPG). Los ejemplos no limitantes de los sistemas de puntaje de la fibrosis incluyen el sistema de puntaje de la fibrosis NAFLD (consulte, p. ej., Angulo *et al.*, *Hepatology* 2007, vol. 45(4),

p. 846-54), el sistema de puntaje de la fibrosis en Brunt *et al.*, Am. J. Gastroenterol. 1999, vol. 94, p. 2467-2474, el sistema de puntaje de la fibrosis en Kleiner *et al.*, Hepatology 2005, vol. 41(6), p. 1313-1321, y el sistema de puntaje de la fibrosis ISHAK (consulte Ishak *et al.*, J. Hepatol. 1995, vol. 22, p. 696-699), cuyos contenidos de cada uno se incorporan como referencia en su totalidad.

[00280] En algunas realizaciones, la gravedad de la fibrosis se determina antes de la administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas realizaciones, la gravedad de la fibrosis se determina durante el periodo de administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, o después de este periodo. En algunas realizaciones, una disminución en la gravedad de la fibrosis durante el periodo de administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, o después de este periodo, en comparación con antes de la administración del compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este indica el tratamiento de la EHNA. En algunas realizaciones, una disminución en la gravedad de la fibrosis, una falta de evolución adicional de la fibrosis y/o cirrosis, o un retraso en la evolución de la fibrosis y/o cirrosis indica el tratamiento de la EHNA. En algunas realizaciones, la gravedad de la fibrosis se determina usando un sistema de puntaje tal como cualesquiera de los sistemas de puntaje de la fibrosis descritos en la presente, por ejemplo, el puntaje puede indicar la etapa de la fibrosis, p. ej., etapa 0 (sin fibrosis), etapa 1, etapa 2, etapa 3 y etapa 4 (cirrosis) (consulte, p. ej., Kleiner *et al.*). En algunas realizaciones, una disminución en la etapa de la fibrosis es una disminución en la gravedad de la fibrosis. Por ejemplo, una disminución por 1, 2, 3 o 4 etapas es una disminución en la gravedad de la fibrosis. En algunas realizaciones, una disminución en la etapa, p. ej., de la etapa 4 a la etapa 3, de la etapa 4 a la etapa 2, de la etapa 4 a la etapa 1, de la etapa 4 a la etapa 0, de la etapa 3 a la etapa 2, de la etapa 3 a la etapa 1, de la etapa 3 a la etapa 0, de la etapa 2 a la etapa 1, de la etapa 2 a la etapa 0, o de la etapa 1 a la etapa 0

indica el tratamiento de la EHNA. En algunas realizaciones, la etapa de la fibrosis disminuye de la etapa 4 a la etapa 3, de la etapa 4 a la etapa 2, de la etapa 4 a la etapa 1, de la etapa 4 a la etapa 0, de la etapa 3 a la etapa 2, de la etapa 3 a la etapa 1, de la etapa 3 a la etapa 0, de la etapa 2 a la etapa 1, de la etapa 2 a la etapa 0, o de la etapa 1 a la etapa 0 después de la administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en comparación con antes de la administración del compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas realizaciones, la etapa de la fibrosis disminuye de la etapa 4 a la etapa 3, de la etapa 4 a la etapa 2, de la etapa 4 a la etapa 1, de la etapa 4 a la etapa 0, de la etapa 3 a la etapa 2, de la etapa 3 a la etapa 1, de la etapa 3 a la etapa 0, de la etapa 2 a la etapa 1, de la etapa 2 a la etapa 0, o de la etapa 1 a la etapa 0 durante el periodo de administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en comparación con antes de la administración del compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas realizaciones, la etapa de la fibrosis disminuye de la etapa 4 a la etapa 3, de la etapa 4 a la etapa 2, de la etapa 4 a la etapa 1, de la etapa 4 a la etapa 0, de la etapa 3 a la etapa 2, de la etapa 3 a la etapa 1, de la etapa 3 a la etapa 0, de la etapa 2 a la etapa 1, de la etapa 2 a la etapa 0, o de la etapa 1 a la etapa 0 después del periodo de administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en comparación con antes de la administración del compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

[00281] En algunas realizaciones, la presencia de la EHNA se determina por uno o más biomarcadores que indican uno o más de daño hepático, inflamación, fibrosis hepática, y/o cirrosis hepática o sistemas de puntaje de este. En algunas realizaciones, la gravedad de EHNA se determina por uno o más biomarcadores que indican uno o más de daño hepático, inflamación, fibrosis hepática, y/o cirrosis hepática o sistemas de puntaje de este. El nivel del biomarcador se puede determinar, por ejemplo, al medir, cuantificar y monitorear el nivel de

expresión del gen o el ARNm que codifica el biomarcador y/o el péptido o proteína del biomarcador. Los ejemplos no limitantes de biomarcadores que indican uno o más de daño hepático, inflamación, fibrosis hepática, y/o cirrosis hepática y/o sistemas de puntaje de este incluyen la aspartato aminotransferasa (AST) al índice de proporción de plaquetas (APRI); la proporción (AAR) de aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT); el puntaje de FIB-4, que se basa en el APRI, los niveles de alanina aminotransferasa (ALT) y la edad del sujeto (consulte, p. ej., McPherson *et al.*, Gut 2010, vol. 59(9), p. 1265-9, que se incorpora como referencia en la presente en su totalidad); ácido hialurónico; citocinas proinflamatorias; un panel de biomarcadores que consta de α 2-macroglobulina, haptoglobina, apolipoproteína A1, bilirrubina, gammaglutamiltranspeptidasa (GGT) combinado con la edad y el sexo de un sujeto para generar una medida de la fibrosis y actividad necroinflamatoria en el hígado (p. ej., FIBROTEST®, FIBROSURE®), un panel de biomarcadores que consta de bilirrubina, gammaglutamiltransferasa, ácido hialurónico, α 2-macroglobulina combinado con la edad y el sexo de un sujeto (p. ej., HEPAScore®; consulte, p. ej., Adams *et al.*, Clin. Chem. 2005, vol. 51(10), p. 1867-1873), y un panel de biomarcadores que consta de inhibidor tisular de metaloproteinasa-1, ácido hialurónico, y α 2-macroglobulina (p. ej., FIBROSPECT®); un panel de biomarcadores que consta del inhibidor tisular de metaloproteinasas 1 (TIMP-1), propéptido amino-terminal del tipo III procolágeno (PIIINP) y ácido hialurónico (HA) (p. ej., el puntaje de la fibrosis hepática mejorada (ELF), consulte, p. ej., Lichtinghagen R, *et al.*, J Hepatol. 2013 Aug;59(2):236-42, que se incorpora como referencia en la presente en su totalidad). En algunas realizaciones, la presencia de la fibrosis se determina por uno o más del puntaje de FIB-4, un panel de biomarcadores que consta de α 2-macroglobulina, haptoglobina, apolipoproteína A1, bilirrubina, gammaglutamiltranspeptidasa (GGT) combinado con la edad y el sexo de un sujeto para generar una medida de la fibrosis y actividad necroinflamatoria en el hígado (p. ej., FIBROTEST®, FIBROSURE®), un panel de biomarcadores que

consta de bilirrubina, gammaglutamiltransferasa, ácido hialurónico, α 2-macroglobulina combinado con la edad y el sexo de un sujeto (p. ej., HEPAScore®; consulte, p. ej., Adams *et al.*, Clin. Chem. 2005, vol. 51(10), p. 1867-1873), y un panel de biomarcadores que consta del inhibidor tisular de metaloproteinasa-1, ácido hialurónico, y α 2-macroglobulina (p. ej., FIBROSPECT®); y un panel de biomarcadores que consta del inhibidor tisular de metaloproteinasas 1 (TIMP-1), péptido amino-terminal del tipo III procógeno (PIIINP) y ácido hialurónico (HA) (p. ej., el puntaje de la fibrosis hepática mejorada (ELF)).

[00282] En algunas realizaciones, el nivel de aspartato aminotransferasa (AST) no aumenta. En algunas realizaciones, el nivel de aspartato aminotransferasa (AST) disminuye. En algunas realizaciones, el nivel de alanina aminotransferasa (ALT) no aumenta. En algunas realizaciones, el nivel de alanina aminotransferasa (ALT) disminuye. En algunas realizaciones, el “nivel” de una enzima se refiere a la concentración de la enzima, p. ej., dentro de la sangre. Por ejemplo, el nivel de AST o ALT se puede expresar como unidades/L.

[00283] En algunas realizaciones, la gravedad de la fibrosis se determina por uno o más del puntaje de FIB-4, un panel de biomarcadores que consta de α 2-macroglobulina, haptoglobina, apolipoproteína A1, bilirrubina, gammaglutamiltranspeptidasa (GGT) combinado con la edad y el sexo de un sujeto para generar una medida de la fibrosis y actividad necroinflamatoria en el hígado (p. ej., FIBROTEST®, FIBROSURE®), un panel de biomarcadores que consta de bilirrubina, gammaglutamiltransferasa, ácido hialurónico, α 2-macroglobulina combinado con la edad y el sexo de un sujeto (p. ej., HEPAScore®; consulte, p. ej., Adams *et al.*, Clin. Chem. 2005, vol. 51(10), p. 1867-1873, que se incorpora como referencia en la presente en su totalidad), y un panel de biomarcadores que consta del inhibidor tisular de metaloproteinasa-1, ácido hialurónico, y α 2-macroglobulina (p. ej., FIBROSPECT®); y un panel de biomarcadores que consta del inhibidor tisular de metaloproteinasas 1 (TIMP-1),

propéptido amino-terminal del tipo III procolágeno (PIIINP) y ácido hialurónico (HA) (p. ej., el puntaje de la fibrosis hepática mejorada (ELF)).

[00284] En algunas realizaciones, la inflamación hepática se determina por el nivel de inflamación hepática biomarcadores, p. ej., citocinas proinflamatorias. Los ejemplos no limitantes de biomarcadores que indican inflamación hepática incluyen interleucina-(IL) 6, interleucina-(IL) 1 β , factor de necrosis tumoral (TNF)- α , factor de crecimiento transformante (TGF)- β , proteína quimiotáctica de monocitos (MCP)-1, proteína C reactiva (CRP), PAI-1 e isoformas de colágeno tales como Col1a1, Col1a2, y Col4a1 (consulte, p. ej., Neuman, *et al.*, Can. J. Gastroenterol. Hepatol. 2014, vol. 28(11), p. 607-618 y Patente de los EE. UU. n.º 9,872,844, cada uno se incorpora en la presente como referencia en su totalidad). La inflamación hepática también se puede evaluar mediante el cambio de la infiltración de macrófagos, p. ej., medir un cambio del nivel de expresión de CD68. En algunas realizaciones, la inflamación hepática se puede determinar al medir o monitorear niveles en suero o niveles circulantes de uno o más de interleucina-(IL) 6, interleucina-(IL) 1 β , factor de necrosis tumoral (TNF)- α , factor de crecimiento transformante (TGF)- β , proteína quimiotáctica de monocitos (MCP)-1 y proteína C reactiva (CRP).

[00285] En algunas realizaciones, el nivel de uno o más biomarcadores que indican uno o más de daño hepático, inflamación, fibrosis hepática y/o cirrosis hepática se determina por una muestra del sujeto antes de la administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas realizaciones, el nivel de uno o más biomarcadores que indican uno o más de daño hepático, inflamación, fibrosis hepática, y/o cirrosis hepática se determina durante el periodo de administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, o de después de este. En algunas realizaciones, una disminución en el nivel de uno o más biomarcadores que indican uno o más de daño hepático, inflamación, fibrosis hepática, y/o cirrosis hepática durante el periodo de administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, o de después de

este, en comparación con antes de la administración del compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, indica el tratamiento de la EHNA. Por ejemplo, una disminución en el nivel de uno o más biomarcadores que indican uno o más de daño hepático, inflamación, fibrosis hepática, y/o cirrosis hepática al menos a aproximadamente 5%, al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 15%, al menos aproximadamente 20%, al menos aproximadamente 25%, al menos aproximadamente 30%, al menos aproximadamente 35%, al menos aproximadamente 40%, al menos aproximadamente 45%, al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 55%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 65%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, o al menos aproximadamente 99% indica el tratamiento de la EHNA. En algunas realizaciones, la disminución en el nivel de uno o más biomarcadores que indican uno o más de daño hepático, inflamación, fibrosis hepática, y/o cirrosis hepática después de la administración del compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, es al menos de aproximadamente 5%, al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 15%, al menos aproximadamente 20%, al menos aproximadamente 25%, al menos aproximadamente 30%, al menos aproximadamente 35%, al menos aproximadamente 40%, al menos aproximadamente 45%, al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 55%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 65%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, o al menos aproximadamente 99%. En algunas realizaciones, el nivel de uno o más biomarcadores que indican uno o más de daño hepático, inflamación, fibrosis hepática, y/o cirrosis hepática durante el

periodo de administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, es al menos de aproximadamente 5%, al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 15%, al menos aproximadamente 20%, al menos aproximadamente 25%, al menos aproximadamente 30%, al menos aproximadamente 35%, al menos aproximadamente 40%, al menos aproximadamente 45%, al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 55%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 65%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, o al menos aproximadamente 99%. En algunas realizaciones, el nivel de uno o más biomarcadores que indican uno o más de daño hepático, inflamación, fibrosis hepática, y/o cirrosis hepática después del periodo de administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, es al menos de aproximadamente 5%, al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 15%, al menos aproximadamente 20%, al menos aproximadamente 25%, al menos aproximadamente 30%, al menos aproximadamente 35%, al menos aproximadamente 40%, al menos aproximadamente 45%, al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 55%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 65%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, o al menos aproximadamente 99%.

[00286] En algunas realizaciones, el tratamiento de la EHNA disminuye el nivel de ácidos biliares en suero en el sujeto. En algunas realizaciones, el nivel de ácidos biliares en suero se determina, por ejemplo, un ensayo enzimático de ELISA o los ensayos para la medición de los ácidos biliares totales según se describe en Danese et al., PLoS One. 2017, vol. 12(6): e0179200, que se

incorpora como referencia en su totalidad en la presente. En algunas realizaciones, el nivel de ácidos biliares en suero puede disminuir, por ejemplo, del 10% al 40%, del 20% al 50%, del 30% al 60%, del 40% al 70%, del 50% al 80%, o más del 90% del nivel de ácidos biliares en suero antes de la administración de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En algunas realizaciones, la EHNA es EHNA con colestasis auxiliar. En colestasis, la liberación de la bilis, que incluye ácidos biliares, del hígado está bloqueada. Los ácidos biliares pueden provocar daño en los hepatocitos (consulte, p. ej., Perez MJ, Briz O. *World J. Gastroenterol.* 2009, vol. 15(14), p. 1677-1689) que probablemente conduzcan o aumenten la evolución de la fibrosis (p. ej., cirrosis) y aumenten el riesgo de contraer carcinoma hepatocelular (consulte, p. ej., Sorrentino P *et al.*, *Dig. Dis. Sci.* 2005, vol. 50(6), p. 1130-1135 y Satapathy SK and Sanyal AJ. *Semin. Liver Dis.* 2015, vol. 35(3), p. 221-235, cada uno se incorpora en la presente como referencia en su totalidad). En algunas realizaciones, el tratamiento de NASH incluye el tratamiento del prurito. En algunas realizaciones, el tratamiento de la EHNA con colestasis auxiliar incluye el tratamiento del prurito. En algunas realizaciones, un sujeto con la EHNA con colestasis auxiliar tiene prurito.

[00287] Los biomarcadores ejemplares para la EHNA se proporcionan en la Tabla 7.

[00288] Tabla 7. Biomarcadores ejemplares de la EHNA

Biomarcadores de la fibrosis hepática
Aspartato aminotransferasa (AST) a índice de la proporción de plaquetas (APRI)
Proporción (AAR) de aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT)
Puntaje de FIB-4 ¹
Ácido hialurónico
Citocinas proinflamatorias

Un panel que incluye α 2-macroglobulina, haptoglobina, apolipoproteína A1, bilirrubina, gammaglutamiltranspeptidasa (GGT) combinado con la edad y el sexo de un sujeto para generar una medida de la fibrosis y actividad necroinflamatoria en el hígado (p. ej., FIBROTEST®, FIBROSURE®)

Un panel que incluye bilirrubina, gammaglutamiltransferasa, ácido hialurónico, α 2-macroglobulina combinado con la edad y el sexo de un sujeto (p. ej., HEPAScore®²)

Un panel que incluye el inhibidor tisular de metaloproteinasa-1, ácido hialurónico y α 2-macroglobulina (p. ej., FIBROSPECT®)

Un panel que incluye el inhibidor tisular de metaloproteinasas 1 (TIMP-1), péptido amino-terminal de tipo III procolágeno (PIIINP) y ácido hialurónico (HA) (p. ej., el puntaje de la fibrosis hepática mejorada (ELF)³)

Biomarcadores de la inflamación hepática^{4,5}

Interleucina-(IL) 6

Interleucina-(IL) 1 β

Factor de necrosis tumoral (TNF)- α

Factor de crecimiento transformante (TGF)- β

Proteína quimiotáctica de monocitos (MCP)-1

Proteína C reactiva (CRP)

PAI-1

Isoformas de colágeno (p. ej., Col1a1, Col1a2 y Col4a1)

Cambio de la infiltración de macrófago (p. ej., un cambio del nivel de expresión de CD68)

[00289] Referencias para la Tabla 7

[00290] ¹ McPherson *et al.*, Gut. 2010, vol. 59(9), p. 1265-1269.

[00291] ² Adams, *et al.* Clin Chem. 2005, vol. 51(10), p. 1867-1873.

[00292] ³ Lichtinghagen, *et al.* J Hepatol. 2013, vol. 59(2), p. 236-242.

[00293] ⁴ Neuman, *et al.* Can J Gastroenterol Hepatol. 2014, vol. 28(11), p. 607-618.

[00294] ⁵ Patente de los EE. UU. n.º 9,872,844

[00295] Algunos compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, pueden mostrar una fracción libre más elevada en el plasma. En algunas realizaciones, la fracción libre es mayor que aproximadamente 0,2%, tal como mayor que aproximadamente 0,4%, tal como mayor que aproximadamente 0,6%, tal como mayor que aproximadamente 0,8%, tal como mayor que aproximadamente 1,0%, tal como mayor que aproximadamente 1,25%, tal como mayor que aproximadamente 1,5%, tal como mayor que aproximadamente 1,75%, tal como mayor que aproximadamente 2,0%, tal como mayor que aproximadamente 2,5%, tal como mayor que aproximadamente 3%, tal como mayor que aproximadamente 4%, tal como mayor que aproximadamente 5%, tal como mayor que aproximadamente 7,5%, tal como mayor que aproximadamente 10%, o tal como mayor que aproximadamente 20%.

[00296] Algunos compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se pueden excretar en la orina. En algunas realizaciones, la fracción del compuesto que se excreta en la orina es mayor que aproximadamente 0,2%, tal como mayor que aproximadamente 0,4%, tal como mayor que aproximadamente 0,6%, tal como mayor que aproximadamente 0,8%, tal como mayor que aproximadamente 1,0%, tal como mayor que aproximadamente 2%, tal como mayor que aproximadamente 3%, tal como mayor que aproximadamente 5%, tal como mayor que aproximadamente 7,5%, tal como mayor que aproximadamente 10%, tal como mayor que aproximadamente 15%, tal como mayor que aproximadamente 20%, tal como mayor que aproximadamente 30%, o tal como mayor que aproximadamente 50%.

