

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 937 153**

(51) Int. Cl.:

**A61P 1/16** (2006.01)  
**A61P 3/06** (2006.01)  
**A61P 3/08** (2006.01)  
**A61P 9/00** (2006.01)  
**C07D 285/36** (2006.01)  
**A61K 31/554** (2006.01)

(12)

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.02.2020 PCT/EP2020/052942**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **13.08.2020 WO20161217**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.02.2020 E 20705305 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.11.2022 EP 3921028**

---

(54) Título: **Compuestos de benzodiázepinas y su uso como moduladores de ácidos biliares**

(30) Prioridad:

**06.02.2019 IN 201911004690  
12.04.2019 SE 1950464  
04.12.2019 IN 201911049981**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**24.03.2023**

(73) Titular/es:

**ALBIREO AB (100.0%)  
Arvid Wallgrens Backe 20  
413 46 Göteborg, SE**

(72) Inventor/es:

**GILLBERG, PER-GÖRAN;  
MATTSSON, JAN;  
STARKE, INGEMAR y  
KULKARNI, SANTOSH S.**

(74) Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

### Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 937 153 T3

---

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

## DESCRIPCIÓN

Compuestos de benzodiadiazepinas y su uso como moduladores de ácidos biliares

## 5 REFERENCIA CRUZADA A LAS SOLICITUDES RELACIONADAS

**[0001]** Esta solicitud reivindica la prioridad de la solicitud india Nº 201911004690, presentada el 6 de febrero de 2019; solicitud sueca Nº 1950464-6, presentada el 12 de abril de 2019; y la solicitud india Nº 201911049981, presentada el 4 de diciembre de 2019.

## 10 15 CAMPO TÉCNICO

**[0002]** La invención se refiere a derivados de 1,2,5-benzodiadiazepina de fórmula (I). Estos compuestos son moduladores de ácidos biliares que tienen actividad inhibidora del transportador apical de ácidos biliares dependiente de sodio (ASBT) y/o del transporte hepático de ácidos biliares (LBAT). La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos y al uso de estos compuestos en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, trastornos del metabolismo de ácidos grasos y utilización de glucosa, enfermedades gastrointestinales y enfermedades hepáticas.

## 20 ANTECEDENTES

**[0003]** Los ácidos biliares son detergentes fisiológicos que juegan un papel importante en la absorción y transporte intestinal de lípidos, nutrientes y vitaminas. También son moléculas de señalización que activan los receptores nucleares y las vías de señalización celular que regulan el metabolismo de los lípidos, la glucosa y la energía. Los ácidos biliares son ácidos esteroideos que se sintetizan a partir del colesterol en el hígado y se almacenan en la vesícula biliar como micelas mixtas. Durante la digestión, el duodeno desencadena la liberación de hormonas que hacen que la vesícula biliar se contraiga, liberando así ácidos biliares en el intestino delgado, donde permiten la absorción de vitaminas liposolubles y colesterol. Cuando llegan al íleon, los ácidos biliares se reabsorben en el intestino 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 se reciclan y regresan al hígado. Estos ácidos biliares luego se transportan a través de la membrana sinusoidal de los hepatocitos y se vuelven a secretar a través de la membrana canalicular hacia la bilis. En este primer paso, el 75-90 % de los ácidos biliares son captados por los hepatocitos, completando una ronda de circulación enterohepática. La fracción de ácidos biliares que escapa a ser depurada en el hígado ingresa a la circulación sistémica donde los ácidos biliares libres son filtrados por el glomérulo renal, recuperados eficientemente en los túbulos proximales y exportados nuevamente a la circulación sistémica. Curiosamente, la mayoría de los ácidos biliares secretados a través de la membrana canalicular hacia la bilis se derivan del grupo de recirculación y menos del 10 % proviene de una nueva síntesis hepática *de novo*. La pequeña fracción de ácidos biliares que no se reabsorbe en el íleon llega al colon. Dentro de la luz intestinal, los ácidos biliares primarios se transforman en ácidos biliares secundarios bajo la acción de las bacterias intestinales, principalmente por reacciones de deshidroxilación simple o doble del núcleo esteroideo. Los ácidos biliares que escapan a la absorción intestinal se excretan posteriormente en las heces.

**[0004]** En general, el sistema de transporte eficiente ayuda a mantener una reserva constante de ácidos biliares, asegurando niveles suficientemente altos de ácidos biliares conjugados en el intestino para promover la absorción de lípidos y reducir la carga bacteriana en el intestino delgado. El sistema también minimiza la pérdida de ácidos biliares por vía fecal y urinaria y protege los compartimentos intestinal y hepatobiliar mediante la eliminación de detergentes potencialmente citotóxicos (según lo revisado por Kosters 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)).

**[0005]** Se ha descubierto que la regulación del tamaño de la reserva de ácidos biliares juega un papel clave en la homeostasis del colesterol mediante la conversión hepática del colesterol en ácidos biliares, que representa una vía principal para la eliminación del colesterol del cuerpo. El hígado juega un papel esencial en la eliminación de compuestos endógenos y xenobióticos del cuerpo. La secreción hepatobiliar normal y la circulación enterohepática son necesarias para la eliminación de compuestos endógenos como el colesterol y la bilirrubina y sus metabolitos del cuerpo, manteniendo así la homeostasis de lípidos y ácidos biliares. (Kosters y Karpen, *Xenobiotica* 2008, vol. 38, p. 1043-1071).

**[0006]** La reabsorción de ácidos biliares en el íleon puede ser inhibida por compuestos inhibidores del transportador apical de ácidos biliares dependientes de sodio (ASBT). Se ha informado que la inhibición de la reabsorción de ácidos biliares es útil en el tratamiento de varias enfermedades, que incluyen dislipidemia, diabetes, obesidad, estreñimiento, enfermedades hepáticas colestáticas, esteatohepatitis no alcohólica y otras enfermedades hepáticas. Se han divulgado varios compuestos inhibidores de ASBT en las últimas décadas, véase, por ejemplo, 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 03/022285 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 8 1982 864582, EP 489423, EP 549967, EP 573848, EP 624593, EP 624594, EP 624595, EP 624596, EP 0864582, EP 1173205 y EP 1535913.

**[0007]** A pesar de la cantidad de compuestos inhibidores de ASBT que se han informado anteriormente, existe una necesidad de compuestos moduladores de ácidos biliares adicionales que tienen un perfil optimizado con respecto a la potencia, selectividad y biodisponibilidad.

5

## DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

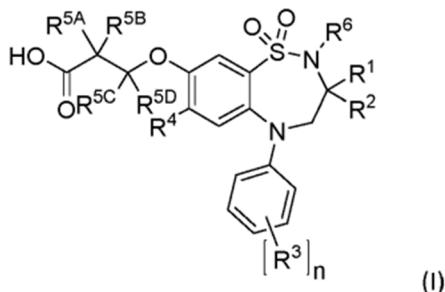
**[0008]** Se ha descubierto que ciertos derivados de 1,2,5-benzotiadiazepina son inhibidores potentes del transportador apical de ácidos biliares dependientes de sodio (ASBT) y/o el transportador de ácidos biliares hepáticos (LBAT), y pueden ser útil para tratar enfermedades en las que es deseable la inhibición de la circulación de ácidos biliares.

**[0009]** En un primer aspecto, la invención se refiere a un compuesto de fórmula (I)

15

20

25



en el que

**R¹** y **R²** son cada uno independientemente alquilo C<sub>1-4</sub>;  
**R³** se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxi, alquilo C<sub>1-4</sub>, haloalquilo C<sub>1-4</sub>, alcoxi C<sub>1-4</sub>, haloalcoxi C<sub>1-4</sub>, ciano, nitro, amino, *N*-(alquilo C<sub>1-4</sub>)amino, *N,N*-di(alquil C<sub>1-4</sub>)amino y *N*-(aril-alquil C<sub>1-4</sub>)amino;  
**n** es un número entero 1, 2 o 3;

**R⁴** se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxi, ciano, alquilo C<sub>1-4</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, alcoxi C<sub>1-4</sub>, cicloalquiloxi C<sub>3-6</sub>, alquiltio C<sub>1-4</sub>, cicloalquiltio C<sub>3-6</sub>, amino, *N*-(alquilo C<sub>1-4</sub>)-amino y *N,N*-di(alquilo C<sub>1-4</sub>)amino;  
cada uno de **R⁵A**, **R⁵B**, **R⁵C** y **R⁵D** se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxi, amino y alquilo C<sub>1-4</sub>; y  
**R⁶** se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C<sub>1-4</sub>,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

**[0010]** En algunas formas de realización, **R¹** es n-butilo.

45

**[0011]** En algunas formas de realización, **R²** es alquilo C<sub>2-4</sub>. En una forma de realización preferida, **R²** es metilo. En otra forma de realización preferida, **R²** es etilo. En otra forma de realización preferida, **R²** es n-propilo. En otra forma de realización preferida más, **R²** es n-butilo.

50

**[0012]** En algunas formas de realización, **R³** se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxi, amino, ciano, haloalquilo C<sub>1-4</sub>, alcoxi C<sub>1-4</sub> y haloalcoxi C<sub>1-4</sub>. En otra forma de realización, **R³** es hidrógeno. En una forma de realización preferida, **R³** se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, fluoro, cloro, bromo, hidroxi, ciano, trifluorometilo, metoxi y trifluorometoxi.

55

**[0013]** En una forma de realización preferida, **n** es 1, es decir, el anillo de fenilo está sustituido con un solo sustituyente **R³**. En otra forma de realización preferida, **R³** está en la posición para.

60

**[0014]** En algunas formas de realización, **R⁴** se selecciona del grupo que consiste en halógeno, hidroxi, ciano, alquilo C<sub>1-4</sub>, alcoxi C<sub>1-4</sub>, alquiltio C<sub>1-4</sub>, amino, *N*-(alquil C<sub>1-4</sub>)amino y *N,N*-di(alquil C<sub>1-4</sub>)amino. En una forma de realización preferida, **R⁴** se selecciona del grupo que consiste en fluor, cloro, bromo, hidroxi, ciano, metilo, metoxi, etoxi, metiltio, etiltio, amino, metilamino y dimetilamino. En otra forma de realización, **R⁴** se selecciona del grupo que consiste en fluor, cloro, bromo, metoxi, etoxi, metiltio, etiltio y dimetilamino. En otra forma de realización preferida, **R⁴** se selecciona del grupo que consiste en cloro, bromo, metiltio y dimetilamino.

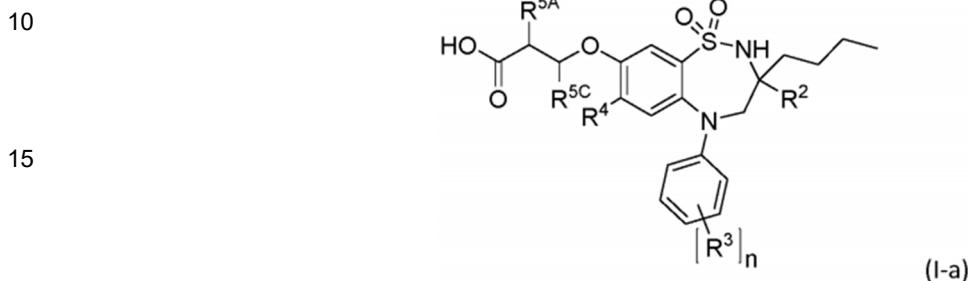
65

**[0015]** En algunas formas de realización, cada uno de **R⁵A** y **R⁵B** se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxi, amino y metilo. En algunas formas de realización, **R⁵A** y **R⁵B** son cada uno

independientemente hidrógeno o hidroxi. En otra forma de realización, R<sup>5A</sup> es hidrógeno o hidroxi y R<sup>5B</sup> es hidrógeno. En algunas formas de realización, R<sup>5C</sup> y R<sup>5D</sup> son cada uno independientemente hidrógeno o metilo. En otra forma de realización, R<sup>5C</sup> es hidrógeno o metilo y R<sup>5D</sup> es hidrógeno.

5 [0016] En una forma de realización, R<sup>6</sup> es hidrógeno. En otra forma de realización, R<sup>6</sup> es metilo.

[0017] En una forma de realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es un compuesto de fórmula (Ia)



donde

R<sup>2</sup> es alquilo C<sub>1-4</sub>;

25 R<sup>3</sup> se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxi, ciano, haloalquilo C<sub>1-4</sub>, alcoxi C<sub>1-4</sub> y haloalcoxi C<sub>1-4</sub>;

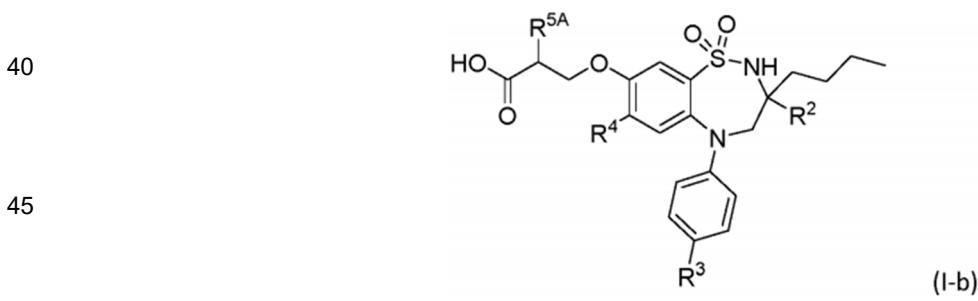
n es un número entero 1 o 2;

30 R<sup>4</sup> se selecciona del grupo que consiste en halógeno, hidroxi, ciano, alquilo C<sub>1-4</sub>, alcoxi C<sub>1-4</sub>, alquiltio C<sub>1-4</sub>, amino, N-(alquil C<sub>1-4</sub>)amino y N,N-di(alquil C<sub>1-4</sub>)amino;

R<sup>5A</sup> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxi, amino y alquilo C<sub>1-4</sub>; y R<sup>5C</sup> es hidrógeno o alquilo C<sub>1-4</sub>;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

35 [0018] En otra forma de realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es un compuesto de fórmula (I-b)



50

en la que

R<sup>2</sup> es metilo, etilo, n-propilo o n-butilo;

55 R<sup>3</sup> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, fluoro, cloro, bromo, hidroxi, ciano, trifluorometilo, metoxi y trifluorometoxi;

R<sup>4</sup> se selecciona del grupo que consiste en fluoro, cloro, bromo, hidroxi, ciano, metoxi, etoxi, metiltio, etiltio y dimetilamino; y

R<sup>5A</sup> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxi, amino y metilo;

60 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

[0019] En otra forma de realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es un compuesto de fórmula (I-b) como se define anteriormente, pero en donde

65 R<sup>3</sup> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, fluoro, cloro, bromo, hidroxi y metoxi; y

R<sup>4</sup> se selecciona del grupo que consiste en fluoro, cloro, bromo, metoxi, etoxi, metiltio, etiltio y dimetilamino.

**[0020]** Los compuestos preferidos de la invención son compuestos de fórmula (I-b), como se define anteriormente, en la que R<sup>2</sup> a R<sup>5A</sup> son como se indica en la Tabla 1 a continuación, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos:

Tabla 1

R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	R <sup>5A</sup>
CH <sub>3</sub>	H	SCH <sub>3</sub>	H
CH <sub>3</sub>	F	SCH <sub>3</sub>	H
CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	SCH <sub>3</sub>	H
CH <sub>3</sub>	OH	SCH <sub>3</sub>	H
CH <sub>3</sub>	Cl	SCH <sub>3</sub>	H
CH <sub>3</sub>	H	SCH <sub>3</sub>	OH
CH <sub>3</sub>	F	SCH <sub>3</sub>	OH
CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	SCH <sub>3</sub>	OH
CH <sub>3</sub>	OH	SCH <sub>3</sub>	OH
CH <sub>3</sub>	cl	SCH <sub>3</sub>	OH
CH <sub>3</sub>	H	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
CH <sub>3</sub>	F	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
CH <sub>3</sub>	OH	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
CH <sub>3</sub>	cl	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
CH <sub>3</sub>	H	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	OH
CH <sub>3</sub>	F	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	OH
CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	OH
CH <sub>3</sub>	OH	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	OH
CH <sub>3</sub>	cl	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	OH
CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	H	SCH <sub>3</sub>	H
CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	F	SCH <sub>3</sub>	H
CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	SCH <sub>3</sub>	H
CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	OH	SCH <sub>3</sub>	H
CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Cl	SCH <sub>3</sub>	H
CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	H	SCH <sub>3</sub>	OH
CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	F	SCH <sub>3</sub>	OH
CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	SCH <sub>3</sub>	OH
CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	OH	SCH <sub>3</sub>	OH
CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	cl	SCH <sub>3</sub>	OH
CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	H	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	F	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	OH	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	cl	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	H	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	OH
CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	F	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	OH
CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	OH
CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	OH	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	OH
CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Cl	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	OH
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	H	SCH <sub>3</sub>	H
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	F	SCH <sub>3</sub>	H
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	SCH <sub>3</sub>	H
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	OH	SCH <sub>3</sub>	H
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Cl	SCH <sub>3</sub>	H
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	H	SCH <sub>3</sub>	OH
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	F	SCH <sub>3</sub>	OH
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	SCH <sub>3</sub>	OH
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	OH	SCH <sub>3</sub>	OH
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Cl	SCH <sub>3</sub>	OH
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	H	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	F	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	OH	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Cl	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H

(Continuación)

	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>3</sup></b>	<b>R<sup>4</sup></b>	<b>R<sup>5A</sup></b>
5	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	H	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	OH
	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	F	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	OH
	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	OH
	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	OH	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	OH
	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Cl	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	OH

10

[0021] En una forma de realización particular, el compuesto de fórmula (I) se selecciona del grupo formado por:

ácido 3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidrobenzo-1,2,5-tiadiazepin-8-il)oxi)propanoico;  
 ácido 3-((3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)oxi)propanoico;  
 ácido (S)-3-((3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)oxi)propanoico;  
 ácido (R)-3-((3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)oxi)propanoico;  
 ácido 3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-hidroxipropanoico;  
 ácido (S)-3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)oxi)-2-hidroxipropanoico;  
 ácido (R)-3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)oxi)-2-hidroxipropanoico;  
 ácido 3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)butanoico;  
 ácido (S)-3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)oxi)butanoico;  
 ácido (R)-3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)butanoico;  
 ácido 3-((3,3-dibutil-7-cloro-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)propanoico ;  
 ácido 3-((3,3-dibutil-5-(4-hidroxifenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)oxi)propanoico;  
 ácido 3-(3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)oxi)propanoico;  
 ácido (S)-3-(3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)oxi)propanoico;  
 ácido (R)-3-(3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)oxi)propanoico;  
 40 O-(3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)serina;  
 (S)-O-((R)-3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)serina;  
 (R)-O-((R)-3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)serina;  
 (S)-O-((S)-3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)serina; y  
 (R)-O-((S)-3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)serina;  
 45 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

[0022] Como se usa en el presente documento, el término "halo" se refiere a flúor, cloro, bromo y yodo.

50 [0023] Como se usa en el presente documento, el término "alquilo C<sub>1-6</sub>" se refiere a un grupo alquilo lineal o ramificado que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, y el término "alquilo C<sub>1-4</sub>" se refiere a un grupo alquilo lineal o ramificado que tiene de 1 a 4 átomos de carbono. Los ejemplos de alquilo C<sub>1-4</sub> incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo y terc-butilo.

55 [0024] Como se usa en el presente documento, el término "haloalquilo C<sub>1-4</sub>" se refiere a un grupo alquilo C<sub>1-4</sub> lineal o ramificado, como se define en el presente documento, en el que uno o más átomos de hidrógeno se han reemplazado con halógeno. Los ejemplos de haloalquilo C<sub>1-4</sub> incluyen clorometilo, fluoroetilo y trifluorometilo.

60 [0025] Como se usa aquí, los términos "alcoxi C<sub>1-4</sub>" y "alquiltio C<sub>1-4</sub>" se refieren a un grupo alquilo C<sub>1-4</sub> lineal o ramificado unido al resto de la molécula a través de un átomo de oxígeno o azufre, respectivamente. Como se usa aquí, el término "cicloalquilo C<sub>3-6</sub>" se refiere a un anillo de hidrocarburo monocíclico saturado que tiene de 3 a 6 átomos de carbono. Los ejemplos de cicloalquilo C<sub>3-6</sub> incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

65 [0026] El término "arilo" indica un anillo monocíclico aromático compuesto por 6 átomos de carbono o un sistema de anillo bicíclico aromático compuesto por 10 átomos de carbono. Los ejemplos de arilo incluyen fenilo, naftilo y azulenilo.

**[0027]** El término "amino" se refiere a un grupo -NH<sub>2</sub>. Como se usa en el presente documento, los términos "N-(alquilo C<sub>1-4</sub>)amino" y "N,N-di(alquilo C<sub>1-4</sub>)amino" se refieren a un grupo amino en el que uno o ambos átomos de hidrógeno, respectivamente, son reemplazado con un grupo alquilo C<sub>1-4</sub> lineal o ramificado. Los ejemplos de N-(alquil C<sub>1-4</sub>)amino incluyen metilamino, etilamino y terc-butilamino, y los ejemplos de N,N-di-(alquil C<sub>1-4</sub>)amino incluyen dimetilamino y dietilamino.

**[0028]** Como se usa en el presente documento, el término "N-(aril-alquil C<sub>1-4</sub>)amino" se refiere a un grupo amino en el que un átomo de hidrógeno se reemplaza con un grupo aril-alquilo C<sub>1-4</sub>. Los ejemplos de N-(aril-C<sub>1-4</sub> alquil)amino incluyen bencilamino y feniletilamino.

**[0029]** Como se usa en el presente documento, el término "farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son adecuados para el uso farmacéutico humano y que son generalmente seguros, no tóxicos y no indeseables biológicamente ni de otro modo.

**[0030]** Como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente" se refiere a un valor o parámetro en el presente documento que incluye (y describe) formas de realización 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 términos generales, 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 del 10 % del valor indicado, el que sea mayor.

**[0031]** Los compuestos de 1,2,5-benzotiadiazepina de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, son inhibidores del transportador de ácidos biliares dependiente de sodio apical (inhibidores de ASBT), del transportador de ácidos biliares hepáticos (inhibidores de LBAT), o de los transportadores de ácidos biliares dependientes del sodio apical y del hígado (inhibidores duales ASBT/LBAT). Por lo tanto, son útiles en el tratamiento o prevención de afecciones, trastornos y enfermedades en los que es deseable la inhibición de la circulación de ácidos biliares, tales como enfermedades cardiovasculares, trastornos del metabolismo de ácidos grasos y utilización de glucosa, enfermedades gastrointestinales y enfermedades hepáticas.

**[0032]** Las enfermedades cardiovasculares y los trastornos del metabolismo de los ácidos grasos y la utilización de glucosa incluyen, pero no se limitan a hipercolesterolemia; trastornos del metabolismo de los ácidos grasos; diabetes mellitus tipo 1 y tipo 2; complicaciones de diabetes, incluidas cataratas, enfermedades micro y macrovasculares, retinopatía, neuropatía, nefropatía y retraso en la cicatrización de heridas, isquemia tisular, pie diabético, arteriosclerosis, infarto de miocardio, síndrome coronario agudo, angina de pecho inestable, angina de pecho estable, accidente cerebrovascular, enfermedad oclusiva arterial periférica, miocardiopatía, insuficiencia cardíaca, trastornos del ritmo cardíaco y reestenosis vascular; enfermedades relacionadas con la diabetes tales como resistencia a la insulina (alteración de la homeostasis de la glucosa), hiperglucemia, hiperinsulinemia, niveles sanguíneos elevados de ácidos grasos o glicerol, obesidad, dislipidemia, hiperlipidemia incluyendo hipertrigliceridemia, síndrome metabólico (síndrome X), aterosclerosis e hipertensión; y para aumentar los niveles de lipoproteínas de alta densidad.

**[0033]** Las enfermedades y trastornos gastrointestinales incluyen estreñimiento (incluyendo estreñimiento crónico, estreñimiento funcional, estreñimiento idiopático crónico (CIC), estreñimiento intermitente/esporádico, estreñimiento secundario a diabetes mellitus, estreñimiento secundario a accidente cerebrovascular, estreñimiento secundario a enfermedad renal crónica, estreñimiento secundario a esclerosis múltiple, estreñimiento secundario a enfermedad de Parkinson, estreñimiento secundario a esclerosis sistémica, estreñimiento inducido por fármacos, síndrome del intestino irritable con estreñimiento (SII-E), síndrome del intestino irritable mixto (SII-M), estreñimiento funcional pediátrico y estreñimiento inducido por opioides); Enfermedad de Crohn; malabsorción primaria de ácidos biliares; síndrome del intestino irritable (SII); enfermedad inflamatoria intestinal (EII); inflamación ileal; y enfermedad por reflujo y complicaciones de la misma, tales como esófago de Barrett, esofagitis por reflujo biliar y gastritis por reflujo biliar.

**[0034]** Una enfermedad hepática como se define aquí es cualquier enfermedad en el hígado y en los órganos conectados con el mismo, tales como el páncreas, la vena porta, el parénquima hepático, el árbol biliar intrahepático, el árbol biliar extrahepático y la vesícula biliar. En algunos casos, una enfermedad hepática es una enfermedad hepática dependiente de ácidos biliares. Las enfermedades y trastornos hepáticos incluyen, pero no se limitan a un trastorno metabólico hereditario del hígado; errores congénitos de la síntesis de ácidos biliares; anomalías congénitas de las vías biliares; atresia biliar; atresia biliar posterior a Kasai; atresia biliar post-trasplante hepático; hepatitis neonatal; colestasis neonatal; formas hereditarias de colestasis; xantomatosis cerebrotendinosa; un defecto secundario de la síntesis de B-A; síndrome de Zellweger; enfermedad hepática asociada a fibrosis quística; deficiencia de alfa1-antitripsina; síndrome de Alagilles (ALGS); síndrome de Byler; un defecto primario de la síntesis de ácidos biliares (BA); colestasis intrahepática familiar progresiva (PFIC) que incluye PFIC-1, PFIC-2, PFIC-3 y PFIC no especificada, PFIC posterior a la derivación biliar y PFIC posterior al trasplante de hígado; colestasis intrahepática recurrente benigna (BRIC) que incluye BRIC1, BRIC2 y BRIC no especificado, BRIC posterior a desviación biliar y BRIC posterior a trasplante de hígado; hepatitis autoinmune; cirrosis biliar primaria (CBP); fibrosis hepática; enfermedad del hígado graso no alcohólica (NAFLD); esteatohepatitis no alcohólica (EHNA); hipertensión portal; colestasis; colestasis del síndrome de Down; colestasis inducida por fármacos; colestasis intrahepática del embarazo (ictericia durante el embarazo); colestasis intrahepática; colestasis extrahepática; colestasis

- asociada a nutrición parenteral (PNAC); colestasis asociada a niveles bajos de fosfolípidos; síndrome de colestasis de linfedema 1 (LSC1); colangitis esclerosante primaria (PSC); colangitis asociada a inmunoglobulina G4; colangitis biliar primaria; colelitiasis (cálculos biliares); litiasis biliar; coledocolitiasis; pancreatitis por cálculos biliares; enfermedad de Caroli; malignidad de los conductos biliares; malignidad que causa obstrucción del árbol biliar; estenosis biliares; 5 colangiopatía por SIDA; colangiopatía isquémica; prurito debido a colestasis o ictericia; pancreatitis; enfermedad hepática autoinmune crónica que conduce a colestasis progresiva; esteatosis hepática; hepatitis alcohólica; hígado graso agudo; hígado graso del embarazo; hepatitis inducida por fármacos; trastornos por sobrecarga de hierro; defecto congénito de la síntesis de ácidos biliares tipo 1 (BAS tipo 1); lesión hepática inducida por fármacos (DILI); fibrosis hepática; fibrosis hepática congénita; cirrosis hepática; histiocitosis de células de Langerhans (LCP); colangitis esclerosante 10 ictiosis neonatal (NISCH); protoporfiria eritropoyética (EPP); ductopenia idiopática de la edad adulta (IAD); hepatitis neonatal idiopática (INH); escasez no sindrómica de conductos biliares interlobulares (NS PILBD); cirrosis infantil de indios norteamericanos (NAIC); sarcoidosis hepática; amilosis; enterocolitis necrotizante; toxicidades causadas por ácidos biliares séricos, incluidas alteraciones del ritmo cardíaco (p. ej., fibrilación auricular) en el contexto de un perfil anormal de 15 ácidos biliares séricos, miocardiopatía asociada con cirrosis hepática ("colecardia") y atrofia muscular esquelética asociada con enfermedad hepática colestática; hepatitis viral (incluyendo hepatitis A, hepatitis B, hepatitis C, hepatitis D y hepatitis E); carcinoma hepatocelular (hepatoma); colangiocarcinoma; cánceres gastrointestinales relacionados con ácidos biliares; y colestasis provocada por tumores y neoplasias del hígado, de las vías biliares y del páncreas. Los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, también son útiles para mejorar la terapia con corticosteroides en la enfermedad hepática.
- [0035] Otras enfermedades que pueden ser tratadas o prevenidas por los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, incluyen síndromes de hiperabsorción (incluyendo abetalipoproteinemia, hipobetalipoproteinemia familiar (FHBL), enfermedad de retención de quilomicrones (CRD) y sitostolemia); 20 hipervitaminosis y osteopetrosis; hipertensión; hiperfiltración glomerular; prurito de insuficiencia renal; Los compuestos también son útiles en la protección contra la lesión renal asociada con enfermedades hepáticas o metabólicas.
- [0036] El transporte de ácidos biliares en el cuerpo humano está controlado por la acción de los miembros de la familia SLC10 de proteínas transportadoras de solutos, en particular por el polipéptido cotransportador de Na<sup>+</sup>-taurocolato (NTCP, también llamado transportador hepático de ácidos biliares (LBAT); símbolo del gen *SLC10A1*), que se expresa en la membrana sinusoidal de los hepatocitos, y por el transportador de ácidos biliares dependiente de sodio apical (ASBT, también llamado transportador de ácidos biliares ileales (IBAT), ISBT, ABAT o NTCP2; símbolo del gen *SLC10A2*), que se expresa en la membrana apical de los enterocitos del íleon, las células del túbulo renal proximal, el epitelio biliar, los colangiocitos grandes y las células epiteliales de la vesícula biliar. En el hígado, el transportador hepático de ácidos biliares (LBAT) extrae eficazmente los ácidos biliares de la sangre portal y la bomba de exportación de sales biliares (BSEP; 30 símbolo del gen *ABCB11*) los vuelve a secretar a través de la membrana canalicular. La reabsorción de ácidos biliares en el íleon es manejada por el transportador de ácidos biliares dependiente de sodio (ASBT) apical, donde se denomina comúnmente transportador de ácidos biliares ileales (IBAT). Tanto LBAT como ASBT funcionan como cotransportadores electrogénicos de sodio-soluto que mueven dos o más iones Na<sup>+</sup> por molécula de soluto.
- [0037] Los xenobióticos y endobióticos, incluidos los ácidos biliares, son captados por el hígado desde la sangre portal y secretados en la bilis por distintas proteínas de transporte con especificidades de sustrato individualizadas. Los ácidos biliares conjugados con glicina y taurina existen en forma aniónica y no pueden atravesar las membranas por difusión y, por lo tanto, dependen completamente de las proteínas de transporte de membrana para entrar o salir del hepatocito (Kosters y Karpen, Xenobiótica 2008, vol. 38, pág. 1043-1071). ASBT y LBAT prefieren las sales biliares conjugadas con glicina y taurina sobre sus contrapartes no conjugadas y demuestran una mayor afinidad por las sales biliares dihidroxí que por las sales biliares trihidroxí. Aún no se han identificado sustratos que no sean ácidos biliares para ASBT, sin embargo, también se descubrió que LBAT transporta una variedad de sulfatos de esteroides, hormonas y xenobióticos.
- [0038] LBAT no está tan completamente caracterizado como ASBT en términos de requisitos de inhibición de fármacos. 40 Dong et al. identificaron medicamentos aprobados por la FDA que inhiben LBAT humano y compararon los requisitos de inhibición de LBAT y ASBT. Se realizaron una serie de estudios de inhibición de LBAT utilizando fármacos aprobados por la FDA, junto con el desarrollo de modelos computacionales iterativos. Los estudios de detección identificaron 27 fármacos como nuevos inhibidores de LBAT, incluidos irbesartán ( $K_i = 11,9 \mu M$ ) y ezetimiba ( $K_i = 25,0 \mu M$ ). El farmacóforo de característica común indicó que dos hidrófobos y un acceptor de enlaces de hidrógeno eran importantes para la inhibición de LBAT. De 72 fármacos examinados *in vitro*, un total de 31 fármacos inhibieron LBAT, mientras que 51 fármacos (es decir, más de la mitad) inhibieron ASBT. Por lo tanto, aunque hubo superposición de inhibidores, ASBT inesperadamente fue más permisivo para la inhibición de fármacos que LBAT, y esto puede estar relacionado con que LBAT posee menos características de farmacóforo (Dong et al., Mol. Pharm. 2013, vol. 10, p. 1008-1019).
- [0039] Vaz et al. describen la identificación de la deficiencia de LBAT como un nuevo error congénito del metabolismo con un fenotipo clínico relativamente leve. La identificación de la deficiencia de LBAT confirma que este transportador es el principal sistema de importación de sales biliares conjugadas al hígado, pero también indica que los transportadores auxiliares pueden mantener el ciclo enterohepático en su ausencia (Vaz et al., Hepatology 2015, vol. 61, págs. 260-267). Estos resultados apoyan la hipótesis de que la inhibición de LBAT es un mecanismo de acción seguro, ya que los hepatocitos todavía tienen la posibilidad de captar la cantidad necesaria de ácidos biliares.

5 [0040] Liu et al. describen la identificación de un nuevo tipo de hipercolanemia que se asocia a homocigosidad para la mutación p.Ser267Phe en *SLC10A1* (LBAT). La frecuencia alélica de esta mutación en el gen *SLC10A1* varía en diferentes poblaciones, con la mayor incidencia en el sur de China (8 % y 12 % en chinos Han y Dai respectivamente) y en Vietnam (11 %). Se creía que esta hipercolanemia "oculta" afectaba al 0,64 % de los han del sur, al 1,44 % de la población china dai y al 1,21 % de la población vietnamita. También se observó un aumento en los niveles séricos de BA conjugados y no conjugados en los individuos homocigotos. Liu et al. sugieren que este resultado probablemente se deba a la reducción del transporte de BA desde la circulación portal a los hepatocitos. Esto respalda la hipótesis de que la función fisiológica de la circulación enterohepática no es solo reciclar los ácidos biliares sino también eliminar los ácidos biliares de la circulación para lograr la homeostasis (Karpen y Dawson, *Hepatology* 2015, vol. 61, p. 24-27). Alternativamente, el hígado 10 puede sintetizar niveles elevados de ácidos biliares para compensar la recirculación enterohepática reducida en los portadores homocigóticos. Como 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).

15 20 [0041] Se ha encontrado que LBAT está regulado a la baja en varias formas de lesión hepática colestásica y colestasis, mientras que ASBT se ha encontrado que está regulado a la baja en una variedad de trastornos gastrointestinales como la enfermedad de Crohn, la malabsorción primaria de ácidos biliares, la enfermedad inflamatoria intestinal y el ileon. inflamación, pero regulada al alza en la colestasis. LBAT también funciona como un receptor celular para la entrada viral del virus de la hepatitis B (VHB) y el virus de la hepatitis D (HDV), que a su vez es la principal causa de enfermedad hepática y carcinoma hepatocelular.

25 [0042] Se ha investigado la inhibición de ASBT para disminuir los niveles de colesterol en plasma y mejorar la resistencia a la insulina, así como para aliviar la carga de ácidos biliares hepáticos en la enfermedad hepática colestásica. Además, se ha descubierto que la inhibición de ASBT restaura los niveles de insulina y la normoglucemias, lo que establece la inhibición de ASBT como un tratamiento prometedor para la diabetes mellitus tipo 2. Los inhibidores de ASBT también se utilizan para el tratamiento del estreñimiento funcional.

30 35 [0043] Como ASBT se expresa predominantemente en el íleon (donde a menudo se denomina IBAT), no es necesario que los inhibidores de ASBT estén disponibles sistémicamente. Por otro lado, ASBT también se expresa en las células del túbulos proximal de los riñones. Por lo tanto, los inhibidores de ASBT que están disponibles sistémicamente también pueden inhibir la recaptación de ácidos biliares en los riñones. Se cree que esto conduciría a un aumento de los niveles de ácidos biliares en la orina ya una mayor eliminación de ácidos biliares del cuerpo a través de la orina. Por lo tanto, se espera que los inhibidores de ASBT disponibles sistémicamente que ejercen su efecto no solo en el íleon sino también en los riñones conduzcan a una mayor reducción de los niveles de ácidos biliares que los inhibidores de ASBT no disponibles sistémicamente que solo ejercen su efecto en el íleon.

40 [0044] 45 Los compuestos que tienen una potencia inhibidora de ASBT alta son particularmente adecuados para el tratamiento de enfermedades hepáticas que causan colestasis, tales como colestasis intrahepática familiar progresiva (PFIC), síndrome de Alagilles, atresia biliar y esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

50 [0045] La atresia biliar es una enfermedad hepática pediátrica rara que implica un bloqueo parcial o total (o incluso la ausencia) de los conductos biliares grandes. Este bloqueo o ausencia provoca colestasis que conduce a la acumulación de ácidos biliares que dañan el hígado. En algunas formas de realización, la acumulación de ácidos biliares se produce en el árbol biliar extrahepático. En algunas formas de realización, la acumulación de ácidos biliares se produce en el árbol biliar intrahepático. El estándar actual de atención es el procedimiento de Kasai, que es una cirugía que elimina los conductos biliares bloqueados y conecta directamente una porción del intestino delgado con el hígado. Actualmente no hay tratamientos farmacológicos aprobados para este trastorno.

55 [0046] En el presente documento se proporcionan métodos para tratar la atresia biliar en un sujeto que lo necesite, comprendiendo los métodos la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas formas de realización, el sujeto se ha sometido al procedimiento de Kasai antes de la administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas formas de realización, al sujeto se le administra un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, antes de someterse al procedimiento de Kasai. En algunas formas de realización, el tratamiento de la atresia biliar disminuye el nivel de ácidos biliares en suero en el sujeto. En algunas formas de realización, el nivel de ácidos biliares en suero se determina, por ejemplo, mediante un ensayo enzimático ELISA o los ensayos para la medición de ácidos biliares totales como se describe en Danese et al., *PLoS One*. 2017, vol. 12(6): e0179200.

60 [0047] En algunas formas de realización, 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 por más del 90 % del nivel de ácidos biliares en suero antes de la administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas formas de realización, el tratamiento de la atresia biliar incluye el tratamiento del prurito.

65 [0048] PFIC es un trastorno genético raro que se estima que afecta a uno de cada 50.000 a 100.000 niños nacidos en todo el mundo y causa una enfermedad hepática progresiva y potencialmente mortal.

**[0049]** Una manifestación de PFIC es el prurito, que a menudo da como resultado una calidad de vida gravemente disminuida. En algunos casos, PFIC conduce a cirrosis e insuficiencia hepática. Las terapias actuales incluyen la derivación biliar externa parcial (PEBD) y el trasplante de hígado; sin embargo, estas opciones pueden conllevar un riesgo sustancial de complicaciones posquirúrgicas, así como problemas psicológicos y sociales.

5

**[0050]** Se han identificado tres defectos genéticos alternativos que se correlacionan con tres subtipos separados de PFIC conocidos como tipos 1, 2 y 3.

- La PFIC, tipo 1, que a veces se denomina "enfermedad de Byler", es causada por una alteración de la secreción de bilis debido a mutaciones en el gen ATP8B1, que codifica una proteína que ayuda a mantener un equilibrio adecuado de grasas conocidas como fosfolípidos en las membranas celulares en los conductos biliares. Un desequilibrio en estos fosfolípidos se asocia con colestasis y ácidos biliares elevados en el hígado. Los sujetos afectados por PFIC tipo 1 generalmente desarrollan colestasis en los primeros meses de vida y, en ausencia de tratamiento quirúrgico, progresan a cirrosis y enfermedad hepática en etapa terminal antes del final de la primera década de vida.
- 10
- PFIC, tipo 2, que a veces se denomina "síndrome de Byler", es causado por una secreción deficiente de sales biliares debido a mutaciones en el gen ABCB11, que codifica una proteína, conocida como bomba de exportación de sales biliares, que expulsa los ácidos biliares del hígado. Los sujetos con PFIC tipo 2 a menudo desarrollan insuficiencia hepática en los primeros años de vida y tienen un mayor riesgo de desarrollar un tipo de cáncer de hígado conocido como carcinoma hepatocelular.
- 15
- La PFIC, tipo 3, que típicamente se presenta en los primeros años de la infancia con colestasis progresiva, es causada por mutaciones en el gen ABCB4, que codifica un transportador que mueve fosfolípidos a través de las membranas celulares.
- 20

**[0051]** Además, se ha propuesto que las mutaciones del gen TJP2, del gen NR<sup>1</sup>H4 o del gen Myo5b son causas de PFIC. Además, algunos sujetos con PFIC no tienen una mutación en ninguno de los genes ATP8B1, ABCB11, ABCB4, TJP2, NR<sup>1</sup>H4 o Myo5b. En estos casos, se desconoce la causa de la afección.

25

**[0052]** Las mutaciones ejemplares del gen ATP8B1 o la proteína resultante se enumeran en las Tablas 2 y 3, con numeración basada en la proteína ATP8B1 de tipo salvaje humano (p. ej., SEQ ID NO: 1) o gen (p. ej., SEQ ID NO: 2). Las mutaciones ejemplares del gen ABCB11 o la proteína resultante se enumeran en las tablas 4 y 5, con una numeración basada en la proteína ABCB11 de tipo salvaje humano (p. ej., SEQ ID NO: 3) o el gen (p. ej., SEQ ID NO: 4).

30

**[0053]** Como pueden apreciar los expertos en la técnica, una posición de aminoácido en una secuencia de proteína de referencia que corresponde a una posición de aminoácido específica en SEQ ID NO: 1 o 3 puede determinarse alineando la secuencia de proteína de referencia con SEQ ID NO: 1 o 3 (por ejemplo, usando un programa de software, como ClustalW2). Los cambios en estos residuos (denominados en el presente documento como "mutaciones") pueden incluir sustituciones de aminoácidos individuales o múltiples, inserciones dentro o flanqueando las secuencias y delecciones dentro o flanqueando las secuencias. Como pueden apreciar los expertos en la técnica, una posición de nucleótido en una secuencia de gen de referencia que corresponde a una posición de nucleótido específica en SEQ ID NO: 2 o 4 puede determinarse alineando la secuencia de gen de referencia con SEQ ID NO: 2 o 4 (por ejemplo, utilizando un programa de software, como ClustalW2). Los cambios en estos residuos (denominados en el presente documento como "mutaciones") pueden incluir sustituciones de nucleótidos individuales o múltiples, inserciones dentro o flanqueando las secuencias y delecciones dentro o flanqueando las secuencias. Véase también Kooistra, et al., "KLIFS: Una base de datos de interacción estructural quinasa-ligando", Nucleic Acids Res. 2016, vol. 44, núm. D1, págs. D365-D371.

35

40

45

Secuencia de proteína canónica de ATP8B1 (SEQ ID NO: 1) - Uniprot ID O43520

50

# ES 2 937 153 T3

MSTERDSETT FDEDSQPNE VVPYSDDETE DELDDQGSV EPEQNRVNRE AEENREPFRK  
ECTWQVKAND RKYHEQPHFM NTKFLCIKES KYANNAIKTY KYNAAFTFIPM NLFEQFKRAA  
5 NLYFLALLIL QAVPQISTLA WYTLVPLLV VLGVTAIKDL VDDVARHKMD KEINNRTCEV  
IKDGRFKVAK WKEIQVGVDVI RLKKNDVPA DILLSSSEP NSLCYVETAE LDGETNLKFK  
MSLEITDQYL QREDT LATFD GFIECEEPNN RLDKFTGTLF WRNTSFPLDA DKILLRGCVI  
RNTDFCHGLV IFAGADTKIM KNSGKTRFKR TKIDYLMNYM VYTIFVVLIL LSAGLAIGHA  
10 YWEAQVGNSS WYLYDGEDDT PSYRGFLIFW GYIIVLNTMV PISLYVSVEV IRLGQSHFIN  
WDLQMYYAEK DTPAKARTT LNEQLGQIHY IFSDKTGTLT QNIMTFKKCC INGQIYGDHR  
DASQHNHNKI EQVDFSWNTY ADGKLAFYDH YLIEQIQSGK EPEVRQFFF LAVCHTVMVD  
RTDGQLNYQA ASPDEGALVN AARNFGFAFL ARTQNTITIS ELGTERTYNV LAILDFNSDR  
15 KRMSIIVRTP EGNIKLYCKG ADTVIYERLH RMNPTKQETQ DALDIFANET LRTLCLCYKE  
IEEKEFTEWN KKFMAASVAS TNRDEALDKV YEEIEKDLIL LGATAIEDKL QDGVPETISK  
LAKADIKIWV LTGDKKETAЕ NIGFACELLT EDTTICYGED INSLLHARME NQRNRGGVYA  
KFAPPVQESF FPPGGNRALI ITGSLNEIL LEKKTKRNKI LKLKFPRTEE ERRMRTQSKR  
20 RLEAKKEQRQ KNFVDLACEC SAVICCRVTP KQKAMVVDLV KRYKKAITLA IGDGANDVNM  
IKTAHIGVGI SGQEGMQAVM SSDYSFAQFR YLQRLLLHG RWSYIRMCKF LRYFFYKNFA  
FTLVHFVWSF FNGYSAQTAY EDWFITLYNV LYTSLPVLLM GLLDQDVSDK LSLRFPGLYI  
VGQRDLLFNY KRFFVSLLG VLTSMILFFI PLGAYLQTVG QDGEAPSDYQ SFAVTIASAL  
25 VITVNFQIGL DTSYWTFVNA FSIFGSIALY FGIMFDHFSA GIHVLFPSAF QFTGTASNAL  
RQPYIWLTI LAVAVCLLPV VAIRFLSMTI WPSESDKIQQ HRKRLKAEEQ WQRRQQVFRR  
GVSTRRSAYA FSHQRGYADL ISSGRSIRKK RSPLDAIVAD GTAHEYRRTGD S

## Secuencia de ADN canónica para ATP8B1 (SEQ ID NO: 2)

30 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  
35 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  
40 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 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  
45 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  
50 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  
55 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  
60 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

# ES 2 937 153 T3

5           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 AAA ATA GAG CAA GTT  
 GAT TTT AGC TGG AAT ACA TAT GCT GAT GGG AAG CTT GCA TTT TAT GAC CAC  
 10          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  
 15          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  
 20          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 ATT ATA GGA TTT GCT TGT GAA CTT  
 CTG ACT GAA GAC ACC ACC ATC TGC TAT GGG GAG GAT ATT AAT TCT CTT CTT  
 25          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 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  
 30          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 GAC CTG GTG AAG AGG TAC AAG  
 AAA GCC ATC ACG CTG GCC ATC GGA GAT GGG GCC AAT GAC GTG AAC ATG ATC  
 35          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  
 40          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 ATA CCT CTT GGA GCT  
 45          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  
 55          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

**Tabla 2. Mutaciones ejemplares de ATP8B1**

Posición de aminoácido 3 (p. ej., T3K) <sup>27</sup>
Posición de aminoácido 23 (p. ej., P23L) <sup>5</sup>
Posición del aminoácido 45 (p. ej., N45T) <sup>5,8,9</sup>

(Continuación)

Posición de aminoácido 46 (p. ej., R46X) <sup>A,25</sup>
Posición de aminoácido 62 (p. ej., C62R) <sup>28</sup>
Posición del aminoácido 63 (p. ej., T63T) <sup>41</sup>
Posición de aminoácido 70 (p. ej., D70N) <sup>1,6</sup>
Posición de aminoácido 71 (p. ej., R71H) <sup>43</sup>
Posición de aminoácido 78 (p. ej., H78Q) <sup>19</sup>
Posición de aminoácido 82 (p. ej., T82T) <sup>41</sup>
Posición de aminoácido 92 (p. ej., Y92Y) <sup>41</sup>
Posición de aminoácido 93 (p. ej., A93A) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 96 (p. ej., A96G) <sup>27</sup>
Posición del aminoácido 114 (p. ej., E114Q) <sup>8</sup>
Posición de aminoácido 127 (p. ej., L127P <sup>6</sup> , L127V <sup>36</sup> )
Posición del aminoácido 177 (p. ej., T177T) <sup>6</sup>
Posición del aminoácido 179 (p. ej., E179X) <sup>29</sup>
ΔPosiciones de aminoácidos 185-282 <sup>44</sup>
Posición del aminoácido 197 (p. ej., G197Lfs * 10) <sup>22</sup>
Posición de aminoácido 201 (p. ej., R201S27, R201H <sup>35</sup> )
Posición de aminoácido 203 (p. ej., K203E5,8, K203R9, K203fs <sup>25</sup> )
Posición de aminoácido 205 (p. ej., N205fs6, N205Kfs * 2 <sup>35</sup> )
Posición de aminoácido 209 (p. ej., P209T) <sup>4</sup>
Posición de aminoácido 217 (p. ej., S217N) <sup>43</sup>
Posición de aminoácido 232 (p. ej., D232D) <sup>30</sup>
Posición del aminoácido 233 (p. ej., G233R) <sup>38</sup>
Posición del aminoácido 243 (p. ej., L243fs * 28) <sup>33</sup>
Posición de aminoácido 265 (p. ej., C265R) <sup>25</sup>
Posición de aminoácido 271 (p. ej., R271X <sup>13</sup> , R271R <sup>30</sup> )
Posición de aminoácido 288 (p. ej., L288S) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 294 (p. ej., L294S) <sup>43</sup>
Posición de aminoácido 296 (p. ej., R296C) <sup>11</sup>
Posición de aminoácido 305 (p. ej., F305I) <sup>28</sup>
Posición de aminoácido 306 (p. ej., C306R) <sup>23</sup>
Posición de aminoácido 307 (p. ej., H307L) <sup>35</sup>
Posición de aminoácido 308 (p. ej., G308V <sup>1</sup> , G308D <sup>6</sup> , G308S <sup>35</sup> )
Posición de aminoácido 314 (p. ej., G314S) <sup>13</sup>
Posición de aminoácido 320 (p. ej., M320Vfs * 13) <sup>11</sup>
Posición de aminoácido 337 (p. ej., M337R) <sup>18</sup>
Posición de aminoácido 338 (p. ej., N338K) <sup>18</sup>
Posición de aminoácido 340 (p. ej., M340V) <sup>18</sup>
Posición del aminoácido 344 (p. ej., I344F) <sup>6,20</sup>
Posición del aminoácido 349 (p. ej., I349T) <sup>41</sup>
Posición de aminoácido 358 (p. ej., G358R) <sup>28</sup>
Posición del aminoácido 367 (p. ej., G367G) <sup>41</sup>
Posición del aminoácido 368 (p. ej., N368D) <sup>41</sup>
Posición del aminoácido 393 (p. ej., I393V) <sup>27</sup>
Posición de aminoácido 403 (p. ej., S403Y) <sup>6</sup>
Posición del aminoácido 407 (p. ej., S407N) <sup>40</sup>
Posición de aminoácido 412 (p. ej., R412P) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 415 (p. ej., Q415R) <sup>27</sup>
Posición de aminoácido 422 (p. ej., D422H) <sup>35</sup>
Posición de aminoácido 429 (p. ej., E429A) <sup>6</sup>
Posición del aminoácido 446 (p. ej., G446R) <sup>4,11</sup>
Posición de aminoácido 453 (p. ej., S453Y) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 454 (p. ej., D454G) <sup>6</sup>
Posición del aminoácido 455 (p. ej., K455N) <sup>43</sup>
Posición de aminoácido 456 (p. ej., T456M <sup>3,6</sup> , T456K <sup>35</sup> )
Posición de aminoácido 457 (p. ej., G457G <sup>6</sup> , G457fs * 6 <sup>33</sup> )
Posición de aminoácido 469 (p. ej., C469G) <sup>41</sup>
Posición de aminoácido 478 (p. ej., H478H) <sup>41</sup>
Posición de aminoácido 500 (p. ej., Y500H) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 525 (p. ej., R525X) <sup>4</sup>

(Continuación)

Δ Posición de aminoácido 529 <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 535 (p. ej., H535L <sup>6</sup> , H535N <sup>41</sup> )
Posición de aminoácido 553 (p. ej., P553P) <sup>43</sup>
Posición de aminoácido 554 (p. ej., D554N <sup>1,6</sup> , D554A <sup>35</sup> )
ΔPosiciones de aminoácidos 556-628 <sup>44</sup>
ΔPosiciones de aminoácidos 559-563 <sup>35</sup>
Posición de aminoácido 570 (p. ej., L570L) <sup>41</sup>
Posición del aminoácido 577 (p. ej., 1577V) <sup>19</sup>
Posición de aminoácido 581 (p. ej., E581K) <sup>35</sup>
Posiciones de aminoácidos 554 y 581 (p. ej., D554A+E581K) <sup>35</sup>
Posición del aminoácido 585 (p. ej., E585X) <sup>21</sup>
Posición de aminoácido 600 (p. ej., R600W <sup>2,4</sup> , R600Q <sup>6</sup> )
Posición del aminoácido 602 (p. ej., R602X) <sup>3,6</sup>
Posición de aminoácido 628 (p. ej., R628W) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 631 (p. ej., R631Q.) <sup>28</sup>
ΔPosiciones de aminoácidos 645-699 <sup>4</sup>
Posición del aminoácido 661 (p. ej., 1661T) <sup>1,4,6</sup>
Posición del aminoácido 665 (p. ej., E665X) <sup>4,6</sup>
Posición de aminoácido 672 (p. ej., K672fs <sup>6</sup> , K672Vfs * 1 <sup>35</sup> )
Posición de aminoácido 674 (p. ej., M674T) <sup>19</sup>
Posiciones de aminoácidos 78 y 674 (p. ej., H78Q/M674T) <sup>19</sup>
Posición del aminoácido 684 (p. ej., D684D) <sup>41</sup>
Posición de aminoácido 688 (p. ej., D688G) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 694 (p. ej., 1694T <sup>6</sup> , I694N <sup>17</sup> )
Posición del aminoácido 695 (p. ej., E695K) <sup>27</sup>
Posición de aminoácido 709 (p. ej., K709fs <sup>6</sup> , K709Qfs * 41 <sup>13</sup> )
Posición de aminoácido 717 (p. ej., T717N) <sup>4</sup>
Posición de aminoácido 733 (p. ej., G733R) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 757 (p. ej., Y757X) <sup>4</sup>
Posición de aminoácido 749 (p. ej., L749P) <sup>21</sup>
Posición del aminoácido 792 (p. ej., P792fs) <sup>6</sup>
ΔPosición de aminoácido 795-797 <sup>6</sup>
Posición del aminoácido 809 (p. ej., 1809L) <sup>27</sup>
Posición de aminoácido 814 (p. ej., K814N) <sup>28</sup>
Posición de aminoácido 833 (p. ej., R833Q <sup>27</sup> , R833W <sup>41</sup> )
Posición de aminoácido 835 (p. ej., K835Rfs * 36) <sup>35</sup>
Posición de aminoácido 845 (p. ej., K845fs) <sup>25</sup>
Posición de aminoácido 849 (p. ej., R849Q) <sup>24</sup>
Posición de aminoácido 853 (p. ej., F853S, F853fs) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 867 (p. ej., R867C <sup>1</sup> , R867fs <sup>6</sup> , R867H <sup>23</sup> )
Posición de aminoácido 885 (p. ej., K885T) <sup>41</sup>
Posición de aminoácido 888 (p. ej., T888T) <sup>41</sup>
Posición de aminoácido 892 (p. ej., G892R) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 912 (p. ej., G912R) <sup>35</sup>
Posición de aminoácido 921 (p. ej., S921S) <sup>41</sup>
Posición de aminoácido 924 (p. ej., Y924C) <sup>28</sup>
Posición de aminoácido 930 (p. ej., R930X <sup>6</sup> , R930Q <sup>28</sup> )
Posición de aminoácido 941 (p. ej., R941X) <sup>35</sup>
Posición de aminoácido 946 (p. ej., R946T) <sup>41</sup>
Posición de aminoácido 952 (p. ej., R952Q <sup>5,9,15</sup> , R952X <sup>6</sup> )
Posición de aminoácido 958 (p. ej., N958fs) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 960 (p. ej., A960A) <sup>41</sup>
ΔPosición de aminoácido 971 <sup>43</sup>
Posición de aminoácido 976 (p. ej., A976E <sup>41</sup> , A976A <sup>43</sup> )
Posición de aminoácido 981 (p. ej., E981K) <sup>20</sup>
Posición de aminoácido 994 (p. ej., S994R) <sup>4</sup>
Posición del aminoácido 1011 (p. ej., L1011fs * 18) <sup>33</sup>
Posición de aminoácido 1012 (p. ej., S1012I) <sup>10</sup>
Posición del aminoácido 1014 (p. ej., R1014X) <sup>6,11</sup>
Posición de aminoácido 1015 (p. ej., F1015L) <sup>27</sup>