[00297] Después de la absorción en el intestino, algunos compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, pueden circular

mediante la circulación enterohepática. En algunas realizaciones, la fracción del compuesto que circula mediante la circulación enterohepática es mayor que aproximadamente 0,1%, tal como mayor que aproximadamente 0,2%, tal como mayor que aproximadamente 0,3%, tal como mayor que aproximadamente 0,5%, tal como mayor que aproximadamente 1,0%, tal como mayor que aproximadamente 1,5%, tal como mayor que aproximadamente 2%, tal como mayor que aproximadamente 3%, tal como mayor que aproximadamente 5%, tal como mayor que aproximadamente 7%, tal como mayor que aproximadamente 10%, tal como mayor que aproximadamente 15%, tal como mayor que aproximadamente 20%, tal como mayor que aproximadamente 30% o tal como mayor que aproximadamente 50%.

[00298] Algunos compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, pueden provocar la excreción renal de las sales biliares. En algunas realizaciones, la fracción de los ácidos biliares circulantes que se excretan por la vía renal es mayor que aproximadamente 1 %, tal como mayor que aproximadamente 2%, tal como mayor que aproximadamente 5%, tal como mayor que aproximadamente 7%, tal como mayor que aproximadamente 10%, tal como mayor que aproximadamente 15%, tal como mayor que aproximadamente 20%, o tal como mayor que aproximadamente 25%.

[00299] Algunos compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, pueden mostrar una permeabilidad mejorada u óptima. La permeabilidad se puede medir en células Caco2 y los valores se proporcionan como valores Papp (permeabilidad aparente) en cm/s. En algunas realizaciones, la permeabilidad es mayor que al menos aproximadamente $0,1 \times 10^{-6}$ cm/s, tal como mayor que aproximadamente $0,2 \times 10^{-6}$ cm/s, tal como mayor que aproximadamente $0,4 \times 10^{-6}$ cm/s, tal como mayor que aproximadamente $0,7 \times 10^{-6}$ cm/s, tal como mayor que aproximadamente $1,0 \times 10^{-6}$ cm/s, tal como mayor que aproximadamente 2×10^{-6} cm/s, tal como mayor que aproximadamente 3×10^{-6} cm/s, tal como mayor que aproximadamente 5×10^{-6} cm/s, tal como mayor que aproximadamente 7×10^{-6} cm/s, tal como mayor que

aproximadamente 10×10^{-6} cm/s, tal como mayor que aproximadamente 15×10^{-6} cm/s.

[00300] Algunos compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, pueden mostrar una biodisponibilidad mejorada u óptima. En algunas realizaciones, la biodisponibilidad oral es mayor que aproximadamente 5%, tal como mayor que aproximadamente 7%, tal como mayor que aproximadamente 10%, tal como mayor que aproximadamente 15%, tal como mayor que aproximadamente 20%, tal como mayor que aproximadamente 30%, tal como mayor que aproximadamente 40%, tal como mayor que aproximadamente 50 %, tal como mayor que aproximadamente 60 %, tal como mayor que aproximadamente 70% o tal como mayor que aproximadamente 80%. En otras realizaciones, la biodisponibilidad oral es entre aproximadamente 10 y aproximadamente 90%, tal como entre aproximadamente 20 y aproximadamente 80%, tal como entre aproximadamente 30 y aproximadamente 70% o tal como entre aproximadamente 40 y aproximadamente 60%.

[00301] Algunos compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, pueden ser un sustrato para transportadores relevantes en el riñón.

[00302] Algunos compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, puede dar lugar a concentraciones de ácidos biliares en el intestino, el hígado y en suero que no provoca efectos adversos gastrointestinales.

[00303] Algunos compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, pueden disminuir la concentración de ácidos biliares en el hígado sin provocar trastornos gastrointestinales tal como diarrea.

[00304] Como se usa en la presente, los términos “tratamiento”, “tratar” y “tratando” se refieren a revertir, aliviar, retrasar la aparición de, o inhibir la evolución de una enfermedad o un trastorno, o uno o más síntomas de este, como se describen en la presente. En algunas realizaciones, el tratamiento se puede administrar después de que se hayan presentado uno o más síntomas.

En otras realizaciones, el tratamiento se puede administrar en la ausencia de síntomas. Por ejemplo, el tratamiento se puede administrar a una persona propensa antes de la aparición de los síntomas (p. ej., en virtud de un antecedente de síntomas y/o en virtud de factores genéticos u otros factores de propensión). El tratamiento también se puede continuar después de que se hayan resuelto los síntomas, por ejemplo, para prevenir o retrasar su recurrencia.

[00305] Una sal farmacéuticamente aceptable y adecuada de un compuesto de la invención es, por ejemplo, una sal de adición a la base de un compuesto de la invención que es suficientemente ácida, tal como una sal de los metales alcalinos (p. ej., una sal sódica o de potasio), una sal de metal alcalinotérreo (p. ej., una sal de calcio o magnesio), una sal de amonio o una sal con base orgánica que obtiene un catión fisiológicamente aceptable, por ejemplo una sal con metilamina, dimetilamina, trimetilamina, piperidina, morfolina o tris-(2-hidroxietil)amina.

[00306] Algunos compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, pueden tener centros quirales y/o centros isoméricos geométricos (isómeros E y Z). Debe entenderse que la invención abarca todos dichos isómeros ópticos, diastereoisómeros e isómeros geométricos que poseen actividad inhibidora de ASBT y/o LBAT. La invención también abarca todas las formas tautómeras de los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, que poseen actividad inhibidora de ASBT y/o LBAT. Determinados compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, pueden existir en formas no solvatadas así como formas solvatadas, tal como, por ejemplo, formas hidratadas. Debe entenderse que la invención abarca todas dichas formas solvatadas que poseen actividad inhibidora de ASBT y/o LBAT.

[00307] En otro aspecto, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Los excipientes pueden incluir, p. ej.,

rellenos, ligantes, desintegrantes, deslizantes y lubricantes. En general, las composiciones farmacéuticas se pueden preparar de manera convencional usando excipientes convencionales.

[00308] Los ejemplos de rellenos adecuados incluyen, a mero título enunciativo, dihidrato de fosfato dicálcico, sulfato de calcio, lactosa (tal como monohidrato de lactosa), sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa, celulosa microcristalina, almidón seco, almidones hidrolizados y almidón pregelatinizado. En determinadas realizaciones, el relleno es manitol y/o celulosa microcristalina.

[00309] Los ejemplos de ligantes adecuados incluyen, a mero título enunciativo, almidón, almidón pregelatinizado, gelatina, azúcares (tal como sacarosa, glucosa, dextrosa, lactosa y sorbitol), polietilenglicol, ceras, gomas naturales y sintéticas (tal como goma acacia y goma tragacanto), alginato de sodio, derivados de celulosa (tal como hidroxipropilmetilcelulosa (o hipromelosa), hidroxipropilcelulosa y etilcelulosa) y polímeros sintéticos (tal como ácido acrílico y copolímeros de ácido metacrílico, copolímeros de ácido metacrílico, copolímeros de metacrilato de metilo, copolímeros de metacrilato de aminoalquilo, copolímeros de ácido poliacrílico/ácido polimetacrílico y polivinilpirrolidona (povidono)). En determinadas realizaciones, el ligante es hidroxipropilmetilcelulosa (hipromelosa).

[00310] Los ejemplos de desintegrantes adecuados incluyen, a mero título enunciativo, almidón seco, almidón modificado (tal como (parcialmente) almidón pregelatinizado, glicolato de almidón de sodio y almidón de carboximetil sódico), ácido algínico, derivados de celulosa (tal como carboximetilcelulosa sódica, celulosa hidroxipropilo y celulosa hidroxipropilo de baja sustitución (L-HPC)) y polímeros cruzados (tal como carmelosa, sodio croscarmelosa, calcio carmelosa y PVP cruzado (crospovidono)). En determinadas realizaciones, el desintegrante es sodio croscarmelosa.

[00311] Los ejemplos de deslizantes y lubricantes adecuados incluyen, a mero título enunciativo, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio, ácido esteárico, behenato de gliceril, sílice colidal, dióxido de silicio acuoso, silicato

magnesio sintético, óxido de silicio granulado fino, almidón, laurilsulfato sódico, ácido bórico, óxido de magnesio, ceras (tal como cera carnauba), aceite hidrogenado, polietilenglicol, benzoato sódico, polietilenglicol y aceite mineral. En determinadas realizaciones, el deslizante o lubricante es estearato de magnesio o sílice colidal.

[00312] La composición farmacéutica se puede recubrir convencionalmente con una o más capas de recubrimiento. Las capas entéricas de recubrimiento o las capas de recubrimiento para liberación retardada o liberación diana del compuesto de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, también se contemplan. Las capas de recubrimiento pueden comprender uno o más agentes de recubrimiento y pueden comprender, opcionalmente, plastificantes y/o pigmentos (o colorantes).

[00313] Los ejemplos de agentes de recubrimiento adecuados incluyen, a mero título enunciativo, polímeros con base en celulosa (tal como etilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa (o hipromelosa), hidroxipropilcelulosa, ftalato de acetato de celulosa, succinato de acetato de celulosa, hidroxipropil metilacetato de succinato de celulosa y ftalato de hidroxipropil metilcelulosa), polímeros basados en vinilo (tal como alcohol polivinílico) y polímeros basados en ácido acrílico y derivados de este (tal como ácido acrílico y copolímeros de ácido metacrílico, copolímeros de ácido metacrílico, copolímeros de metacrilato de metilo, copolímeros de metacrilato de aminoalquilo, copolímeros de ácido poliacrílico/copolímeros de ácido polimetacrílico). En determinadas realizaciones, el agente de recubrimiento es hidroxipropilmetilcelulosa. En otras realizaciones, el agente de recubrimiento es alcohol polivinílico.

[00314] Los ejemplos de plastificantes adecuados incluyen, a mero título enunciativo, citrato de trietilo, triacetato de gliceril, citrato de tributilo, ftalato dietilo, acetiltributylcitrato, dibutilftalato, dibutil sebacato y polietilenglicol. En determinadas realizaciones, el plastificante es polietilenglicol.

[00315] Los ejemplos de pigmentos adecuados incluyen, a mero título enunciativo, dióxido de titanio, óxidos de hierro (tal como óxidos de hierro amarillo, marrón, rojo con el) y sulfato de bario.

[00316] La composición farmacéutica puede estar en una forma que es adecuada para la administración oral, para la inyección parenteral (que incluye inyección intravenosa, subcutánea, intramuscular e intravascular), para la administración tópica o para la administración rectal. En una realización preferida, la composición farmacéutica está en una forma que es adecuada para la administración oral, tal como un comprimido o una cápsula.

[00317] La dosificación requerida para el tratamiento terapéutico o profiláctico dependerá de la vía de administración, la gravedad de la enfermedad, la edad y el peso del paciente y otros factores considerados habitualmente por el médico que brinda el tratamiento, al determinar el régimen adecuado y el nivel de dosificación para un paciente particular.

[00318] La cantidad del compuesto que se administrará variará de acuerdo con el paciente que se está tratando y puede variar de aproximadamente 1 µg/kg de peso corporal a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal por día. Una forma de dosis unitaria, tal como un comprimido o una cápsula, en general contendrá aproximadamente 1 a aproximadamente 250 mg de ingrediente activo, tal como aproximadamente 1 a aproximadamente 100 mg, o tal como aproximadamente 1 a aproximadamente 50 mg, o tal como aproximadamente 1 a aproximadamente 20 mg, p. ej. aproximadamente 2,5 mg, o aproximadamente 5 mg, o aproximadamente 10 mg, o aproximadamente 15 mg. La dosis diaria se puede administrar como una dosis única o dividida en una, dos, tres o más dosis unitarias. Una dosis diaria administrada de forma oral de un modulador del ácido biliar se encuentra preferentemente dentro de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 250 mg, más preferentemente dentro de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 mg, tal como dentro de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 mg, tal como dentro de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 mg, tal como dentro de aproximadamente 1 a

aproximadamente 15 mg, o tal como dentro de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 mg.

[00319] En otro aspecto, la invención se refiere a un proceso de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para usar como medicamento. La invención también se refiere al uso de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, como un medicamento.

[00320] En otro aspecto, la invención se refiere a un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, para usarse en el tratamiento o la prevención de cualesquiera de las enfermedades nombradas en la presente. La invención también se refiere al uso de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de cualesquiera de las enfermedades nombradas en la presente. La invención también se refiere a un método para tratar o prevenir cualesquiera de las enfermedades que se mencionan en la presente en un sujeto, tal como un hombre, que comprenden la administración al sujeto que necesita dicho tratamiento o prevención de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

[00321] *Tratamiento combinado*

[00322] En un aspecto de la invención, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con al menos otro agente terapéuticamente activo, tal como con uno, dos, tres o más agentes terapéuticamente activos. El compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de este, y al menos otro agente terapéuticamente activo se puede administrar de manera simultánea, secuencial o separada. Los agentes terapéuticamente activos que son adecuados para la combinación con los compuestos de la fórmula (I) incluyen, a mero título enunciativo, agentes activos conocidos que son útiles en el tratamiento de cualesquiera de las afecciones, los trastornos y las enfermedades mencionados arriba.

[00323] En una realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con otro inhibidor de ASBT. Los inhibidores de ASBT adecuados se divulgan en WO 93/16055, WO 94/18183, WO 94/18184, WO 96/05188, WO 96/08484, WO 96/16051, WO 97/33882, WO 98/03818, WO 98/07449, WO 98/40375, WO 99/35135, WO 99/64409, WO 99/64410, WO 00/47568, WO 00/61568, WO 00/38725, WO 00/38726, WO 00/38727, WO 00/38728, WO 00/38729, WO 01/66533, WO 01/68096, WO 02/32428, WO 02/50051, WO 03/020710, WO 03/022286, WO 03/022825, WO 03/022830, WO 03/061663, WO 03/091232, WO 03/106482, WO 2004/006899, WO 2004/076430, WO 2007/009655, WO 2007/009656, WO 2011/137135, DE 19825804, EP 864582, EP 489423, EP 549967, EP 573848, EP 624593, EP 624594, EP 624595, EP 624596, EP 0864582, EP 1173205 y EP 1535913, y todos se incorporan en la presente como referencia en su totalidad.

[00324] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un ligante de ácido biliar (también se denomina secuestrante de ácido biliar o una resina), tal como colesevelam, colestiramina o colestipol. En una realización preferida de dicha combinación, el ligante de ácido biliar se formula para la liberación del colon. Los ejemplos de dichas formulaciones se divulgan en, p. ej., WO 2017/138877, WO 2017/138878, WO 2019/032026 y WO 2019/032027, y todas se incorporan en la presente como referencia en su totalidad.

[00325] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un inhibidor de DPP-IV, que incluye gliptinas tales como sitagliptina, vildagliptina, saxagliptina, linagliptina, gemigliptina, anagliptina, teneligliptina, alogliptina, trelagliptina, omarigliptina, evogliptina, gosogliptina y dutogliptina, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

[00326] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un

inhibidor de la reductasa HMG CoA, tal como fluvastatina, lovastatina, pravastatina, simvastatina, atorvastatina, cerivastatina, pitavastatina, mevastatina, rosuvastatina, bervastatina o dalvastatina, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

[00327] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un inhibidor de la absorción del colesterol tal como ezetimiba, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

[00328] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un agonista PPAR alfa, que incluye fibratos tal como clofibrato, bezafibrato, ciprofibrato, clinofibrato, clofibrida, fenofibrato, gemfibrozil, ronifibrato y simfibrato, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

[00329] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un agonista PPAR gamma, que incluye tiazolidinedionas tal como pioglitazona, rosiglitazona y lobeglitazona, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

[00330] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un agonista dual PPAR alfa/gamma, que incluye glitazares tal como saroglitazar, aleglitazar, muraglitazar o tesaglitazar, o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

[00331] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un agonista dual PPAR alfa/delta, tal como elafibranor.

[00332] En aun otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un agonista pan PPAR (es decir, un agonista PPAR que tiene actividad en dos los subtipos: α , γ y δ), tal como IVA337.

[00333] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con moduladores de un receptor X de farnesoide (FXR), que incluyen agonistas FXR tal como cafestol, ácido quenodeoxicólico, ácido 6 α -etil-quenodeoxicólico (ácido obeticólico; INT-747), fexaramina, tropifexor, cilofexor y MET409.

[00334] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un modulador del receptor TGR5, que incluye agonistas TGR5 tal como ácido 6 α -etil-23(S)-metilcólico (INT-777).

[00335] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un agonista dual FXR/TGR5 tal como INT-767.

[00336] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con ácido ursodeoxicólico (UDCA). En aun otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con ácido nor-ursodeoxicólico (nor-UDCA).

[00337] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un modulador de FGF19, tal como NGM282.

[00338] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un agonista FGF21, tal como BMS-986036.

[00339] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un inhibidor de integrina, tal como PLN-74809 y PLN-1474.

[00340] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un inhibidor de CCR2/CCR5, tal como cenicriviroc.

[00341] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un inhibidores de la proteasa caspasa, tal como emricasán.

[00342] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un inhibidor de galectina-3, tal como GR-MD-02.

[00343] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un inhibidor de desaturasa estearoil-CoA (SCD), tal como aramcol (ácido colanoico amido araquidilo).

[00344] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con una quinasa de regulación de señal de apoptosis 1 (ASK1), tal como selonsertib.

[00345] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un inhibidor de LOXL2, tal como simtuzumab.

[00346] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un inhibidor de ACC, tal como GS-0976.

[00347] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un agonista del receptor- β de la hormona tiroidea, tal como MGL3196.

[00348] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un agonista GLP-1 tal como liraglutida.

[00349] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un péptido dual similar al glucagon y agonistas del receptor de glucagon, tal como SAR425899.

[00350] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un inhibidor del vehículo de piruvato mitocondrial, tal como MSDC-0602K.

[00351] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un agente antioxidante, tal como la vitamina E.

[00352] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un inhibidor de SGLT1, un inhibidor de SGLT2 o un inhibidor dual de SGLT1 y SGLT2. Los ejemplos de dichos compuestos son dapagliflozina, sotagliflozina, canagliflozina, empagliflozina, LIK066 y SGL5213.

[00353] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un inhibidor de diacilglicerol O-Aciltransferasa 2 (DGAT2), tal como DGAT2RX y PF-06865571.

[00354] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un inhibidor de la sintasa de ácidos grasos (FASN), tal como TVB-2640.

[00355] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un activador de la proteinkinasa activada por AMP (AMPK), tal como PXL-770.

[00356] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un antagonista del receptor de glucocorticoide (GR), un antagonista del receptor de mineralocorticoide (MR), o un antagonista dual GR/MR. Los ejemplos de dichos compuestos son MT-3995 y CORT-118335.

[00357] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un antagonista del receptor cannabinoide 1 (CB1), tal como IM102.

[00358] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un activador de Klotof (KLB) y receptor del factor de crecimiento de fibroastos (FGFR), tal como MK-3655 (conocido anteriormente como NGM-313).

[00359] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un inhibidor del ligando de quimiocina (motivo c-c) 24 (CCL24), tal como CM101.

[00360] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un antagonista A3, tal como PBF-1650.

[00361] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un antagonista del receptor P2x7, tal como SGM 1019.

[00362] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con agonistas del receptor P2Y13, tal como CER-209.

[00363] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un oxisterol sulfatado, tal como Dur-928.

[00364] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un antagonista del receptor leucotrieno D4 (LTD4), tal como MN-001.

[00365] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un inhibidor del linfocito T citolítico natural del tipo 1 (NKT1), tal como GRI-0621.

[00366] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un compuesto de antilipopolisacárido (LPS), tal como IMM-124E.

[00367] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un inhibidor de VAP1, tal como BI1467335.