(Continuación)

Posición de aminoácido 1023 (p. ej., Q1023fs) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 1040 (p. ej., G1040R) <sup>1,6</sup>
Posición de aminoácido 1044 (p. ej., S0144L) <sup>34</sup>
Posición del aminoácido 1047 (p. ej., L1047fs) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 1050 (p. ej., 11050K) <sup>31</sup>
Posición del aminoácido 1052 (p. ej., L1052R) <sup>28</sup>
Posición de aminoácido 1095 (p. ej., W1095X) <sup>11</sup>
Posición del aminoácido 1098 (p. ej., V1098X) <sup>35</sup>
Posición del aminoácido 1131 (p. ej., Q1131X) <sup>44</sup>
Posición del aminoácido 1142 (p. ej., A1142Tfs * 35) <sup>43</sup>
Posición del aminoácido 1144 (p. ej., Y1144Y) <sup>43</sup>
Posición del aminoácido 1150 (p. ej., 11150T) <sup>41</sup>
Posición del aminoácido 1152 (p. ej., A1152T) <sup>30</sup>
Posición de aminoácido 1159 (p. ej., P1159P) <sup>25,43</sup>
Posición del aminoácido 1164 (p. ej., R1164X) <sup>6</sup>
Posición del aminoácido 1193 (p. ej., R1193fs * 39) <sup>33</sup>
Posición del aminoácido 1197 (p. ej., V1197L) <sup>41</sup>
Posición de aminoácido 1208 (p. ej., A1208fs) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 1209 (p. ej., Y1209Lfs * 28) <sup>4</sup>
Posición de aminoácido 1211 (p. ej., F1211L) <sup>27</sup>
Posición de aminoácido 1219 (p. ej., D1219H <sup>5</sup> , D1219G <sup>27</sup> )
Posición del aminoácido 1223 (p. ej., S1223S) <sup>41</sup>
Posición del aminoácido 1233 (p. ej., P1233P) <sup>41</sup>
Posición de aminoácido 1241 (p. ej., G1241fs) <sup>6</sup>
Posición del aminoácido 1248 (p. ej., T1248T) <sup>43</sup>
Mutación del sitio de empalme IVS3+1_+3delGTG <sup>6</sup>
Mutación del sitio de empalme IVS3-2A>G <sup>6</sup>
IVS6+5T>G <sup>17,25</sup>
Mutación del sitio de empalme IVS8+1G>T <sup>6</sup>
IVS9-G>A <sup>26</sup>
IVS12+1G>A <sup>25</sup>
Mutación del sitio de empalme IVS17-1G>A <sup>6</sup>
Mutación del sitio de empalme IVS18+2T>C <sup>6</sup>
Mutación del sitio de empalme IVS20-4CT>AA
Mutación del sitio de empalme IVS21+5G>A <sup>6</sup>
Mutación del sitio de empalme IVS23-3C>A <sup>6</sup>
Mutación del sitio de empalme IVS26+2T>A <sup>6</sup>
g.24774-42062del <sup>4</sup>
c.-4C>G <sup>41</sup>
c.145C>T <sup>12</sup>
c.181-72G>A <sup>9</sup>
c.182-5T>A <sup>41</sup>
c.182-72G>A <sup>41</sup>
c.246A>G <sup>9</sup>
c.239G>A <sup>39</sup>
c.279+1_279+3delGTG <sup>46</sup>
c.280-2A>G <sup>46</sup>
c.625_62715delinsACAGTAAT <sup>46</sup>
c.554+122C>T <sup>9</sup>
c.555-3T>C <sup>27</sup>
c.625+5 G>T <sup>4</sup>
Posición de aminoácido 209 (p. ej., P209T) y c.625+5 G>T <sup>4</sup>
c.628-30G>A <sup>41</sup>
c.628-31C>T <sup>41</sup>
c.698+1G>T <sup>46</sup>
c.698+20C>T <sup>41</sup>
c.782-1G>A <sup>46</sup>
c.782-34G>A <sup>41</sup>
Δ795-797 <sup>14</sup>
c.782 -1G>A <sup>4</sup>

# ES 2 937 153 T3

(Continuación)

c.852A>C <sup>27</sup>
c.941-1G>A <sup>46</sup>
c.1014C>T <sup>9</sup>
c.1029+35G>A <sup>9</sup>
c.1221-8C.G <sup>41</sup>
1226delA <sup>16</sup>
c.1429+1G>A <sup>46</sup>
c.1429+2T>G <sup>13</sup>
c.1429+49G>A <sup>41</sup>
c.1430-42A>G <sup>41</sup>
c.1493T>C <sup>12</sup>
c.1587_1589delCTT <sup>46</sup>
c.1630+2T>G <sup>27</sup>
c.1631-10T>A <sup>41</sup>
c.1637-37T>C <sup>41</sup>
1660G>A <sup>14</sup>
1798C>T <sup>14</sup>
1799G>A <sup>14</sup>
c.1819-39_41delAA <sup>9</sup>
c.1819+1G>A <sup>31</sup>
c.1820-27G>A <sup>41</sup>
c.1918+8C>T <sup>27</sup>
c.1933-1G>AK <sup>46</sup>
c.2097+2T>C <sup>32</sup>
c.2097+60T>G <sup>41</sup>
c.2097+89T>C <sup>41</sup>
c.2097+97T>G <sup>41</sup>
c.2210-114T>C <sup>9</sup>
2210delA <sup>16</sup>
C. 2210-45_50dupATAAAA <sup>9</sup>
c.2285+29C.T <sup>41</sup>
c.2285+32A>G <sup>41</sup>
c.2286-4_2286-3delinsAA <sup>46</sup>
c.2418+5G>A <sup>46</sup>
c.2707+3G>C <sup>27</sup>
c.2707+9T>G <sup>41</sup>
c.2707+43A>G <sup>41</sup>
c.2709-59T>C <sup>41</sup>
c.2931+9A>G <sup>41</sup>
c.2931+59T>A <sup>41</sup>
c.2932-3C>A <sup>46</sup>
c.2932+59T>A <sup>9</sup>
c.2937A>C <sup>27</sup>
c.3016-9C>A <sup>31</sup>
c.3033-3034del <sup>19</sup>
3122delTCCTA/
insACATCGATGTTGATGTTAGG <sup>45</sup>
3318G>A <sup>14</sup>
c.3400+2T>A <sup>46</sup>
c.3401-175C>T <sup>9</sup>
c.3401-167C>T <sup>9</sup>
c.3401-108C>T <sup>9</sup>
c.3531+8G>T <sup>9,15</sup>
c.3532-15C>T <sup>9</sup>
ΔPhe ex 154
Ex1_Ex13del <sup>6</sup>
Ex2_Ex6del <sup>33</sup>
Ex12_Ex14del <sup>27</sup>
Exón 24 <sup>45</sup> omitido
del5'UTR-ex18 <sup>11</sup>

(Continuación)

C. * 11C>T <sup>41</sup>
C. * 1101 + 366G > A <sup>7</sup>
g.92918de1565 <sup>31</sup>
GC que precede al exón 16 (p. ej., lo que da como resultado una eliminación de 4 pb) <sup>42</sup>
Cambio de marco desde el extremo 5' del exón 16 <sup>42</sup>
5' Eliminación de 1,4 kb <sup>46</sup>

**Tabla 3. Mutaciones ATP8B1 seleccionadas asociadas con PFIC-1**

Posición de aminoácido 23 (p. ej., P23L) <sup>5</sup>
Posición de aminoácido 78 (p. ej., H78Q) <sup>19</sup>
Posición de aminoácido 93 (p. ej., A93A) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 96 (p. ej., A96G) <sup>27</sup>
Posición del aminoácido 127 (p. ej., L127P) <sup>6</sup>
Posición del aminoácido 197 (p. ej., G197Lfs * 10) <sup>22</sup>
Posición de aminoácido 205 (p. ej., N205fs) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 209 (p. ej., P209T) <sup>4</sup>
Posición del aminoácido 233 (p. ej., G233R) <sup>38</sup>
Posición del aminoácido 243 (p. ej., L243fs * 28) <sup>33</sup>
Posición de aminoácido 288 (p. ej., L288S) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 296 (p. ej., R296C) <sup>11</sup>
Posición de aminoácido 308 (p. ej., G308V <sup>1,6</sup> )
Posición de aminoácido 320 (p. ej., M320Vfs * 13) <sup>11</sup>
Posición de aminoácido 403 (p. ej., S403Y) <sup>6</sup>
Posición del aminoácido 407 (p. ej., S407N) <sup>40</sup>
Posición de aminoácido 412 (p. ej., R412P) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 415 (p. ej., Q415R) <sup>27</sup>
Posición de aminoácido 429 (p. ej., E429A) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 446 (p. ej., G446R) <sup>4</sup>
Posición del aminoácido 456 (p. ej., T456M) <sup>3,6</sup>
Posición de aminoácido 457 (p. ej., G457G6, G457fs * 6 <sup>33</sup> )
Posición de aminoácido 500 (p. ej., Y500H) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 525 (p. ej., R525X) <sup>4</sup>
ΔPosición de aminoácido 529 <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 535 (p. ej., H535L) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 554 (p. ej., D554N) <sup>1,6</sup>
Posición del aminoácido 577 (p. ej., 1577V) <sup>19</sup>
Posición del aminoácido 585 (p. ej., E585X) <sup>21</sup>
Posición de aminoácido 600 (p. ej., R600W) <sup>4</sup>
Posición del aminoácido 602 (p. ej., R602X) <sup>3,6</sup>
Posición del aminoácido 661 (p. ej., 1661T) <sup>4,6</sup>
Posición del aminoácido 665 (p. ej., E665X) <sup>4,6</sup>
ΔPosiciones de aminoácidos 645-699 <sup>4</sup>
Posición de aminoácido 672 (p. ej., K672fs) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 674 (p. ej., M674T) <sup>19</sup>
Posiciones de aminoácidos 78 y 674 (p. ej., H78Q/M674T) <sup>19</sup>
Posición de aminoácido 688 (p. ej., D688G) <sup>6</sup>
Posición del aminoácido 694 (p. ej., 1694N) <sup>17</sup>
Posición del aminoácido 695 (p. ej., E695K) <sup>27</sup>
Posición de aminoácido 709 (p. ej., K709fs) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 717 (p. ej., T717N) <sup>4</sup>
Posición de aminoácido 733 (p. ej., G733R) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 749 (p. ej., L749P) <sup>21</sup>
Posición de aminoácido 757 (p. ej., Y757X) <sup>4</sup>
Posición del aminoácido 792 (p. ej., P792fs) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 809 (p. ej., I809L) <sup>27</sup>
Posición de aminoácido 853 (p. ej., F853S, F853fs) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 867 (p. ej., R867fs) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 892 (p. ej., G892R) <sup>6</sup>
Posición de aminoácido 930 (p. ej., R930X <sup>6</sup> , R952Q <sup>15</sup> )

(Continuación)

	Posición de aminoácido 952 (p. ej., R952X) <sup>6</sup>
5	Posición de aminoácido 958 (p. ej., N958fs) <sup>6</sup>
	Posición de aminoácido 981 (p. ej., E981K) <sup>20</sup>
	Posición de aminoácido 994 (p. ej., S994R) <sup>4</sup>
	Posición del aminoácido 1014 (p. ej., R1014X) <sup>6,11</sup>
10	Posición de aminoácido 1015 (p. ej., F1015L) <sup>27</sup>
	Posición de aminoácido 1023 (p. ej., Q1023fs) <sup>6</sup>
	Posición de aminoácido 1040 (p. ej., G1040R) <sup>1,6</sup>
	Posición del aminoácido 1047 (p. ej., L1047fs) <sup>6</sup>
15	Posición de aminoácido 1095 (p. ej., W1095X) <sup>11</sup>
	Posición de aminoácido 1208 (p. ej., A1208fs) <sup>6</sup>
	Posición de aminoácido 1209 (p. ej., Y1209Lfs * 28) <sup>4</sup>
	Posición de aminoácido 1211 (p. ej., F1211L) <sup>27</sup>
	Posición de aminoácido 1219 (p. ej., D1219H <sup>5</sup> , D1219G <sup>27</sup> )
20	Mutación del sitio de empalme IVS3+1_+3delGTG <sup>6</sup>
	Mutación del sitio de empalme IVS3-2A>G <sup>6</sup>
	IVS6+5T>G <sup>17</sup>
	Mutación del sitio de empalme IVS8+1G>T <sup>6</sup>
	IVS9-G>A <sup>26</sup>
25	Mutación del sitio de empalme IVS17-1G>A <sup>6</sup>
	Mutación del sitio de empalme IVS18+2T>C <sup>6</sup>
	Mutación del sitio de empalme IVS21+5G>A <sup>6</sup>
	g.24774-42062del <sup>4</sup>
30	c.145C>T <sup>12</sup>
	c.239G>A <sup>39</sup>
	c.625+5 G>T <sup>4</sup>
	Posición de aminoácido 209 (p. ej., P209T) y c.625+5G>T <sup>4</sup>
	c.782 -1G>A <sup>4</sup>
	c.1493T>C <sup>12</sup>
35	c.1630+2T>G <sup>27</sup>
	1660G>A <sup>14</sup>
	c.2707+3G>C <sup>27</sup>
	c.2097+2T>C <sup>32</sup>
	c.3033-3034del <sup>19</sup>
	3318G>A <sup>14</sup>
40	c.3158+8G>T <sup>15</sup>
	ΔPhe ex 15 <sup>4</sup>
	Ex1_Ex13del <sup>6</sup>
	Ex2_Ex6del <sup>33</sup>
45	Ex12_Ex14del <sup>27</sup>
	del5'UTR-ex18 <sup>11</sup>
	C.. * 1101 + 366G > A <sup>7</sup>
	GC que precede al exón 16 (p. ej., lo que da como resultado una eliminación de 4 pb) <sup>42</sup>
50	Cambio de marco desde el extremo 5 'del exón 16 <sup>42</sup>
	A Una mutación a 'X' denota un codón de parada temprano

## Referencias para las tablas 2 y 3

55 [0054]

- <sup>1</sup> Folmer et al., Hepatology. 2009, vol. 50(5), pág. 1597-1605.  
<sup>2</sup> Hsu y col., Hepatol Res. 2009, vol. 39(6), pág. 625-631.  
<sup>3</sup> Álvarez et al., Hum Mol Genet. 2004, vol. 13(20), pág. 2451-2460.  
<sup>4</sup> Davit-Spraul et al., Hepatology 2010, vol. 51(5), pág. 1645-1655.  
<sup>5</sup> Vitale et al., J Gastroenterol. 2018, vol. 53(8), pág. 945-958.  
<sup>6</sup> Klomp et al., Hepatology 2004, vol. 40(1), pág. 27-38.  
<sup>7</sup> Zarenezhad et al., Hepatitis Monthly: 2017, vol. 17(2); e43500.  
<sup>8</sup> Dixon et al., Scientific Reports 2017, vol. 7, 11823.  
<sup>9</sup> Painter y otros, Eur J Hum Genet. 2005, vol. 13(4), pág. 435-439.  
<sup>10</sup> Deng et al., World J Gastroenterol. 2012, vol. 18(44), pág. 6504-6509.

- <sup>11</sup> Giovannoni y otros, PLoS One. 2015, vol. 10(12): e0145021.
- <sup>12</sup> Li et al., Hepatology International 2017, vol. 11, No. 1, Supl. Suplemento 1, págs. S180. Resumen Número: OP284.
- <sup>13</sup> Togawa et al., Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 2018, vol. 67, suplemento Suplemento 1, págs. S363. Número de resumen: 615.
- <sup>14</sup> Miloh et al., Gastroenterology 2006, vol. 130, No. 4, Supl. 2, págs. A759-A760. Información de la reunión: Reunión de la Semana de las Enfermedades Digestivas/107.<sup>a</sup> Reunión Anual de la Asociación Estadounidense de Gastroenterología. Los Ángeles, CA, Estados Unidos. 19 de mayo.
- <sup>15</sup> Dröge et al., Zeitschrift für Gastroenterologie 2015, vol. 53, No. 12. Resumen Número: A3-27. Información de la reunión: 32. Jahrestagung der Deutschen Arbeitsgemeinschaft zum Studium der Leber. Düsseldorf, Alemania. 22 de enero de 2016-23 de enero de 2016
- <sup>16</sup> Mizuochi et al., Clin Chim Acta. 2012, vol. 413(15-16), pág. 1301-1304.
- <sup>17</sup> Liu et al., Hepatology International 2009, vol. 3, núm. 1, pág. 184-185. Resumen Número: PE405. Información de la reunión: 19.<sup>a</sup> Conferencia de la Asociación del Pacífico Asiático para el Estudio del Hígado. Hong Kong, China. 13 de febrero de 2009-16 de febrero de 2009
- <sup>18</sup> McKay et al., Versión 2. F1000Res. 2013; 2: 32. DOI: 10.12688/f1000research.2-32.v2
- <sup>19</sup> Hasegawa et al., Orphanet J Rare Dis. 2014, vol. 9:89.
- <sup>20</sup> Stone y col., J Biol Chem. 2012, vol. 287(49), pág. 41139-51.
- <sup>21</sup> Kang y col., J. Pathol Transl Med. 16 de mayo de 2019. doi: 10.4132/jptm.2019.05.03. [Epub antes de la impresión]
- <sup>22</sup> Sharma et al., BMC Gastroenterol. 2018, vol. 18(1), pág. 107.
- <sup>23</sup> Uegaki et al., Intern Med. 2008, vol. 47(7), pág. 599-602.
- <sup>24</sup> Goldschmidt y col., Hepatol Res. 2016, vol. 46(4), pág. 306-311.
- <sup>25</sup> Liu y col., J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2010, vol. 50(2), pág. 179-183.
- <sup>26</sup> Jung y col., J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2007, vol. 44(4), pág. 453-458.
- <sup>27</sup> Bounford. Universidad de Birmingham. Resúmenes de tesis internacionales, (2016) vol. 75, N° 1C. Número de pedido: AAI10588329. Disertaciones y tesis de ProQuest.
- <sup>28</sup> Stoltz y col., Aliment Pharmacol Ther. 2019, vol. 49(9), pág. 1195-1204.
- <sup>29</sup> Ivashkin et al., Hepatology International 2016, vol. 10, No. 1, Supl. SUPPL. 1, págs. S461. Número de resumen: LBO- 38. Información de la reunión: 25.<sup>a</sup> Conferencia Anual de la Asociación del Pacífico Asiático para el Estudio del Hígado, APASL 2016. Tokio, Japón. 20 de febrero de 2016-24 de febrero de 2016
- <sup>30</sup> Blackmore et al., J Clin Exp Hepatol. 2013, vol. 3(2), pág. 159-161.
- <sup>31</sup> Matte y col., J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2010, vol. 51(4), pág. 488-493.
- <sup>32</sup> Squires y col., J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2017, vol. 64(3), pág. 425-430.
- <sup>33</sup> Hayashi et al., EBioMedicine. 2018, vol. 27, pág. 187-199.
- <sup>34</sup> Nagasaka y col., J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2007, vol. 45(1), pág. 96-105.
- <sup>35</sup> Wang y otros, PLoS One. 2016; vol. 11(4): e0153114.
- <sup>36</sup> Narchi et al., Arabia J Gastroenterol. 2017, vol. 23(5), pág. 303-305.
- <sup>37</sup> Alashkar et al., Blood 2015, vol. 126, No. 23. Información de la reunión.: 57.<sup>a</sup> reunión anual de la American-Society of Hematology. Orlando, Florida, Estados Unidos. Del 05 al 08 de diciembre de 2015. Amer Soc Hematol.
- <sup>38</sup> Ferreira et al., Pediatric Transplantation 2013, vol. 17, supl. SUPPL. 1, pp. 99. Número de resumen: 239. Información de la reunión: 7<sup>o</sup> Congreso de IPTA sobre trasplante pediátrico. Varsovia, Polonia. 13 de julio de 2013-16 de julio de 2013.
- <sup>39</sup> Pauli-Magnus et al., J Hepatol. 2005, vol. 43(2), pág. 342-357.
- <sup>40</sup> Jericho et al., Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 2015, vol. 60(3), pág. 368-374.
- <sup>41</sup> van der Woerd y otros, PLoS One. 2013, vol. 8(11): e80553.
- <sup>42</sup> Copeland et al., J Gastroenterol Hepatol. 2013, vol. 28(3), pág. 560-564.
- <sup>43</sup> Dröge et al., J Hepatol. 2017, vol. 67(6), pág. 1253-1264.
- <sup>44</sup> Chen y col., Journal of Pediatrics 2002, vol. 140(1), pág. 119-124.
- <sup>45</sup> Jirsa y col., Hepatol Res. 2004, vol. 30(1), pág. 1-3.
- <sup>46</sup> van der Woerd et al., Hepatology 2015, vol. 61(4), pág. 1382-1391.

**[0055]** En algunas formas de realización, la mutación en ATP8B1 se selecciona de L127P, G308V, T456M, D554N, F529del, I661T, E665X, R930X, R952X, R1014X y G1040R.

55 Secuencia de proteína canónica de ABCB11 (SEQ ID NO: 3)-Uniprot ID O95342

# ES 2 937 153 T3

MSDSVILRSI KKFGEENDGF ESDKSNNNDK KSRLQDEKKG DGVRVGFFQL FRFSSSTDIW  
5 LMFGSLCAF LHGIAQPGVL LIFGTMDVF IDYDVELQEL QIPGKACVNN TIVWTNSSLN  
QNMTNGTRCG LLNIESEMIK FASYYAGIAV AVLITGYIQI CFWVIAAARQ IQKMRKFYFR  
RIMRMEIGWF DCNSVGELNT RFSDDINKIN DAIADQMALF IQRMTSTICG FLLGFFRGWK  
LTLVIISVSP LIGIGAATIG LSVSKFTDYE LKAYAKAGVV ADEVIISSMRT VAAFGGEKRE  
10 VERYEKNLVF AQRWGIRKGKI VMGFFTGFVW CLIFLCYALA FWYGSTLVLD EGEYTPGTLV  
QIFLSVIVGA LNGLGNASPCL EAFAFATGRAAA TSIFETIDRK PIIDCMSEDG YKLDRIKGEI  
EFHNVTFHYP SRPEVKILND LNMVIKPGEM TALVGPSGAG KSTALQLIQR FYDPCEGMVT  
15 VDGHDIRSLN IQWL RDQIGI VEQEPVLFST TIAENIRYGR EDATMEDIVQ AAKEANAYNF  
IMDLPQQFDT LVGEGGGQMS GGQKQRVAIA RALIRNPKIL LLDMATSALD NESEAMVQEVS  
LSKIQHHTI ISVAHRLSTV RAADTIIGFE HGTAVERGTH EELLERKGVY FTLVTLQSQG  
NQALNEEDIK DATEDDMLAR TFSRGSYQDS LRASIRQRSK SQLSYLVHEP PLAVVDHKST  
YEEDRKDKDI PVQEEVEPAP VRRILKFSAP EWPYMLVGSV GAAVNGTVTP LYAFLFSQIL  
20 GTFSIPDKEE QRSGINGVCL LFVAMGCVSL FTQFLQGYAF AKSGELLTKR LRKFGFRAML  
GQDIAWFDDL RNSPGALTTR LATDASQVQG AAGSQIGMIV NSFTNVTVAM IIASFWSWKL  
SLVILCFFPF LALSGATQTR MLTGFASRDK QALEMVGQIT NEALSNIRT V AGIGKERRFI  
EALETELEKP FKTAIQKANI YGFCAFAQC IMFIANSASY RYGGYLISNE GLHFSYVFRV  
25 ISAVVLSATA LGRAFSYTPS YAKAKISAAR FFQLLDRQPP ISVYNTAGEK WDNFQGKIDF  
VDCKFTYPSR PDSQVLNGLS VSISPGQTLA FVGSSGCGKS TSIQLLERFY DPDQGKVMID  
GHDSKKVNVQ FLRSNIGIVS QEPVLFACSI MDNIKYGDNT KEIPMERVIA AAKQAQLHDF  
VMSLPEKYET NVGSQGSQLS RGEKQRIAIA RAIVRDPKIL LLDEATSALD TESEKTVQVA  
LDKAREGRTE IVIAHRLSTI QNADIIAVMA QGVVIEKGTH EELMAQKGAY YKLVTTGSPI S

30 Secuencia de ADN canónica de ABCB11 (SEQ ID NO: 4)

## ES 2 937 153 T3

ATG TCT GAC TCA GTA ATT CTT CGA AGT ATA AAG AAA TTT GGA GAG GAG AAT  
 5 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  
 10 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 GTC 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  
 15 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  
 20 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 GAG AAA AGA GAG GTT GAA AGG TAT GAG AAA  
 25 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  
 30 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  
 35 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 ATT CGC TAT GGC AGA GAA GAT GCA ACA ATG GAA GAC  
 40 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  
 45 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  
 50 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  
 55 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

5 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 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  
 10 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  
 15 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  
 20 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  
 25 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  
 30 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  
 35 TAC TAC AAA CTA GTC ACC ACT GGA TCC CCC ATC AGT TGA

**Tabla 4. Ejemplos de mutaciones ABCB11**

Posición de aminoácido 1 (p. ej., M1V) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 4 (p. ej., S4X)A, <sup>64</sup>
Posición de aminoácido 8 (p. ej., R8X) <sup>88</sup>
Posición de aminoácido 19 (p. ej., G19R) <sup>56</sup>
Posición de aminoácido 24 (p. ej., K24X) <sup>35</sup>
Posición de aminoácido 25 (p. ej., S25X) <sup>5,14</sup>
Posición de aminoácido 26 (p. ej., Y261fs * 7) <sup>38</sup>
Posición de aminoácido 36 (p. ej., D36D) <sup>27</sup>
Posición del aminoácido 38 (p. ej., K38Rfs * 24) <sup>73</sup>
Posición del aminoácido 43 (p. ej., V43I) <sup>57</sup>
Posición del aminoácido 49 (p. ej., Q49X) <sup>73</sup>
Posición de aminoácido 50 (p. ej., L50S, L50W) <sup>57</sup>
Posición de aminoácido 52 (p. ej., R52W <sup>26</sup> , R52R <sup>28</sup> )
Posición del aminoácido 56 (p. ej., S56L) <sup>58</sup>
Posición de aminoácido 58 (p. ej., D58N) <sup>62</sup>
Posición de aminoácido 62 (p. ej., M62K) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 66 (p. ej., S66N) <sup>17</sup>
Posición de aminoácido 68 (p. ej., C68Y) <sup>41</sup>
Posición de aminoácido 50 (p. ej., L50S) <sup>5,7</sup>
Posición de aminoácido 71 (p. ej., L71H) <sup>73</sup>
Posición de aminoácido 74 (p. ej., I74R) <sup>71</sup>
Posición de aminoácido 77 (p. ej., P77A) <sup>73</sup>
Posición de aminoácido 87 (p. ej., T87R) <sup>67</sup>
Posición de aminoácido 90 (p. ej., F90F) <sup>7,27</sup>
Posición de aminoácido 93 (p. ej., Y93S <sup>13</sup> , Y93X <sup>88</sup> )

(Continuación)

Posición de aminoácido 96 (p. ej., E96X) <sup>88</sup>
Posición de aminoácido 97 (p. ej., L97X) <sup>39</sup>
Posición de aminoácido 101 (p. ej., Q101Dfs * 8) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 107 (p. ej., C107R) <sup>36</sup>
Posición del aminoácido 112 (p. ej., 1112T) <sup>9</sup>
Posición del aminoácido 114 (p. ej., W114R) <sup>2,9</sup>
Posición del aminoácido 123 (p. ej., M123T) <sup>67</sup>
Posición de aminoácido 127 (p. ej., T127Hfs * 6) <sup>5</sup>
Posición de aminoácido 129 (p. ej., C129Y) <sup>25</sup>
Posición de aminoácido 130 (p. ej., G130G) <sup>77</sup>
Posición del aminoácido 134 (p. ej., 1134I) <sup>28</sup>
Posición de aminoácido 135 (p. ej., E135K <sup>7,13</sup> , E135L <sup>17</sup> )
Posición del aminoácido 137 (p. ej., E137K) <sup>7</sup>
Posición del aminoácido 157 (p. ej., Y157C) <sup>5</sup>
Posición del aminoácido 161 (p. ej., C161X) <sup>39</sup>
Posición de aminoácido 164 (p. ej., V164Gfs * 7 <sup>30</sup> , V164I <sup>85</sup> )
Posición de aminoácido 167 (p. ej., A167S <sup>4</sup> , A167V <sup>7</sup> , A167T <sup>9,17</sup> )
Posición de aminoácido 181 (p. ej., R181I) <sup>35</sup>
Posición de aminoácido 182 (p. ej., 1182K) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 183 (p. ej., M183V <sup>8</sup> , M183T <sup>9</sup> )
Posición de aminoácido 185 (p. ej., M185I) <sup>73</sup>
Posición del aminoácido 186 (p. ej., E186G) <sup>2,7,22</sup>
Posición del aminoácido 188 (p. ej., G188W) <sup>73</sup>
Posición del aminoácido 194 (p. ej., S194P) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 198 (p. ej., L198P) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 199 (p. ej., N199Ifs * 15X) <sup>88</sup>
Posición de aminoácido 206 (p. ej., I206V) <sup>28</sup>
Posición del aminoácido 212 (p. ej., A212T) <sup>73</sup>
Posición de aminoácido 217 (p. ej., M217R) <sup>88</sup>
Posición de aminoácido 225 (p. ej., T225P) <sup>57</sup>
Posición de aminoácido 226 (p. ej., S226L) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 232 (p. ej., L232Cfs * 9) <sup>9</sup>
Posición del aminoácido 233 (p. ej., L233S) <sup>86</sup>
Posición del aminoácido 238 (p. ej., G238V) <sup>2,7</sup>
Posición del aminoácido 242 (p. ej., T242I) <sup>5,7</sup>
Posición del aminoácido 245 (p. ej., I245Tfs * 26) <sup>57</sup>
Posición de aminoácido 256 (p. ej., A256G) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 260 (p. ej., G260D) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 269 (p. ej., Y269Y) <sup>27</sup>
Posición de aminoácido 277 (p. ej., A277E) <sup>77</sup>
Posición del aminoácido 283 (p. ej., E283D) <sup>73</sup>
Posiciones de aminoácidos 212 y 283 (p. ej., A212T+E283D) <sup>73</sup>
Posición de aminoácido 284 (p. ej., V284L <sup>7,39</sup> , V284A <sup>7</sup> , V284D <sup>23</sup> )
Posición de aminoácido 297 (p. ej., E297G <sup>1,2,5,7</sup> , E297K <sup>7</sup> )
Posición de aminoácido 299 (p. ej., R299K) <sup>28</sup>
Posición de aminoácido 303 (p. ej., R303K <sup>8</sup> , R303M <sup>63</sup> R303fsX321 <sup>83</sup> )
Posición del aminoácido 304 (p. ej., Y304X) <sup>26</sup>
Posición de aminoácido 312 (p. ej., Q312H) <sup>7</sup>
Posición del aminoácido 313 (p. ej., R313S) <sup>5,7</sup>
Posición del aminoácido 314 (p. ej., W314X) <sup>57</sup>
Posición de aminoácido 318 (p. ej., K318Rfs * 26) <sup>29</sup>
Posición de aminoácido 319 (p. ej., G319G) <sup>7</sup>
Posición del aminoácido 327 (p. ej., G327E) <sup>5,7</sup>
Posición de aminoácido 330 (p. ej., W330X) <sup>24</sup>
Posición del aminoácido 336 (p. ej., C336S) <sup>2,7</sup>
Posición del aminoácido 337 (p. ej., Y337H) <sup>21,27</sup>
Posición de aminoácido 342 (p. ej., W342G) <sup>50</sup>
Posición de aminoácido 354 (p. ej., R354X) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 361 (p. ej., Q361X <sup>57</sup> , Q361R <sup>74</sup> )
Posición de aminoácido 366 (p. ej., V366V <sup>28</sup> , V366D <sup>57</sup> )

(Continuación)

Posición de aminoácido 368 (p. ej., V368Rfs * 27) <sup>5</sup>
Posición de aminoácido 374 (p. ej., G374S) <sup>3</sup>
Posición de aminoácido 380 (p. ej., L380Wfs * 18) <sup>5</sup>
Posición de aminoácido 382 (p. ej., A382G) <sup>88</sup>
ΔPosiciones de aminoácidos 382-38 <sup>85</sup>
ΔPosiciones de aminoácidos 383-389 <sup>57</sup>
Posición de aminoácido 387 (p. ej., R387H) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 390 (p. ej., A390P) <sup>5,7</sup>
Posición de aminoácido 395 (p. ej., E395E) <sup>28</sup>
Posición de aminoácido 404 (p. ej., D404G) <sup>9</sup>
Posición del aminoácido 410 (p. ej., G410D) <sup>5,7</sup>
Posición del aminoácido 413 (p. ej., L413W) <sup>5,7</sup>
Posición del aminoácido 415 (p. ej., R415X) <sup>42</sup>
Posición de aminoácido 416 (p. ej., I416I) <sup>27</sup>
Posición de aminoácido 420 (p. ej., I420T) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 423 (p. ej., H423R) <sup>13</sup>
Posición del aminoácido 432 (p. ej., R432T) <sup>1,2,7</sup>
Posición del aminoácido 436 (p. ej., K436N) <sup>40</sup>
Posición del aminoácido 440 (p. ej., D440E) <sup>88</sup>
Posición de aminoácido 444 (p. ej., V444A) <sup>2</sup>
Posición del aminoácido 454 (p. ej., V454X) <sup>49</sup>
Posición de aminoácido 455 (p. ej., G455E) <sup>9</sup>
Posición del aminoácido 457 (p. ej., S457Vfs * 23) <sup>88</sup>
Posición del aminoácido 461 (p. ej., K461E) <sup>2,7</sup>
Posición del aminoácido 462 (p. ej., S462R) <sup>88</sup>
Posición del aminoácido 463 (p. ej., T463I) <sup>5,7</sup>
Posición del aminoácido 466 (p. ej., Q466K) <sup>5,7</sup>
Posición de aminoácido 470 (p. ej., R470Q <sup>5,7</sup> , R470X <sup>9</sup> )
Posición de aminoácido 471 (p. ej., Y472X) <sup>5</sup>
Posición de aminoácido 472 (p. ej., Y472C <sup>5,27</sup> , Y472X <sup>14</sup> )
Posición de aminoácido 473 (p. ej., D473Q <sup>35</sup> , D473V <sup>88</sup> )
Posición de aminoácido 475 (p. ej., C475X) <sup>29</sup>
Posición del aminoácido 481 (p. ej., V481E) <sup>5,7</sup>
Posición de aminoácido 482 (p. ej., D482G) <sup>2,5,7</sup>
Posición de aminoácido 484 (p. ej., H484Rfs * 5) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 487 (p. ej., R487H <sup>2</sup> , R487P <sup>5</sup> )
Posición del aminoácido 490 (p. ej., N490D) <sup>5,7</sup>
Posición de aminoácido 493 (p. ej., W493X) <sup>8</sup>
Posición del aminoácido 496 (p. ej., D496V) <sup>88</sup>
Posición del aminoácido 498 (p. ej., I498T) <sup>2,7</sup>
Posición del aminoácido 499 (p. ej., G499E) <sup>73</sup>
Posición de aminoácido 501 (p. ej., V501G) <sup>68</sup>
Posición del aminoácido 504 (p. ej., E504K) <sup>79</sup>
Posición de aminoácido 510 (p. ej., T510T) <sup>7</sup>
Posición del aminoácido 512 (p. ej., I512T) <sup>5,7</sup>
Posición de aminoácido 515 (p. ej., N515T <sup>5,7</sup> , N515D <sup>64</sup> )
Posición de aminoácido 516 (p. ej., I516M) <sup>17</sup>
Posición de aminoácido 517 (p. ej., R517H) <sup>5,7</sup>
Posición de aminoácido 520 (p. ej., R520X) <sup>5</sup>
Posición de aminoácido 523 (p. ej., A523G) <sup>13</sup>
Posición de aminoácido 528 (p. ej., I528Sfs * 21 <sup>5</sup> , I528X <sup>9</sup> , I528T <sup>73</sup> )
Posición de aminoácido 535 (p. ej., A535A <sup>7</sup> , A535X <sup>89</sup> )
Posición de aminoácido 540 (p. ej., F540L) <sup>46</sup>
Posición de aminoácido 541 (p. ej., I541L <sup>5,7</sup> , I541T <sup>5,17</sup> )
Posición de aminoácido 546 (p. ej., Q546K <sup>39</sup> , Q546H <sup>73</sup> )
Posición del aminoácido 548 (p. ej., F548Y) <sup>5,7</sup>
Posición de aminoácido 549 (p. ej., D549V) <sup>9</sup>
Posición del aminoácido 554 (p. ej., E554K) <sup>21</sup>
Posición del aminoácido 556 (p. ej., G556R) <sup>67</sup>
Posición de aminoácido 558 (p. ej., Q558H) <sup>23</sup>

(Continuación)

Posición del aminoácido 559 (p. ej., M559T) <sup>57</sup>
Posición de aminoácido 562 (p. ej., G562D <sup>5,7</sup> , G562S <sup>73</sup> )
Posición de aminoácido 570 (p. ej., A570T <sup>2,5,7</sup> , A570V <sup>26</sup> )
Posición de aminoácido 575 (p. ej., R575X <sup>2,5</sup> , R575Q <sup>21</sup> )
Posición de aminoácido 580 (p. ej., L580P) <sup>57</sup>
Posición de aminoácido 586 (p. ej., T586I) <sup>7</sup>
Posición del aminoácido 587 (p. ej., S587X) <sup>73</sup>
Posición de aminoácido 588 (p. ej., A588V <sup>5,7</sup> , A588P <sup>73</sup> )
Posición de aminoácido 591 (p. ej., N591S) <sup>2,7</sup>
Posición del aminoácido 593 (p. ej., S593R) <sup>2,7</sup>
Posición de aminoácido 597 (p. ej., V597V <sup>9</sup> , V597L <sup>13</sup> )
Posición del aminoácido 603 (p. ej., K603K) <sup>55</sup>
Posición de aminoácido 609 (p. ej., H609Hfs * 46) <sup>26</sup>
Posición de aminoácido 610 (p. ej., I610Gfs * 459, I610T57) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 615 (p. ej., H615R) <sup>26</sup>
Posición de aminoácido 616 (p. ej., R616G <sup>28</sup> , R616H <sup>73</sup> )
Posición de aminoácido 619 (p. ej., T619A) <sup>28</sup>
Posición de aminoácido 623 (p. ej., A623A) <sup>28</sup>
Posición del aminoácido 625 (p. ej., T625Nfs * 5) <sup>26</sup>
Posición de aminoácido 627 (p. ej., I627T) <sup>7</sup>
Posición del aminoácido 628 (p. ej., G628Wfs * 3) <sup>70</sup>
Posición del aminoácido 636 (p. ej., E636G) <sup>2</sup>
Posición de aminoácido 648 (p. ej., G648Vfs * 6 <sup>5</sup> , G648V <sup>50</sup> )
Posición de aminoácido 655 (p. ej., T655I) <sup>7</sup>
Posición del aminoácido 669 (p. ej., I669V) <sup>26</sup>
Posición de aminoácido 676 (p. ej., D676Y) <sup>11</sup>
Posición del aminoácido 677 (p. ej., M677V) <sup>7,13</sup>
Posición del aminoácido 679 (p. ej., A679V) <sup>58</sup>
Posición de aminoácido 685 (p. ej., G685W) <sup>60</sup>
Posición de aminoácido 696 (p. ej., R696W <sup>27</sup> , R696Q <sup>58</sup> )
Posición de aminoácido 698 (p. ej., R698H <sup>7,9</sup> , R698K <sup>61</sup> , R698C <sup>88</sup> )
Posición de aminoácido 699 (p. ej., S699P) <sup>9</sup>
Posición del aminoácido 701 (p. ej., S701P) <sup>58</sup>
Posición del aminoácido 702 (p. ej., Q702X) <sup>89</sup>
Posición de aminoácido 709 (p. ej., E709K) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 710 (p. ej., P710P) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 712 (p. ej., L712L) <sup>29</sup>
Posición de aminoácido 721 (p. ej., Y721C) <sup>88</sup>
Posición de aminoácido 729 (p. ej., D724N) <sup>39</sup>
Posición de aminoácido 731 (p. ej., P731S) <sup>23</sup>
Posición del aminoácido 740 (p. ej., P740Qfs * 6) <sup>73</sup>
Posición de aminoácido 758 (p. ej., G758R) <sup>5</sup>
Posición del aminoácido 766 (p. ej., G766R) <sup>5,24</sup>
Posición de aminoácido 772 (p. ej., Y772X) <sup>5</sup>
Posición de aminoácido 804 (p. ej., A804A) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 806 (p. ej., G806D <sup>44</sup> , G806G <sup>55</sup> )
Posición de aminoácido 809 (p. ej., S809F) <sup>81</sup>
Posición de aminoácido 817 (p. ej., G817G) <sup>88</sup>
Posición de aminoácido 818 (p. ej., Y818F) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 824 (p. ej., G824E) <sup>42</sup>
Posición de aminoácido 825 (p. ej., G825G) <sup>73</sup>
Posición de aminoácido 830 (p. ej., R830Gfs * 28) <sup>73</sup>
Posición de aminoácido 832 (p. ej., R832C <sup>7,26</sup> , R832H <sup>41</sup> )
Posición de aminoácido 842 (p. ej., D842G) <sup>2</sup>
Posición de aminoácido 848 (p. ej., D848N) <sup>73</sup>
Posición de aminoácido 855 (p. ej., G855R) <sup>11</sup>
Posición del aminoácido 859 (p. ej., T859R) <sup>5,7</sup>
Posición de aminoácido 865 (p. ej., A865V) <sup>27</sup>
Posición de aminoácido 866 (p. ej., S866A) <sup>57</sup>
Posición del aminoácido 868 (p. ej., V868D) <sup>73</sup>

(Continuación)

Posición de aminoácido 869 (p. ej., Q869P) <sup>73</sup>
Posición de aminoácido 875 (p. ej., Q875X) <sup>73</sup>
Posición del aminoácido 877 (p. ej., G877R) <sup>56</sup>
Posición de aminoácido 879 (p. ej., I879R) <sup>88</sup>
Posición del aminoácido 893 (p. ej., A893V) <sup>57</sup>
Posición de aminoácido 901 (p. ej., S901R <sup>17</sup> , S901I <sup>73</sup> )
Posición de aminoácido 903 (p. ej., V903G) <sup>57</sup>
ΔPosición de aminoácido 919 <sup>12</sup>
Posición de aminoácido 923 (p. ej., T923P) <sup>2,7</sup>
Posición de aminoácido 926 (p. ej., A926P) <sup>2,7</sup>
Posición de aminoácido 928 (p. ej., R928X <sup>15</sup> , R928Q <sup>40</sup> )
Posición de aminoácido 930 (p. ej., K930X <sup>5</sup> , K930Efs * 79 <sup>5,10</sup> , K930Efs * 49 <sup>26</sup> )
Posición de aminoácido 931 (p. ej., Q931P) <sup>27</sup>
Posición de aminoácido 945 (p. ej., S945N) <sup>57</sup>
Posición de aminoácido 948 (p. ej., R948C) <sup>5,7,26</sup>
Posición de aminoácido 958 (p. ej., R958Q) <sup>28</sup>
Posición de aminoácido 969 (p. ej., K969K) <sup>88</sup>
ΔPosiciones de aminoácidos 969-972 <sup>5</sup>
Posición de aminoácido 973 (p. ej., T973I) <sup>57</sup>
Posición de aminoácido 976 (p. ej., Q976R <sup>58</sup> , Q976X <sup>88</sup> )
Posición del aminoácido 979 (p. ej., N979D) <sup>5,7</sup>
Posición de aminoácido 981 (p. ej., Y981Y) <sup>28</sup>
Posición de aminoácido 982 (p. ej., G982R) <sup>2,5,7</sup>
Posiciones de aminoácidos 444 y 982 (p. ej., V444A+G982R) <sup>38</sup>
Posición de aminoácido 995 (p. ej., A995A) <sup>28</sup>
Posición de aminoácido 1001 (p. ej., R1001R) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 1003 (p. ej., G1003R) <sup>24</sup>
Posición del aminoácido 1004 (p. ej., G1004D) <sup>2,7</sup>
Posición del aminoácido 1027 (p. ej., S1027R) <sup>26</sup>
Posición de aminoácido 1028 (p. ej., A1028A <sup>7,10,88</sup> , A1028E <sup>88</sup> )
Posición de aminoácido 1029 (p. ej., T1029K) <sup>5</sup>
Posición de aminoácido 1032 (p. ej., G1032R) <sup>12</sup>
Posición del aminoácido 1041 (p. ej., Y1041X) <sup>9</sup>
Posición del aminoácido 1044 (p. ej., A1044P) <sup>88</sup>
Posición de aminoácido 1050 (p. ej., R1050C) <sup>2,7,57</sup>
Posición del aminoácido 1053 (p. ej., Q1053X) <sup>57</sup>
Posición del aminoácido 1055 (p. ej., L1055P) <sup>36</sup>
Posición de aminoácido 1057 (p. ej., R1057X <sup>2</sup> , R1057Q <sup>58</sup> )
Posición de aminoácido 1058 (p. ej., Q1058Hfs * 38 <sup>9</sup> , Q1058fs * 38 <sup>17</sup> , Q1058X <sup>73</sup> )
Posición del aminoácido 1061 (p. ej., I1061Vfs * 34) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 1083 (p. ej., C1083Y) <sup>47</sup>
Posición de aminoácido 1086 (p. ej., T1086T) <sup>28</sup>
Posición del aminoácido 1090 (p. ej., R1090X) <sup>2,5</sup>
Posición del aminoácido 1099 (p. ej., L1099Lfs * 38) <sup>26</sup>
Posición de aminoácido 1100 (p. ej., S1100Qfs * 38) <sup>13</sup>
Posición del aminoácido 1110 (p. ej., A1110E) <sup>5,7</sup>
Posición del aminoácido 1112 (p. ej., V1112F) <sup>70</sup>
Posición de aminoácido 1116 (p. ej., G1116R <sup>7</sup> , G1116F <sup>9,17</sup> , G1116E <sup>36</sup> )
Posición del aminoácido 1120 (p. ej., S1120N) <sup>88</sup>
Posición de aminoácido 1128 (p. ej., R1128H <sup>2,7</sup> , R1128C <sup>5,7,13</sup> )
Posición de aminoácido 1131 (p. ej., D1131V) <sup>27</sup>
Posición del aminoácido 1144 (p. ej., S1144R) <sup>7</sup>
Posición del aminoácido 1147 (p. ej., V1147X) <sup>5</sup>
Posición de aminoácido 1153 (p. ej., R1153C <sup>2,5,7</sup> , R1153H <sup>5</sup> )
Posición del aminoácido 1154 (p. ej., S1154P) <sup>5,7</sup>
Posición del aminoácido 1162 (p. ej., E1162X) <sup>39</sup>
ΔPosición de aminoácido 1165 <sup>88</sup>
Posición del aminoácido 1164 (p. ej., V1164Gfs * 7)
Posición del aminoácido 1173 (p. ej., N1173D) <sup>57</sup>

(Continuación)

Posición del aminoácido 1175 (p. ej., K1175T) <sup>58</sup>
Posición del aminoácido 1186 (p. ej., E1186K) <sup>7</sup>
Posición del aminoácido 1192 (p. ej., A1192Efs * 50) <sup>9</sup>
Posición del aminoácido 1196 (p. ej., Q1196X) <sup>88</sup>
Posición de aminoácido 1197 (p. ej., L1197G) <sup>7</sup>
Posición del aminoácido 1198 (p. ej., H1198R) <sup>27</sup>
Posición del aminoácido 1204 (p. ej., L1204P)]
Posición del aminoácido 1208 (p. ej., Y1208C) <sup>73</sup>
Posición de aminoácido 1210 (p. ej., T1210P <sup>5,7</sup> , T1210F <sup>57</sup> )
Posición del aminoácido 1211 (p. ej., N1211D) <sup>7</sup>
Posición del aminoácido 1212 (p. ej., V1212F) <sup>36</sup>
Posición de aminoácido 1215 (p. ej., Q1215X) <sup>5</sup>
Posición del aminoácido 1221 (p. ej., R1221K) <sup>53</sup>
Posición del aminoácido 1223 (p. ej., E1223D) <sup>7</sup>
Posición del aminoácido 1226 (p. ej., R1226P) <sup>73</sup>
Posición de aminoácido 1228 (p. ej., A1228V) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 1231 (p. ej., R1231W <sup>5,7</sup> , R1231Q <sup>5,7</sup> )
Posición del aminoácido 1232 (p. ej., A1232D) <sup>17</sup>
Posición del aminoácido 1235 (p. ej., R1235X) <sup>5,12</sup>
Posición del aminoácido 1242 (p. ej., L1242I) <sup>5,7</sup>
Posición del aminoácido 1243 (p. ej., D1243G) <sup>67</sup>
Posición del aminoácido 1249 (p. ej., L1249X) <sup>73</sup>
Posición del aminoácido 1256 (p. ej., T1256fs * 1296) <sup>83</sup>
Posición del aminoácido 1268 (p. ej., R1268Q) <sup>2,7</sup>
Posición de aminoácido 1276 (p. ej., R1276H) <sup>30</sup>
Posición de aminoácido 1283 (p. ej., A1283A <sup>28</sup> , A1283V <sup>88</sup> )
Posición del aminoácido 1292 (p. ej., G1292V) <sup>73</sup>
Posición de aminoácido 1298 (p. ej., G1298R) <sup>5</sup>
Posición del aminoácido 1302 (p. ej., E1302X) <sup>5</sup>
Posición del aminoácido 1311 (p. ej., Y1311X) <sup>57</sup>
Posición del aminoácido 1316 (p. ej., T1316Lfs * 64) <sup>15</sup>
Posición del aminoácido 1321 (p. ej., S1321N) <sup>57</sup>
Intrón 4 ((+3)A>C) <sup>1</sup>
IVS4-74A>T <sup>89</sup>
Mutación del sitio de empalme 3' Intrón 5 c.3901G>A <sup>5</sup>
mutación del sitio de empalme 5; Intrón 7 c.6111G>A <sup>5</sup>
Mutación del sitio de empalme IVS7+1G>A <sup>14</sup>
IVS7+5G>A <sup>40</sup>
IVS8+1G>C <sup>76</sup>
Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 9 c.9081delG <sup>5</sup>
Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 9 c.9081G>T <sup>5</sup>
Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 9 c.9081G>A <sup>5</sup>
Mutación del sitio de empalme IVS9+1G>T <sup>14</sup>
Mutación del sitio de empalme 3' Intrón 13 c.143513_1435-8del <sup>5</sup>
Mutación del sitio de empalme IVS13del-13^8 <sup>14</sup>
Mutación del sitio de empalme 3' Intrón 16 c.20128T>G <sup>5</sup>
Mutación del sitio de empalme IVS16-8T>G <sup>14</sup>
Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 18 c.21781G>T <sup>5</sup>
Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 18 c.21781G>A <sup>5</sup>
Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 18 c.21781G>C <sup>5</sup>
Mutación del sitio de empalme 3' Intrón 18 c.21792A>G <sup>5</sup>
Mutación del sitio de empalme IVS18+1G>A <sup>14</sup>
Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 19 c.2343+1G>T <sup>5</sup>
Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 19 c.2343+2T>C <sup>5</sup>
Mutación del sitio de empalme IVS19+2T>C <sup>14</sup>
Mutación del sitio de empalme IVS19+1G>A <sup>22</sup>
Mutación del sitio de empalme 3' Intrón 21 c.26112A>T <sup>5</sup>
IVS22+3A>G <sup>89</sup>
IVS 23-8 G-A <sup>36</sup>
IVS24+5G>A <sup>51</sup>

# ES 2 937 153 T3

(Continuación)

Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 24 c.32131delG <sup>5</sup>
IVS35-6C>G89
Supuesta mutación de empalme 1198-1G>C <sup>17</sup>
Supuesta mutación de empalme 1810-3C>G <sup>17</sup>
Supuesta mutación de empalme 2178+1G>A <sup>17</sup>
Supuesta mutación de empalme 2344-1G>T <sup>17</sup>
Supuesta mutación de empalme c.2611-2A>T <sup>39</sup>
Supuesta mutación de empalme 3213+1_3213+2delinsA <sup>17</sup>
c.-24C>A <sup>44,78</sup>
c.76_13 G>T <sup>9</sup>
c.77-19T>A <sup>52</sup>
c.90_93delGAAA <sup>18</sup>
c.124G>A <sup>69</sup>
c.150 +3 A>C <sup>10</sup>
174C>T <sup>54</sup>
c.245T>C <sup>87</sup>
c.249_250insT <sup>18</sup>
270T>C <sup>54</sup>
402C>T <sup>54</sup>
585G>C <sup>54</sup>
c.611+1G>A <sup>70</sup>
c.611+4A>G <sup>36</sup>
c.612-15_-6del10bp <sup>55</sup>
c.625A>C <sup>31</sup>
c.627+5G>T <sup>31</sup>
c.625A>C/ c.627+5G>T <sup>31</sup>
696G>T <sup>54</sup>
C. 784+1G>C]
807T>C <sup>54</sup>
c.886C>T <sup>31</sup>
c.890A>G <sup>59</sup>
c.908+1G>A <sup>57</sup>
c.908+5G>A <sup>55</sup>
c.908delG <sup>59</sup>
c.909-15A>G <sup>66</sup>
957A>G <sup>54</sup>
c.1084-2A>G <sup>57</sup>
1145 1bp eliminación <sup>90</sup>
1281C>T <sup>54,57</sup>
c.1309-165C > T <sup>19</sup>
c.1434 + 174G > A <sup>19</sup>
c.1434 + 70C > T <sup>19</sup>
c.1530C>A <sup>57</sup>
c.1587-1589delCTT <sup>31</sup>
c.1621A>C <sup>33,59</sup>
c.1638+32T>C <sup>66</sup>
c.1638+80C>T <sup>66</sup>
1671C>T <sup>54</sup>
1791G>T <sup>54</sup>
1939delA <sup>14</sup>
c.2075+3A>G <sup>53</sup>
c.2081T>A <sup>31</sup>
c.2093G>A <sup>65</sup>
2098delA <sup>16</sup>
c.2138-8T>G <sup>67</sup>
2142A>G <sup>54</sup>
c.2178+1G>T <sup>36,39</sup>
c.2179-17C>A <sup>66</sup>
c.2344-157T>G <sup>66</sup>
c.2344-17T>C <sup>66</sup>

(Continuación)

c.2417G>A <sup>78</sup>
c.2541delG <sup>87</sup>
c.2620C>T <sup>32,33</sup>
c.2815-8A>G <sup>55</sup>
c.3003A>G <sup>37</sup>
c.3084A>G <sup>48,54</sup>
c.3213 +4 A>G <sup>9,37</sup>
c.3213 +5 G>A <sup>9</sup>
c.3268C>T <sup>75</sup>
3285A>G <sup>54</sup>
c.3382C>T <sup>75</sup>
3435A>G <sup>54</sup>
c.3491delT <sup>72</sup>
c.3589C>T <sup>57</sup>
c.3765(+1 +5)del5 <sup>42</sup>
c.3766-34A>G <sup>66</sup>
c.3767-3768insC <sup>6</sup>
c.3770delA <sup>67</sup>
c.3826C>T <sup>72</sup>
c.3846C>T <sup>57</sup>
c.3929delG <sup>67</sup>
c. * 236A>G <sup>66</sup>
1145delC <sup>8</sup>
Ex13_Ex17del <sup>82</sup>