[00368] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un agonista del receptor de adenosina A3, tal como CF-102.

[00369] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un activador de SIRT-1, tal como NS-20.

[00370] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un agonista del receptor 1 del ácido nicotínico, tal como ARI-3037MO.

[00371] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un antagonista TLR4, tal como JKB-121.

[00372] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un inhibidor de quetohexocinasa, tal como PF-06835919.

[00373] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un agonista FGFdel receptor de adiponectina, tal como ADP-335.

[00374] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un inhibidor de autotaxina, tal como PAT-505 y PF8380.

[00375] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un antagonista del receptor de quimiocina (motivo c-c) 3 (CCR3), tal como bertilimumab.

[00376] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un estimulador del canal de cloruro, tal como cobiprostona y lubiprostona.

[00377] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un inhibidor de la proteína de choque de calor 47 (HSP47), tal como ND-L02-s0201.

[00378] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un Inhibidor del factor de transcripción de la proteína de unión al elemento regulatorio de esterol (SREBP), tal como CAT-2003 y MDV-4463.

[00379] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con una biguanidina, tal como metformina.

[00380] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con insulina.

[00381] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un inhibidor de la fosforilasa de glicógeno y/o un inhibidor de glucosa-6-fosfatasa.

[00382] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con una sulfonilurea, tal como glipizid, glibenklamid y glimepirid.

[00383] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con una meglitinida, tal como repaglinida, nateglinida y ormiglitinida.

[00384] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un inhibidor de glucosidasa, tal como acarbosa o miglitol.

[00385] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un inhibidor de sintasa de escualeno, tal como TAK-475.

[00386] En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de este, se administran en combinación con un inhibidor de PTPB1, tal como trodusquemina, ertiprotafib, JTT-551 y claramina.

[00387] *Preparación de los compuestos*

[00388] Los compuestos de la invención se pueden preparar como un ácido libre o una sal farmacéuticamente aceptable de este mediante los procesos descritos a continuación. Durante toda la descripción a continuación de dichos procesos se entiende que, cuando sea adecuado, se añadirán grupos de protección adecuados y, posteriormente, se eliminarán de los varios reactivos e intermediarios de una manera que se comprenderá por los expertos en la técnica de la síntesis orgánica. Los procedimientos convencionales para usar dicho grupo de protección así como los ejemplos de grupos de protección adecuados, por ejemplo, se describen en *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis* de P.G.M Wutz y T.W. Greene, 4th Edition, John Wiley & Sons, Hoboken, 2006.

[00389] *Métodos generales*

[00390] Todos los solventes usados fueron de grado analítico. Se usaron solventes anhidros disponibles comercialmente de manera habitual para las reacciones. Los materiales de inicio estaban disponibles de fuentes comerciales o se prepararon de acuerdo con los procedimientos de la bibliografía. 3,3-Dibutil-8-hidroxi-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido se puede preparar como se describe en WO 03/022286 (método 24). Temperatura ambiente se refiere de 20 °C a 25 °C. Las composiciones de mezcla de solventes se obtienen como porcentajes de volumen o cocientes de volúmenes.

[00391] LCMS:

[00392] **Nombre del instrumento:** Agilent 1290 infinity II.

[00393] Método A: Fase móvil: A: 0,1% de HCOOH en H₂O: ACN (95:5), B: ACN; tasa de flujo: 1,5 mL/min; columna: ZORBAX XDB C-18 (50 × 4,6 mm) 3,5 µm.

[00394] Método B: Fase móvil: A: 10 mM NH₄HCO₃ en agua, B: ACN; tasa de flujo: 1,2 mL/min; columna: XBridge C8 (50 × 4,6 mm), 3,5 µm.

[00395] Método C: Fase móvil: A: 0,1% de HCOOH en agua: ACN (95:5), B: ACN; tasa de flujo: 1,5 mL/min; columna: ATLANTIS dC18 (50 × 4,6 mm), 5 µm.

[00396] Método D: Fase móvil: A: 10 mM NH₄OAc en agua, B: ACN; tasa de flujo: 1,2 mL/min; columna: Zorbax Extend C18 (50 × 4,6mm) 5 µm.

[00397] Método E: Fase móvil: A: 0,1% de TFA en agua: ACN (95:5), B: 0,1% TFA en ACN; tasa de flujo: 1,5 mL/min; Columna: XBridge C8 (50 × 4,6 mm), 3,5 µm.

[00398] Método F: Fase móvil: A: 0,1% TFA en agua, B: 0,1% TFA en ACN; tasa de flujo: 0,8 mL/min; columna: ZORBAX ECLIPSE PLUS C18 (50 × 2,1 mm), 1,8 µm.

[00399] Método G: Fase móvil: A: 0,1% TFA en agua, B: 0,1% TFA en ACN; tasa de flujo: 0,8 mL/min; columna: Acquity UPLC BEH C18 (2,1 × 50 mm), 1,7 µm.

[00400] UPLC:

[00401] Nombre del instrumento: aguas Acquity I Class

[00402] Método A: Fase móvil: A: 0,1% HCOOH en agua, B: 0,1% de HCOOH en ACN; tasa de flujo: 0,8 mL/min; Columna: Acquity UPLC HSS T3 (2,1 × 50) mm; 1,8 µm.

[00403] HPLC:

[00404] Nombre del instrumento: instrumentos de serie Agilent 1260 Infinity II como se siguen usando el % con detección UV (maxplot).

[00405] Método A: Fase móvil: A: 10 mM NH₄HCO₃ en agua, B: ACN; tasa de flujo: 1,0 mL/min; columna: XBridge C8 (50 × 4,6 mm, 3,5 µm).

[00406] Método B: Fase móvil: A: 0,1% TFA en agua, B: 0,1% TFA en ACN; tasa de flujo: 2,0 mL/min; columna: XBridge C8 (50 × 4,6 mm, 3,5 µm).

[00407] Método C: Fase móvil: A: 10 mM NH₄OAc en agua Milli-Q, B: ACN; tasa de flujo: 1,0 mL/min; columna: Phenomenex Gemini C18 (150 × 4,6 mm, 3,0 µm).

[00408] Método D: Fase móvil: A: 0,1% TFA en agua, B: ACN; tasa de flujo: 1,0 mL/min; columna: ATLANTIS dC18 (250 × 4,6 mm, 5,0 µm).

[00409] HPLC quiral:

[00410] Nombre del instrumento: Agilent 1260 Infinity II

[00411] Método A: Fase móvil: A: 0,1% TFA en *n*-hexano; B: etanol, flujo: 1,0 mL/min; Columna: CHIRALPAK IA (250 × 4,6 mm, 5,0 µm).

[00412] SFC quiral:

[00413] Nombre del instrumento: PIC SFC 10 (analítico)

[00414] El cociente entre CO₂ y cosolvente varía entre 60:40 y 80:20

[00415] Método A: Fase móvil: 0,5% isopropilamina en IPA; tasa de flujo: 3 mL/min; columna: YMC Amilosa-SA (250 × 4,6 mm, 5 µm).

[00416] Método B: Fase móvil: 0,5% isopropilamina en IPA; tasa de flujo: 3 mL/min; columna: Chiralpak AD-H (250 × 4,6 mm, 5 µm).

[00417] Método C: Fase móvil: 20 mM amonio en metanol; tasa de flujo: 3 mL/min; columna: YMC Celulosa-SC (250 × 4,6 mm, 5 µm).

[00418] Método D: Fase móvil: metanol; tasa de flujo: 3 mL/min; columna: Lux A1 (250 × 4,6 mm, 5 µm).

[00419] Método E: Fase móvil: 0,5% isopropilamina en metanol; tasa de flujo: 5 mL/min; columna: Lux C4.

[00420] Método F: Fase móvil: 0,5% isopropilamina en metanol; tasa de flujo: 3 mL/min; columna: YMC Celulosa-SC.

[00421] Método G: Fase móvil: 0,5% isopropilamina en metanol; tasa de flujo: 3 mL/min; columna: Lux A1.

[00422] Método H: Fase móvil: 0,5% isopropilamina en IPA; tasa de flujo: 3 mL/min; columna: Lux A1 (250 × 4,6 mm, 5 µm).

[00423] Método I: Fase móvil: 0,5% isopropilamina en metanol; tasa de flujo: 3 mL/min; columna: CCS quiral (250 × 4,6 mm, 5 µm).

[00424] Método J: Fase móvil: 0,5% isopropilamina en IPA; tasa de flujo: 5 mL/min; columna: YMC Celulosa-SC AD-H (250 × 4,6 mm, 5 µm).

[00425] Método K: Fase móvil: 0,5% Isopropilamina en metanol; tasa de flujo: 4 mL/min; columna: (R,R)-Whelk-01 (250 × 4,6 mm, 5 µm).

[00426] Método L: Fase móvil: 0,5% Isopropilamina en IPA; tasa de flujo: 3 mL/min; columna: Chiralcel OX-H (250 × 4,6 mm, 5 µm).

[00427] Método M: Fase móvil: 0,5% Isopropilamina en IPA; tasa de flujo: 5 mL/min; columna: YMC Celulosa-SC (250 × 4,6 mm, 5 µm).

[00428] Método N: fase móvil: metanol, tasa de flujo: 5 mL/min; columna: Chiralcel OX-H (250 × 4,6 mm, 5 µm).

[00429] HPLC preparativa:

[00430] Nombre del instrumento: Agilent 1290 Infinity II

[00431] Método A: Fase móvil: A: 0,1% TFA en agua; Fase móvil; B: 0,1% TFA en CAN; tasa de flujo: 2,0 mL/min; Columna: X-Bridge C8 (50 × 4,6 mm, 3,5 µm).

[00432] Método B: Fase móvil: A: 10 mM NH₄OAc en agua; B: ACN; tasa de flujo: 35 mL/min; columna: selección X C18 (30 × 150 mm, 5 µm).

[00433] Método C: Fase móvil: A: 10 mM NH₄HCO₃ en agua; B: ACN; tasa de flujo: 1,0 mL/min; columna: XBridge C8 (50 × 4,6 mm, 3,5 µm).

[00434] Método D: Fase móvil: A: 0,1% de HCOOH en agua; B: ACN; tasa de flujo: 1,0 mL/min; columna: selección X C18 (30 × 150 mm, 5 µm).

[00435] SFC quiral preparativa:

[00436] Nombre del instrumento: PIC SFC 100 y PSC SFC 400

[00437] El cociente entre CO₂ y cosolvente varía entre 60:40 y 80:20

[00438] Método A: Fase móvil: 0,5% isopropilamina en IPA; tasa de flujo: 3 mL/min; columna: YMC Amilosa-SA (250 × 30 mm, 5 µm).

[00439] Método B: Fase móvil: 0,5% isopropilamina en IPA; tasa de flujo: 3 mL/min; columna: Chiralpak AD-H (250 × 30 mm, 5 µm).

[00440] Método C: Fase móvil: 20 mM amonio en metanol; tasa de flujo: 3 mL/min; columna: YMC Celulosa-SC (250 × 30 mm, 5 µm).

[00441] Método D: Fase móvil: metanol; tasa de flujo: 3 mL/min; columna: CCS quiral (250 × 30 mm, 5 µm).

[00442] Método E: Fase móvil: metanol; tasa de flujo: 3 mL/min; columna: Lux A1 (250 × 30 mm, 5 µm).

[00443] Método F: Fase móvil: 0,5% isopropilamina en IPA; tasa de flujo: 3 mL/min; columna: Lux A1 (250 × 30 mm, 5 µm).

[00444] Método G: Fase móvil: 0,5% isopropilamina en metanol; tasa de flujo: 3 mL/min; columna: CCS quiral (250 × 30 mm, 5 µm).

[00445] Método H: Fase móvil: 0,5% isopropilamina en IPA, tasa de flujo: 5 mL/min; columna: YMC Amilosa-SC (250 × 30 mm, 5 µm).

[00446] Método J: Fase móvil: 0,5% isopropilamina en IPA; tasa de flujo: 3 mL/min; columna: Chiralcel OX-H (250 × 30 mm, 5 µm).

[00447] Método K: Fase móvil: 0,5% isopropilamina en metanol; tasa de flujo: 5 mL/min; columna: YMC Celulosa-SC (250 × 30 mm, 5 µm).

[00448] Método L: Fase móvil: metanol; tasa de flujo: 5 mL/min; columna: Chiralcel OX-H (250 × 30 mm, 5 µm).

[00449] HPLC quiral preparativa:

[00450] Nombre del instrumento: Agilent 1260 Infinity II

[00451] Método A: Fase móvil: A: 0,1% TFA en *n*-hexano; B: etanol; tasa de flujo: 15 mL/min; Columna: CHIRALPAK IA (250 × 19 mm, 5,0 µm).

[00452] *Abreviaturas*

[00453] ACN acetonitrilo

[00454] DCM diclorometano

[00455] DMAP 4-dimetilaminapiridina

[00456] DMF dimetilformamida

[00457] IPA alcohol isopropílico

[00458] LCMS cromatografía de líquidos-espectrometría de masas

[00459] HPLC cromatografía líquida de alto rendimiento

[00460] PE éter de petróleo

[00461] SFC cromatografía de fluidos supercríticos

[00462] TFA ácido trifluoroacético

[00463] THF tetrahidrofurano

[00464] TLC cromatografía de capa fina

[00465] UPLC cromatografía líquida de ultra rendimiento

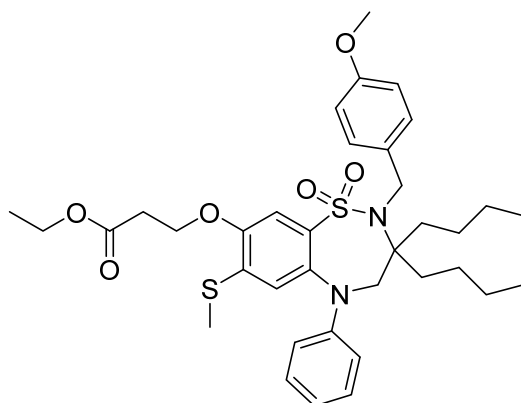
[00466] La invención ahora se describirá mediante los siguientes ejemplos que no limitan la invención

[00467] En ningún aspecto. Todos los documentos y las referencias citados se incorporan como referencia.

[00468] EJEMPLOS

[00469] Intermedio 1

[00470] Etil 3-((3,3-dibutil-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)propanoato



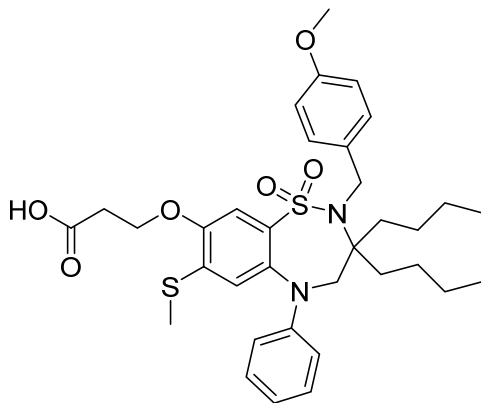
[00471]

[00472] A una suspensión agitada de 3,3-dibutil-8-hidroxi-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido (12 g, 21,1 mmol) en acrilato etílico (80 mL) a temperatura ambiente, se añadió DMAP (257 mg, 2,11 mmol). Se calentó la mezcla de reacción en un tubo sellado durante 72 horas a 100 °C. Se controló el progreso de la reacción TLC, que indicó la conversión incompleta (~40%) del material inicial. Se evaporó la mezcla de reacción y se secó al vacío para obtener el compuesto del título crudo, que se envió al siguiente paso sin una purificación adicional. **Rendimiento:** 15 g (goma cruda marrón).

[00473] **LCMS:** (Método A) 669,3 (M⁺+H), Rt. 3,66 mín, 36,45% (Máx).

[00474] Intermedio 2

[00475] Ácido propiónico 3-((3,3-dibutil-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)



[00476]

[00477] Preparación 1:

[00478] A una solución agitada de etil 3-((3,3-dibutil-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)propanoato (intermedio 1; 40 g, 59,79 mmol) en 1,4-dioxano (200 mL) a temperatura ambiente, HCl (6N, 200 mL) se añadió gota a gota y se calentó la mezcla de reacción durante 16 horas a 80 °C. Después de completar la reacción (controlado por LCMS), se diluyó la mezcla de reacción con agua helada (500 mL) y se extrajo la capa acuosa con EtOAc (2 × 200 mL). Se secó la parte orgánica sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó al vacío. Se purificó el material crudo resultante mediante la cromatografía de columna flash (eluyente: 20% al 70 % EtOAc/PE; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 39% (15 g, goma marrón).

[00479] LCMS: (Método E) 641,3 (M⁺+H), Rt. 2,93 mín, 75,38% (Máx).

[00480] Preparación 2:

[00481] A una suspensión agitada de 3,3-dibutil-8-hidroxi-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido (500 mg, 0,88 mmol) en

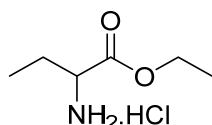
[00482] THF (5 mL) a 0 °C, se añadió potasio *tert*-butóxido (99 mg, 0,88 mmol) y se agitó la mezcla de reacción durante 10 minutos a temperatura ambiente.

Luego, se añadió β -propiolactona (76 mg, 1,05 mmol) a la mezcla de reacción a 0 °C y se agitó la mezcla de reacción durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se acidificó con 1,5N HCl a 0 °C y se extrajo la capa acuosa con EtOAc (2 $\times$ 10 mL). La capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó al vacío. Se purificó el producto crudo resultante mediante la cromatografía de columna flash (eluyente: 10-50% EtOAc/PE; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 53% (300 mg, sólido blanco).

[00483] LCMS: (Método D) 641,3 (M⁺+H), Rt. 3,48 mín, 96,63% (Máx).

[00484] Intermedio 3

[00485] Clorhidrato etil 2-aminobutanoato



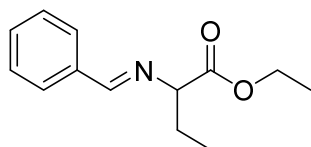
[00486]

[00487] A una solución agitada de 2-ácido aminobutanoico (100 g, 0,97 mol) en etanol (750 mL), cloruro de tionilo (78 mL, 1,07 mol) se añadió a 0 °C. Luego se calentó la mezcla de reacción durante 16 horas a 80 °C. Después de completar la reacción, la mezcla de reacción se concentró al vacío para obtener el compuesto del título crudo que se usó como tal en el paso siguiente sin purificación adicional. **Rendimiento:** 93% (152 g, sólido blanco).

[00488] ¹RMN de H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,66 (bs, 3H), 4,25-4,16 (m, 2H), 3,98-3,85 (m, 1H), 1,84 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 1,23 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H), 0,92 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H).

[00489] Intermedio 4

[00490] Butanoato etil (*E*)-2-(benzilideneamino)



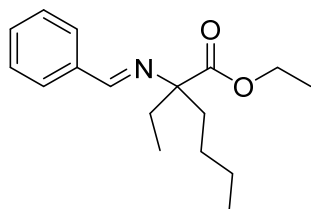
[00491]

[00492] A una solución agitada de clorhidrato etil 2-aminobutanoato (intermedio 3; 152 g, 0,91 mol) en DCM (900 mL), se añadió trietilo amina (152 mL, 1,09 mol) a 0 °C en un periodo de 30 minutos. Se añadió sulfato de magnesio (98 g, 0,82 mol) en relación con las porciones a la mezcla de reacción a 0 °C. Luego se añadió benzaldehído (84 mL, 0,82 mol) a la mezcla de reacción a 0 °C en un periodo de 20 minutos y se agitó la mezcla de reacción durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), se filtró la mezcla de reacción por celita y se concentró el filtrado al vacío. Se disolvió el crudo resultante en éter de petróleo (1000 mL) y luego se filtró nuevamente por celita. Luego se concentró el filtrado al vacío para obtener el compuesto del título. Este material crudo se envió como tal al siguiente paso sin purificación adicional. **Rendimiento:** 90% (180 g, líquido marrón pálido).