**Tabla 5. Mutaciones ABCB11 seleccionadas asociadas con PFIC-2**

Posición de aminoácido 1 (p. ej., M1V) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 4 (p. ej., S4X) <sup>64</sup>
Posición de aminoácido 19 (p. ej., G19R) <sup>56</sup>
Posición de aminoácido 25 (p. ej., S25X) <sup>14</sup>
Posición de aminoácido 26 (p. ej., Y26lfss * 7) <sup>38</sup>
Posición de aminoácido 50 (p. ej., L50S) <sup>7,57</sup>
Posición de aminoácido 52 (p. ej., R52W) <sup>26</sup>
Posición de aminoácido 58 (p. ej., D58N) <sup>62</sup>
Posición de aminoácido 62 (p. ej., M62K) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 66 (p. ej., S66N) <sup>17</sup>
Posición de aminoácido 68 (p. ej., C68Y) <sup>41</sup>
Posición de aminoácido 93 (p. ej., Y93S) <sup>13</sup>
Posición de aminoácido 101 (p. ej., Q101Dfs * 8) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 107 (p. ej., C107R) <sup>36</sup>
Posición del aminoácido 112 (p. ej., I112T) <sup>9</sup>
Posición del aminoácido 114 (p. ej., W114R) <sup>2,9</sup>
Posición de aminoácido 129 (p. ej., C129Y) <sup>25</sup>
Posición de aminoácido 135 (p. ej., E135K <sup>13</sup> , E135L <sup>17</sup> )
Posición de aminoácido 167 (p. ej., A167V <sup>7</sup> , A167T <sup>9,17</sup> )
Posición de aminoácido 182 (p. ej., I182K) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 183 (p. ej., M183V <sup>8</sup> , M183T <sup>9</sup> )
Posición de aminoácido 225 (p. ej., T225P) <sup>57</sup>
Posición de aminoácido 226 (p. ej., S226L) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 232 (p. ej., L232Cfs * 9) <sup>9</sup>
Posición del aminoácido 233 (p. ej., L233S) <sup>86</sup>
Posición del aminoácido 238 (p. ej., G238V) <sup>2,7</sup>
Posición del aminoácido 242 (p. ej., T242I) <sup>7</sup>
Posición del aminoácido 245 (p. ej., I245Tfs * 26) <sup>57</sup>
Posición de aminoácido 256 (p. ej., A256G) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 260 (p. ej., G260D) <sup>57</sup>
Posición de aminoácido 284 (p. ej., V284L) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 297 (p. ej., E297G) <sup>2,7</sup>
Posición de aminoácido 303 (p. ej., R303K <sup>8</sup> , R303M <sup>63</sup> , R303fsX321 <sup>83</sup> )
Posición del aminoácido 304 (p. ej., Y304X) <sup>26</sup>

(Continuación)

Posición de aminoácido 312 (p. ej., Q312H) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 313 (p. ej., R313S) <sup>7</sup>
Posición del aminoácido 314 (p. ej., W314X) <sup>57</sup>
Posición de aminoácido 318 (p. ej., K318Rfs * 26) <sup>29</sup>
Posición de aminoácido 327 (p. ej., G327E) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 330 (p. ej., V330X) <sup>24</sup>
Posición del aminoácido 336 (p. ej., C336S) <sup>2,7</sup>
Posición de aminoácido 337 (p. ej., Y337H) <sup>21</sup>
Posición de aminoácido 342 (p. ej., W342G) <sup>50</sup>
Posición de aminoácido 354 (p. ej., R354X) <sup>9</sup>
Posición del aminoácido 361 (p. ej., Q361X) <sup>57</sup>
Posición del aminoácido 366 (p. ej., V366D) <sup>57</sup>
Posición de aminoácido 386 (p. ej., G386X) <sup>34</sup>
ΔPosiciones de aminoácidos 383-389 <sup>57</sup>
Posición de aminoácido 387 (p. ej., R387H) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 390 (p. ej., A390P) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 410 (p. ej., G410D) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 413 (p. ej., L413W) <sup>7</sup>
Posición del aminoácido 415 (p. ej., R415X) <sup>42</sup>
Posición de aminoácido 420 (p. ej., I420T) <sup>9</sup>
Posición del aminoácido 454 (p. ej., V454X) <sup>49</sup>
Posición de aminoácido 455 (p. ej., G455E) <sup>9</sup>
Posición del aminoácido 461 (p. ej., K461E) <sup>2,7</sup>
Posición de aminoácido 463 (p. ej., T463I) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 466 (p. ej., Q466K) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 470 (p. ej., R470Q <sup>7</sup> , R470X <sup>9</sup> )
Posición de aminoácido 472 (p. ej., Y472X <sup>14</sup> , Y472C <sup>27</sup> )
Posición de aminoácido 475 (p. ej., C475X) <sup>29</sup>
Posición de aminoácido 481 (p. ej., V481E) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 482 (p. ej., D482G) <sup>2,7</sup>
Posición de aminoácido 484 (p. ej., H484Rfs * 5) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 487 (p. ej., R487H <sup>2</sup> , R487P <sup>84</sup> )
Posición de aminoácido 490 (p. ej., N490D) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 493 (p. ej., W493X) <sup>8</sup>
Posición de aminoácido 498 (p. ej., I498T) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 501 (p. ej., V501G) <sup>68</sup>
Posición de aminoácido 512 (p. ej., I512T) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 515 (p. ej., N515T <sup>7</sup> , N515D <sup>64</sup> )
Posición de aminoácido 516 (p. ej., I516M) <sup>17</sup>
Posición de aminoácido 517 (p. ej., R517H) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 520 (p. ej., R520X) <sup>57</sup>
Posición de aminoácido 523 (p. ej., A523G) <sup>13</sup>
Posición de aminoácido 528 (p. ej., I528X) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 540 (p. ej., F540L) <sup>46</sup>
Posición de aminoácido 541 (p. ej., I541L <sup>7</sup> , I541T <sup>17</sup> )
Posición de aminoácido 548 (p. ej., F548Y) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 549 (p. ej., D549V) <sup>9</sup>
Posición del aminoácido 554 (p. ej., E554K) <sup>21</sup>
Posición del aminoácido 559 (p. ej., M559T) <sup>57</sup>
Posición de aminoácido 562 (p. ej., G562D) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 570 (p. ej., A570T <sup>7</sup> , A570V <sup>26</sup> )
Posición de aminoácido 575 (p. ej., R575X <sup>2</sup> , R575Q <sup>21</sup> )
Posición de aminoácido 588 (p. ej., A588V) <sup>7</sup>
Posición del aminoácido 591 (p. ej., N591S) <sup>9,17</sup>
Posición del aminoácido 593 (p. ej., S593R) <sup>2,7</sup>
Posición de aminoácido 597 (p. ej., V597V <sup>9</sup> , V597L <sup>13</sup> )
Posiciones de aminoácidos 591 y 597 (p. ej., N591S+V597V) <sup>9</sup>
Posición del aminoácido 603 (p. ej., K603K) <sup>55</sup>
Posición de aminoácido 609 (p. ej., H609Hfs * 46) <sup>26</sup>
Posición de aminoácido 610 (p. ej., I610Gfs * 45) <sup>9</sup>

(Continuación)

Posición de aminoácido 615 (p. ej., H615R) <sup>26</sup>
Posición del aminoácido 625 (p. ej., T625Nfs * 5) <sup>26</sup>
Posición de aminoácido 627 (p. ej., I627T) <sup>7</sup>
Posición del aminoácido 636 (p. ej., E636G) <sup>2</sup>
Posición del aminoácido 669 (p. ej., I669V) <sup>26</sup>
Posición de aminoácido 698 (p. ej., R609H) <sup>9</sup>
Posiciones de aminoácidos 112 y 698 (p. ej., I112T+R698H) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 699 (p. ej., S699P) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 766 (p. ej., G766R) <sup>24</sup>
Posición de aminoácido 806 (p. ej., G806G) <sup>55</sup>
Posición de aminoácido 824 (p. ej., G824E) <sup>42</sup>
Posición de aminoácido 832 (p. ej., R832C <sup>7,26</sup> , R832H <sup>41</sup> )
Posición de aminoácido 842 (p. ej., D842G) <sup>2</sup>
Posición de aminoácido 859 (p. ej., T859R) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 865 (p. ej., A865V) <sup>45</sup>
Posición del aminoácido 877 (p. ej., G877R) <sup>56</sup>
Posición del aminoácido 893 (p. ej., A893V) <sup>57</sup>
Posición de aminoácido 901 (p. ej., S901R) <sup>17</sup>
Posición de aminoácido 903 (p. ej., V903G) <sup>57</sup>
ΔPosición de aminoácido 919 <sup>12</sup>
Posición de aminoácido 928 (p. ej., R928X) <sup>15,21</sup>
Posición de aminoácido 930 (p. ej., K930Efs * 7910, K930Efs * 49 <sup>26</sup> )
Posición de aminoácido 948 (p. ej., R948C) <sup>7,26</sup>
Posición de aminoácido 979 (p. ej., N979D) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 982 (p. ej., G982R) <sup>2,7</sup>
Posiciones de aminoácidos 444 y 982 (p. ej., V444A+G982R) <sup>38</sup>
Posición de aminoácido 1001 (p. ej., R1001R) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 1003 (p. ej., G1003R) <sup>24</sup>
Posición del aminoácido 1004 (p. ej., G1004D) <sup>2,7</sup>
Posición del aminoácido 1027 (p. ej., S1027R) <sup>26</sup>
Posición de aminoácido 1028 (p. ej., A1028A) <sup>10</sup>
Posición de aminoácido 1032 (p. ej., G1032R) <sup>12</sup>
Posición del aminoácido 1041 (p. ej., Y1041X) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 1050 (p. ej., R1050C) <sup>57</sup>
Posición del aminoácido 1053 (p. ej., Q1053X) <sup>57</sup>
Posición del aminoácido 1055 (p. ej., L1055P) <sup>36</sup>
Posición de aminoácido 1057 (p. ej., R1057X) <sup>2</sup>
Posición de aminoácido 1058 (p. ej., Q1058Hfs * 38 <sup>9</sup> , Q1058fs * 38 <sup>17</sup> )
Posición del aminoácido 1061 (p. ej., I1061Vfs * 34) <sup>9</sup>
Posición de aminoácido 1083 (p. ej., C1083Y) <sup>47</sup>
Posición de aminoácido 1090 (p. ej., R1090X) <sup>2</sup>
Posición del aminoácido 1099 (p. ej., L1099Lfs * 38) <sup>26</sup>
Posición de aminoácido 1100 (p. ej., S1100Qfs * 38) <sup>13</sup>
Posición de aminoácido 1110 (p. ej., A1110E) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 1116 (p. ej., G1116R <sup>7</sup> , G1116F <sup>9,17</sup> , G1116E <sup>36</sup> )
Posición del aminoácido 1128 (p. ej., R1128C) <sup>7,13</sup>
Posición de aminoácido 1131 (p. ej., D1131V) <sup>27</sup>
Posición del aminoácido 1144 (p. ej., S1144R) <sup>7</sup>
Posición de aminoácido 1153 (p. ej., R1153C <sup>2,7</sup> , R1153H <sup>7,26</sup> )
Posición del aminoácido 1154 (p. ej., S1154P) <sup>7</sup>
Posición del aminoácido 1173 (p. ej., N1173D) <sup>57</sup>
Posición del aminoácido 1192 (p. ej., A1192Efs * 50) <sup>9</sup>
Posición del aminoácido 1198 (p. ej., H1198R) <sup>27</sup>
Posición de aminoácido 1210 (p. ej., T1210P7, T1210F <sup>57</sup> )
Posición del aminoácido 1211 (p. ej., N1211D) <sup>7</sup>
Posición del aminoácido 1212 (p. ej., V1212F) <sup>36</sup>
Posición de aminoácido 1231 (p. ej., R1231W <sup>7</sup> , R1223Q <sup>7</sup> )
Posición del aminoácido 1232 (p. ej., A1232D) <sup>17</sup>
Posición de aminoácido 1235 (p. ej., R1235X) <sup>12</sup>
Posición del aminoácido 1242 (p. ej., L1242I) <sup>7</sup>

(Continuación)

Posición del aminoácido 1256 (p. ej., T1256fs * 1296) <sup>83</sup>
Posición del aminoácido 1268 (p. ej., R1268Q) <sup>2,7</sup>
Posición del aminoácido 1302 (p. ej., E1302X) <sup>57</sup>
Posición del aminoácido 1311 (p. ej., Y1311X) <sup>57</sup>
Posición del aminoácido 1316 (p. ej., T1316Lfs * 64) <sup>15</sup>
Intrón 4 ((+3)A>C) <sup>1</sup>
Mutación del sitio de empalme IVS7+1G>A <sup>14</sup>
IVS8+1G>C <sup>76</sup>
Mutación del sitio de empalme IVS9+1G>T <sup>14</sup>
Mutación del sitio de empalme IVS13del-13^-8 <sup>14</sup>
Mutación del sitio de empalme IVS16-8T>G <sup>14</sup>
Mutación del sitio de empalme IVS18+1G>A <sup>14</sup>
Mutación del sitio de empalme IVS19+2T>C <sup>14</sup>
IVS 23-8 G-A <sup>36</sup>
IVS24+5G>A <sup>51</sup>
Supuesta mutación de empalme 1198-1G>C <sup>17</sup>
Supuesta mutación de empalme 1810-3C>G17
Supuesta mutación de empalme 2178+1G>A <sup>17</sup>
Supuesta mutación de empalme 2344-1G>T <sup>17</sup>
Supuesta mutación de empalme 3213+1 3213+2delinsA <sup>17</sup>
c.-24C>A <sup>78</sup>
c.76 13 G>T <sup>9</sup>
c.77-19T>A <sup>52</sup>
c.90_93delGAAA <sup>18</sup>
c.124G>A <sup>69</sup>
c.150 +3 A>C <sup>10</sup>
c.249_250insT <sup>18</sup>
c.611+1G>A <sup>84</sup>
c.611+4A>G <sup>36</sup>
c.612-15 _6del10bp <sup>55</sup>
c.625A>C <sup>31</sup>
c.627+5G>T <sup>31</sup>
c.625A>C/ c.627+5G>T <sup>31</sup>
c.886C>T <sup>31</sup>
c.890A>G <sup>59</sup>
c.908+1G>A <sup>57</sup>
c.908+5G>A <sup>55</sup>
c.908delG <sup>59</sup>
1273 1bp eliminación <sup>91</sup>
c.1084-2A>G <sup>57</sup>
c.1445A>G <sup>59</sup>
c.1587-1589delCTT <sup>31</sup>
c.1621A>C <sup>59</sup>
1939delA <sup>14</sup>
c.2081T>A <sup>31</sup>
2098delA <sup>16</sup>
c.2343+1 G>T <sup>80</sup>
c.2178+1G>T <sup>36</sup>
c.2417G>A <sup>78</sup>
c.2620C>T <sup>32</sup>
c.2815-8A>G <sup>55</sup>
c.3003A>G <sup>37</sup>
c.3213 +4 A>G <sup>9,37</sup>
c.3213 +5 G>A <sup>9</sup>
c.3268C>T <sup>75</sup>
c.3382C>T <sup>75</sup>
c.3765(+1 +5)del5 <sup>42</sup>
c.3767-3768insC <sup>6</sup>
1145delC <sup>8</sup>
Ex13_Ex17del <sup>82</sup>

(Continuación)

<sup>A</sup> Una mutación a 'X' denota un codón de parada temprano

5

*Referencias para las tablas 4 y 5*

**[0056]**

- 10           <sup>1</sup> Noe et al., J Hepatol. 2005, vol. 43(3), pág. 536-543.  
<sup>2</sup> Lam y col., Am J Physiol Cell Physiol. 2007, vol. 293(5), pág. C1709-16.  
<sup>3</sup> Stindt y col., Liver Int. 2013, vol. 33(10), pág. 1527-1735.  
<sup>4</sup> Gao et al., Shandong Yiyao 2012, vol. 52(10), pág. 14-16.  
<sup>5</sup> Strautnieks et al., Gastroenterology. 2008, vol. 134(4), pág. 1203-1214.  
<sup>6</sup> Kagawa et al., Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2008, vol. 294(1), pág. G58-67.  
<sup>7</sup> Byrne et al., Hepatology. 2009, vol. 49(2), pág. 553-567.  
<sup>8</sup> Chen y col., J Pediatr. 2008, vol. 153(6), pág. 825-832.  
<sup>9</sup> Davit-Spraul et al., Hepatology 2010, vol. 51(5), pág. 1645-1655.  
<sup>10</sup> Dröge et al., Sci Rep. 2016, vol. 6: 24827.  
<sup>11</sup> Lang y col., Pharmacogenet Genomics. 2007, vol. 17(1), pág. 47-60.  
<sup>12</sup> Ellinger et al., World J Gastroenterol. 2017, vol. 23(29), pág. :5295-5303.  
<sup>13</sup> Vitale et al., J Gastroenterol. 2018, vol. 53(8), pág. 945-958.  
<sup>14</sup> Knisely y col., Hepatology. 2006, vol. 44(2), pág. 478-86.  
<sup>15</sup> Ellis et al., Hepatology. 2018, vol. 67(4), pág. 1531-1545.  
<sup>16</sup> Lam y col., J Hepatol. 2006, vol. 44(1), pág. 240-242.  
<sup>17</sup> Varma et al., Hepatology 2015, vol. 62(1), pág. 198-206.  
<sup>18</sup> Treepongkaruna et al., World J Gastroenterol. 2009, vol. 15(34), pág. 4339-4342.  
<sup>19</sup> Zarenezhad et al., Hepatitis Monthly: 2017, vol. 17(2); e43500.  
<sup>20</sup> Hayashi y col., Hepatol Res. 2016, vol. 46(2), pág. 192-200.  
<sup>21</sup> Guorui et al., Linchuang Erke Zazhi 2013, vol. 31(10), 905-909.  
<sup>22</sup> van Mil et al., Gastroenterology. 2004, vol. 127(2), pág. 379-384.  
<sup>23</sup> Anzivino y col., Dig Liver Dis. 2013, vol. 45(3), pág. 226-232.  
<sup>24</sup> Park et al., World J Gastroenterol. 2016, vol. 22(20), pág. 4901-4907.  
<sup>25</sup> Imagawa y otros, J Hum Genet. 2018, vol. 63(5), pág. 569-577.  
<sup>26</sup> Giovannoni y otros, PLoS One. 2015, vol. 10(12): e0145021.  
<sup>27</sup> Hu et al., Mol Med Rep. 2014, vol. 10(3), pág. 1264-1274.  
<sup>28</sup> Lang et al. Drug Metab Dispos. 2006, vol. 34(9), pág. 1582-1599.  
<sup>29</sup> Masahata y col., Transplant Proc. 2016, vol. 48(9), pág. 3156-3162.  
<sup>30</sup> Holz y col., Hepatol Commun. 2018, vol. 2(2), pág. 152-154.  
<sup>31</sup> Li et al., Hepatology International 2017, vol. 11, No. 1, Supl. Suplemento 1, págs. S180. Resumen Número: OP284. 32 Francalanci et al., Laboratory Investigation 2011, vol. 91, suplemento sup. 1, págs. 360A. Resumen Número: 1526.  
<sup>32</sup> Francalanci et al., Digestive and Liver Disease 2010, vol. 42, suplemento sup. 1, págs. S16. Número abstracto: TN5.  
<sup>33</sup> Shah y col., J Pediatr Genet. 2017, vol. 6(2), pág. 126-127.  
<sup>34</sup> Gao et al., Hepatitis Monthly 2017, vol. 17(10), e55087/1-e55087/6.  
<sup>35</sup> Evason y col., Am J Surg Pathol. 2011, vol. 35(5), pág. 687-696.  
<sup>36</sup> Davit-Spraul y col., Mol Genet Metab. 2014, vol. 113(3), pág. 225-229.  
<sup>37</sup> Maggiore et al., J Hepatol. 2010, vol. 53(5), pág. 981-6.  
<sup>38</sup> McKay et al., Versión 2. F1000Res. 2013; 2: 32. DOI: 10.12688/f1000research.2-32.v2  
<sup>39</sup> Liu et al., Pediatr Int. 2013, vol. 55(2), pág. 138-144.  
<sup>40</sup> Waisbourd-Zinman y otros, Ann Hepatol. 2017, vol. 16(3), pág. 465-468.  
<sup>41</sup> Griffin, et al., Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology 2016, vol. 2016. Número de resumen: A200. Información de la reunión: Semana Canadiense de Enfermedades Digestivas 2016, CDDW 2016. Montreal, QC, Estados Unidos. 26 de febrero de 2016-29 de febrero de 2016  
<sup>42</sup> Qiu et al., Hepatology 2017, vol. 65(5), pág. 1655-1669.  
<sup>43</sup> Imagawa et al., Sci Rep. 2017, 7:41806.  
<sup>44</sup> Kang y col., J. Pathol Transl Med. 16 de mayo de 2019. doi: 10.4132/jptm.2019.05.03.[Epub antes de la impresión]  
<sup>45</sup> Takahashi et al., Eur J Gastroenterol Hepatol. 2007, vol. 19(11), pág. 942-6.  
<sup>46</sup> Shimizu y col., Am J Transplant. 2011, vol. 11(2), pág. 394-398.  
<sup>47</sup> Krawczyk y otros, Ann Hepatol. 2012, vol. 11(5), pág. 710-744.  
<sup>48</sup> Sharma et al., BMC Gastroenterol. 2018, vol. 18(1), pág. 107.  
<sup>49</sup> Sattler et al., Journal of Hepatology 2017, vol. 66, No. 1, Supl. S, págs. S177. Información de la reunión: Congreso Internacional del Hígado / 52<sup>a</sup> Reunión Anual de la Asociación Europea para el Estudio del Hígado. Amsterdam, Holanda. 19 -23 de abril de 2017. European Assoc Study Liver.

- <sup>51</sup> Jung y col., *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007, vol. 44(4), pág. 453-458.
- <sup>52</sup> tijeras. *Enfermedades digestivas y hepáticas* 2010, vol. 42, supl. SUPL. 5, págs. S329. Número abstracto: CO18. Información de la reunión: XVII Congreso Nacional SIGENP. Pescara, Italia. 07 de octubre de 2010-09 de octubre de 2010
- <sup>53</sup> Sohn et al., *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr.* 2019, vol. 22(2), pág. 201-206.
- <sup>54</sup> Ho et al., *Pharmacogenet Genomics.* 2010, vol. 20(1), pág. 45-57.
- <sup>55</sup> Wang y col., *Hepatol Res.* 2018, vol. 48(7), pág. 574-584.
- <sup>56</sup> Shaprio et al., *J Hum Genet.* 2010, vol. 55(5), pág. 308-313.
- <sup>57</sup> Bounford. Universidad de Birmingham. Resúmenes de tesis internacionales, (2016) vol. 75, N° 1C. Número de pedido: AAI10588329. Disertaciones y tesis de ProQuest.
- <sup>58</sup> Stoltz y col., *Aliment Pharmacol Ther.* 2019, vol. 49(9), pág. 1195-1204.
- <sup>59</sup> Jankowska et al., *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014, vol. 58(1), pág. 92-95.
- <sup>60</sup> Kim. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2016, vol. 62, supl. SUPL. 1, pp. 620. Resumen Número: HP-045. Información de la reunión: 49.<sup>a</sup> reunión anual de la Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica, ESPGHAN 2016. Atenas, Grecia. 25 de mayo de 2016-28 de mayo de 2016.
- <sup>61</sup> Pauli-Magnus et al., *Hepatology* 2003, vol. 38, No. 4 Supl. 1, págs. 518A. imprimir. Información de la reunión: 54.<sup>a</sup> reunión anual de la Asociación Estadounidense para el Estudio de las Enfermedades Hepáticas. Boston, MA, Estados Unidos. 24 al 28 de octubre de 2003. Asociación Estadounidense para el Estudio de Enfermedades del Hígado.
- <sup>62</sup> Li y col., *Hepatology International* 2017, vol. 11, No. 1, Supl. Suplemento 1, págs. S362. Resumen Número: PP0347. Información de la reunión: 26.<sup>a</sup> Conferencia Anual de la Asociación del Pacífico Asiático para el Estudio del Hígado, APASL 2017. Shanghái, China. 15 de febrero de 2017-19 de febrero de 2017.
- <sup>63</sup> Rumbo et al., *Transplantation* 2018, vol. 102, núm. 7, suplemento. Suplemento 1, págs. S848. Número de Resumen: P.752. Información de la reunión: 27<sup>o</sup> Congreso Internacional de The Transplantation Society, TTS 2018. Madrid, España. 30 de junio de 2018-05 de julio de 2018.
- <sup>64</sup> Lee et al., *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr.* 2017, vol. 20(2), pág. 114-123.
- <sup>65</sup> Sherrif et al., *Liver international: official journal of the International Association for the Study of the Liver* 2013, vol. 33, núm. 8, págs. 1266-1270.
- <sup>66</sup> Blackmore y col., *J Clin Exp Hepatol.* 2013, vol. 3(2), pág. 159-161.
- <sup>67</sup> Matte y col., *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010, vol. 51(4), pág. 488-493.
- <sup>68</sup> Lin y otros, *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi.* 2018, vol. 20(9), pág. 758-764.
- <sup>69</sup> Harmancı et al., *Experimental and Clinical Transplantation* 2015, vol. 13, suplemento SUPL. 2, pp. 76. Resumen Número: P62. Información de la reunión: 1er Congreso de la Sociedad Mundial de Trasplantes de Turkic. Astaná, Kazajstán. 20 de mayo de 2015-22 de mayo de 2015.
- <sup>70</sup> Herbst et al., *Mol Cell Probes.* 2015, vol. 29(5), pág. 291-298.
- <sup>71</sup> Moghadamrad et al., *Hepatology.* 2013, vol. 57(6), pág. 2539-2541.
- <sup>72</sup> Holz et al., *Zeitschrift für Gastroenterologie* 2016, vol. 54, No. 8. Número de resumen: KV275. Información de la reunión: 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.
- <sup>73</sup> Wang et al., *PLoS One.* 2016; vol. 11(4): e0153114.
- <sup>74</sup> Hao et al., *International Journal of Clinical and Experimental Pathology* 2017, vol. 10(3), pág. 3480-3487.
- <sup>75</sup> Arnell y col., *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010, vol. 51(4), pág. 494-499.
- <sup>76</sup> Sharma et al., *Indian Journal of Gastroenterology* 2017, vol. 36, No. 1, Suplemento. Suplemento 1, págs. A99. Resumen Número: M-20. Información de la reunión: 58.<sup>a</sup> Conferencia Anual de la Sociedad India de Gastroenterología, ISGCON 2017. Bhubaneswar, India. 14 de diciembre de 2017-17 de diciembre de 2017.
- <sup>77</sup> Beausejour et al., *Can J Gastroenterol.* 2011, vol. 25(6), pág. 311-314.
- <sup>78</sup> Imagawa et al., *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2016, vol. 63, Supl. Suplemento 2, págs. S51. Número de resumen: 166. Información de la reunión: Congreso Mundial de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica 2016. Montreal, QC, Canadá. 5 de octubre de 2016-8 de octubre de 2016.
- <sup>79</sup> Peng et al., *Zhonghua er ke za zhi (revista china de pediatría)* 2018, vol. 56, núm. 6, págs. 440-444.
- <sup>80</sup> Tibesar et al., *Caso Rep Pediatr.* 2014, vol. 2014: 185923.
- <sup>81</sup> Ng et al., *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2018, vol. 66, suplemento SuplementO<sub>2</sub>, págs. 860. Número de resumen: HP-127. Información de la reunión: 51.a reunión anual de la Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica, ESPGHAN 2018. Ginebra, Suiza. 9 de mayo de 2018-12 de mayo de 2018.
- <sup>82</sup> Wong et al., *Clin Chem.* 2008, vol. 54(7), pág. 1141-1148.
- <sup>83</sup> Pauli-Magnus y col., *J Hepatol.* 2005, vol. 43(2), pág. 342-357.
- <sup>84</sup> Jericho et al., *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition.* 60, vol. 3, pág. 368-374.
- <sup>85</sup> Scheimann et al., *Gastroenterología* 2007, vol. 132, No. 4, Suplemento. 2, págs. A452. Información de la reunión: Reunión de la Semana de las Enfermedades Digestivas/108.<sup>a</sup> Reunión Anual de la Asociación Estadounidense de Gastroenterología. Washington, D.C., Estados Unidos. 19 al 24 de mayo de 2007. Amer Gastroenterol Assoc; Amer Assoc Study Enfermedad hepática; Amer Soc Endoscopia Gastrointestinal; Soc Surg Tracto Alimentario.
- <sup>86</sup> Jaquotot-Haerranz et al., *Rev Esp Enferm Dig.* 2013, vol. 105(1), pág. 52-54.