[00493] ¹RMN de H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,40 (s, 1H), 7,79-7,76 (m, 2H), 7,49-7,47 (m, 3H), 4,16-4,10 (m, 2H), 3,98-3,95 (m, 1H), 1,92-1,89 (m, 1H), 1,79-1,74 (m, 1H), 1,19 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H), 0,85 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).

[00494] Intermedio 5

[00495] Etil (*E*)-2-(benzilideneamino)-2-etilhexanoato



[00496]

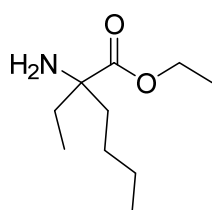
[00497] A una solución agitada de NaH (60%; 32,8 g, 0,82 mol) en DMF (100 mL) a 0 °C, se agregó lentamente etil (*E*)-2-(benzilideneamino)butanoato (intermedio 4; 180 g, 0,82 mol) en DMF (800 mL) en un periodo de 30 minutos. Luego, se agitó la mezcla de reacción durante 1,5 horas a temperatura ambiente. Se añadió yoduro *n*-butil (93 mL, 0,82 mol) a la mezcla de reacción a 0 °C y se agitó la mezcla durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se desactivó con 2-propanol (100 mL) a 0 °C y luego se diluyó con agua (1000 mL). Se extrajo la

capa acuosa con éter de petróleo (1000 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera (200 mL) y se secó con Na₂SO₄ anhidro. Se concentró la parte orgánica al vacío y el material crudo resultante se envió como tal al siguiente paso sin purificación adicional. **Rendimiento:** 88% (200 g, líquido amarillo).

[00498] ¹RMN de H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,34 (s, 1H), 7,80 - 7,77 (m, 2H), 7,47-7,44 (m, 3H), 4,16 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H), 2,51-1,79 (m, 4H), 1,31-1,18 (m, 7H), 0,88 - 0,84 (m, 6H).

[00499] Intermedio 6

[00500] Etil 2-amino-2-etilhexanoato



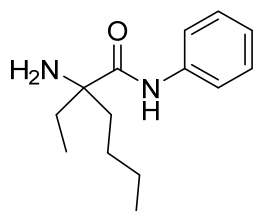
[00501]

[00502] A una solución agitada de etil (*E*)-2-(benzilideneamino)-2-etilhexanoato (intermedio 5; 200 g, 0,73 mol) en éter de petróleo (500 mL), se añadió HCl diluido (1000 mL, 1,5 N) a 0 °C y se agitó enérgicamente la mezcla de reacción durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), se separó la capa orgánica y se lavó la capa acuosa con EtOAc (2 × 100 mL). Luego, la capa acuosa se basificó (pH ~8,5) al usar bicarbonato de sodio sólido (200 g) y se extrajo con EtOAc (2 × 200 mL). Se lavó la capa orgánica con agua (2 × 15 mL). La parte orgánica combinadas y secos sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró al vacío para obtener el compuesto del título. El material crudo se envió como tal al siguiente paso sin purificación adicional. **Rendimiento:** 80% (110 g, líquido amarillo pálido).

[00503] ¹RMN de H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 4,08 (q, *J* = 7,1 Hz, 2H), 1,68 - 1,00 (m, 13H), 0,85 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H), 0,77 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H).

[00504] Intermedio 7

[00505] 2-Amino-2-etil-N-fenilhexanamida



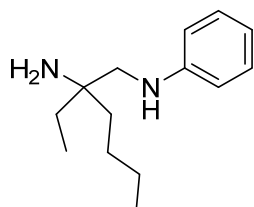
[00506]

[00507] A una solución agitada de anilina (48,3 mL, 534 mmol) en THF (250 mL) a -78 °C, se añadió *n*-BuLi (2,6M en hexanos; 205 mL, 534 mmol) gota a gota en un periodo de 30 minutos, y la mezcla de reacción se agitó durante 45 minutos de -25 °C a -30 °C. Luego, se añadió etil 2-amino-2-etilhexanoato (intermedio 6; 50 g, 267 mmol) en THF (250 mL) a la mezcla de reacción a -78 °C y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a -78 °C. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se desactivó con agua (500 mL) a -78 °C. La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (2 × 250 mL) y la capa orgánica se lavó con agua (2 × 15 mL). Se secó la parte orgánica sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró al vacío para obtener el compuesto del título como crudo. Se disolvió el producto crudo en éter de petróleo (1000 mL). Se lavó la parte orgánica con 30% de metanol en agua (2 × 250 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Se concentró la parte orgánica al vacío y el crudo resultante se envió como tal al siguiente paso sin purificación adicional. **Rendimiento:** 66 g (crudo, líquido marrón).

[00508] ¹RMN de H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,64 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,30 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 7,05 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H), 6,55 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H), 1,76-1,07 (m, 10H), 0,86-0,77 (m, 6H).

[00509] Intermedio 8

[00510] 2-Etil-N1-fenilhexano-1,2-diamina



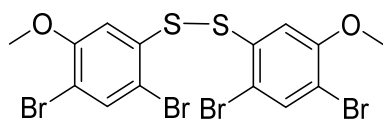
[00511]

[00512] A una solución agitada de 2-amino-2-etil-N-fenilhexanamide (intermedio 7; 66 g, 0,28 mol) en THF (600 mL), se añadió borano dimetilsulfuro (2M en THF, 253 mL, 0,51 mol) a 0 °C y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 70 °C. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se desactivó con metanol (300 mL) a 0 °C. Luego, se calentó la mezcla de reacción durante 2 horas a 70 °C. Se concentró la mezcla de reacción al vacío y se disolvió el residuo obtenido en EtOAc (1000 mL). Se lavó la capa orgánica con agua (2 × 150 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró al vacío. Se purificó el crudo resultante mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: 40% de EtOAc en hexano; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 82% (50 g, líquido marrón).

[00513] ¹RMN de H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,04 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 6,61 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,49 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 5,15 (t, *J* = 4,8 Hz, 1H), 2,79 (d, *J* = 5,6 Hz, 2H), 1,39 - 1,17 (m, 10H), 0,88-0,79 (m, 6H).

[00514] Intermedio 9

[00515] 1,2-Bis(2,4-dibromo-5-metoxifenil)disulfano



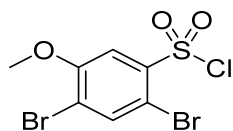
[00516]

[00517] A una solución agitada de 3-metoxibenzenotiol (100 g, 0,7 mol) en metanol (1000 mL), se añadió bromo (73 mL, 1,4 mol) gota a gota a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente. Se evaporó la mezcla de reacción al vacío y se diluyó el crudo obtenido con EtOAc (2000 mL) y se lavó con agua (2 × 500 mL). Se secó la capa orgánica sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró al vacío. Se disolvió el crudo resultante en ácido acético glacial (600 mL), se añadió bromo (20 mL) gota a gota a temperatura ambiente y se agitó la mezcla de reacción durante 2 horas a temperatura ambiente. Se filtró el sólido obtenido, se trituroó con DCM y se secó al vacío para obtener el compuesto del título puro. **Rendimiento:** 37% (78 g, sólido blanco).

[00518] $^1\text{RMN de H}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 7,69 (s, 2H), 7,17 (s, 2H), 3,84 (s, 6H).

[00519] **Intermedio 10**

[00520] **Cloruro de 2,4-dibromo-5-metoxibenzenosulfonilo**



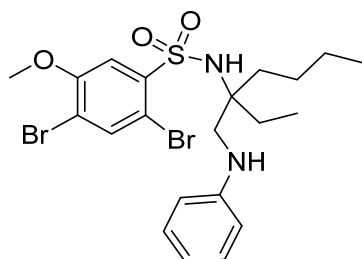
[00521]

[00522] A una suspensión agitada de 1,2-bis(2,4-dibromo-5-metoxifenil)disulfano (intermedio 9; 20,0 g, 33,67 mmol) y nitrato de potasio (17,02 g, 168,35 mmol) en acetonitrilo (200 mL) se añadió gota a gota cloruro de sulfurilo (13,6 mL, 168,35 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se invirtió en hielo triturado y se filtró el sólido obtenido. Se lavó el sólido con agua y se secó al vacío para obtener el compuesto del título puro. **Rendimiento:** 91% (22,5 g, sólido blanco).

[00523] $^1\text{RMN de H}$ (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,05 (s, 1H), 7,66 (s, 1H), 4,01 (s, 3H).

[00524] **Intermedio 11**

[00525] **2,4-Dibromo-5-metoxi-N-(3-((fenilamino)metil)heptan-3-il)benzenosulfonamida**



[00526]

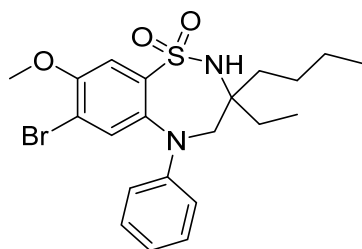
[00527] A una solución agitada de 2-etil-N1-fenilhexano-1,2-diamina (intermedio 8; 4,9 g, 22,34 mmol) en THF (10 mL) se añadieron cloruro de 2,4-dibromo-5-metoxibenzenosulfonil (intermedio 10; 10,5 g, 28,91 mmol) y trietilamina (9,3 mL, 67,02 mmol) a 0 °C y se agitó la mezcla de reacción durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado

mediante TLC), se diluyó la mezcla de reacción con EtOAc (50 mL). Se lavó la capa orgánica con agua (2 × 15 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Se concentró la parte orgánica al vacío y el crudo resultante se purificó mediante la cromatografía de columna Isolera (eluyente: 10% de EtOAc/PE; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 59% (7,2 g, sólido blanco).

[00528] ¹RMN de H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,01 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 7,03 (t, *J* = 8,1 Hz, 2H), 6,54 - 6,46 (m, 3H), 4,80 (t, *J* = 5,1 Hz, 1H), 3,86 (s, 3H), 3,07-2,96 (m, 2H), 1,66-1,41 (m, 4H), 1,15-0,95 (m, 4H), 0,78-0,69 (m, 6H).

[00529] Intermedio 12

[00530] 7-Bromo-3-butil-3-etil-8-metoxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido



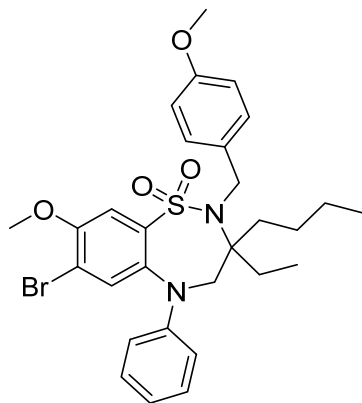
[00531]

[00532] A una solución agitada de 2,4-dibromo-5-metoxi-*N*-(3-((fenilamino)metil)heptan-3-il)benzenosulfonamida (intermedio 11; 7,2 g, 13,1 mmol) en DMF (50 mL) se añadieron carbonato de potasio (3,62 g, 26,2 mmol) y polvo de cobre (834 mg, 13,1 mmol) y se calentó la mezcla de reacción durante 24 horas a 150 °C. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se filtró mediante celita y se lavó con EtOAc (25 mL). La parte del filtrado se concentró al vacío y el crudo resultante se purificó mediante la cromatografía de columna Isolera (eluyente: 20% de EtOAc/PE; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 83% (5,1 g, sólido blanco).

[00533] ¹RMN de H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,43-7,30 (m, 4H), 7,15-7,13 (m, 2H), 7,03-7,01 (m, 2H), 4,00-3,60 (m, 5H), 1,62-1,34 (m, 4H), 1,08-0,95 (m, 4H), 0,74-0,71 (m, 6H). **LCMS:** (Método A) 467,0 (M⁺), Rt. 3,06 mín, 95,31% (máx).

[00534] Intermedio 13

[00535] 7-Bromo-3-butil-3-etil-8-metoxi-2-(4-metoxibenzil)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido



[00536]

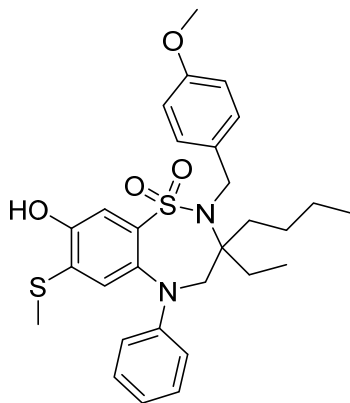
[00537] A una solución agitada de 7-bromo-3-butil-3-etil-8-metoxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido (intermedio 12; 20,0 g, 42,7 mmol) en *N*-metil-2-pirrolidona (100 mL) se añadieron Cs₂CO₃ (27,8 g, 85,5 mmol) y *p*-metoxibenzil bromuro (7,98 mL, 39,5 mmol) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (200 mL) y se lavó la capa orgánica con agua (2 × 50 mL). La parte orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró al vacío. Se purificó el crudo resultante mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: 10% de EtOAc/PE; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título.

Rendimiento: 64% (16 g, sólido blanco).

[00538] LCMS: (Método A) 587,2 (M⁺), Rt. 3,51 mín, 92,94% (máx).

[00539] Intermedio 14

[00540] 3-Butil-3-etil-8-hidroxi-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido



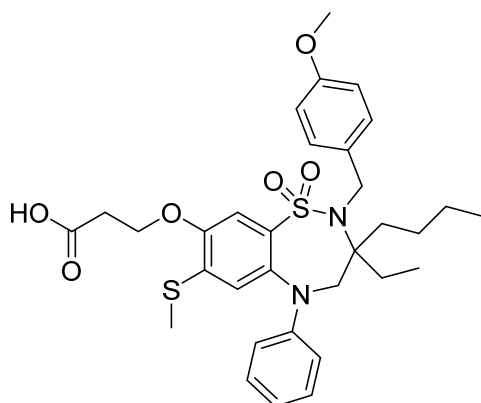
[00541]

[00542] A una solución agitada de 7-bromo-3-butil-3-etil-8-metoxi-2-(4-metoxibenzil)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido (intermedio 13; 16,0 g, 27,2 mmol) en DMF (120 mL), se añadió tiometoxido de sodio (9,5 g, 136,1 mmol) y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 60 °C. Después de completar la reacción (controlado mediante LCMS), se diluyó la mezcla de reacción con EtOAc (200 mL) y se lavó la capa orgánica con agua (2 × 50 mL). Se secó la parte orgánica sobre Na₂SO₄ anhidro, luego se concentró al vacío y se purificó el crudo resultante mediante la cromatografía de columna Isolera (eluyente: 10% de EtOAc/PE; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 65% (9,2 g, sólido blanco).

[00543] ¹RMN de H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,37 (bs, 1H), 7,31-7,22 (m, 5H), 7,01-6,65 (m, 6H), 4,32-4,13 (m, 2H), 4,10-3,90 (m, 2H), 3,74 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 1,62-1,34 (m, 4H), 1,08-0,98 (m, 4H), 0,74-0,65 (m, 6H). **LCMS:** (Método E) 541,2 (M⁺⁺H), Rt. 2,86 mín, 93,67% (máx).

[00544] Intermedio 15

[00545] ácido propiónico 3-((3-butil-3-etil-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)



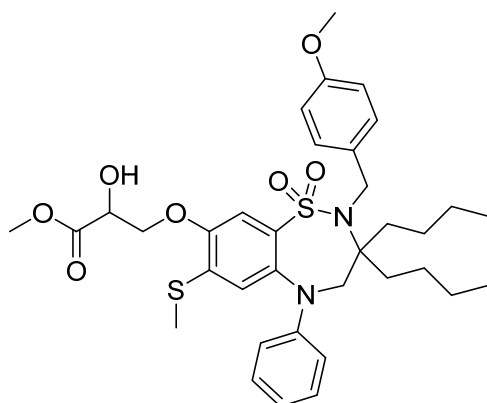
[00546]

[00547] A una solución agitada de 3-butil-3-etil-8-hidroxi-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotriazepina 1,1-dióxido (intermedio 14; 1 g, 1,85 mmol) en THF (3 mL) a 0 °C, se añadió *tert*-butoxido de potasio (208 mg, 1,85 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos. Luego se añadió una solución de β-propiolactona (148 mg, 2,03 mmol) en THF (2 mL) gota a gota y se agitó la mezcla de reacción durante 3 horas a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se desactivó con HCl diluido (1,5 N, 5 mL) y luego se diluyó con agua (5 mL). Se extrajo la capa acuosa con EtOAc (2 × 20 mL), y se lavó la capa orgánica combinada con agua (20 mL) y salmuera (20 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Se filtró la parte orgánica, se concentró al vacío y el material crudo resultante se purificó mediante la cromatografía de columna Isolera (eluyente: 35% de EtOAc/PE; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 48% (550 mg, sólido blanco).

[00548] LCMS: (Método A) 613,3 (M⁺+H), Rt. 3,04 mín, 91,99% (Máx).

[00549] Intermedio 16

[00550] Metil 3-((3,3-dibutil-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotriazepin-8-il)oxi)-2-hidroxipropanoato



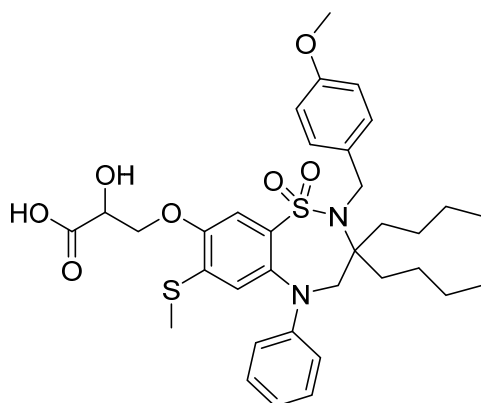
[00551]

[00552] A una solución agitada de 3,3-dibutil-8-hidroxi-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido (500 mg, 0,87 mmol) en DMF (10 mL), se añadieron Cs_2CO_3 (0,57 g, 1,76 mmol) y metil-2,3-epoxipropanoato (0,18 g, 1,76 mmol) y la mezcla de reacción se calentó durante 12 horas a 50 °C. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se desactivó con agua (10 mL) y se extrajo la capa acuosa con EtOAc (2 × 15 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (15 mL) y salmuera (15 mL) y se secó sobre Na_2SO_4 anhidro. Se filtró la parte orgánica y se concentró al vacío. El material crudo resultante se purificó mediante la cromatografía de columna Isolera (eluyente: 20% de EtOAc/PE; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 33% (200 mg, goma incolora).

[00553] LCMS: (Método A) 671,2 ($\text{M}^+ + \text{H}$), Rt. 3,32 mín, 44,28% (Máx).

[00554] Intermedio 17

[00555] ácido hidroxipropiónico 3-((3,3-Dibutil-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2



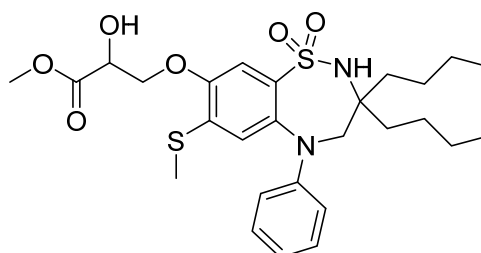
[00556]

[00557] A una solución de metil 3-((3,3-dibutil-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-hidroxipropanoato (intermedio 16; 200 mg, 0,31 mmol) en 1,4-dioxano (3 mL), se añadió HCl diluido (6 N, 3 mL) y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 80 °C. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua helada (5 mL) y se extrajo la capa acuosa con EtOAc (2 × 10 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (10 mL) y salmuera (10 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Se filtró la parte orgánica y se concentró al vacío. El material crudo resultante se envió al siguiente paso como tal sin purificación adicional. **Rendimiento:** 200 mg (crudo, goma incolora).

[00558] **LCMS:** (Método A) 657,2 (M⁺+H), Rt. 3,0 mín, 36,70% (Máx).

[00559] **Intermedio 18**

[00560] **Metil 3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-hidroxipropanoato**



[00561]

[00562] A una solución agitada de 3,3-dibutil-8-hidroxi-7-(metiltio)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido (0,63 g, 0,002 mmol) en DMF (9 mL) se añadió Cs₂CO₃ (0,92 g, 0,003 mmol) y metil-2,3-epoxipropanoato

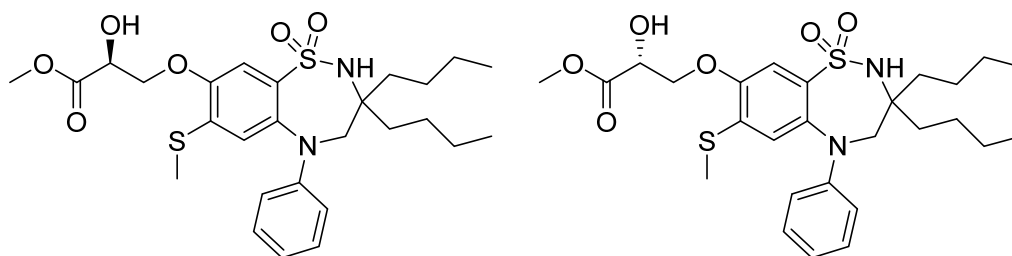
(1,28 g, 0,0126 mmol; se añadió en relación con las porciones en 3 cantidades iguales en 72 horas), y la mezcla de reacción se agitó durante 72 horas a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se desactivó con HCl diluido (1,5 N, 20 mL) y se extrajo la capa acuosa con EtOAc (2 × 50 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (20 mL) y salmuera (20 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Se filtró la parte orgánica y se concentró al vacío. El material crudo resultante se purificó mediante la cromatografía de columna Isolera (eluyente: 25% de EtOAc/PE; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título.

Rendimiento: 28% (220 mg, sólido blanco).

[00563] LCMS: (Método E) 550,8 (M⁺+H), Rt. 3,22 mín, 92,74% (Máx). **HPLC:** (Método B) Rt. 6,15 mín, 94,48% (Máx).

[00564] Intermedio 19

[00565] Metil (S)-3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-hidroxiopropanoato y metil (R)-3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-hidroxiopropanoato



[00566]

[00567] Los dos enantiómeros de metil 3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-hidroxiopropanoato racémico (intermedio 18; 216 mg, 0,39 mmol) se separaron mediante SFC quiral (método A). El material se concentró al vacío a 40 °C. La primera fracción de elución correspondió al enantiómero 1 y la segunda fracción de elución correspondió al enantiómero 2. Se desconoce la configuración absoluta de los dos enantiómeros.

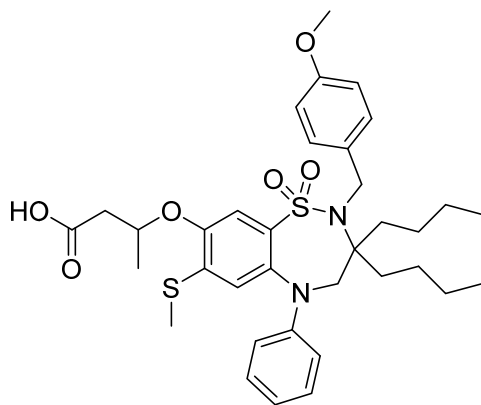
[00568] Cada una de las dos fracciones se trató luego individualmente para la purificación adicional. El residuo obtenido se acidificó con HCl diluido (1,5 N, pH ~4) y se extrajo la capa acuosa con EtOAc (3 × 5 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (10 mL) y salmuera (10 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se filtró y se concentró al vacío a 40 °C para obtener un enantiómero purificado del compuesto del título.

[00569] Enantiómero 1: **Rendimiento:** 46% (100 mg, goma incolora). **LCMS:** (Método E) 551,2 (M⁺+H), Rt. 2,77 mín, 98,09% (Máx). **SFC quiral:** (Método A) Rt. 3,58 mín, 99,10% (Máx).

[00570] Enantiómero 2: **Rendimiento:** 41% (90 mg, goma incolora). **LCMS:** (Método E) 551,1 (M⁺+H), Rt. 2,77 mín, 91,29% (Máx). **SFC quiral:** (Método A) Rt. 4,59 min, 99,24% (Máx)

[00571] Intermedio 20

[00572] **Ácido butanoico 3-((3,3-Dibutil-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)**



[00573]

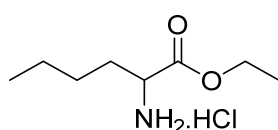
[00574] A una solución agitada de 3,3-dibutil-8-hidroxi-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido (300 mg, 0,52 mmol) en THF (10 mL), se añadieron *tert*-butóxido de potasio (65 mg, 0,58 mmol) y β-butirolactona (68 mg, 0,79 mmol) y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 60 °C. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se desactivó con HCl diluido (1,5 N, 5 mL) y se extrajo la capa acuosa con EtOAc (2 × 10 mL). La capa orgánica combinada

se lavó con agua (10 mL) y salmuera (10 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Se filtró la parte orgánica y se concentró al vacío. El material crudo resultante se purificó mediante la cromatografía de columna Isolera (eluyente: 40% de EtOAc/PE; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 72% (250 mg, goma incolora).

[00575] LCMS: (Método E) 655,3 (M⁺+H), Rt. 3,03 mín, 89,11% (Máx).

[00576] Intermedio 21

[00577] Clorhidrato de etil 2-aminohexanoato



[00578]

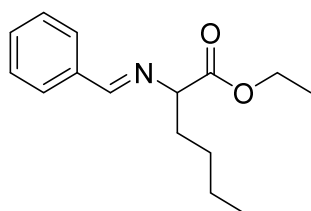
[00579] A una solución agitada de DL-Norleucina (100 g, 0,76 mol) en etanol (1L), se añadió cloruro de tionilo (60,8 mL, 0,84 mol) a 0 °C y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 80 °C. Después de completar la reacción, la mezcla de reacción se concentró al vacío para obtener el compuesto del título crudo que se usó como tal para el siguiente paso sin purificación adicional.

Rendimiento: 97% (145 g, sólido gomoso marrón).

[00580] ¹RMN de H (400 MHz, CDCl₃): δ 8,80 (s, 3H), 4,33-4,23 (m, 2H), 4,09-4,07 (m, 1H), 2,09-2,04 (m, 2H), 1,61-1,56 (m, 1H), 1,48-1,33 (m, 6H), 1,03-0,88 (m, 3H).

[00581] Intermedio 22

[00582] Etil (E)-2-(benzilideneamino)hexanoato



[00583]

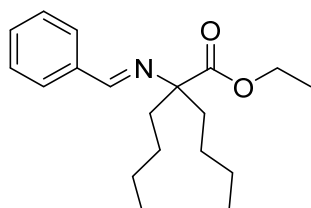
[00584] A una solución agitada de clorhidrato de etil 2-aminohexanoato (intermedio 21; 145 g, 0,74 mol) en DCM (1,5 L), se añadió trietilamina (124 mL, 1,2 mol) a 0 °C en un periodo de 30 minutos. Luego se añadió sulfato de magnesio (89,2 g, 0,74 mol) en relación con las porciones a la mezcla de

reacción a 0 °C. Luego se añadió benzaldehído (75,6 mL, 0,74 mol) a la mezcla de reacción a 0 °C en un periodo 20 minutos y la mezcla de reacción luego se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), se filtró la mezcla de reacción por celita y se concentró el filtrado al vacío. Se disolvió el crudo resultante en éter de petróleo (1000 mL), luego se filtró nuevamente mediante celita y el filtrado se concentró al vacío para obtener el compuesto del título. Este material crudo se envió como tal al siguiente paso sin purificación adicional. **Rendimiento:** 98% (180 g, líquido marrón).

[00585] ¹RMN DE H(400 MHz, CDCl₃): δ 8,30 (s, 1H), 7,82-7,80 (m, 2H), 7,47-7,42 (m, 3H), 4,26-4,20 (m, 2H), 3,99-3,95 (m, 1H), 2,06-2,00 (m, 1H), 1,96-1,89 (m, 1H), 1,40-1,24 (m, 7H), 0,95-0,91 (m, 3H).

[00586] Intermedio 23

[00587] Etil (*E*)-2-(benzilideneamino)-2-butilhexanoato



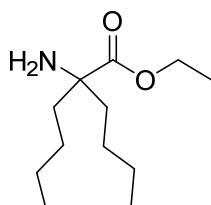
[00588]

[00589] A una solución agitada de NaH (60%, 29,1 g, 0,73 mol) en DMF (250 mL) a 0 °C se añadió lentamente una solución de hexanoato de etil (*E*)-2-(benzilideneamino) (intermedio 22; 180 g, 0,73 mol) en DMF (250 mL) en un periodo de 30 minutos. La mezcla de reacción se agitó 1,5 horas a temperatura ambiente. Luego se añadió una solución de yoduro de *n*-butil (82,7 mL, 0,73 mol) en DMF (250 mL) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (1000 mL) y se extrajo la capa acuosa con éter de petróleo (1000 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera (200 mL) y se secó con Na₂SO₄ anhidro. Se concentró la parte orgánica al vacío

y el material crudo resultante se envió como tal al siguiente paso sin purificación adicional. **Rendimiento:** 95% (210 g, líquido marrón).

[00590] Intermedio 24

[00591] Etil 2-amino-2-butilhexanoato



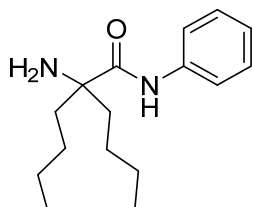
[00592]

[00593] A una solución agitada de etil (*E*)-2-(benzilideneamino)-2-butilhexanoato (intermedio 23; 210 g, 0,76 mol) en éter de petróleo (1000 mL), se añadió HCl diluido (1000 mL, 1,5 N) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó enérgicamente durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la capa orgánica se separó y se lavó con EtOAc (2 × 100 mL). Luego, la capa acuosa se basificó (pH ~10) usando la solución de hidróxido de sodio y se extrajo con DCM (2 × 1000 mL). La parte orgánica combinada se lavó con agua (2 × 1000 mL), salmuera (1000 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se concentró al vacío para obtener el compuesto del título que se envió como tal al siguiente paso sin purificación adicional. **Rendimiento:** 52% (85 g, líquido marrón).

[00594] ¹RMN de H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 4,11-4,04 (m, 2H), 1,78-1,61 (m, 4H), 1,60-1,51 (m, 3H), 1,50-1,22 (m, 7H), 1,20-0,99 (m, 3H), 0,95-0,75 (m, 6H).

[00595] Intermedio 25

[00596] 2-Amino-2-butil-N-fenilhexanamida



[00597]

[00598] A una solución agitada de anilina (19,1 mL, 209 mmol) en THF (250 mL) a -78 °C, *n*-BuLi (2,6 M en hexano, 250,7 mL, 627 mmol) se añadió gota a gota

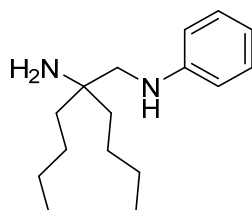
en un periodo 30 minutos y la mezcla de reacción se agitó durante 45 minutos de -25 °C a -30 °C. Luego se añadió una solución de etil 2-amino-2-butilhexanoato (intermedio 24; 45 g, 209 mmol) en THF (200 mL) a la mezcla de reacción a -78 °C y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a esa temperatura. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se desactivó a -78 °C con isopropanol (100 mL) y luego agua helada (500 mL), y la mezcla de reacción se dejó que se agite durante 1 hora a temperatura ambiente. Se extrajo la parte acuosa con EtOAc (2 × 250 mL) y la capa orgánica combinada se lavó con agua (2 × 50 mL). Se secó la parte orgánica sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró al vacío para obtener el compuesto del título como crudo. El material crudo obtenido se disolvió en éter de petróleo (1000 mL), se lavó con 30% de metanol en agua (2 × 250 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Se concentró la parte orgánica al vacío y el crudo resultante se envió como tal al siguiente paso sin purificación adicional.

Rendimiento: 60 g (crudo, líquido marrón).

[00599] LCMS: (Método A) 263,3 (M⁺), Rt. 1,29 mín, 95,84% (máx).

[00600] Intermedio 26

[00601] 2-Butil-N1-fenilhexano-1,2-diamina



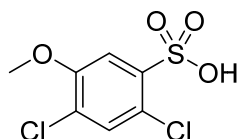
[00602]

[00603] A una solución agitada de 2-amino-2-butil-N-fenilhexanamida (intermedio 25; 100 g, 0,38 mol) en THF (1L), se añadió el complejo de dimetil sulfuro borano (2 M en THF, 476 mL, 0,95 mol) a 0 °C y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 70 °C. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se desactivó con metanol (300 mL) a 0 °C y la mezcla de reacción se calentó durante 2 horas a 70 °C. Luego, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo obtenido se

disolvió en EtOAc (1000 mL), y se lavó la capa orgánica con agua (2 × 300 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se concentró al vacío y el material crudo resultante se purificó mediante la cromatografía de columna Isolera (eluyente: 0-25% EtOAc en hexano; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 39% (37 g, líquido marrón).

[00604] Intermedio 27

[00605] Ácido 2,4-Dicloro-5-metoxibenzenosulfónico



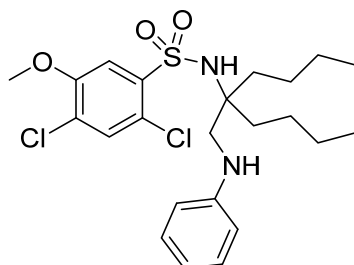
[00606]

[00607] A una solución agitada de ácido clorosulfónico (60 mL) a 0 °C, se añadió 2,4-dicloroanisol (20 g, 113 mmol) en relación con las porciones y la mezcla de reacción se agitó durante 3 horas entre 0 y 10 °C. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se vertió en hielo triturado con una agitación energética y se filtró el sólido obtenido. Se lavó varias veces el sólido con agua helada (50 mL), éter de petróleo (50 mL) y luego se secó al vacío para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 70% (19 g, sólido blanco crudo).

[00608] LCMS: (Método A) 255,0 (M⁺-H), Rt. 2,66 mín, 96,06% (Máx).

[00609] Intermedio 28

[00610] 2,4-Dicloro-5-metoxi-N-(5-((fenilamino)metil)nonan-5-il)benzenosulfonamida



[00611]

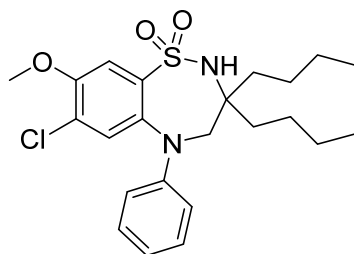
[00612] Se calentó una solución de ácido 2,4-dicloro-5-metoxibenzenosulfónico (intermedio 27; 10 g, 41,5 mmol) en SOCl₂ (20 mL) durante 12 horas a 70 °C.

Después del consumo completo del material inicial, la mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo obtenido se disolvió en THF (50 mL). Se añadieron una solución de trietilamina (17 mL, 124,7 mmol) en THF (100 mL) y luego 2-butil-N1-fenilhexano-1,2-diamina (intermedio 26; 12,4 g, 49,9 mmol) a 0 °C, y la mezcla de reacción se agitó durante 4 horas a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se desactivó con agua helada (30 mL) y se extrajo la capa acuosa con EtOAc (2 × 100 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (100 mL) y salmuera (100 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Se filtró la parte orgánica y se concentró al vacío. El material crudo resultante se purificó mediante la cromatografía de columna Isolera (eluyente: 25-35% EtOAc/PE; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 40% (8 g, sólido blanco crudo).

[00613] LCMS: (Método E) 487,1 (M⁺+H), Rt. 2,93 mín, 43,66% (Máx).

[00614] Intermedio 29

[00615] 3,3-Dibutil-7-cloro-8-metoxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido



[00616]

[00617] A una solución agitada de 2,4-dicloro-5-metoxi-N-(5-((fenilamino)metil)nonan-5-il)benzenosulfonamida (intermedio 28; 4 g, 8,21 mmol) en DMF (20 mL), se añadieron K₂CO₃ anhidro (2,26 g, 16,42 mmol) y polvo de cobre (0,52 g, 8,21 mmol) y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 120 °C. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se filtró mediante celita y la almohadilla de celita se lavó con DCM (10 mL). El filtrado se concentró al vacío y el material crudo resultante se purificó mediante la cromatografía de columna Isolera (eluyente: 2-20%

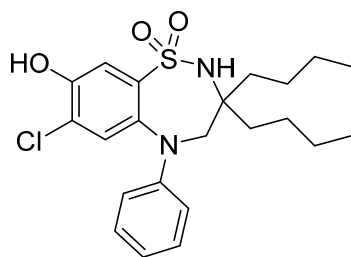
EtOAc/PE; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título.

Rendimiento: 24% (900 mg, sólido blanco crudo).

[00618] LCMS: (Método E) 451,1 ($M^+ + H$), Rt. 2,96 mín, 34,15% (Máx).

[00619] Intermedio 30

[00620] 3,3-Dibutil-7-cloro-8-hidroxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido



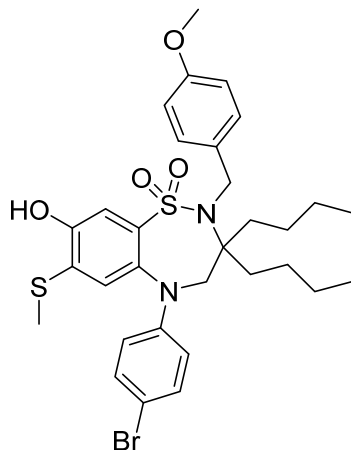
[00621]

[00622] A una solución de 3,3-dibutil-7-cloro-8-metoxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido (intermedio 29; 0,9 g, 1,2 mmol) en DCM (4 mL) a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, se añadió BBr_3 (1 M en DCM; 4 mL, 4 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 3 horas entre $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se desactivó con agua helada (10 mL). Se lavó la capa orgánica con agua (10 mL) y salmuera (10 mL). La parte orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró al vacío. El material crudo resultante se purificó mediante la cromatografía de columna Isolera (eluyente: 0-20% EtOAc/PE; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 22% (195 mg, goma amarilla).

[00623] LCMS: (Método E) 437,1 ($M^+ + H$), Rt. 2,80 mín, 53,01% (Máx).

[00624] Intermedio 31

[00625] 5-(4-Bromofenil)-3,3-dibutil-8-hidroxi-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido



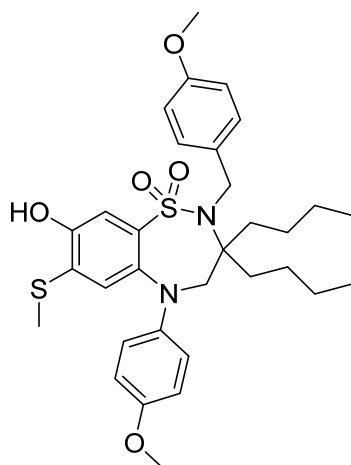
[00626]

[00627] A una solución agitada de 3,3-dibutil-8-hidroxi-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido (3 g, 5,27 mmol) en DMF (18 mL) a 0 °C se añadió una solución de N-bromosuccinimida (1,03 g, 5,80 mmol) en DMF (12 mL), y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se vertió en agua helada (20 mL), se agitó y filtró. El sólido obtenido se purificó mediante la cromatografía de columna Isolera (eluyente: 25% de EtOAc/PE; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 82% (2,8 g, sólido blanco).