<sup>87</sup> Khosla et al., American Journal of Gastroenterology 2015, vol. 110, No. Supl. 1, págs. S397. Información de la reunión: 80.<sup>a</sup> reunión científica anual del American-College-of-Gastroenterology. Honolulu, Hola, Estados Unidos. 16 -21 de octubre de 2015.

<sup>88</sup> Dröge et al., J Hepatol. 2017, vol. 67(6), pág. 1253-1264.

5 <sup>89</sup> Liu et al., Liver International 2010, vol. 30(6), pág. 809-815.

<sup>90</sup> Chen et al., Journal of Pediatrics 2002, vol. 140(1), pág. 119-124.

<sup>91</sup> Patente de EE. UU. Nº 9.295.677

10 [0057] En algunas formas de realización, la mutación en ABCB11 se selecciona de A167T, G238V, V284L, E297G, R470Q, R470X, D482G, R487H, A570T, N591S, A865V, G982R, R1153C y R1268Q.

15 [0058] Se proporcionan métodos para tratar PFIC (por ejemplo, PFIC-1 y PFIC-2) en un sujeto que incluye realizar un ensayo en una muestra obtenida del sujeto para determinar si el sujeto tiene una mutación asociada con PFIC (por ejemplo, un mutación ATP8B1, ABCB11, ABCB4, TJP2, NR1H4 o Myo5b), y administrar (p. ej., administrar de manera específica o selectiva) una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, al sujeto que se determina que tiene una mutación asociada con PFIC. En algunas formas de realización, la mutación es un ATP8B1 o mutación ABCB11. Por ejemplo, una mutación como se proporciona en cualquiera de las Tablas 1-4. En algunas formas de realización, la mutación en ATP8B1 se selecciona de L127P, G308V, T456M, D554N, F529del, I661T, E665X, R930X, R952X, R1014X y G1040R. En algunas formas de realización, la mutación en ABCB11 se selecciona de A167T, G238V, V284L, E297G, R470Q, R470X, D482G, R487H, A570T, N591S, A865V, G982R, R1153C y R1268Q.

20 [0059] También se proporcionan métodos para tratar PFIC (p. ej., PFIC-1 y PFIC-2) en un sujeto que los necesite, comprendiendo el método: (a) detectar una mutación asociada con PFIC (p. ej., ATP8B1, ABCB11, ABCB4, mutación TJP2, NR1H4 o Myo5b) en el sujeto; y (b) administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas formas de realización, los métodos para tratar PFIC pueden incluir la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, a un sujeto que tiene una mutación asociada con PFIC (p. ej., ATP8B1, ABCB11, ABCB4, mutación TJP2, NR1H4 o Myo5b). En algunas formas de realización, la mutación es una mutación ATP8B1 o ABCB11. Por ejemplo, una mutación como se proporciona en cualquiera de las Tablas 1-4. En algunas formas de realización, la mutación en ATP8B1 se selecciona de L127P, G308V, T456M, D554N, F529del, I661T, E665X, R930X, R952X, R1014X y G1040R. En algunas formas de realización, la mutación en ABCB11 se selecciona de A167T, G238V, V284L, E297G, R470Q, R470X, D482G, R487H, A570T, N591S, A865V, G982R, R1153C y R1268Q.

25 [0060] En algunas formas de realización, se determina que el sujeto tiene una mutación asociada con PFIC en un sujeto o una muestra de biopsia del sujeto mediante el uso de cualquier prueba reconocida en la técnica, incluida la secuenciación de próxima generación (NGS). En algunas formas de realización, se determina que el sujeto tiene una mutación asociada con PFIC usando una prueba o ensayo aprobado por la agencia reguladora, por ejemplo, aprobado por la FDA para identificar una mutación asociada con PFIC en un sujeto o una muestra de biopsia del sujeto o realizando 30 cualquiera de los ejemplos no limitantes de ensayos descritos en este documento. Métodos adicionales de diagnóstico de PFIC se describen en Gunaydin, M. et al., Hepat Med. 2018, vol. 10, pág. 95-104.

40 [0061] En algunas formas de realización, el tratamiento de PFIC (por ejemplo, PFIC-1 o PFIC-2) disminuye el nivel de ácidos biliares en suero en el sujeto. En algunas formas de realización, el nivel de ácidos biliares en suero se determina, por ejemplo, mediante un ensayo enzimático ELISA o los ensayos para la medición de ácidos biliares totales como se describe en Danese et al., PLoS One. 2017, vol. 12(6): e0179200.

45 [0062] En algunas formas de realización, el nivel de ácidos biliares en suero puede disminuir, por ejemplo, de 10 % a 40 %, de 20 % a 50 %, de 30 % a 60 %, de 40 % a 70 %, de 50 % a 80 %, o por más del 90 % del nivel de ácidos biliares en suero antes de la administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas formas de realización, el tratamiento de PFIC incluye el tratamiento del purito.

50 [0063] Dado que LBAT se expresa en hepatocitos, LBAT y las sustancias inhibidoras duales de ASBT/LBAT necesitan tener al menos alguna biodisponibilidad y fracción libre en sangre. Debido a que los compuestos inhibidores de LBAT solo necesitan sobrevivir desde el intestino hasta el hígado, se espera que una exposición sistémica relativamente baja de dichos compuestos sea suficiente, minimizando así el riesgo potencial de cualquier efecto secundario en el resto del cuerpo. Se espera que la inhibición de LBAT y ASBT tenga al menos efectos aditivos en la disminución de la concentración de ácidos biliares intrahepáticos. También se espera que un inhibidor dual de ASBT/LBAT pueda reducir los niveles de ácidos biliares sin inducir diarrea, como se observa a veces con los inhibidores de ASBT.

55 [0064] Se espera que los compuestos que tienen una potencia inhibidora de LBAT alta y una biodisponibilidad suficiente sean particularmente adecuados para el tratamiento de la hepatitis. Se espera que los compuestos que tienen una potencia inhibidora dual de ASBT/LBAT y una biodisponibilidad suficiente sean particularmente adecuados para el tratamiento de la esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

60 [0065] NASH es una enfermedad hepática crónica común y grave que se asemeja a la enfermedad hepática alcohólica,

pero que ocurre en personas que beben poco o nada de alcohol. En los pacientes con EHNA, la acumulación de grasa en el hígado, conocida como enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD) o esteatosis, y otros factores como el colesterol LDL alto y la resistencia a la insulina inducen una inflamación crónica en el hígado y pueden conducir a una cicatrización progresiva del tejido, conocida como fibrosis y cirrosis, seguidas finalmente por insuficiencia hepática y muerte. Se ha encontrado que los pacientes con EHNA tienen concentraciones séricas de ácidos biliares totales significativamente más altas que los sujetos sanos en ayunas (aumento de 2,2 a 2,4 veces en la EHNA) y en todos los puntos de tiempo posprandiales (aumento de 1,7 a 2,2 veces en la EHNA). Estos son impulsados por un aumento de los ácidos biliares primarios y secundarios conjugados con taurina y glicina. Los pacientes con NASH exhibieron una mayor variabilidad en su perfil de ácidos biliares en ayunas y posprandial. Estos resultados indican que los pacientes con NASH tienen una mayor exposición en ayunas y posprandial a los ácidos biliares, incluidas las especies secundarias más hidrofóbicas y citotóxicas. El aumento de la exposición a los ácidos biliares puede estar relacionado con la lesión hepática y la patogenia de NAFLD y NASH (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 NASH.

[0066] NAFLD se caracteriza por esteatosis hepática sin causas secundarias de esteatosis hepática, incluido el consumo excesivo de alcohol, otras enfermedades hepáticas conocidas o el uso a largo plazo de un medicamento esteatogénico (Chalasani et al., Hepatology 2018, vol. 67(1), págs. 328-357). NAFLD se puede clasificar en hígado graso no alcohólico (NAFL) y esteatohepatitis no alcohólica (NASH). Según Chalasani et al., NAFL se define como la presencia de esteatosis hepática ≥ 5 % sin evidencia de daño hepatocelular en forma de balonización de hepatocitos. NASH se define como la presencia de ≥ 5 % de esteatosis hepática e inflamación con lesión de los hepatocitos (p. ej., balonización), con o sin fibrosis hepática. NASH también se asocia comúnmente con inflamación hepática y fibrosis hepática, que puede progresar a cirrosis, enfermedad hepática en etapa terminal, y carcinoma hepatocelular. Si bien la fibrosis hepática no siempre está presente en NASH, la gravedad de la fibrosis, cuando está presente, puede vincularse con resultados a largo plazo.

[0067] Hay muchos enfoques utilizados para valorar y evaluar si un sujeto tiene NAFLD y, de ser así, la gravedad de la enfermedad, incluida la diferenciación si la NAFLD es NAFLD o NASH. En algunas formas de realización, la gravedad de NAFLD se puede evaluar utilizando el NAS. En algunas formas de realización, el tratamiento de NAFLD puede evaluarse utilizando el NAS. En algunas formas de realización, el NAS se puede determinar como se describe en Kleiner et al., Hepatology. 2005, 41(6):1313-1321.

[0068] Véase, por ejemplo, la Tabla 6 para un esquema NAS simplificado adaptado de Kleiner.

**Tabla 6. Ejemplo de NAFLD Activity Score (NAS) con estadio de fibrosis**

Rasgo	Grado	Puntaje
Esteatosis	<5%	0
	5-33%	1
	>33-66%	2
	>66%	3
Inflamación lobulillar	Sin focos	0
	<2 focos/200x	1
	2-4 focos/200x	2
	>4 focos/200x	3
Degeneración balonizante	Ninguno	0
	Pocos	1
	Muchas células/globos prominentes	2
Fibrosis	Ninguno	0
	Perisinusoidal o periportal	1
	Perisinusoidal y portal/periportal	2
	Fibrosis puente	3
	Cirrosis	4

[0069] En algunas formas de realización, el NAS se determina de forma no invasiva, por ejemplo, como se describe en la publicación de solicitud de EE. UU. Nº 2018/0140219.

[0070] En algunas formas de realización, el NAS se determina para una muestra del sujeto antes de la administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas formas de realización, la NAS se determina durante el período de tiempo o después del período de tiempo de administración de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. En algunas formas de realización, una puntuación NAS más baja durante el período de tiempo o después del período de tiempo de administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en comparación con antes de la administración del compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptable indica el tratamiento de NAFLD (p. ej., NASH). Por ejemplo, una disminución en el NAS por 1, por 2, por 3, por 4, por 5, por 6 o por 7 indica tratamiento de NAFLD (p. ej., NASH). En algunas formas de realización, el NAS tras la administración de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales

farmacéuticamente aceptables, es 7 o menos. En algunas formas de realización, la NAS durante el período de tiempo de administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, es 5 o menos, 4 o menos, 3 o menos, o 2 o menos. En algunas formas de realización, el NAS durante el período de tiempo de administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, es 7 o menos. En algunas formas de realización, la NAS durante el período de tiempo de administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, es 5 o menos, 4 o menos, 3 o menos, o 2 o menos. En algunas formas de realización, el NAS después del período de tiempo de administración de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, es 7 o menos. En algunas formas de realización, el NAS después del período de tiempo de administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, es 5 o menos, 4 o menos, 3 o menos, o 2 o menos.

**[0071]** Los enfoques adicionales para valorar y evaluar NASH en un sujeto incluyen determinar uno o más de esteatosis hepática (p. ej., acumulación de grasa en el hígado); inflamación hepática; biomarcadores indicativos de uno o más de daño hepático, inflamación hepática, fibrosis hepática y/o cirrosis hepática (p. ej., marcadores séricos y paneles). Otros 15 ejemplos de indicadores fisiológicos de NASH pueden incluir la morfología del hígado, la rigidez del hígado y el tamaño o el peso del hígado del sujeto.

**[0072]** En algunas formas de realización, NASH en el sujeto se evidencia por una acumulación de grasa hepática y la detección de un biomarcador indicativo de daño hepático. Por ejemplo, la ferritina sérica elevada y los títulos bajos de 20 autoanticuerpos séricos pueden ser características comunes de NASH.

**[0073]** En algunas formas de realización, los métodos para evaluar NASH incluyen imágenes de resonancia magnética, ya sea por espectroscopia o por fracción de grasa de densidad de protones (MRI-PDFF) para cuantificar esteatosis, elastografía transitoria (FIBROSCAN®), gradiente de presión venosa hepática (HPVG), medición de la rigidez con ERM 25 para diagnosticar fibrosis y/o cirrosis hepáticas significativas y evaluar las características histológicas de la biopsia hepática. En algunas formas de realización, la formación de imágenes por resonancia magnética se usa para detectar uno o más de esteatohepatitis (NASH-MRI), fibrosis hepática (Fibro-MRI) y esteatosis. Véase, por ejemplo, las publicaciones de solicitud de EE. UU. Nº 2016/146715 y 2005/0215882.

**[0074]** En algunas formas de realización, el tratamiento de NASH puede incluir una disminución de uno o más síntomas asociados con NASH; reducción en la cantidad de esteatosis hepática; una disminución en el NAS; una disminución de la inflamación hepática; una disminución en el nivel de biomarcadores indicativos de uno o más de daño hepático, inflamación, fibrosis hepática y/o cirrosis hepática; y una reducción de la fibrosis y/o la cirrosis, la falta de progresión adicional de la fibrosis y/o la cirrosis, o una ralentización de la progresión de la fibrosis y/o la cirrosis en el sujeto tras la 35 administración de una o más dosis de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

**[0075]** En algunas formas de realización, el tratamiento de NASH comprende una disminución de uno o más síntomas asociados con NASH en el sujeto. Los síntomas ejemplares pueden incluir uno o más de agrandamiento del hígado, fatiga, dolor en la parte superior derecha del abdomen, hinchazón abdominal, agrandamiento de los vasos sanguíneos justo debajo de la superficie de la piel, agrandamiento de los senos en los hombres, agrandamiento del bazo, palmas rojas, ictericia y prurito. En algunas formas de realización, el sujeto es asintomático. En algunas formas de realización, el peso corporal total del sujeto no aumenta. En algunas formas de realización, el peso corporal total del sujeto disminuye. En 40 algunas formas de realización, el índice de masa corporal (IMC) del sujeto no aumenta. En algunas formas de realización, el índice de masa corporal (IMC) del sujeto disminuye. En algunas formas de realización, la proporción de cintura y cadera (WTH) del sujeto no aumenta. En algunas formas de realización, la proporción de cintura y cadera (WTH) del sujeto disminuye.

**[0076]** En algunas formas de realización, el tratamiento de NASH puede evaluarse midiendo la esteatosis hepática. En 50 algunas formas de realización, el tratamiento de NASH comprende una reducción de la esteatosis hepática después de la administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se describe en el presente documento. En algunas formas de realización, la esteatosis hepática se determina mediante uno o más métodos seleccionados del grupo que consiste en ecografía, tomografía computarizada (TC), formación de imágenes por resonancia magnética, espectroscopia por resonancia magnética (MRS), elastografía por resonancia magnética (MRE), elastografía transitoria (TE) (p. ej., FIBROSCAN®), medición del tamaño o peso del hígado, o mediante biopsia hepática 55 (ver, p. ej., Di Lascio et al., Ultrasound Med Biol. 2018, vol. 44(8), p. 1585-1596; Lv et al. 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. al., J Gastroenterol Hepatol. 2016, volumen 31(4), páginas 848 a 855).

**[0077]** Un sujeto diagnosticado con EHNA puede tener más del 5 % de esteatosis hepática, por ejemplo, más del 5 % a aproximadamente 25 %, aproximadamente 25 % a aproximadamente 45 %, aproximadamente 45 % a aproximadamente 65 %, o más de aproximadamente 65 % de esteatosis hepática. En algunas formas de realización, un sujeto con más de 60 aproximadamente 5 % a aproximadamente 33 % de esteatosis hepática tiene una etapa 1 de esteatosis hepática, es decir, 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.

**[0078]** En algunas formas de realización, la cantidad de esteatosis hepática se determina antes de la administración de 65

- un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. En algunas formas de realización, la cantidad de esteatosis hepática se determina durante el período de tiempo o después del período de tiempo de administración del compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas formas de realización, una reducción en la cantidad de esteatosis hepática durante el período de tiempo o después del período de tiempo de administración del compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en comparación con antes de la administración del compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, indica el tratamiento de NASH. Por ejemplo, una reducción en la cantidad de esteatosis hepática de aproximadamente 1 % a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 25 % a aproximadamente 75 % o de aproximadamente 50 % a aproximadamente 100 % indica tratamiento de NASH. En algunas formas de realización, una reducción en la cantidad de esteatosis hepática en 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 tratamiento de NASH.
- [0079]** En algunas formas de realización, la presencia de inflamación hepática se determina mediante uno o más métodos seleccionados del grupo que consiste en biomarcadores indicativos de inflamación hepática y una muestra o muestras de biopsia hepática del sujeto. En algunas formas de realización, la gravedad de la inflamación hepática se determina a partir de una muestra o muestras de biopsia de hígado del sujeto. Por ejemplo, la inflamación hepática en una muestra de biopsia de hígado puede evaluarse como se describe en Kleiner et al., Hepatology 2005, vol. 41(6), pág. 1313-1321 y Brunt y col., Am J Gastroenterol 1999, vol. 94, pág. 2467-2474.
- [0080]** En algunas formas de realización, la gravedad de la inflamación hepática se determina antes de la administración de un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. En algunas formas de realización, la gravedad de la inflamación hepática se determina durante el período de tiempo o después del período de tiempo de administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas formas de realización, una disminución en la severidad de la inflamación hepática durante el período de tiempo o después del período de tiempo de administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en comparación con antes de la administración del compuesto de fórmula (I), o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, indica el tratamiento de NASH. Por ejemplo, una disminución en la gravedad de la inflamación hepática de aproximadamente un 1 % a aproximadamente un 50 %, de aproximadamente un 25 % a aproximadamente un 75 % o de aproximadamente un 50 % a aproximadamente un 100 % indica el tratamiento de NASH. En algunas formas de realización, una disminución de la gravedad de la inflamación hepática en aproximadamente un 5 %, aproximadamente un 10 %, aproximadamente un 15 %, aproximadamente un 20 %, aproximadamente un 25 %, aproximadamente un 30 %, aproximadamente un 35 %, aproximadamente un 40 %, aproximadamente un 45 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 % o aproximadamente 95 % indica tratamiento de NASH.
- [0081]** En algunas formas de realización, el tratamiento de NASH comprende el tratamiento de la fibrosis y/o la cirrosis, por ejemplo, una disminución en la gravedad de la fibrosis, la falta de progresión adicional de la fibrosis y/o la cirrosis, o una ralentización de la progresión de la fibrosis y/o la cirrosis. En algunas formas de realización, la presencia de fibrosis y/o cirrosis se determina mediante uno o más métodos seleccionados del grupo que consiste en elastografía transitoria (p. ej., FIBROSCAN®), marcadores no invasivos de fibrosis hepática y características histológicas de una biopsia hepática.
- En algunas formas de realización, la gravedad (p. ej., etapa) de la fibrosis se determina mediante uno o más métodos seleccionados del grupo que consiste en elastografía transitoria (p. ej., FIBROSCAN®), un sistema de puntuación de fibrosis, biomarcadores de fibrosis hepática (p. ej., no biomarcadores invasivos) y gradiente de presión venosa hepática (GPVH). Los ejemplos no limitativos de sistemas de puntuación de fibrosis incluyen el sistema de puntuación de fibrosis NAFLD (véase, por ejemplo, Angulo et al., Hepatology 2007, vol. 45(4), p. 846-54), el sistema de puntuación de fibrosis en Brunt et al., Am. J. Gastroenterol. 1999, vol. 94, pág. 2467-2474, el sistema de puntuación de fibrosis en Kleiner et al., Hepatology 2005, vol. 41(6), pág. 1313-1321, y el sistema de puntuación de fibrosis ISHAK (ver Ishak et al., J. Hepatol. 1995, vol. 22, p. 696-699).
- [0082]** En algunas formas de realización, la gravedad de la fibrosis se determina antes de la administración de un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. En algunas formas de realización, la gravedad de la fibrosis se determina durante el período de tiempo o después del período de tiempo de administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas formas de realización, una disminución en la gravedad de la fibrosis durante el período de tiempo o después del período de tiempo de administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en comparación con antes de la administración del compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, indica el tratamiento de NASH. En algunas formas de realización, una disminución en la gravedad de la fibrosis, la falta de progresión adicional de fibrosis y/o cirrosis, o una ralentización de la progresión de fibrosis y/o cirrosis indica el tratamiento de NASH. En algunas formas de realización, la gravedad de la fibrosis se determina utilizando un sistema de puntuación como cualquiera de los sistemas de puntuación de fibrosis descritos en el presente documento, por ejemplo, la puntuación puede indicar el etapa de fibrosis, por ejemplo, etapa 0 (sin fibrosis), etapa 1, etapa 2, etapa 3 y etapa 4 (cirrosis) (ver, por ejemplo, Kleiner et al.). En algunas formas de realización, una disminución en el estadio de la fibrosis es una

disminución en la gravedad de la fibrosis. Por ejemplo, una disminución de 1, 2, 3 o 4 etapas es una disminución de la gravedad de la fibrosis. En algunas formas de realización, una disminución en la etapa, por ejemplo, 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 NASH. En algunas formas de realización, el estadio de 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 fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en comparación con las anteriores a la administración del compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas formas de realización, el estadio de 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 período de tiempo de administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en comparación con antes de la administración del compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptable. En algunas formas de realización, el estadio de 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 período de tiempo de administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en comparación con antes de la administración del compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

**[0083]** En algunas formas de realización, la presencia de NASH está determinada por uno o más biomarcadores indicativos de uno o más de daño hepático, inflamación, fibrosis hepática y/o cirrosis hepática o sistemas de puntuación de los mismos. En algunas formas de realización, la gravedad de NASH está determinada por uno o más biomarcadores indicativos de uno o más de daño hepático, inflamación, fibrosis hepática y/o cirrosis hepática o sistemas de puntuación de los mismos. El nivel del biomarcador se puede determinar, por ejemplo, midiendo, cuantificando y controlando el nivel de expresión del gen o ARNm que codifica el biomarcador y/o el péptido o la proteína del biomarcador. Los ejemplos no limitativos de biomarcadores indicativos de uno o más de daño hepático, inflamación, fibrosis hepática y/o cirrosis hepática y/o sistemas de puntuación de los mismos incluyen el índice de proporción de aspartato aminotransferasa (AST) a plaquetas (APRI); la proporción de aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT) (AAR); la puntuación FIB-4, que se basa en el APRI, los niveles de alanina aminotransferasa (ALT) y la edad del sujeto (ver, por ejemplo, McPherson et al., Gut 2010, vol. 59(9), p. 1265-9; ácido hialurónico; citoquinas proinflamatorias; un panel de biomarcadores que consta de  $\alpha$ 2-macroglobulina, haptoglobina, apolipoproteína A1, bilirrubina, gamma glutamil transpeptidasa (GGT) combinado con la edad y el sexo de un sujeto para generar una medida de fibrosis y actividad necroinflamatoria en el hígado (p. ej., FIBROTEST<sup>®</sup>, FIBROSURE<sup>®</sup>), un panel de biomarcadores que consta de bilirrubina, gamma-glutamiltransferasa, ácido hialurónico,  $\alpha$ 2-macroglobulina combinados con la edad y el sexo del sujeto (p. ej., HEPASCORE<sup>®</sup>; véase, por ejemplo, Adams et al., Clin. Chem. 2005, vol. 51(10), p. ej. 1867-1873), y un panel de biomarcadores que consta de inhibidor tisular de metaloproteinasa-1, ácido hialurónico y  $\alpha$ 2-macroglobulina (p. ej., FIBROSPECT<sup>®</sup>); un panel de biomarcadores que consta de inhibidor tisular de metaloproteinasas 1 (TIMP-1), propéptido amino-terminal de procolágeno tipo III (PIIINP) y ácido hialurónico (HA) (por ejemplo, la puntuación de fibrosis hepática mejorada (ELF), ver, por ejemplo, Lichtenhagen R, et al., J Hepatol., agosto de 2013; 59(2):236-42

**[0084]** En algunas formas de realización, la presencia de fibrosis está determinada por uno o más de la puntuación FIB-4, un panel de biomarcadores que consta de  $\alpha$ 2-macroglobulina, haptoglobina, apolipoproteína A1, bilirrubina, gamma glutamil transpeptidasa (GGT) combinada con la edad y el sexo de un sujeto para generar una medida de fibrosis y actividad necroinflamatoria en el hígado (p. ej., FIBROTEST<sup>®</sup>, FIBROSURE<sup>®</sup>), un panel de biomarcadores que consisten en bilirrubina, gamma-glutamiltransferasa, ácido hialurónico,  $\alpha$ 2-macroglobulina combinados con la edad y el sexo del sujeto (p. ej., HEPASCORE<sup>®</sup>; véase, 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  $\alpha$ 2-macroglobulina (p. ej., FIBROSPECT<sup>®</sup>); y un panel de biomarcadores que consta de inhibidor tisular de metaloproteinasas 1 (TIMP-1), propéptido amino-terminal de procolágeno tipo III (PIIINP) y ácido hialurónico (HA) (p. ej., la puntuación fibrosis hepática mejorada (ELF)). En algunas formas de realización, el nivel de aspartato aminotransferasa (AST) no aumenta. En algunas formas de realización, el nivel de aspartato aminotransferasa (AST) disminuye. En algunas formas de realización, el nivel de alanina aminotransferasa (ALT) no aumenta. En algunas formas de realización, el nivel de alanina aminotransferasa (ALT) disminuye. En algunas formas de realización, el "nivel" de una enzima se refiere a la concentración de la enzima, por ejemplo, dentro de la sangre. Por ejemplo, el nivel de AST o ALT se puede expresar como Unidades/L.

**[0085]** En algunas formas de realización, la gravedad de la fibrosis está determinada por uno o más de la puntuación FIB-4, un panel de biomarcadores que consta de  $\alpha$ 2-macroglobulina, haptoglobina, apolipoproteína A1, bilirrubina, gamma glutamil transpeptidasa (GGT) combinado con una la edad y el sexo del sujeto para generar una medida de fibrosis y actividad necroinflamatoria en el hígado (p. ej., FIBROTEST<sup>®</sup>, FIBROSURE<sup>®</sup>), un panel de biomarcadores que consta de bilirrubina, gamma-glutamiltransferasa, ácido hialurónico,  $\alpha$ 2-macroglobulina combinados con la edad del sujeto y sexo (p. ej., HEPASCORE<sup>®</sup>; véase, 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  $\alpha$ 2-macroglobulina (p. ej., FIBROSPECT<sup>®</sup>); y un panel de biomarcadores que consta de inhibidor tisular de metaloproteinasas 1 (TIMP-1), propéptido amino-terminal de procolágeno tipo III (PIIINP) y ácido hialurónico (HA) (p. ej., la puntuación de fibrosis hepática mejorada

(ELF).