[00628] LCMS: (Método B) 648,2 ($M^+ + 2$), Rt. 4,65 mín, 67,27% (Máx).

[00629] Intermedio 32

[00630] 3,3-Dibutil-8-hidroxi-2-(4-metoxibenzil)-5-(4-metoxifenil)-7-(metiltio)-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido



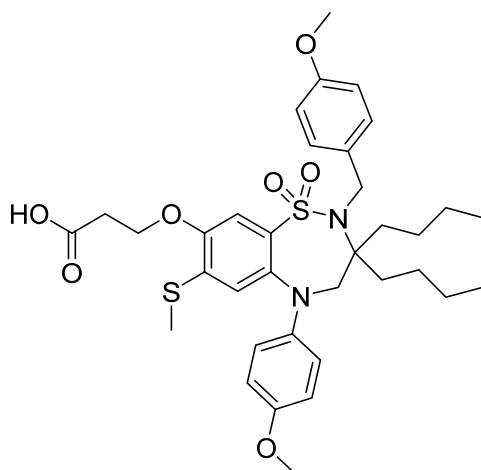
[00631]

[00632] A una solución de 5-(4-bromofenil)-3,3-dibutil-8-hidroxi-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido (intermedio 31; 2,0 g, 3,09 mmol) en DMF (20 mL) a 0 °C, se añadió bromuro de cobre (44 mg, 0,31 mmol), seguido de una solución preparada recientemente de metóxido de sodio (preparado *in situ* al añadir sodio (0,35 g, 15,4 mmol) a metanol seco (10 mL)). Luego, se calentó la mezcla de reacción durante 24 horas a 100 °C. Después de completar la reacción (controlado mediante UPLC), la mezcla de reacción se desactivó con HCl diluido (1,5 N, 10 mL) y se extrajo la capa acuosa con la mezcla 1:1 de EtOAc y PE (2 × 30 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (50 mL) y salmuera (50 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Se filtró la parte orgánica y se concentró al vacío. El material crudo resultante se purificó mediante la cromatografía de columna Isolera (eluyente: 20% de EtOAc/PE; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 81% (1,5 g, sólido amarillo pálido).

[00633] LCMS: (Método E) 599,3 (M⁺+H), Rt. 3,38 mín, 99,50% (Máx).

[00634] Intermedio 33

[00635] Ácido propiónico 3-((3,3-Dibutil-2-(4-metoxibenzil)-5-(4-metoxifenil)-7-(metiltio)-1,1-dióxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)



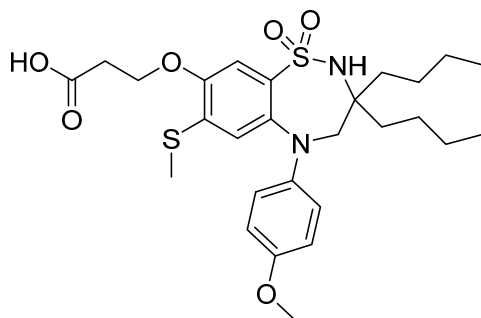
[00636]

[00637] A una solución de 3,3-dibutil-8-hidroxi-2-(4-metoxibenzil)-5-(4-metoxifenil)-7-(metiltio)-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido (intermedio 32; 1,5 g, 2,64 mmol) en THF (20 mL), *tert*-butóxido de potasio (326 mg, 2,9 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se agitó durante 10 minutos a 0 °C. Luego, se añadió β -propiolactona (209 mg, 2,9 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se desactivó con HCl diluido (1,5 N, 20 mL) y se extrajo la capa acuosa con EtOAc (2 $\times$ 30 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (30 mL) y salmuera (30 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Se filtró la parte orgánica y se concentró al vacío. El material crudo resultante se purificó mediante la cromatografía de columna Isolera (eluyente: 0-70% EtOAc/PE; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 48% (850 mg, sólido blanco).

[00638] LCMS: (Método E) 670,8 (M⁺+H), Rt. 3,37 mín, 94,99% (Máx).

[00639] Intermedio 34

[00640] Ácido propiónico 3-((3,3-dibutil-5-(4-hidroxifenil)-7-(metiltio)-1,1-dióxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)



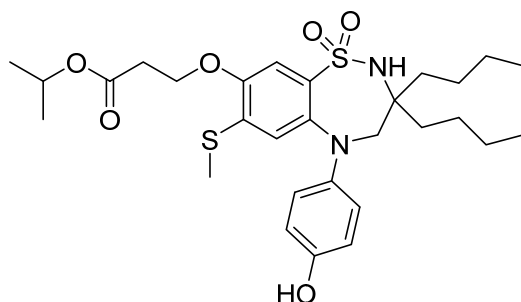
[00641]

[00642] A una solución de ácido propiónico 3-((3,3-dibutil-2-(4-metoxibenzil)-5-(4-metoxifenil)-7-(metiltio)-1,1-dióxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi) (intermedio 33; 850 mg, 1,27 mmol) en tolueno (10 mL), se añadió trietilamina (621 mg, 2,54 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 10 minutos a 0 °C. Luego se añadió TFA (1,9 mL, 25,4 mmol) y se dejó que la mezcla de reacción se agitara durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se concentró al vacío. El material crudo resultante se purificó mediante la cromatografía de columna Isolera (eluyente: 0-5% de MeOH/DCM; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 92% (650 mg, sólido blanco crudo).

[00643] LCMS: (Método E) 550,8 (M⁺+H), Rt. 3,24 mín, 94,98% (Máx).

[00644] Intermedio 35

[00645] Isopropilo 3-((3,3-dibutil-5-(4-hidroxifenil)-7-(metiltio)-1,1-dióxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)propanoato



[00646]

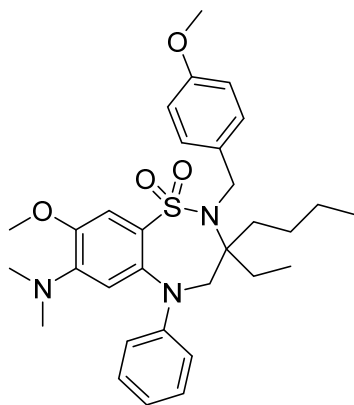
[00647] A una solución de 3-((3,3-dibutil-5-(4-metoxifenil)-7-(metiltio)-1,1-dióxido-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)ácido propiónico (intermedio 34; 300 mg, 0,54 mmol) en DCM (10 mL) a -78 °C, se añadió BBr₃ (1,1 mL, 1,09 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a -30 °C. Después de completar la reacción (controlado mediante UPLC), la mezcla de reacción se desactivó con alcohol isopropílico y se concentró al vacío. El material crudo resultante se purificó mediante la cromatografía de columna Isolera (eluyente: 0-5% de MeOH/DCM; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 150 mg (sólido blanco crudo).

[00648] LCMS: (Método A) 578,8 (M⁺+H), Rt. 2,88 mín, 83,38% (Máx).

[00649] (Nota: durante la desactivación con alcohol isopropílico, el producto de esterificación del compuesto deseado observado que se indicó mediante LCMS)

[00650] Intermedio 36

[00651] 3-Butil-7-(dimetilamino)-3-etil-8-metoxi-2-(4-metoxibenzil)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido



[00652]

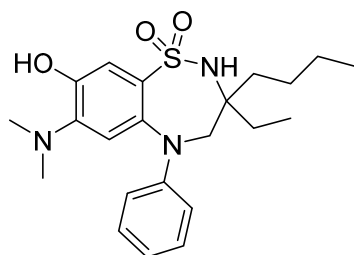
[00653] A una solución desgasificada de 7-bromo-3-butil-3-etil-8-metoxi-2-(4-metoxibenzil)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido (intermedio 13; 3,5 g, 6,34 mmol) en 1,4-dioxano (35 mL) se añadieron *tert*-butóxido de sodio (1,2 g, 12,6 mmol), xantfos (0,073 g, 0,13 mmol) y Pd₂dba₃ (0,058 g, 0,06 mmol) y se desgasificó la solución durante 10 minutos en la atmósfera N₂. se añadió *N,N*-dimetilamina (3,5 mL, 31,7 mmol) y la mezcla de reacción se calentó durante 48 horas a 100 °C. Después de completar la

reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se concentró y el residuo obtenido se diluyó con EtOAc (75 mL). Se lavó la capa orgánica con agua (2 × 75 mL) y salmuera (75 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró al vacío. Se purificó el crudo resultante mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: 30% de EtOAc/PE; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 40% (1,4 g, goma marrón).

[00654] ¹RMN de H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,34-7,28 (m, 5H), 7,11-7,02 (m, 3H), 6,84 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 6,28 (s, 1H), 4,50 (bs, 2H), 4,12 (bs, 2H), 3,92 (s, 3H), 3,81 (s, 3H), 2,68 (s, 6H), 1,42-1,25 (m, 2H), 1,19-1,05 (m, 2H), 0,95-0,81 (m, 4H), 0,73-0,58 (m, 6H). **LCMS:** (Método E) 552,1 (M⁺+H), Rt. 2,80 mín, 81,8% (máx).

[00655] Intermedio 37

[00656] 3-Butil-7-(dimetilamino)-3-etil-8-hidroxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido



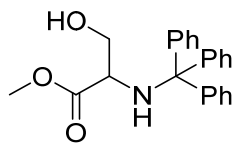
[00657]

[00658] A una solución agitada de 3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-8-metoxi-2-(4-metoxibenzil)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido (intermedio 36; 0,7 g, 1,22 mmol) en DMF (10 mL), se añadió metóxido de sodio (0,5 g, 6,32 mmol) y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 100 °C. La compleción de la reacción (controlado mediante TLC y LCMS), la mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo obtenido se diluyó con EtOAc (20 mL). Se lavó la capa orgánica con agua (2 × 20 mL) y salmuera (20 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró al vacío. Se purificó el crudo resultante mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: 70% de EtOAc/PE; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 60% (0,4 g, sólido blanco crudo).

[00659] LCMS: (Método E) 418,2 ($M^+ + H$), Rt. 2,14 mín, 88,9% (máx).

[00660] Intermedio 38

[00661] Metil tritilserinato



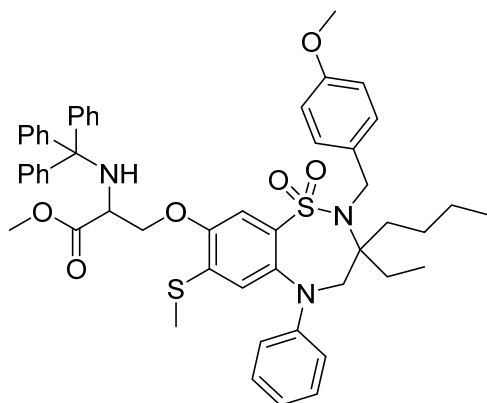
[00662]

[00663] A una solución agitada de clorhidrato de metil serinato (0,65 g, 0,5 mmol) en DCM (10 mL), se añadió trietilamina (2 mL, 1,50 mmol) y la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C. Luego, se añadió el cloruro tritil (1,67 g, 0,6 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se desactivó con agua (10 mL) y se extrajo la capa acuosa con DCM (2 × 10 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (10 mL) y salmuera (10 mL) y se secó sobre Na_2SO_4 anhidro. Se filtró la parte orgánica y se concentró al vacío. El material crudo resultante se purificó mediante la cromatografía de columna Isolera (eluyente: 7% de EtOAc/PE; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 33% (0,7 g, sólido blanco).

[00664] $^1\text{RMN de H}$ (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,54-7,50 (m, 6H), 7,32-7,27 (m, 6H), 7,24-7,20 (m, 3H), 3,74-3,72 (m, 1H), 3,62-3,51 (m, 2H), 3,33 (s, 3H), 3,00 (bs, 1H), 2,33 (bs, 1H).

[00665] Intermedio 39

[00666] Metil O-(3-butil-3-etil-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)-N-tritilserinato.

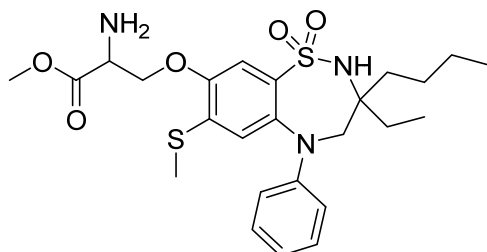


[00667]

[00668] A una solución agitada de 3-butil-3-etil-8-hidroxi-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido (intermedio 14; 400 mg, 0,74 mmol) en tolueno (10 mL) a 0 °C, se añadieron trifenilfosfina (388 mg, 1,48 mmol) y metil tritilserinato (intermedio 38; 333 mg, 0,88 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 5 minutos, luego se añadió DIAD (225 mg, 1,11 mmol) gota a gota a 0 °C y la mezcla de reacción se calentó durante 3 horas a 120 °C. Después de que se completó la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo obtenido se diluyó con agua (10 mL) y se extrajo la capa acuosa con EtOAc (2 × 10 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (10 mL) y salmuera (10 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Se filtró la parte orgánica y se concentró al vacío. El material crudo resultante se purificó mediante la cromatografía de columna Isolera (eluyente: 10-25% EtOAc/PE; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 99% (660 mg, sólido blanco crudo).

[00669] ¹RMN de H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ. 7,45 - 7,44 (m, 7H), 7,32 - 7,26 (m, 11H), 7,20 - 7,17 (m, 3H), 7,06 (s, 1H), 6,91 - 6,89 (m, 4H), 4,25 (s, 2H), 3,75 (s, 3H), 3,74 (d, *J* = 0,4 Hz, 2H), 3,19 (t, *J* = 0,4 Hz, 4H), 3,15 (s, 2H), 2,11 (s, 3H), 1,24 - 1,23 (m, 3H), 1,21 - 1,13 (m, 2H), 0,99 (s, 3H), 0,66 (s, 6H).

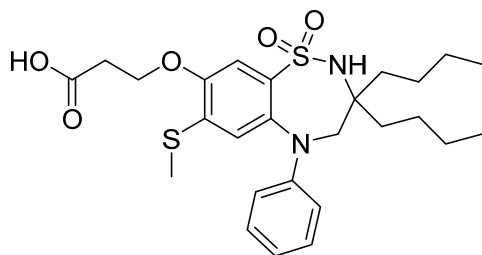
[00671] Serinata de metil O-(3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)



[00673] A una solución agitada de metil O-(3-butil-3-etil-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)-N-tritilserinata (intermedio 39; 300 mg, 0,44 mmol) en tolueno (5 mL) a 0 °C, se añadieron trifenilamina (166 mg, 0,67 mmol) y TFA (774 mg, 6,78 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se vertió en agua helada (10 mL) y se extrajo la capa acuosa con EtOAc (2 × 10 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (10 mL) y salmuera (10 mL). Luego, la parte orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró al vacío. El material crudo resultante se purificó mediante la cromatografía de columna Isolera (eluyente: 25% de MeOH/DCM; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 79% (140 mg, sólido verde).

[00675] Ejemplo 1

[00676] Ácido propiónico 3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)



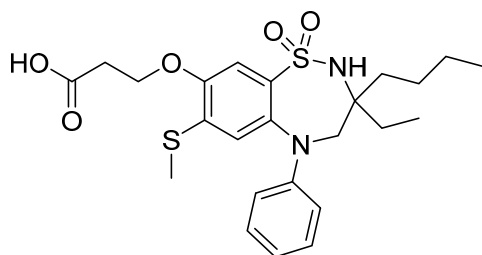
[00677]

[00678] A una solución agitada de ácido propiónico 3-((3,3-dibutyl-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi) (intermedio 2; 15 g, 23,41 mmol) en DCM seco (150 mL) a 0 °C, se añadieron TFA (45 mL) y trietilsilano (45 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado mediante LCMS), la mezcla de reacción se diluyó con agua helada (25 mL). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 × 100 mL). La capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se evaporó al vacío. El material crudo resultante se purificó mediante la HPLC preparativa (Método D) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 47% (5,8 g, sólido blanco crudo).

[00679] ¹RMN de H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,44 (bs, 1H), 7,29 - 7,19 (m, 4H), 7,18 - 7,02 (m, 2H), 6,98 - 6,89 (m, 1H), 6,58 - 6,54 (m, 1H), 4,22 (t, *J* = 5,6 Hz, 2H), 3,95 - 3,72 (m, 2H), 2,70 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H), 2,08 (s, 3H), 1,53 - 1,24 (m, 6H), 1,08 - 1,01 (m, 6H), 0,77 - 0,73 (m, 6H). **LCMS:** (Método D) 521,3 (M⁺+H), Rt. 2,92 mín, 99,24% (Máx). **HPLC:** (Método B) Rt. 6,22 mín, 98,91% (Máx).

[00680] Ejemplo 2

[00681] Ácido propiónico 3-((3-butyl-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)



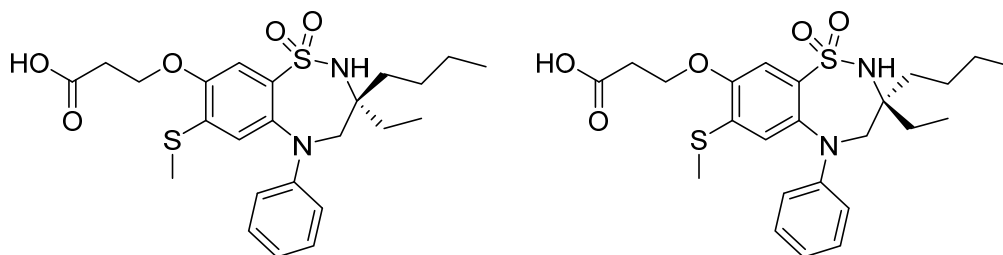
[00682]

[00683] A una solución agitada de ácido propiónico 3-((3-butil-3-etil-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi) (intermedio 15; 550 mg, 0,9 mmol) en DCM (6 mL), se añadieron TFA (2 mL) y trietilsilano (2 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se concentró al vacío. El material crudo resultante se purificó mediante la cromatografía de columna Isolera (eluyente: 20-60% EtOAc/PE; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 67% (300 mg, sólido blanco).

[00684] ¹RMN de H (400 MHz, CD₃OD): δ 7,34-7,30 (m, 3H), 7,17 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,02 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 6,62 (s, 1H), 4,30 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H), 3,89 (s, 2H), 2,81 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H), 2,10 (s, 3H), 1,85-1,58 (m, 2H), 1,56-1,41 (m, 2H), 1,40-1,25 (m, 1H), 1,23-0,95 (m, 3H), 1,07-0,79 (m, 6H). **LCMS:** (Método A) 493,2 (M⁺+H), Rt. 2,65 mín, 94,21% (Máx). **HPLC:** (Método B) Rt. 5,62 mín, 94,00% (Máx).

[00685] Ejemplos 3 y 4

[00686] Ácido propiónico (S)-3-((3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi) y ácido propiónico (R)-3-((3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)



[00687]

[00688] Los dos enantiómeros de ácido propiónico 3-((3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi) racémico (300 mg, 0,61 mmol) se separaron mediante SFC quiral (método F). El material se concentró al vacío a 40 °C. La primera fracción de elución correspondió al

enantiómero 1 y la segunda fracción de elución correspondió al enantiómero 2. Se desconoce la configuración absoluta de los dos enantiómeros.

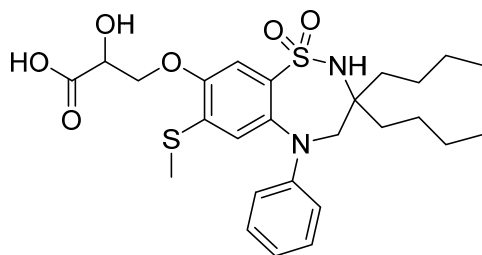
[00689] Cada una de las dos fracciones se trató luego individualmente para la purificación adicional. El residuo obtenido se acidificó con HCl diluido (1,5 N, pH ~4) y se extrajo la capa acuosa con EtOAc (3 × 15 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (15 mL) y salmuera (15 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se filtró y se concentró al vacío a 40 °C para obtener un enantiómero purificado del compuesto del título.

[00690] Enantiómero 1: **Rendimiento:** 25% (75 mg, sólido marrón pálido). **¹RMN de H** (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,42 (s, 1H), 7,28-7,20 (m, 4H), 7,09-7,07 (m, 1H), 6,93 (t, *J* = 6,8 Hz, 1H), 6,59 (s, 1H), 4,23 (t, *J* = 5,6 Hz, 2H), 3,78 (bs, 2H), 2,77-2,69 (m, 2H), 2,09 (s, 3H), 1,73-1,59 (m, 1H), 1,56-1,47 (m, 1H), 1,41-1,32 (m, 2H), 1,12-1,28 (m, 2H), 1,10-0,97 (m, 3H), 0,76 (t, *J* = 7,2 Hz, 6H). **LCMS:** (Método E) 493,2 (M⁺+H), Rt. 2,54 mín, 95,95% (Máx). **HPLC:** (Método B) Rt. 5,62 mín, 95,16% (Máx). **SFC quiral:** (Método H) Rt. 5,11 mín, 98,47% (Máx).

[00691] Enantiómero 2: **Rendimiento:** 33% (100 mg, sólido marrón pálido). **¹RMN de H** (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,39 (s, 1H), 7,27-7,19 (m, 4H), 7,06 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H), 6,92 (t, *J* = 6,8 Hz, 1H), 6,58 (s, 1H), 4,22 (t, *J* = 5,6 Hz, 2H), 3,78 (bs, 2H), 2,70 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H), 2,08 (s, 3H), 1,71-1,57 (m, 1H), 1,56-1,45 (m, 1H), 1,44-1,31 (m, 2H), 1,29-1,17 (m, 1H), 1,14-0,88 (m, 3H), 0,75-0,71 (m, 6H). **LCMS:** (Método E) 493,2 (M⁺+H), Rt. 2,54 mín, 93,60% (Máx). **HPLC:** (Método B) Rt. 5,62 mín, 92,78% (Máx). **SFC quiral:** (Método H) Rt. 5,91 mín, 97,35% (Máx).

[00692] Ejemplo 5

[00693] Ácido hidroxipropiónico 3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2



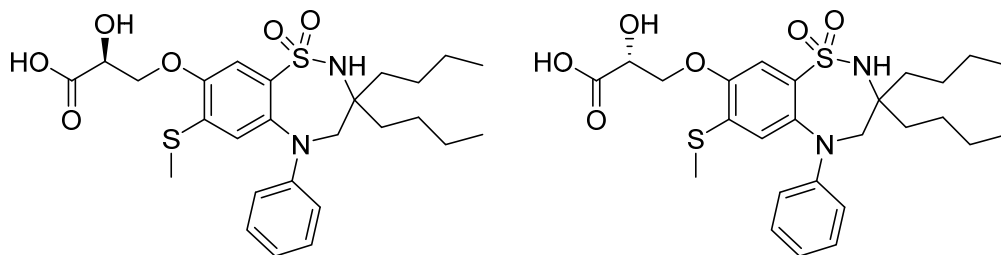
[00694]

[00695] A una solución agitada de ácido hidroxipropiónico 3-((3,3-dibutil-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2 (intermedio 17; 200 mg, 0,3 mmol) en DCM (10 mL), se añadieron TFA (0,6 mL, 3 vol) y trietilsilano (0,6 mL, 3 vol) y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se desactivó con agua helada (5 mL) y se extrajo la capa acuosa con DCM (2 × 5 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (10 mL) y salmuera (10 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se filtró, se concentró al vacío y el material crudo resultante se purificó mediante la HPLC preparativa (método A) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 11% (18 mg, sólido blanco).

[00696] ¹RMN de H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,29-7,21 (m, 4H), 7,19-7,01 (m, 2H), 6,93 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 6,58 (s, 1H), 4,35-4,17 (m, 1H), 4,03-3,91 (m, 2H), 3,51-3,35 (m, 2H), 2,10 (s, 3H), 1,56-0,97 (m, 12H), 0,75 (t, *J* = 6,4 Hz, 6H). **LCMS:** (Método A) 537,3 (M⁺+H), Rt. 2,73 mín, 94,57% (Máx). **HPLC:** (Método B) Rt. 5,79 mín, 96,65% (Máx).

[00697] Ejemplos 6 y 7

[00698] Ácido hidroxipropiónico (S)-3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2 y ácido hidroxipropiónico (R)-3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2



[00699]

[00700] A una solución agitada de enantiómero 1 de metil 3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-hidroxipropanoato (intermedio 19; 90 mg, 0,16 mmol) en 1,4-dioxano (2 mL), se añadió HCl diluido (6 N, 3 mL) y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 75 °C. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua helada (2 mL) y se extrajo la capa acuosa con EtOAc (2 × 5 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (5 mL) y salmuera (5 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se filtró, se concentró al vacío y el material crudo resultante se trituró con éter de petróleo para obtener enantiómero 1 del compuesto del título.

[00701] Se obtuvo el enantiómero 2 del compuesto del título siguiendo el mismo procedimiento, comenzando de 80 mg de enantiómero 2 de intermedio 19. Se desconoce la configuración absoluta de los dos enantiómeros.

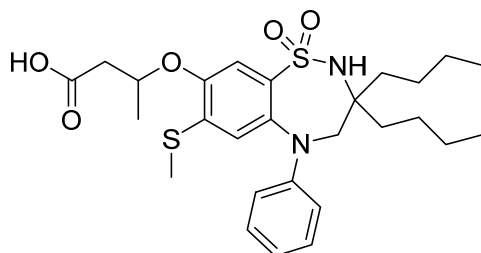
[00702] Enantiómero 1: **Rendimiento:** 79% (70 mg, sólido blanco). **¹RMN de H** (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,74 (bs, 1H), 7,26-7,22 (m, 4H), 7,13-7,11 (m, 2H), 6,95 (t, *J* = 6,8 Hz, 1H), 6,56 (s, 1H), 4,35-4,33 (m, 1H), 4,24-4,15 (m, 2H), 3,78 (bs, 2H), 2,09 (s, 3H), 1,53-1,51 (m, 2H), 1,41-1,33 (m, 2H), 1,31-1,20 (m, 2H), 1,19-0,95 (m, 6H), 0,75 (t, *J* = 6,4 Hz, 6H). **LCMS:** (Método D) 537,2 (M⁺+H), Rt. 2,86 mín, 93,83% (Máx). **HPLC:** (Método A) Rt. 5,43 mín, 93,28% (Máx). **SFC quiral:** (Método H) Rt. 3,34 mín, 100% (Máx).

[00703] Enantiómero 2: **Rendimiento:** 64% (50 mg, sólido blanco). **¹RMN de H** (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,30-7,22 (m, 4H), 7,13-7,11 (m, 2H), 6,97-6,95 (m, 1H), 6,56 (s, 1H), 4,27-4,22 (m, 2H), 4,16-4,12 (m, 1H), 3,83 (bs, 2H), 2,09 (s, 3H), 1,53-1,51 (m, 2H), 1,41-1,33 (m, 2H), 1,31-1,20 (m, 2H), 1,19-0,95 (m, 6H), 0,75 (t, *J* = 6,8 Hz, 6H). **LCMS:** (Método D) 537,2 (M⁺+H), Rt. 2,86 mín, 96,22% (Máx).

HPLC: (Método A) Rt. 5,45 mín, 95,09% (Máx). **SFC quiral:** (Método H) Rt. 1,85 mín, 100% (Máx).

[00704] Ejemplo 8

[00705] Ácido butanoico 3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)



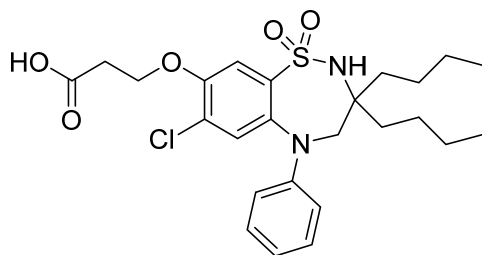
[00706]

[00707] A una solución agitada de ácido butanoico 3-((3,3-dibutil-2-(4-metoxibenzil)-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi) (intermedio 20; 250 mg, 0,38 mmol) en DCM (10 mL), se añadieron TFA (0,75 mL, 3 vol) y trietilsilano (0,75 mL, 3 vol) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se desactivó con agua helada (5 mL) y se extrajo la capa acuosa con DCM (2 × 5 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (10 mL) y salmuera (10 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se filtró, se concentró al vacío y el material crudo resultante se purificó mediante la HPLC preparativa (Método A) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 24% (50 mg, sólido blanco).

[00708] ¹RMN de H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,34-7,18 (m, 4H), 7,15-7,05 (m, 2H), 6,97-6,88 (m, 1H), 6,53 (s, 1H), 4,75-4,72 (m, 1H), 3,80 (s, 2H), 2,55-2,50 (m, 2H), 2,06 (s, 3H), 1,62-1,45 (m, 2H), 1,44-1,34 (m, 2H), 1,32-1,28 (m, 5H), 1,25-0,90 (m, 6H), 0,75-0,72 (m, 6H). **LCMS:** (Método A) 535,3 (M⁺+H), Rt. 2,95 mín, 98,47% (Máx). **HPLC:** (Método B) Rt. 6,29 mín, 96,34% (Máx).

[00709] Ejemplo 9

[00710] Ácido propiónico 3-((3,3-dibutil-7-cloro-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)



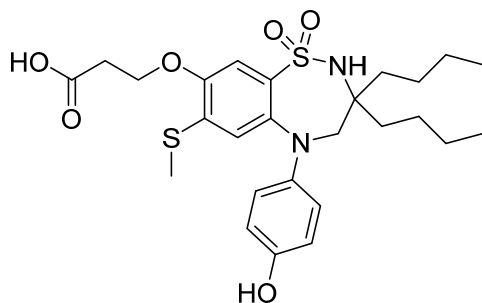
[00711]

[00712] A una solución agitada de 3,3-dibutil-7-cloro-8-hidroxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido (intermedio 30; 200 mg, 0,45 mmol) en THF (3 mL) a 0 °C, se añadió *tert*-butóxido de potasio (56 mg, 0,5 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos. Luego se añadió una solución de β-propiolactona (32 mg, 0,45 mmol) en THF (1 mL) gota a gota y se agitó la mezcla de reacción durante 6 horas a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se desactivó con HCl diluido (1,5 N, 2 mL) y luego se diluyó con agua (2 mL). Se extrajo la capa acuosa con EtOAc (2 × 5 mL) y la capa orgánica combinada se lavó con agua (5 mL) y salmuera (5 mL). La parte orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró al vacío. El material crudo resultante se purificó mediante la cromatografía de columna Isolera (eluyente: 3% de MeOH/DCM; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 20% (45 mg, sólido blanco).

[00713] ¹RMN de H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,30 (bs, 1H), 7,62-7,43 (m, 1H), 7,40-7,27 (m, 3H), 7,26-7,12 (m, 2H), 7,09-6,98 (m, 1H), 6,80 (s, 1H), 4,25 (t, *J* = 5,6 Hz, 2H), 3,87 (bs, 2H), 2,72 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H), 1,56-1,45 (m, 2H), 1,44-1,31 (m, 2H), 1,29-1,19 (m, 2H), 1,15-0,91 (m, 6H), 0,89-0,72 (m, 6H). **LCMS:** (Método E) 509,1 (M⁺+H), Rt. 2,78 mín, 96,38% (Máx). **HPLC:** (Método B) Rt. 6,18 mín, 96,38% (Máx).

[00714] Ejemplo 10

[00715] Ácido propiónico 3-((3,3-dibutil-5-(4-hidroxifenil)-7-(metiltio)-1,1-dióxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)



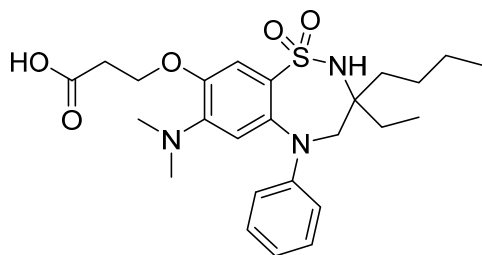
[00716]

[00717] A una solución de isopropilo 3-((3,3-dibutil-5-(4-hidroxifenil)-7-(metiltio)-1,1-dióxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)propanoato (intermedio 35; 120 mg, 0,20 mmol) en 1,4-dioxano (2 mL), se añadió HCl diluido (6 N, 4 mL) y la mezcla de reacción se calentó durante 12 horas a 70 °C. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua helada (5 mL) y se extrajo la capa acuosa con EtOAc (2 × 5 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (5 mL) y salmuera (5 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Se filtró la parte orgánica y se concentró al vacío. El material crudo resultante se purificó mediante la cromatografía de columna Isolera (eluyente: 40-50% EtOAc/PE; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 54% (60 mg, sólido blanco).

[00718] ¹RMN de H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,37 (s, 1H), 9,30 (s, 1H), 7,39 (s, 1H), 7,09-7,06 (m, 3H), 6,76 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 6,26 (s, 1H), 4,16 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H), 3,87 (s, 2H), 2,67 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H), 2,00 (s, 3H), 1,59-1,35 (m, 4H), 1,33-1,07 (m, 4H), 1,06-0,81 (m, 4H), 0,74 (t, *J* = 6,8 Hz, 6H). **LCMS:** (Método E) 537,2 (M⁺+H), Rt. 2,37 mín, 98,62% (Máx). **HPLC:** (Método B) Rt. 5,22 mín, 98,80% (Máx).

[00719] Ejemplo 11

[00720] Ácido propiónico 3-((3-Butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)



[00721]

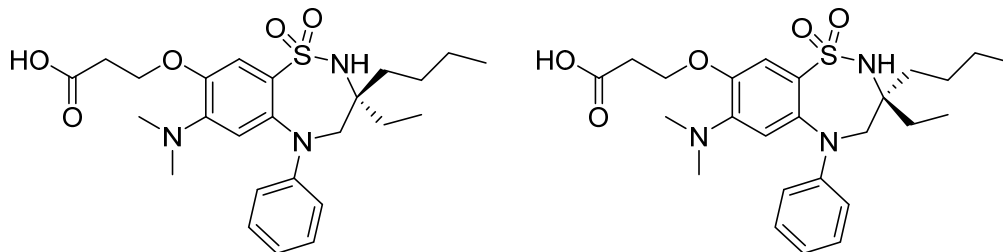
[00722] A una solución agitada de 3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-8-hidroxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido (intermedio 37; 600 mg, 1,43 mmol) en THF (3 mL) a 0 °C, se añadió *tert*-butóxido de potasio (177 mg, 1,58 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos. Luego se añadió una solución de β -propiolactona (103 mg, 1,43 mmol) en THF (2 mL) gota a gota y se agitó la mezcla de reacción durante 3 horas a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se desactivó con HCl diluido (1,5 N, 5 mL) y se diluyó con agua (5 mL). Se extrajo la capa acuosa con EtOAc (2 $\times$ 20 mL) y la capa orgánica combinada se lavó con agua (20 mL) y salmuera (20 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se filtró y se concentró al vacío. El material crudo resultante se purificó mediante la cromatografía de columna Isolera (eluyente: 3-5% de MeOH/DCM; gel de sílice: malla de 230-400) y el material obtenido se volvió a purificar mediante la HPLC preparativa (Método A) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 6% (42 mg, sólido blanco crudo).

[00723] ¹RMN de H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,41 (s, 1H), 7,25 (t, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,14-6,97 (m, 4H), 6,90 (t, *J* = 6,8 Hz, 1H), 6,23 (s, 1H), 4,16 (t, *J* = 5,6 Hz, 2H), 3,79 (s, 2H), 2,79-2,72 (m, 2H), 2,52 (s, 6H), 1,71-1,47 (m, 2H), 1,46-1,33 (m, 2H), 1,32-1,17 (m, 2H), 1,11-0,97 (m, 2H), 0,76-0,67 (m, 6H). **LCMS:** (Método E) 490,2 (M⁺+H), Rt. 2,41 mín, 98,92% (Máx). **HPLC:** (Método B) Rt. 4,28 mín, 99,05% (Máx).

[00724] Ejemplos 12 y 13

[00725] Ácido propiónico (S)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi) y ácido propiónico

(R)-3-((3-butyl-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)



[00726]

[00727] Los dos enantiómeros de ácido propiónico 3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi) racémico (ejemplo 11; 65 mg, 0,13 mmol) se separaron mediante SFC quiral (método I). El material se concentró al vacío a 40 °C. La primera fracción de elución correspondió al enantiómero 1 y la segunda fracción de elución correspondió al enantiómero 2. Se desconoce la configuración absoluta de los dos enantiómeros.

[00728] Cada una de las dos fracciones se trató luego individualmente para la purificación adicional. El residuo obtenido se acidificó con HCl diluido (1,5 N, pH ~4) y se extrajo la capa acuosa con EtOAc (3 × 5 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (10 mL) y salmuera (10 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se filtró y se concentró al vacío a 40 °C para obtener un enantiómero purificado del compuesto del título.

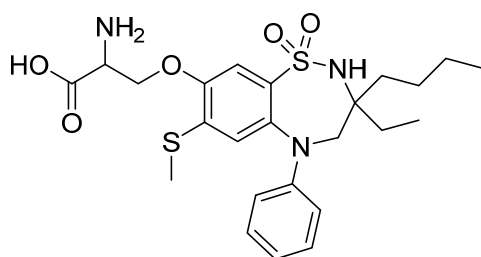
[00729] Enantiómero 1: **Rendimiento:** 6% (5 mg, sólido blanco crudo). **¹RMN de H** (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,40 (s, 1H), 7,25 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,15 (s, 1H), 7,08-7,02 (m, 3H), 6,91 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 6,23 (s, 1H), 4,16 (t, *J* = 5,6 Hz, 2H), 3,80 (bs, 2H), 2,79-2,71 (m, 2H), 2,58 (s, 6H), 1,71-1,59 (m, 1H), 1,58-1,45 (m, 1H), 1,44-1,32 (m, 2H), 1,29-1,15 (m, 1H), 1,14-0,91 (m, 3H), 0,79-0,69 (m, 6H). **LCMS:** (Método E) 490,1 (M⁺+H), Rt. 2,39 mín, 98,52% (Máx). **HPLC:** (Método B) Rt. 4,32 mín, 98,57% (Máx). **SFC quiral:** (Método M) Rt. 3,09 mín, 98,77% (Máx).