- 5 [0086] En algunas formas de realización, la inflamación hepática está determinada por el nivel de biomarcadores de inflamación hepática, por ejemplo, citocinas proinflamatorias. Los ejemplos no limitantes de biomarcadores indicativos de inflamación hepática incluyen interleucina-(IL) 6, interleucina-(IL) 1 $\beta$ , factor de necrosis tumoral (TNF)- $\alpha$ , factor de crecimiento transformante (TGF)- $\beta$ , proteína quimiotáctica de monocitos (MCP)-1, proteína C reactiva (PCR), PAI-1 e isoformas de colágeno como Col1a1, Col1a2 y Col4a1 (ver, por ejemplo, Neuman, et al., Can. J. Gastroenterol. Hepatol. 2014, vol. 28(11), páginas 607-618 y patente de EE. UU. Nº 9 872 844.
- 10 10 [0087] La inflamación del hígado también puede evaluarse mediante el cambio de la infiltración de macrófagos, por ejemplo, midiendo un cambio en el nivel de expresión de CD68. En algunas formas de realización, la inflamación del hígado puede determinarse mediante medir o monitorear los niveles séricos o niveles circulantes de uno o más de interleucina-(IL) 6, interleucina-(IL) 1 $\beta$ , factor de necrosis tumoral (TNF)- $\alpha$ , factor de crecimiento transformante (TGF)- $\beta$ , proteína quimiotáctica de monocitos (MCP)-1 y proteína reactiva C (CRP).
- 15 15 [0088] En algunas formas de realización, el nivel de uno o más biomarcadores indicativos de uno o más de daño hepático, inflamación, I la fibrosis hepática y/o la cirrosis hepática se determina para una muestra del sujeto antes de la administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas formas de realización, el nivel de uno o más biomarcadores indicativos de uno o más de daño hepático, inflamación, fibrosis hepática y/o cirrosis hepática se determina durante el período de tiempo o después del período de tiempo de administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas formas de realización, una disminución en el nivel de uno o más biomarcadores indicativos de uno o más de daño hepático, inflamación, fibrosis hepática y/o cirrosis hepática durante el período de tiempo o después del período de tiempo de administración de un compuesto de la fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en comparación con antes de la administración del compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, indica el tratamiento de NASH. Por ejemplo, una disminución en el nivel de uno o más biomarcadores indicativos de uno o más de daño hepático, inflamación, fibrosis hepática y/o cirrosis hepática en al menos un 5 %, al menos un 10 %, al menos un 15 %, al menos alrededor del 20 %, al menos alrededor del 25 %, al menos alrededor del 30 %, al menos alrededor del 35 %, al menos alrededor del 40 %, al menos alrededor del 45 %, al menos alrededor del 50 %, al menos alrededor del 55 %, al menos al menos alrededor del 60 %, al menos alrededor del 65 %, al menos alrededor del 70 %, al menos alrededor del 75 %, al menos alrededor del 80 %, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 %, al menos alrededor del 95 %, o al menos alrededor del 99 % indica tratamiento de EHNA. En algunas formas de realización, la disminución en el nivel de uno o más biomarcadores indicativos de uno o más de daño hepático, inflamación, fibrosis hepática y/o cirrosis hepática después de la administración del compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables., es de al menos un 5 %, al menos un 10 %, al menos un 15 %, al menos un 20 %, al menos un 25 %, al menos un 30 %, al menos un 35 %, al menos un 40 %, al menos alrededor del 45 %, al menos alrededor del 50 %, al menos alrededor del 55 %, al menos alrededor del 60 %, al menos alrededor del 65 %, al menos alrededor del 70 %, al menos alrededor del 75 %, al menos alrededor del 80 %, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 %, al menos alrededor del 95 %, al menos alrededor del 99 %. En algunas formas de realización, el nivel de uno o más biomarcadores indicativos de uno o más de daño hepático, inflamación, fibrosis hepática y/o cirrosis hepática durante el período de tiempo de administración de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, es de al menos alrededor del 5 %, al menos alrededor del 10 %, al menos alrededor del 15 %, al menos al menos alrededor del 20 %, al menos alrededor del 25 %, al menos alrededor del 30 %, al menos alrededor del 35 %, al menos alrededor del 40 %, al menos alrededor del 45 %, al menos alrededor del 50 %, al menos alrededor del 55 %, al menos alrededor del 60 %, al menos alrededor del 65 %, al menos alrededor del 70 %, al menos alrededor del 75 %, al menos alrededor del 80 %, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 %, al menos alrededor del 95 %, o al menos alrededor del 99 % % En algunas formas de realización, el nivel de uno o más biomarcadores indicativos de uno o más de daño hepático, inflamación, fibrosis hepática y/o cirrosis hepática después del período de tiempo de administración de un compuesto de fórmula (I), o un compuesto farmacéuticamente aceptable sal del mismo, es por lo menos alrededor del 5 %, al menos alrededor del 10 %, al menos alrededor del 15 %, al menos alrededor del 20 %, al menos alrededor del 25 %, al menos alrededor del 30 %, al menos alrededor del 35 %, al menos alrededor del 40 %, al menos alrededor del 45 %, al menos alrededor del 50 %, al menos alrededor del 55 %, al menos alrededor del 60 %, al menos alrededor del 65 %, al menos alrededor del 70 %, al menos alrededor del 75 %, al menos alrededor del 80 %, al menos alrededor del 85 %, al menos alrededor del 90 %, al menos alrededor del 95 %, o al menos alrededor del 99 %.
- 55 55 [0089] En algunas formas de realización, el tratamiento de NASH disminuye el nivel de ácidos biliares en suero en el sujeto. En algunas formas de realización, el nivel de ácidos biliares en suero se determina, por ejemplo, mediante un ensayo enzimático ELISA o los ensayos para la medición de ácidos biliares totales como se describe en Danese et al., PLoS One. 2017, vol. 12(6): e0179200.
- 60 60 [0090] En algunas formas de realización, el nivel de ácidos biliares en suero puede disminuir, por ejemplo, de 10 % a 40 %, de 20 % a 50 %, de 30 % a 60 %, de 40 % a 70 %, de 50 % a 80 %, o por más del 90 % del nivel de ácidos biliares en suero antes de la administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas formas de realización, la NASH es NASH con colestasis concomitante. En la colestasis, se bloquea la liberación de bilis, incluidos los ácidos biliares, del hígado. Los ácidos biliares pueden causar daño a los hepatocitos (ver, p. ej., Perez MJ, Briz O. World J. Gastroenterol. 2009, vol. 15(14), p. 1677-1689) que probablemente provoque o aumente la

progresión de la fibrosis (p. ej., cirrosis) y aumentando el riesgo de carcinoma hepatocelular (ver, por ejemplo, Sorrentino P et al., Dig. Dis. Sci. 2005, vol. 50(6), p. 1130-1135 y Satapathy SK y Sanyal AJ. Semin. Liver Dis. 2015, volumen 35 (3), páginas 221 - 235.

- 5 [0091] En algunas formas de realización, el tratamiento de NASH incluye el tratamiento del prurito. En algunas formas de realización, el tratamiento de NASH con colestasis concomitante incluye el tratamiento del prurito. En algunas formas de realización, un sujeto con NASH con colestasis concomitante tiene prurito.

10 [0092] Biomarcadores ejemplares de NASH se proporcionan en la Tabla 7.

**Tabla 7. Biomarcadores ejemplares de NASH**

**Biomarcadores de fibrosis hepática**

Aspartato aminotransferasa (AST) a índice de proporción de plaquetas (APRI)

Aspartato aminotransferasa (AST) y relación alanina aminotransferasa (ALT) (AAR)

15 Puntuación FIB-4<sup>1</sup>

Ácido hialurónico

Citoquinas proinflamatorias

Un panel que incluye  $\alpha$ 2-macroglobulina, haptoglobina, apolipoproteína A1, bilirrubina, gamma glutamil transpeptidasa (GGT) combinado con la edad y el sexo de un sujeto para generar una medida de fibrosis y actividad necroinflamatoria en el hígado (p. ej., FIBROTEST<sup>®</sup>, FIBROSURE<sup>®</sup>)

20 Un panel que incluye bilirrubina, gamma-glutamiltransferasa, ácido hialurónico,  $\alpha$ 2-macroglobulina combinada con la edad y el sexo del sujeto (p. ej., HEPASCORE<sup>®2</sup>)

Un panel que incluye inhibidor tisular de metaloproteinasa-1, ácido hialurónico y  $\alpha$ 2-macroglobulina (p. ej., FIBROSPECT<sup>®</sup>)

25 Un panel que incluye inhibidor tisular de metaloproteinasas 1 (TIMP-1), propéptido amino-terminal de procolágeno tipo III (PIIINP) y ácido hialurónico (HA) (p. ej., la puntuación de fibrosis hepática mejorada (ELF)<sup>3</sup>)

**Biomarcadores de inflamación hepática<sup>4,5</sup>**

Interleucina- (IL) 6

Interleucina-(IL) 1 $\beta$

30 Factor de necrosis tumoral (TNF)- $\alpha$

Factor de crecimiento transformante (TGF)- $\beta$

Proteína quimiotáctica de monocitos (MCP)-1

Proteína C reactiva (CRP)

PAI-1

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

Cambio de infiltración de macrófagos (p. ej., un cambio en el nivel de expresión de CD68)

*Referencias para la Tabla 7*

- 40 [0093]

<sup>1</sup>McPherson et al., Gut. 2010, vol. 59(9), pág. 1265-1269.

<sup>2</sup>Adams, et al. Clin Chem. 2005, vol. 51(10), pág. 1867-1873.

<sup>3</sup>Lichtinghagen, et al. J Hepatol. 2013, vol. 59(2), pág. 236-242.

45 <sup>4</sup>Neuman, et al. Can J Gastroenterol Hepatol. 2014, vol. 28(11), pág. 607-618.

<sup>5</sup>EE. UU. Patente Nº 9,872,844

- 50 [0094] Algunos compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, pueden mostrar una fracción libre más alta en plasma. En algunas formas de realización, la fracción libre es mayor que aproximadamente el 0,2 %, como mayor que aproximadamente el 0,4 %, como mayor que aproximadamente el 0,6 %, como mayor que aproximadamente el 0,8 %, como mayor que aproximadamente el 1,0 %, como mayor que aproximadamente 1,25 %, como mayor que aproximadamente 1,5 %, como mayor que aproximadamente 1,75 %, como mayor que aproximadamente 2,0 %, como mayor que aproximadamente 2,5 %, como mayor que aproximadamente 3 %, como mayor que aproximadamente 4 %, como mayor que aproximadamente 5 %, como mayor que aproximadamente 7,5 %, como mayor que aproximadamente 10 %, o como mayor que aproximadamente 20 %.

- 55 [0095] Algunos compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, pueden excretarse en la orina. En algunas formas de realización, la fracción del compuesto que se excreta en la orina es superior a aproximadamente el 0,2 %, como superior a aproximadamente el 0,4 %, como superior a aproximadamente el 0,6 %, como superior a aproximadamente el 0,8 %, como superior a aproximadamente 1,0 %, como superior a aproximadamente 2 %, como superior a aproximadamente 3 %, como superior a aproximadamente 5 %, como superior a aproximadamente 7,5 %, como superior a aproximadamente 10 %, como superior a aproximadamente 15 %, como superior a aproximadamente 20 %, como superior a aproximadamente 30 %, o como superior a aproximadamente 50 %.

- 60 [0096] Despues de la absorción desde el intestino, algunos compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, pueden circular a través de la circulación enterohepática. En algunas formas de realización, la fracción del

compuesto que circula a través de la circulación enterohepática es superior al 0,1 %, como superior al 0,2 %, superior al 0,3 %, superior al 0,5 %, superior al 0,5 % superior al 1,0 %, superior al 1,5 %, superior al 2 %, superior al 3 %, superior al 5 %, superior al 7 %, superior al 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 %.

5

**[0097]** Algunos compuestos de fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden provocar la excreción renal de sales biliares. En algunas formas de realización, la fracción de ácidos biliares circulantes que se excreta por vía renal es superior al 1 %, superior al 2 %, superior al 5 %, superior al 7 %, superior al 10 %, superior al 15 %, superior al 20 %, o superior al 25 %.

10

**[0098]** Algunos compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, pueden mostrar una permeabilidad mejorada u óptima. La permeabilidad se puede medir en células Caco2, y los valores se dan como valores de Papp (permeabilidad aparente) en cm/s. En algunas formas de realización, 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, mayor que aproximadamente  $1,0 \times 10^{-6}$  cm/s, mayor que aproximadamente  $2 \times 10^{-6}$  cm/s, mayor que aproximadamente  $3 \times 10^{-6}$  cm/s, como mayor que aproximadamente  $5 \times 10^{-6}$  cm/s, como mayor que aproximadamente  $7 \times 10^{-6}$  cm/s, como mayor que aproximadamente  $10 \times 10^{-6}$  cm/s, como mayor que aproximadamente  $15 \times 10^{-6}$  cm/s.

20

**[0099]** Algunos compuestos de fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden mostrar una biodisponibilidad mejorada u óptima. En algunas formas de realización, la biodisponibilidad oral es superior al 5 %, superior al 7 %, superior al 10 %, superior al 15 %, superior al 20 %, superior a aproximadamente 30 %, superior a aproximadamente 40 %, superior a aproximadamente 50 %, superior a aproximadamente 60 %, superior a aproximadamente 70 % o superior a aproximadamente 80 %. En otras formas de realización, la biodisponibilidad oral está entre alrededor del 10 y alrededor del 90 %, como entre alrededor del 20 y alrededor del 80 %, como entre alrededor del 30 y alrededor del 70 % o como entre alrededor del 40 y alrededor del 60 %.

25

**[0100]** Algunos compuestos de fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden ser un sustrato para transportadores relevantes en el riñón.

30

**[0101]** Algunos compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, pueden dar lugar a concentraciones de ácidos biliares en el intestino, el hígado y el suero que no provocan efectos gastrointestinales adversos.

35

**[0102]** Algunos compuestos de fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden disminuir la concentración de ácidos biliares en el hígado sin causar trastornos gastrointestinales tales como diarrea.

40

**[0103]** Como se usa en este documento, los términos "tratamiento", "tratar" y "tratado" se refieren a revertir, aliviar, retrasar el inicio o inhibir el progreso de una enfermedad o trastorno, o uno o más síntomas de los mismos, como se describe en este documento. En algunas formas de realización, el tratamiento puede administrarse después de que se hayan desarrollado uno o más síntomas. En otras formas de realización, el tratamiento puede administrarse en ausencia de síntomas. Por ejemplo, el tratamiento puede administrarse a una persona susceptible individuo antes del inicio de los síntomas (p. ej., a la luz de un historial de síntomas y/o a la luz de factores genéticos u otros factores de susceptibilidad). El tratamiento también puede continuar después de que los síntomas hayan desaparecido, por ejemplo, para prevenir o retrasar su recurrencia.

45

**[0104]** Una sal farmacéuticamente aceptable adecuada de un compuesto de la invención es, por ejemplo, una sal de adición de base de un compuesto de la invención que es suficientemente ácida, tal como una sal de metal alcalino (por ejemplo, una sal de sodio o potasio), una sal de metal alcalinotérreo (p. ej., una sal de calcio o magnesio), una sal de amonio o una sal con una base orgánica que proporcione un catión fisiológicamente aceptable, por ejemplo, una sal con metilamina, dimetilamina, trimetilamina, piperidina, morfolina o tris-(2-hidroxietil)amina.

50

**[0105]** Algunos compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, pueden tener centros quirales y/o centros geométricos isoméricos (isómeros E y Z). Debe entenderse que la invención abarca todos los isómeros ópticos, diastereoisómeros e isómeros geométricos que poseen actividad inhibidora de ASBT y/o LBAT. La invención también abarca cualquiera y todas las formas tautoméricas de los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, que poseen actividad inhibidora de ASBT y/o LBAT. Ciertos compuestos de fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden existir en formas no solvatadas así como solvatadas, tales como, por ejemplo, formas hidratadas. Debe entenderse que la invención abarca todas las formas solvatadas que poseen actividad inhibidora de ASBT y/o LBAT.

55

**[0106]** En otro aspecto, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Los excipientes pueden incluir, por ejemplo, cargas, aglutinantes, desintegrantes, deslizantes y lubricantes. En general, las composiciones farmacéuticas se pueden preparar de forma convencional utilizando excipientes convencionales.

- 5 [0107] Los ejemplos de rellenos adecuados incluyen, entre otros, fosfato dicálcico dihidratado, sulfato de calcio, lactosa (como lactosa monohidratada), sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa, celulosa microcristalina, almidón seco, almidones hidrolizados y almidón pregelatinizado. En determinadas formas de realización, la carga es manitol y/o celulosa microcristalina.
- 10 [0108] Los ejemplos de aglutinantes adecuados incluyen, entre otros, almidón, almidón pregelatinizado, gelatina, azúcares (como sacarosa, glucosa, dextrosa, lactosa y sorbitol), polietilenglicol, ceras, gomas naturales y sintéticas (como acacia goma de tragacanto), alginato de sodio, derivados de la celulosa (como hidroxipropilmetylcelulosa (o hipromelosa), hidroxipropilcelulosa y etilcelulosa) y polímeros sintéticos (como copolímeros de ácido acrílico y ácido metacrílico, copolímeros de ácido metacrílico, copolímeros de metacrilato de metilo, copolímeros de metacrilato de aminoalquilo, copolímeros de poliacrílico copolímeros de ácido polimetacrílico/ácido polimetacrílico y polivinilpirrolidona (povidona)). En ciertas formas de realización, el aglutinante es hidroxipropilmetylcelulosa (hipromelosa).
- 15 [0109] Los ejemplos de desintegrantes adecuados incluyen, entre otros, almidón seco, almidón modificado (como almidón (parcialmente) pregelatinizado, glicolato de almidón sódico y carboximetilalmidón sódico), ácido algínico, derivados de celulosa (como carboximetilcelulosa sódica, hidroxipropil celulosa e hidroxipropilcelulosa de baja sustitución (L-HPC)) y polímeros reticulados (como carmelosa, croscarmelosa sódica, carmelosa cálcica y PVP reticulada (crospovidona)). En ciertas formas de realización, el desintegrante es croscarmelosa sódica.
- 20 [0110] Los ejemplos de deslizantes y lubricantes adecuados incluyen, entre otros, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio, ácido esteárico, behenato de glicerilo, sílice coloidal, dióxido de silicio acuoso, silicato de magnesio sintético, óxido de silicio granulado fino, almidón, sodio sulfato de lauril, ácido bórico, óxido de magnesio, ceras (como la cera de carnauba), aceite hidrogenado, polietilenglicol, benzoato de sodio, polietilenglicol y aceite mineral. En ciertas formas de realización, el deslizante o lubricante es estearato de magnesio o sílice coloidal.
- 25 [0111] La composición farmacéutica se puede recubrir convencionalmente con una o más capas de recubrimiento. También se contemplan capas de recubrimiento entérico o capas de recubrimiento para la liberación retardada o dirigida del compuesto de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables. Las capas de revestimiento pueden comprender uno o más agentes de revestimiento y, opcionalmente, pueden comprender plastificantes y/o pigmentos (o colorantes).
- 30 [0112] Los ejemplos de agentes de recubrimiento adecuados incluyen, entre otros, polímeros a base de celulosa (tales como etilcelulosa, hidroxipropilmetylcelulosa (o hipromelosa), hidroxipropilcelulosa, acetato ftalato de celulosa, acetato succinato de celulosa, acetato succinato de hidroxipropilmetylcelulosa y ftalato de hidroxipropilmetylcelulosa), polímeros a base de vinilo (como el alcohol polivinílico) y polímeros a base de ácido acrílico y derivados del mismo (como copolímeros de ácido acrílico y ácido metacrílico, copolímeros de ácido metacrílico, copolímeros de metacrilato de metilo, copolímeros de metacrilato de aminoalquilo, copolímeros de ácido poliacrílico/ácido polimetacrílico). En ciertas formas de realización, el agente de recubrimiento es hidroxipropilmetylcelulosa. En otras formas de realización, el agente de recubrimiento es alcohol polivinílico.
- 35 [0113] Los ejemplos de plastificantes adecuados incluyen, pero no se limitan a citrato de trietilo, triacetato de glicerilo, citrato de tributilo, ftalato de dietilo, citrato de acetiltributilo, ftalato de dibutilo, sebacato de dibutilo y polietilenglicol. En ciertas formas de realización, el plastificante es polietilenglicol.
- 40 [0114] Los ejemplos de pigmentos adecuados incluyen, pero no se limitan a dióxido de titanio, óxidos de hierro (tales como óxidos de hierro amarillo, marrón, rojo o negro) y sulfato de bario.
- 45 [0115] La composición farmacéutica puede estar en una forma que sea adecuada para administración oral, para inyección parenteral (incluyendo inyección intravenosa, subcutánea, intramuscular e intravascular), para administración tópica o para administración rectal administración. En una forma de realización preferida, la composición farmacéutica está en una forma adecuada para la administración oral, como una tableta o una cápsula.
- 50 [0116] 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 normalmente considerados por el médico tratante, al determinar el nivel de régimen y dosificación adecuado para un paciente en particular.
- 55 [0117] La cantidad del compuesto a administrar variará para el paciente que se está tratando, y puede variar desde aproximadamente 1 µg/kg de peso corporal hasta aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal por día. Una forma de dosis unitaria, como una tableta o cápsula, normalmente contendrá de 1 a 250 mg de ingrediente activo, como de 1 a 100 mg, o de 1 a 50 mg, o de 1 a 50 mg. aproximadamente 20 mg, por ejemplo, aproximadamente 2,5 mg, o aproximadamente 5 mg, o aproximadamente 10 mg, o aproximadamente 15 mg. La dosis diaria puede administrarse como dosis única o dividida en una, dos, tres o más dosis unitarias. Una dosis diaria administrada por vía oral de un modulador de ácidos biliares está preferiblemente entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 250 mg, más preferiblemente entre aproximadamente 1 y aproximadamente 100 mg, como entre aproximadamente 1 y aproximadamente 5 mg, como entre aproximadamente 1 y aproximadamente 10 mg, tal como entre aproximadamente 1 y aproximadamente 15 mg, o entre aproximadamente 1 y aproximadamente 20 mg.

- [0118]** En otro aspecto, la invención se refiere a un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso como medicamento. La invención también se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como medicamento.
- 5 **[0119]** En otro aspecto, la invención se refiere a un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para uso en el tratamiento o prevención de cualquiera de las enfermedades enumeradas en el presente documento. La invención también se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de cualquiera de las enfermedades mencionadas en este documento. La invención también se refiere a un método para tratar o prevenir cualquiera de las enfermedades enumeradas en el presente documento en un sujeto, como el hombre, que comprende administrar al sujeto que necesita dicho tratamiento o prevención una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 10 **15 Terapia de combinación**
- [0120]** En un aspecto de la invención, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con al menos otro agente terapéuticamente activo, tal como con uno, dos, tres o más de otros agentes terapéuticamente activos. El compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos otro agente terapéuticamente activo pueden administrarse simultáneamente, secuencialmente o por separado. Los agentes terapéuticamente activos que son adecuados para la combinación con los compuestos de fórmula (I) incluyen, pero no se limitan a agentes activos conocidos que son útiles en el tratamiento de cualquiera de las afecciones, trastornos y enfermedades mencionados anteriormente.
- 20 **[0121]** En una forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con otro inhibidor de ASBT. Los inhibidores de ASBT adecuados se describen en los documentos 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 485429 EP 485429 73, EP 624593, EP 624594, EP 624595, EP 624596, EP 0864582, EP 1173205 y EP 1535913.
- 30 **[0122]** En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un ácido biliar aglutinante (también denominado secuestrante de ácidos biliares o resina), como colesevelam, colestiramina o colestipol. En una forma de realización preferida de dicha combinación, el aglutinante de ácidos biliares se formula para su liberación en el colon. Los ejemplos de dichas formulaciones se describen, por ejemplo, en los documentos WO 2017/138877, WO 2017/138878, WO 2019/032026 y WO 2019/032027.
- 40 **[0123]** En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor de DPP-IV, incluidas gliptinas tales como sitagliptina, vildagliptina, saxagliptina, linagliptina, gemigliptina, anagliptina, teneligliptina, alogliptina, trelagliptina, omarigliptina, evogliptina, gosagliptina y dutogliptina, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.
- 45 **[0124]** En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor de la HMG CoA reductasa, como fluvastatina, lovastatina, pravastatina, simvastatina, atorvastatina, pitavastatina, cerivastatina, mevastatina, rosuvastatina, bervastatina o dalvastatina, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas.
- 50 **[0125]** En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor de la absorción de colesterol tal como ezetimiba, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.
- 55 **[0126]** En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un agonista de PPAR alfa, incluidos fibratos tales como clofibrato, bezafibrato, ciprofibrato, clinofibrate, clofibrate, fenofibrate, gemfibrozil, ronifibrate y simfibrate, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.
- 60 **[0127]** En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un agonista de PPAR gamma, incluidas las tiazolidinedionas tales como pioglitazona, rosiglitazona y lobeglitazona, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.
- 65 **[0128]** En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un agonista dual de PPAR alfa/gamma, que incluye glitazares tales como saroglitzazar, aleglitazar, muraglitazar o tesagliptazar, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- [0129] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un agonista dual de PPAR alfa/delta, tal como elafibrancor.
- 5 [0130] En otra forma de realización más, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un agonista de pan PPAR (es decir, un agonista de PPAR que tiene actividad en todos los subtipos: α, γ y δ), tal como IVA337.
- 10 [0131] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con moduladores del receptor X farnesoide (FXR), que incluyen agonistas de FXR tales como cafestol, ácido quenodesoxicólico, ácido 6α-etyl-quenodesoxicólico (ácido obeticólico; INT-747), fexaramina, tropifexor, cilofexor y MET409.
- 15 [0132] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un modulador del receptor TGR5, que incluye agonistas de TGR5 tales como ácido 6α-etyl-23(S)-metilcólico (INT-777).
- 20 [0133] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un agonista dual de FXR/TGR5 tal como INT-767.
- 25 [0134] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con ácido ursodesoxicólico (UDCA). En otra forma de realización más, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con ácido nor-ursodesoxicólico (nor-UDCA).
- 30 [0135] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un modulador de FGF19, como NGM282.
- [0136] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un agonista de FGF21, tal como BMS-986036.
- 35 [0137] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor de integrinas, como PLN-74809 y PLN-1474.
- [0138] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor de CCR2/CCR5, como cenicriviroc.
- 40 [0139] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor de caspasa proteasa, como emricasan.
- [0140] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor de galectina-3, tal como GR-MD-02.
- 45 [0141] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor de estearyl-CoA desaturasa (SCD), tal como aramchol (ácido araquidilamidocolanoico).
- 50 [0142] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor de la quinasa 1 reguladora de la señal de apoptosis (ASK1), tal como selonsertib.
- [0143] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor de LOXL2, como simtuzumab.
- 55 [0144] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor de ACC, como GS-0976.
- [0145] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un agonista del receptor β de la hormona tiroidea, tal como MGL3196.
- 60 [0146] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un agonista de GLP-1 tal como liraglutida.
- [0147] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un péptido similar al glucagón dual y agonistas del receptor de glucagón, como SAR425899.

- [0148] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor del transportador de piruvato mitocondrial, tal como MSDC-0602K.
- 5 [0149] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un agente antioxidante, tal como vitamina E.
- [0150] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor de SGLT1, un inhibidor de SGLT2 o un inhibidor dual de SGLT1 y SGLT2. Ejemplos de tales compuestos son dapagliflozina, sotagliflozina, canagliflozina, empagliflozina, LIK066 y SGL5213.
- 10 [0151] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor de diacilglicerol O-aciltransferasa 2 (DGAT2), como DGAT2RX y PF-06865571.
- 15 [0152] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor de ácido graso sintasa (FASN), tal como TVB-2640.
- 20 [0153] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un activador de proteína quinasa activada por AMP (AMPK), tal como PXL-770.
- [0154] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un antagonista del receptor de glucocorticoides (GR), un antagonista del receptor de mineralocorticoides (MR) o un antagonista dual de GR/MR. Ejemplos de tales compuestos son MT-3995 y CORT-118335.
- 25 [0155] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un antagonista del receptor de cannabinoide 1 (CB1), tal como IM102.
- 30 [0156] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un activador del receptor del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR) y Klotho $\beta$  (KLB), tal como MK-3655 (anteriormente conocido como NGM-313).
- [0157] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor del ligando 24 (CCL24) de quimiocina (motivo c-c), tal como CM101.
- 35 [0158] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un antagonista A3, tal como PBF-1650.
- [0159] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un antagonista del receptor P2x7, tal como SGM 1019.
- 40 [0160] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se administran en combinación con agonistas del receptor P2Y13, tales como CER-209.
- 45 [0161] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un oxisterol sulfatado, tal como Dur-928.
- [0162] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un antagonista del receptor de leucotrieno D4 (LTD4), tal como MN-001.
- 50 [0163] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor de células T asesinas naturales de tipo 1 (NKT1), tal como GRI-0621.
- [0164] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un compuesto antilipopolisacárido (LPS), tal como IMM-124E.
- 55 [0165] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor de VAP1, como BI1467335.
- 60 [0166] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un agonista del receptor de adenosina A3, tal como CF-102.
- [0167] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un activador de SIRT-1, como NS-20.
- 65 [0168] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se

administran en combinación con un agonista del receptor 1 del ácido nicotínico, tal como ARI-3037MO.