[00730] Enantiómero 2: **AS0649:Rendimiento :** 5% (7 mg, sólido blanco crudo). **¹RMN de H** (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,40 (s, 1H), 7,25 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,15

(s, 1H), 7,08-7,03 (m, 3H), 6,91 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H), 6,24 (s, 1H), 4,16 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H), 3,80 (bs, 2H), 2,79-2,71 (m, 2H), 2,58 (s, 6H), 1,71-1,59 (m, 1H), 1,58-1,45 (m, 1H), 1,44-1,31 (m, 2H), 1,29-1,14 (m, 1H), 1,14-0,91 (m, 3H), 0,79-0,69 (m, 6H). **LCMS:** (Método E) 489,9 ($M^+ + H$), Rt. 2,38 mín, 99,66% (Máx). **HPLC:** (Método B) Rt. 4,28 mín, 98,43% (Máx). **SFC quiral:** (Método M) Rt. 4,25 mín, 97,61% (Máx).

[00731] Ejemplo 14

[00732] Serina **O-(3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)**



[00733]

[00734] A una solución agitada de metil O-(3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)serinato (intermedio 40; 140 mg, 0,27 mmol) en 1,4-dioxano (2 mL), se añadió hidróxido de litio (23 mg, 0,53 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de completar la reacción (controlado mediante TLC), la mezcla de reacción se desactivó con HCl diluido (1,5 N, 2 mL) y se extrajo la capa acuosa con EtOAc (2 × 5 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (5 mL) y salmuera (5 mL) y se secó sobre Na_2SO_4 anhidro. Se filtró la parte orgánica y se concentró al vacío. El material crudo resultante se purificó mediante la cromatografía de columna Isolera (eluyente: 28% de MeOH/DCM; gel de sílice: malla de 230-400) para obtener el compuesto del título. **Rendimiento:** 31% (42 mg, sólido blanco crudo).

[00735] $^1\text{RMN de H}$ (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ 7,85 (s, 2H), 7,29 (t, $J = 6,4$ Hz, 3H), 7,11 (d, $J = 6,0$ Hz, 2H), 6,97 (t, $J = 6,8$ Hz, 1H), 6,56 (s, 1H), 4,37 - 4,34 (m, 1H), 4,20 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H), 3,89 (s, 1H), 3,63 (s, 1H), 3,10 - 3,05 (m, 1H), 2,10

(s, 3H), 1,63 - 1,63 (m, 8H), 1,05 - 0,72 (m, 6H). **LCMS:** (Método E) 508,3 (M⁺+H), Rt. 2,39 mín, 98,34% (Máx). **HPLC:** (Método B) Rt. 4,58 mín, 97,26s% (Máx).

[00736] ENSAYOS BIOLÓGICOS

[00737] *Protocolo del ensayo IBAT (h/m)*

[00738] Se sembraron 10.000 células (células humanos o de ratón que sobra expresan IBAT) en 96 placas de pocillo (Corning CLS3809) en un medio de 200 µL de MEM-alfa (Gibco 12571-063) suplementado con 10% de FBS (Gibco 10438026) que contiene puromicina (Gibco A1113803) (10 µg/mL) y se incubaron a 37 °C en 5% de CO₂ durante 48 horas. Después de la incubación, el medio se decantó a partir de los pocillos y se lavaron células dos veces con 300 µL del medio basal MEM-alfa (libre de FBS). Después de decantar el medio basal MEM-alfa cada vez, se presionaron las placas contra una toalla de papel para garantizar la eliminación máxima del medio residual.

[00739] Se añadieron las diluciones del inhibidor de prueba (máxima concentración de prueba que tiene 10 µM, dilución en serie de 3 veces, 10 puntos) preparadas en DMSO (Sigma D2650) en una mezcla de incubación (manteniendo la concentración del 0,2% de DMSO final) que contienen 0,25 µM de ácido taurocólico 3H (ARC ART-1368) y 5 µM de ácido taurocólico frío (Sigma T4009). Luego se añadió 50 µL de la mezcla de incubación que contiene inhibidores de la prueba en los pocillos (por duplicado) y se incubaron las placas durante 20 minutos en un incubador de CO₂ a 37 °C. Después de la incubación, se detuvo la reacción al mantener las placas en la mezcla de agua helada durante 2-3 minutos y luego la mezcla de incubación se aspiró por completo de los pocillos. Se lavaron los pocillos dos veces con 250 µL de 1 mM de ácido taurocólico enfriado y sin etiquetar disuelto en HBSS (10 mM) amortiguado por HEPES (Gibco 15630080) (Gibco 14175079) (pH 7,4). Se presionaron las placas contra una toalla de papel después de cada lavado para garantizar la máxima eliminación del tampón de bloqueo.

[00740] Se añadieron 100 µL de MicroScint-20 (PerkinElmer 6013621) a los pocillos y se mantuvieron durante toda la noche a temperatura ambiente antes

de leer las placas en la microplaca de centelleo TopCount NXT™ y recuento de luminiscencia de PerkinElmer bajo el protocolo de prueba de 3H (configurado a un tiempo de lectura de 120 segundos por pocillo).

[00741] *Protocolo del ensayo LBAT (h/m)*

[00742] Se sembraron 20.000 células (células humanas o de ratón que sobra expresan LBAT) en 96 placas de pocillo (Corning CLS3809) en un medio de 100 µL de MEM-alfa (Gibco 12571-063) suplementado con 10% de FBS (Gibco 10438026) que contiene geneticina (Gibco 10131-027) (1 mg/mL) y se incubaron a 37 °C en 5% de CO₂ durante 24 horas. Después de la incubación, el medio se decantó a partir de los pocillos y se lavaron células dos veces con 300 µL del medio basal MEM-alfa (libre de FBS). Después de decantar el medio basal MEM-alfa cada vez, se presionaron las placas contra una toalla de papel para garantizar la eliminación máxima del medio residual.

[00743] Para el LBAT humano, se preparó la mezcla de incubación al añadir diluciones del inhibidor de la prueba (dilución en serie de 3 veces en DMSO (Sigma D2650), 10 puntos) en MEM-alfa (sin FBS) que contiene 0,3 µM de ácido taurocólico 3H (ARC ART-1368) y 7,5 µM de ácido taurocólico frío (Sigma T4009) (manteniendo la concentración del 0,2% de DMSO final). Para el LBAT de ratón, se preparó la mezcla de incubación al añadir diluciones del inhibidor de la prueba (dilución en serie de 3 veces en DMSO, 10 puntos) en MEM-alfa (sin FBS) que contiene 0,3 µM de ácido taurocólico 3H y 25 µM de ácido taurocólico frío (manteniendo la concentración del 0,2% de DMSO final).

[00744] Luego se añadió 50 µL de la mezcla de incubación que contiene inhibidores de la prueba en los pocillos (por duplicado) y se incubaron las placas durante 20 minutos en un incubador de CO₂ a 37 °C. Después de la incubación, se detuvo la reacción al mantener las placas en la mezcla de agua helada durante 2-3 minutos y luego la mezcla de incubación se aspiró por completo de los pocillos. Se lavaron los pocillos dos veces con 250 µL de 1 mM de ácido taurocólico enfriado y sin etiquetar disuelto en HBSS (10 mM) amortiguado por HEPES (Gibco 15630080) (Gibco 14175079) (pH 7,4). Se presionaron las placas

contra una toalla de papel después de cada lavado para garantizar la máxima eliminación del tampón de bloqueo.

[00745] Se añadieron 100 μL de MicroScint-20 (PerkinElmer 6013621) a los pocillos y se mantuvieron durante toda la noche a temperatura ambiente antes de leer las placas en la microplaca de centelleo TopCount NXT™ y recuento de luminiscencia de PerkinElmer bajo el protocolo de prueba de 3H (configurado a un tiempo de lectura de 120 segundos por pocillo, con orientación normal de la placa).

[00746] *Ensayo de permeabilidad bidireccional (células Caco-2)*

[00747] Se sembraron las células Caco-2 (Evotec) en una densidad de 70,000 células/pocillo en placas de inserción del cultivo celular del pocillo Millicell® 24 y se mantuvieron en un incubador (37 °C, 5% de CO₂, HR del 95%) durante 21 días con cambio de los medios a días alternativos.

[00748] Se prepararon las soluciones madre (10 mM) de los compuestos de prueba, atenolol (marcador de permeabilidad baja), propranolol (marcador de permeabilidad alta) y digoxina (sustrato para la vía de transporte P-gp) en dimetilsulfóxido (DMSO). Se preparó una solución madre intermedia (1 mM) al diluir 10 μL de 10 mM de la solución madre maestra con 90 μL de DMSO puro. Se preparó una solución madre de trabajo (10 μM) al diluir 50 μL de 1 mM con 4950 μL del tampón FaSSIF. La adición posterior de los compuestos a FaSSIF, las muestras estuvieron sujetas a la sonicación durante 2 horas, y se centrifugaron a 4000 RPM durante 30 minutos a 37 °C. El sobrenadante resultante de 4 mL se usó directamente en el ensayo. La concentración final de DMSO en los experimentos de transporte fue del 1%.

[00749] El día del ensayo, se lavaron las capas monomoleculares de Caco-2 dos veces con el tampón de transporte (HBSS, pH 7,4) y se incubaron previamente durante 30 minutos (37 °C, 5% CO₂, HR del 95%) en un incubador. La resistencia eléctrica de las capas monomoleculares se midió con un sistema de ERS Millicell®. Las capas monomoleculares con valores de resistencia

eléctrica transepitelial (TEER) mayores que 350 ohm.cm² se seleccionaron para el ensayo.

[00750] Se realizó el ensayo en una dirección de absorción (A2B) y direcciones secretorias (B2A). Se iniciaron los experimentos de transporte al añadir el tampón de ensayo de transporte (tampón FaSSIF preparado en HBSS) que consta de compuestos al compartimiento del donante (cámara apical A-B; cámara basolateral B-A) en pocillos duplicados (n=2). El tampón HBSS libre de medicamento (pH 7,4) que contiene el 1% de la albúmina bovina en suero (BSA) se introdujo en los compartimientos de receptor (A-B-basolateral; B-A-apical). Los volúmenes de los compartimientos apical y basolateral fueron de 0,4 y 0,8 mL, respectivamente. Después de añadir la solución de dosificación, se incubaron las placas en un incubador durante 120 minutos a 37 °C. Después de 120 minutos, se recopilaron las muestras del donante y el receptor y se emparejaron las matrices (1:1, 30 µL de la muestra del estudio + 30 µL del tampón en blanco) con el tampón opuesto. Se emparejaron las matrices de la muestra de dosificación (1:1, 30 µL de la muestra del estudio + 30 µL del tampón en blanco) con el tampón opuesto. Se procesaron las muestras al añadir acetonitrilo que contiene el estándar interno (60 µL de muestra del estudio + 200 µL acetonitrilo que contiene el estándar interno, tolbutamida, 500 ng/mL). Las muestras se mezclaron con agitador vórtex y se centrifugaron a 4000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante obtenido (100 µL) se diluyó con 100 µL de agua y se transfirió a 96 placas de pocillo frescas. Se analizó la concentración de los compuestos en las muestras mediante el método de espectrometría de masas en cascada de la cromatografía de líquidos (LC-MS/MS) usando el método bioanalítico de escala de descubrimiento, según corresponda.

[00751] Se calcularon la permeabilidad media aparente (P_{app} , $\times 10^{-6}$ cm/seg) de los compuestos de prueba, atenolol, propranolol y digoxina de la siguiente manera:

[00752]
$$P_{app} = \frac{dq}{dt} \times \frac{1}{C_o} \times \frac{1}{A}$$

[00753] donde dq/dt = tasa de transporte (tasa de transporte del compuesto en el compartimiento receptor), C_0 = concentración inicial en el compartimiento donante, A = área de superficie de la membrana de filtro efectiva.

[00754] *Protocolo del ensayo según HepaRG*

[00755] Un vial criopreservado de las células HepaRG diferenciadas (Biopredic International HPR116080) se descongela en un medio HepaRG de propósito de descongelamiento/de placa/general (Biopredic International ADD670C) suplementado con 200 mM de glutamax (Gibco 35050061) siguiendo el protocolo proporcionado por Biopredic International. Se sembraron 70.000 células por pocillo en 96 placas de pocillo (Corning CLS3809) en 100 μ L de un medio HepaRG de propósito de descongelamiento/de placa/general suplementado con 200 mM de glutamax y se incubaron a 37 °C en 5% de CO₂ durante 24 horas. Después de la incubación, el medio de la siembra se reemplaza por el medio HepaRG de mantenimiento/metabolismo (Biopredic International ADD620C) y se incubó durante 6 días, con llenado a tope del medio HepaRG fresco de mantenimiento/metabolismo cada 48 horas. Después de 7 días de incubación después de la siembra, se decantó el medio de incubación de los pocillos y células se lavaron dos veces con 250 μ L del medio basal E de William (Gibco 12551032). Después de decantar el medio basal E de William cada vez, se presionaron las placas contra una toalla de papel para garantizar la eliminación máxima del medio residual.

[00756] Se prepara la mezcla de incubación al añadir las diluciones del inhibidor de la prueba (dilución en serie de 3 veces en DMSO (Sigma D2650)) en el medio E de William (basal) que contiene 0,3 μ M de ácido taurocólico 3H (ARC ART-1368) y 7,5 μ M de ácido taurocólico frío (Sigma T4009) (manteniendo la concentración del 0,2% de DMSO final). Luego se añade 50 μ L de la mezcla de incubación que contiene inhibidores de la prueba en los pocillos (por duplicado) y se incubaron las placas durante 30 minutos en un incubador de 5% de CO₂ a 37 °C. Después de la incubación, se detiene la reacción al mantener las placas en la mezcla de agua helada durante 2-3 minutos y la mezcla de incubación se

aspira por completo de los pocillos. Se lavan los pocillos dos veces con 250 µL de 1 mM de ácido taurocólico enfriado y sin etiquetar disuelto en HBSS (10 mM) amortiguado por HEPES (Gibco 15630080) (Gibco 14175079) (pH 7,4). Se presionan las placas contra una toalla de papel después de cada lavado para garantizar la máxima eliminación del tampón de bloqueo.

[00757] Se añaden 100 µL de MicroScint-20 (PerkinElmer 6013621) a los pocillos y se mantuvieron durante toda la noche a temperatura ambiente antes de leer las placas en la microplaca de centelleo TopCount NXT™ y recuento de luminiscencia de PerkinElmer bajo el protocolo de prueba de 3H (configurado a un tiempo de lectura de 120 segundos por pocillo, con orientación normal de la placa).

[00758] *Preparación de las diluciones del compuesto de la prueba*

[00759] Se proporcionaron todos los compuestos de la prueba en forma de polvo a temperatura ambiente. Se prepararon 10 mm de existencias de DMSO de los compuestos de la prueba, se sometieron a alícuota y se almacenaron a -20 °C. De los 10 mm de existencias de DMSO de los compuestos, se preparó una dilución en serie de 3 veces en DMSO para obtener un total de 10 diluciones de los compuestos de la prueba. 0,5 µL de esta dilución en DMSO se añadió a 250 µL del medio basal libre de FBS que contiene ácido taurocólico 3H y ácido taurocólico frío para preparar la mezcla de incubación.

[00760] *Estudios de biodisponibilidad*

[00761] Se usaron ratones macho (C57BL/6 o CD1) o ratas Wistar de 8 a 9 semanas de edad. Para cada compuesto de la prueba, se usaron dos grupos de 3 animales cada uno. A un grupo se le administró una dosis única intravenosa de 1 mg/kg (vehículo 100% DMSO) a través de la vena de la cola y al otro grupo se le administró una dosis única oral de 10 mg/kg a través de una aguja de sonda gástrica. Al grupo al que se le administró una dosis oral estaba en ayunas. Se recopilaron muestras de sangre después de 0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 y 24 horas después de la administración intravenosa, y después de 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 y 24 horas de la administración oral. Se obtuvieron las muestras de sangre

de la vena safena. Se usó el 0,2% de EDTA como anticoagulante. Se analizaron las muestras mediante un método bioanalítico de grado de descubrimiento desarrollado para el cálculo de un compuesto de la prueba en el plasma, usando un sistema de LC-MS/MS.

[00762] *Resultados*

[00763] A continuación se muestran los datos biológicos para los compuestos de los ejemplos en la Tabla 8.

[00764] **Tabla 8**

Ejemplo	hLBAT IC ₅₀ (nM)	hIBAT IC ₅₀ (nM)	Permeabilidad (Caco-2)		Biodisponibilidad (%)
			P _{app} A2B (x 10 ⁻⁶ cm/seg)	ER	
1	2908	7	9,2	0,9	34 (C57BL/6) 59 (CD1) 98 (Na ⁺ sal; rata)
2	736	4			
3	283	23			
4	3654	2	7,6	2,4	45 (CD1) 90 (rata)
5	1882	5	1,0	4,2	
6	3658	14			
7	2225	2	0,4	1,9	
8	2633	12	9,5	0,5	
9	1617	21	10,0	0,5	
10	7205	2	2,1	3,1	
11	1175	3	13,1	1,2	
12	2222	3	14,2	1,1	
13	2222	15			

Ejemplo	hLBAT IC ₅₀ (nM)	hIBAT IC ₅₀ (nM)	Permeabilidad (Caco-2)		Biodisponibilidad (%)
			P _{app} A2B (x 10 ⁻⁶ cm/seg)	ER	
14	342	6	0,0		

[00765] *Modelo de PD: Evaluación del compuesto de la prueba en los niveles totales de ácidos biliares en ratones C57BL/6 macho.*

[00766] Los ratones C57BL/6N Tac de 8 a 9 semanas de edad se usaron para estudiar el efecto de los moduladores del ácido biliar en los niveles del ácido biliar. Después de completar la cuarentena y el periodo de aclimatización, se aleatoriza a los animales según el peso corporal en x grupos experimentales: (i) control del vehículo, y (ii) compuesto de la prueba y mg/kg po una vez al día. Los animales reciben tratamiento con el compuesto de la prueba durante 7 días. El día 5 del estudio, se encierran de manera individual a los animales en jaulas nuevas. El día 7, se recopilan las heces de cada jaula, seguido de la extracción de sangre de cada animal a través de la vía retro orbital. Se eutaniza a los animales para recopilar el hígado e íleon terminal de cada animal para análisis adicionales. Se mide el peso corporal y el consumo de alimentos dos veces a la semana. Se analizan los perfiles del lípido en suero en las muestras de suero del día 7. Los ácidos biliares totales en suero se miden en las muestras de suero del día 7. Se mide la excreción biliar fecal en la muestra fecal del día 7. Se cuantifica la expresión hepática de ciP7A1 y SHP en las muestras del hígado del día 7. Se analizan los triglicéridos del hígado y el colesterol total en las muestras de hígado del día 7.

[00767] *Modelo de ácido biliar: Evaluación de los compuestos de la prueba en los niveles de ácidos biliares en orina en ratones C57BL/6 macho.*

[00768] Los ratones C57BL/6N Tac de 8 a 9 semanas de edad se usaron para estudiar el efecto de los moduladores del ácido biliar en los niveles del ácido biliar. Después de completar la cuarentena y el periodo de aclimatización, se aleatoriza a los animales según el peso corporal en x grupos experimentales: (i) control del vehículo, y (ii) compuesto de la prueba y mg/kg po una vez al día. Los animales reciben tratamiento con el compuesto de la prueba durante 7 días. El día 6 del estudio, se transfieren a los animales a una jaula metabólica. El día 7, se recopilan las heces y la orina de cada jaula metabólica, seguido de la extracción de sangre de cada animal a través de la vía retro orbital. Se eutaniza a los animales para recopilar el riñón de cada animal para análisis adicionales. Se mide el peso corporal dos veces a la semana. Los ácidos biliares totales en suero se miden en las muestras de suero del día 7. Se mide la excreción del ácido biliar fecal en la muestra fecal del día 7. Se mide la excreción en orina de los ácidos biliares en la muestra del día 7. La expresión renal de ASBT, OSTa, OSTAb y MRP2 se cuantifica en las muestras del día 7.