5 [0167] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un antagonista de TLR4, como JKB-121.

[0170] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor de cetohexocinasa, como PF-06835919.

10 [0171] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un agonista del receptor de adiponectina, tal como ADP-335.

[0172] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor de autotaxina, como PAT-505 y PF8380.

15 [0173] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un antagonista del receptor 3 (CCR<sup>3</sup>) de quimiocina (motivo c-c), tal como bertilimumab.

20 [0174] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un estimulador de los canales de cloruro, como cobiprostona y lubiprostona.

[0175] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor de la proteína de choque térmico 47 (HSP47), tal como ND-L02-s0201.

25 [0176] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor del factor de transcripción de la proteína de unión a elementos reguladores de esteroles (SREBP), como CAT-2003 y MDV-4463.

[0177] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con una biguanidina, tal como metformina.

30 [0178] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con insulina.

[0179] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor de glucógeno fosforilasa y/o un inhibidor de glucosa-6-fosfatasa.

[0180] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con una sulfonilurea, como glipizid, glibenklamid y glimepirid.

40 [0181] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con una meglitinida, como repaglinida, nateglinida y ormiglitinida.

[0182] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor de glucosidasa, como acarbosa o miglitol.

45 [0183] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor de la escualeno sintasa, tal como TAK-475.

[0184] En otra forma de realización, los compuestos de fórmula (I), o sus sales farmacéuticamente aceptables, se administran en combinación con un inhibidor de PTPB1, como trodusquemina, ertiprotafib, JTT-551 y claramina.

#### *Preparación de compuestos*

55 [0185] Los compuestos de la invención se pueden preparar como un ácido libre o una de sus sales farmacéuticamente aceptables mediante los procesos que se describen a continuación. A lo largo de la siguiente descripción de tales procesos se entiende que, cuando sea apropiado, se agregarán grupos protectores adecuados y posteriormente se eliminarán de los diversos reactivos e intermedios de una manera que será fácilmente comprensible para un experto en la técnica de la síntesis orgánica. Los procedimientos convencionales para usar dichos grupos protectores, así como ejemplos de grupos protectores adecuados, se describen, por ejemplo, en el libro de Greene's Protective Groups in Organic Synthesis de PGM Wutz y TW Greene, 4.<sup>a</sup> edición, John Wiley & Sons, Hoboken, 2006.

#### *Métodos generales*

60 [0186] Todos los disolventes utilizados fueron de grado analítico. Para las reacciones se utilizaron habitualmente disolventes anhidros disponibles en el mercado. Los materiales de partida estaban disponibles de fuentes comerciales o se prepararon de acuerdo con los procedimientos de la literatura. 3,3-dibutil-8-hidroxi-2-(4-metoxibencil)-7-(metiltio)-5-

fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido puede prepararse como se describe en el documento WO 03/022286 (método 24). La temperatura ambiente se refiere a 20 - 25 °C. Las composiciones de mezclas de disolventes se dan como porcentajes en volumen o relaciones en volumen.

5      **CLEM:**

[0187]

Nombre del instrumento: Agilent 1290 infinity II.

Método A: Fase móvil: A: 0,1 % HCOOH en H<sub>2</sub>O: ACN (95:5), B: ACN; caudal: 1,5 mL/min; columna: ZORBAX XDB C-18 (50 x 4,6 mm) 3,5 µM.

Método B: Fase móvil: A: NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 10 mM en agua, B: ACN; caudal: 1,2 mL/min; columna: XBridge C8 (50 x 4,6 mm), 3,5 µM.

Método C: Fase móvil: A: HCOOH al 0,1 % en agua: ACN (95:5), B: ACN; caudal: 1,5 mL/min; columna: ATLANTIS dC18 (50 x 4,6 mm), 5 µM.

Método D: Fase móvil: A: NH<sub>4</sub>OAc 10 mM en agua, B: ACN; caudal: 1,2 mL/min; columna: Zorbax Extend C18 (50 x 4,6 mm) 5 µM.

Método E: Fase móvil: A: TFA al 0,1 % en agua: ACN (95:5), B: TFA al 0,1 % en ACN; caudal: 1,5 mL/min; Columna: XBridge C8 (50 x 4,6 mm), 3,5 µM.

Método F: Fase móvil: A: TFA al 0,1 % en agua, B: TFA al 0,1 % en ACN; Caudal: 0,8 mL/min; columna: ZORBAX ECLIPSE PLUS C18 (50 x 2,1 mm), 1,8 µM.

Método G: Fase móvil: A: TFA al 0,1 % en agua, B: TFA al 0,1 % en ACN; Caudal: 0,8 mL/min; columna: Acquity UPLC BEH C18 (2,1 x 50 mm), 1,7 µm.

25     **UPLC:**

[0188]

Nombre del instrumento: waters Acquity I Class

Method A: fase móvil: A: 0,1 % HCOOH en agua, B: 0,1 % HCOOH en ACN; Caudal: 0,8 mL/min; Columna: Acquity UPLC HSS T3 (2,1 x 50) mm; 1,8 µm.

**CLAR:**

35     [0189]

Nombre del instrumento: instrumentos de la serie Agilent 1260 Infinity II usando % con detección UV (maxplot).

Método A: Fase móvil: A: NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 10 mM en agua, B: ACN; caudal: 1,0 mL/min; columna: XBridge C8 (50 x 4,6 mm, 3,5 µm).

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

Método C: Fase móvil: A: NH<sub>4</sub>OAc 10 mM en agua miliq, B: ACN; caudal: 1,0 ml/min; columna: Phenomenex Gemini C18 (150 x 4,6 mm, 3,0 µm).

Método D: Fase móvil: A: TFA al 0,1 % en agua, B: ACN; caudal: 1,0 mL/min; columna: ATLANTIS dC18 (250 x 4,6 mm, 5,0 µm).

**CLAR quiral:**

[0190]

50

Nombre del instrumento: Agilent 1260 Infinity II

Método A: Fase móvil: A: TFA al 0,1 % en n-hexano; B: etanol, caudal: 1,0 mL/min; Columna: CHIRALPAK IA (250 x 4,6 mm, 5,0 µm).

55     **SFC quiral:**

[0191]

Nombre del instrumento: PIC SFC 10 (analítico)

La relación entre CO<sub>2</sub> y codisolvente oscila entre 60:40 y 80:20

Método A: Fase móvil: isopropilamina al 0,5 % en IPA; caudal: 3 mL/min; columna: YMC Amylose-SA (250 x 4,6 mm, 5 µm).

Método B: Fase móvil: isopropilamina al 0,5 % en IPA; caudal: 3 mL/min; columna: Chiralpak AD-H (250 x 4,6 mm, 5 µm).

65

Método C: Fase móvil: amoníaco 20 mM en metanol; caudal: 3 mL/min; columna: YMC Celulosa-SC (250 x 4,6 mm, 5 µm).

- Método D:** Fase móvil: metanol; caudal: 3 mL/min; columna: Lux A1 (250 x 4,6 mm, 5 µm).
- Método E:** Fase móvil: isopropilamina al 0,5 % en metanol; caudal: 5 mL/min; columna: Lux C4.
- Método F:** Fase móvil: isopropilamina al 0,5 % en metanol; caudal: 3 mL/min; columna: YMC Celulosa-SC.
- Método G:** Fase móvil: isopropilamina al 0,5 % en metanol; caudal: 3 mL/min; columna: Lux A1.
- Método H:** Fase móvil: isopropilamina al 0,5 % en IPA; caudal: 3 mL/min; columna: Lux A1 (250 x 4,6 mm, 5 µm).
- Método I:** Fase móvil: isopropilamina al 0,5 % en metanol; caudal: 3 mL/min; columna: CCS quiral (250 x 4,6 mm, 5 µm).
- Método J:** Fase móvil: isopropilamina al 0,5 % en IPA; caudal: 5 mL/min; columna: YMC Celulosa-SC AD-H (250 x 4,6 mm, 5 µm).
- Método K:** Fase móvil: Isopropilamina al 0,5 % en metanol; caudal: 4 mL/min; columna: (R,R)-Buccino-01 (250 x 4,6 mm, 5 µm).
- Método L:** Fase móvil: Isopropilamina al 0,5 % en IPA; caudal: 3 mL/min; columna: Chiralcel OX-H (250 x 4,6 mm, 5 µm).
- Método M:** Fase móvil: Isopropilamina al 0,5 % en IPA; caudal: 5 mL/min; columna: YMC Celulosa-SC (250 x 4,6 mm, 5 µm).
- Método N:** Fase móvil: metanol, caudal: 5 mL/min; columna: Chiralcel OX-H (250 x 4,6 mm, 5 µm).

**Prep-CLAR:****[0192]****Nombre del instrumento:** Agilent 1290 Infinity II**Método A:** Fase móvil: A: TFA al 0,1 % en agua; Fase móvil: B: TFA al 0,1 % en CAN; velocidad de flujo: 2,0 mL/min; Columna: X-Bridge C8 (50 x 4,6 mm, 3,5 µM).**Método B:** Fase móvil: A: NH<sub>4</sub>OAc 10 mM en agua; B: ACN; caudal: 35 mL/min; columna: 3 seleccione C18 (30 x 150 mm, 5 µm).**Método C:** Fase móvil: A: NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 10 mM en agua; B: ACN; caudal: 1,0 mL/min; columna: XBridge C8 (50 x 4,6 mm, 3,5 µm).**Método D:** Fase móvil: A: 0,1 % HCOOH en agua; B: ACN; caudal: 1,0 mL/min; columna: X-select C18 (30 x 150 mm, 5 µm).**SFC preparativo quiral:****[0193]****Nombre del instrumento:** PIC SFC 100 y PSC SFC 400La relación entre CO<sub>2</sub> y codisolvente oscila entre 60:40 y 80:20**Método A:** fase móvil: isopropilamina al 0,5 % en IPA; caudal: 3 mL/min; columna: YMC Amylose-SA (250 x 30 mm, 5 µm).**Método B:** Fase móvil: isopropilamina al 0,5 % en IPA; caudal: 3 mL/min; columna: Chiraldak AD-H (250 x 30 mm, 5 µm).**Método C:** Fase móvil: amoníaco 20 mM en metanol; caudal: 3 mL/min; columna: YMC Celulosa-SC (250 x 30 mm, 5 µm).**Método D:** Fase móvil: metanol; caudal: 3 mL/min; columna: CCS quiral (250 x 30 mm, 5 µm).**Método E:** Fase móvil: metanol; caudal: 3 mL/min; columna: Lux A1 (250 x 30 mm, 5 µm).**Método F:** Fase móvil: isopropilamina al 0,5 % en IPA; caudal: 3 mL/min; columna: Lux A1 (250 x 30 mm, 5 µm).**Método G:** Fase móvil: isopropilamina al 0,5 % en metanol; caudal: 3 mL/min; columna: CCS quiral (250 x 30 mm, 5 µm).**Método H:** fase móvil: isopropilamina al 0,5 % en IPA, caudal: 5 mL/min; columna: YMC Amylose-SC (250 x 30 mm, 5 µm).**Método J:** Fase móvil: isopropilamina al 0,5 % en IPA; caudal: 3 mL/min; columna: Chiralcel OX-H (250 x 30 mm, 5 µm).**Método K:** Fase móvil: isopropilamina al 0,5 % en metanol; caudal: 5 mL/min; columna: YMC Celulosa-SC (250 x 30 mm, 5 µm).**Método L:** Fase móvil: metanol; caudal: 5 mL/min; columna: Chiralcel OX-H (250 x 30 mm, 5 µm).**CLAR preparativa quiral:****[0194]****Nombre del instrumento:** Agilent 1260 Infinity II**Método A:** Fase móvil: A: TFA al 0,1 % en n-hexano; B: etanol; caudal: 15 mL/min; Columna: CHIRALPAK IA (250 x 19 mm, 5,0 µm).**Abreviaturas**

[0195]

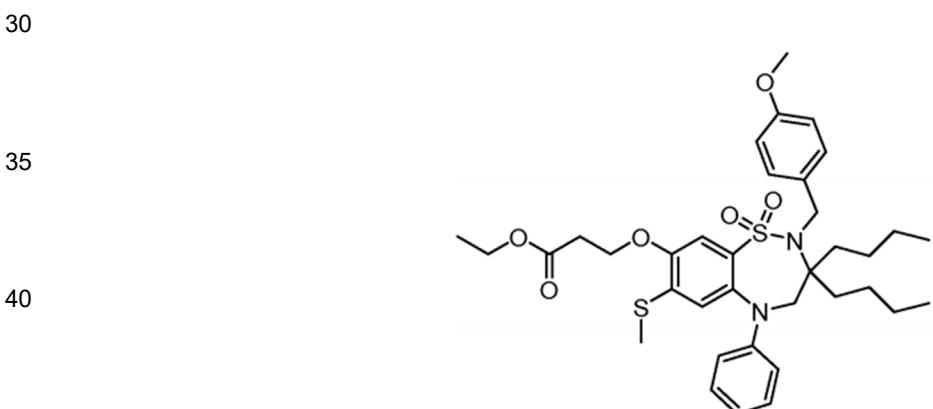
5	ACN	acetonitrilo
	DCM	diclorometano
	DMAP	4-dimetilaminopiridina
	DMF	dimetilformamida
	IPA	alcohol isopropílico
10	CLEM	cromatografía líquida - espectrometría de masas
	CLAR	cromatografía líquida de alta resolución
	PE	éter de petróleo
	SFC	cromatografía de fluidos supercríticos
	TFA	ácido trifluoroacético
15	THF	tetrahidrofurano
	TLC	cromatografía en capa fina
	UPLC	cromatografía líquida de ultra resolución

[0196] La invención se describirá ahora mediante los siguientes ejemplos que no limitan la invención en ningún aspecto.

## 20 EJEMPLOS

**Intermedio 1**25 **Etil 3-((3,3-dibutil-2-(4-metoxibencil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)propanoato**

[0197]



[0198] A una suspensión agitada de 3,3-dibutil-8-hidroxi-2-(4-metoxibencil)-7-(metiltio)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido (12 g, 21,1 mmol) en acrilato de etilo (80 mL) a temperatura ambiente, DMAP (257 mg, 2,11 mmol) fue añadido. La mezcla de reacción se calentó en un tubo sellado durante 72 horas a 100 °C. El progreso de la reacción se controló por TLC, lo que indicó la conversión incompleta (~40 %) del material de partida. La mezcla de reacción se evaporó y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título bruto, que se envió al siguiente paso sin más purificación. **Rendimiento:** 15 g (goma cruda, marrón).

[0199] **CLEM:** (Método A) 669,3 ( $M^{++}H$ ), Tr. 3,66 min, 36,45 % (máx.).55 **Intermedio 2**

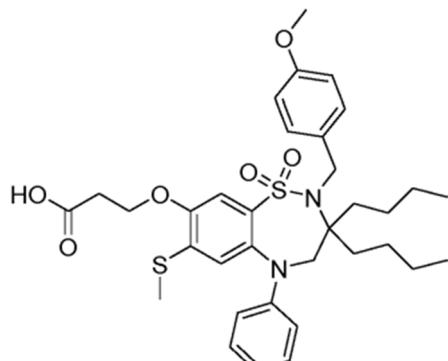
3-((3,3-dibutil-2-(4-metoxibencil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)propanoico

60 [0200]

5

10

15

*Preparación 1:*

20 [0201] A una solución agitada de etil 3-((3,3-dibutil-2-(4-metoxibencil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-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, se añadió gota a gota LCP (6 N, 200 mL) y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 80 °C. Una vez completada la reacción (supervisada por CLEM), la mezcla de reacción se diluyó con agua helada (500 mL) y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 200 mL). La parte orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se evaporó al vacío. El material bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (eluyente: EtOAc al 20-70 %/PE; gel de sílice: 230-400 mesh) para proporcionar el compuesto del título. **Rendimiento:** 39 % (15 g, goma marrón).

25 [0202] **CLEM:** (Método E) 641,3 (M<sup>+</sup>+H), Tr. 2,93 min, 75,38 % (máx.).

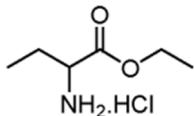
*Preparación 2:*

30 [0203] A una suspensión agitada de 3,3-dibutil-8-hidroxi-2-(4-metoxibencil)-7-(metiltio)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-diÓido (500 mg, 0,88 mmol) en THF (5 mL) a 0 °C, se añadió *terc*-butÓido de potasio (99 mg, 0,88 mmol) y la mezcla de reacción se agitó 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 la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se acidificó con LCP 1,5 N a 0 °C y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 10 mL). La capa orgánica combinada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se evaporó al vacío. El producto bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (eluyente: EtOAc al 10-50 %/PE; gel de sílice: 230-400 mesh) para producir el compuesto del título. **Rendimiento:** 53 % (300 mg, sólido blanco).

40 [0204] **CLEM:** (Método D) 641,3 (M<sup>+</sup>+H), Tr. 3,48 min, 96,63 % (máx.).

**Intermedio 3****Clorhidrato de 2-aminobutanoato de etilo**

45 [0205]



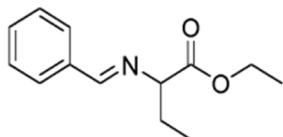
50 55 [0206] A una solución agitada de ácido 2-aminobutanoico (100 g, 0,97 mol) en etanol (750 mL), se añadió cloruro de tionilo (78 mL, 1,07 mol) a 0° C. A continuación, la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 80 °C. Una vez completada la reacción, la mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título bruto que se usó como tal para el siguiente paso sin ninguna purificación adicional. **Rendimiento:** 93 % (152 g, sólido blanco).

60 [0207] **<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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).

65

**Intermedio 4****(E)-2-(bencilidenamino) butanoato de etilo****[0208]**

5



- 10 [0209] A una solución agitada de clorhidrato de 2-aminobutanoato de etilo (Intermedio 3; 152 g, 0,91 mol) en DCM (900 mL), trietilamina (152 mL, 1,09 mol) a 0 °C durante un período de 30 minutos. Se añadió en porciones sulfato de magnesio (98 g, 0,82 mol) a la mezcla de reacción a 0°C. A continuación, se añadió benzaldehído (84 ml, 0,82 mol) a la mezcla de reacción a 0 °C durante un período de 20 minutos y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de celite y el filtrado se concentró al vacío. El crudo resultante se disolvió en éter de petróleo (1000 mL) y se filtró de nuevo a través de celite. Luego, el filtrado se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título. Este material bruto se envió como tal al siguiente paso sin más purificación. **Rendimiento:** 90 % (180 g, líquido marrón claro).
- 15

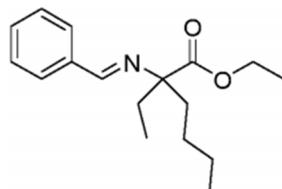
20 [0210]  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8,40 (s, 1H), 7,79-7,76 (m, 2H), 7,49-7,47 (m, 3H), 4,16-4,10 (m, 2H), 3,98-3,95 (m, 1H), 1,92-1,89 (m, 1H), 1,79-1,74 (m, 1H), 1,19 (t,  $J$  = 7,2 Hz, 3H), 0,85 (t,  $J$  = 7,2 Hz, 3H).

**Intermedio 5****(E)-2-(bencilidenamino)-2-etilhexanoato de etilo**

25

**[0211]**

30



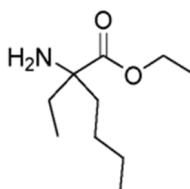
35

- 40 [0212] A una solución agitada de NaH (60 %; 32,8 g, 0,82 mol) en DMF (100 mL) a 0 °C, se añadió lentamente (E)-2-(bencilidenamino)butanoato (Intermedio 4; 180 g, 0,82 mol) en DMF (800 mL) durante un período de 30 minutos. A continuación, la mezcla de reacción se agitó durante 1,5 horas a temperatura ambiente. Se añadió yoduro de *n*-butilo (93 mL, 0,82 mol) a la mezcla de reacción a 0 °C y la mezcla se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con 2-propanol (100 mL) a 0 °C y luego se diluyó con agua (1000 mL). La capa acuosa se extrajo con éter de petróleo (1000 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera (200 mL) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhídrido. La parte orgánica se concentró al vacío y el material crudo resultante se envió como tal al siguiente paso sin purificación adicional. **Rendimiento:** 88 % (200 g, líquido amarillo).
- 45

50 [0213]  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  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).

**Intermedio 6****2-amino-2-etilhexanoato de etilo****[0214]**

55



60

- 65 [0215] A una solución agitada de (E)-2-(bencilidenamino)-2-etilhexanoato de etilo (Intermedio 5; 200 g, 0,73 mol) en éter de petróleo (500 mL), se añadió LCP diluido (1000 mL, 1,5 N) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó vigorosamente durante 16 horas a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la capa orgánica se

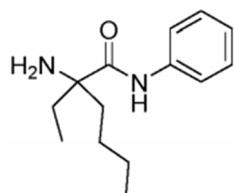
separó y la capa acuosa se lavó con EtOAc (2 x 100 mL). Luego, la capa acuosa se alcalinizó (pH ~8,5) utilizando bicarbonato de sodio sólido (200 g) y se extrajo con EtOAc (2 x 200 mL). La capa orgánica se lavó con agua (2 x 15 mL). La parte orgánica combinada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título. El material bruto se envió como tal al siguiente paso sin más purificación. **Rendimiento:** 80 % (110 g, líquido amarillo pálido).

5 [0216] **<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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).

10 **Intermedio 7**

**2-Amino-2-etil-N-fenilhexanamida**

15 [0217]



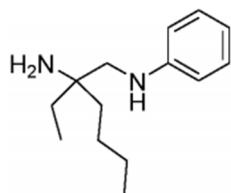
20 [0218] A una solución agitada de anilina (48,3 ml, 534 mmol) en THF (250 mL) a -78 °C, se añadió n-BuLi (2,6 M en hexanos; 205 ml, 534 mmol). se añadió gota a gota durante un período de 30 minutos, y la mezcla de reacción se agitó durante 45 minutos de -25 °C a -30 °C. Luego, se agregó 2-amino-2-etilhexanoato de etilo (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. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua (500 mL) a -78 °C. La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (2 x 250 mL) y la capa orgánica se lavó con agua (2 x 15 mL). La parte orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título en bruto. El producto bruto se disolvió en éter de petróleo (1000 mL). La parte orgánica se lavó con metanol al 30 % en agua (2 x 250 mL) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro. La parte orgánica se concentró al vacío y el crudo resultante se envió como tal al siguiente paso sin más purificación. **Rendimiento:** 66 g (crudo, líquido marrón).

35 [0219] **<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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).

40 **Intermedio 8**

**2-Etil-N1-fenilhexano-1,2-diamina**

45 [0220]



50 [0221] A una solución agitada de 2-amino-2-etil-N-fenilhexanamida (Intermedio 7; 66 g, 0,28 mol) en THF (600 mL), se añadió dimetilsulfuro de borano (2 M en THF, 253 ml, 0,51 mol) a 0 °C y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 70 °C. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con metanol (300 mL) a 0 °C. A continuación, la mezcla de reacción se calentó durante 2 horas a 70 °C. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo obtenido se disolvió en EtOAc (1000 mL). La capa orgánica se lavó con agua (2 x 150 mL), se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró al vacío. El crudo resultante se purificó por cromatografía en columna Isolera (eluyente: EtOAc al 40 % en hexano; gel de sílice: 230-400 mesh) para proporcionar el compuesto del título. **Rendimiento:** 82 % (50 g, líquido marrón).

60 [0222] **<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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).

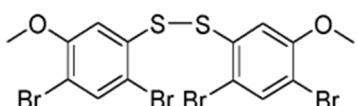
65

Intermedio 9

### **1,2-bis(2,4-dibromo-5-metoxifenil)disulfano**

[0223]

5



10

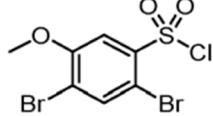
**[0224]** A una solución agitada de 3-metoxibencenotiol (100 g, 0,7 mol) en metanol (1000 mL), bromo (73 mL, 1,4 mol) gota a gota a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se evaporó al vacío y el crudo obtenido se diluyó con EtOAc (2000 mL) y se lavó con agua (2 x 500 mL). La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró al vacío. El crudo resultante se disolvió en ácido acético glacial (600 mL), se añadió gota a gota bromo (20 mL) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. El sólido obtenido se filtró, se trituró con DCM y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título puro. **Rendimiento:** 37 % (78 g, sólido blanco). **<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,69 (s, 2H), 7,17 (s, 2H), 3,84 (s, 6H).

20

Intermedio 10

#### **Cloruro de 2,4-dibromo-5-metoxibencenosulfonilo**

25 [0225]



35

**[0226]** A una suspensión agitada de 1,2-bis(2,4-dibromo-5-metoxifenil)disulfano (Intermedio 9; 20,0 g, 33,67 mmol) y se añadió gota a gota nitrato de potasio (17,02 g, 168,35 mmol) en acetonitrilo (200 mL) y cloruro de sulfurilo (13,6 mL, 168,35 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se vertió en hielo picado y el sólido obtenido se separó por filtración. El sólido se lavó con agua y se secó al vacío para dar el compuesto del título puro. **Rendimiento:** 91 % (22,5 g, sólido blanco).

[0227]  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.05 (s, 1H), 7.66 (s, 1H), 4.01 (s, 3H).

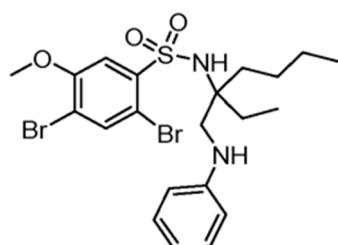
Intermedio 11

45

### **2,4-Dibromo-5-metoxi-N-(3-((fenilamino)metil)heptan-3-il)bencenosulfonamida**

[0228]

50



60

**[0229]** 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-metoxibencenosulfonilo (Intermedio 10; 10,5 g, 28,91 mmol) y trietilamina (9,3 mL, 67,02 mmol) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (50 mL). La capa orgánica se lavó con agua (2 x 15 mL) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhídrico. La parte orgánica se concentró al vacío y el crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna Isolera (eluyente: EtOAc al 10 %/PE: gel de sílice; 230-400 mesh) para producir el

compuesto del título. **Rendimiento:** 59 % (7,2 g, sólido blanco).

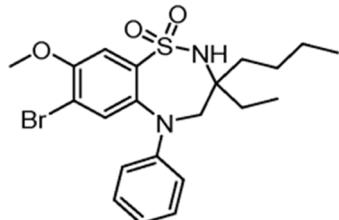
**[0230]  $^1\text{H RMN}$**  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8,01 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 7,03 (t,  $J$  = 8,1 Hz, 2H), 6,54 - 6,46 (m, 3H), 4,80 (t,  $J$  = 5,1 Hz, 1H), 3,86 (s, 3H), 3,07-2,96 (m, 2H), 1,66-1,41 (m, 4H), 1,15-0,95 (m, 4H), 0,78-0,69 (m, 6H).

5

### Intermedio 12

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

10 [0231]



25 **[0232]** A una solución agitada de 2,4-dibromo-5-metoxi-N-(3-((fenilamino)metil)heptan-3-il)bencenosulfonamida (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 la mezcla de reacción se calentó durante 24 horas a 150 °C. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de celite y se lavó con EtOAc (25 mL). La parte del filtrado se concentró al vacío y el producto bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna Isolera (eluyente: EtOAc al 20 %/PE; gel de sílice: 230-400 mesh) para producir el compuesto del título. **Rendimiento:** 83 % (5,1 g, sólido blanco).

30

**[0233]  $^1\text{H RMN}$**  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  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). **CLEM:** (Método A) 467,0 (M+), Tr. 3,06 min, 95,31 % (máx.).

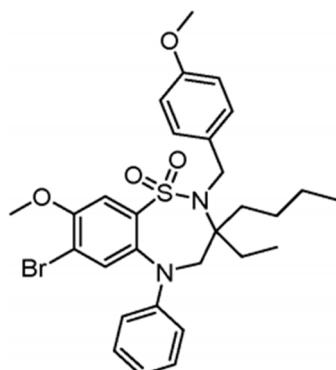
### Intermedio 13

35

#### 7-Bromo-3-butil-3-etil-8-metoxi-2-(4-metoxibencil)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido

[0234]

40



55 **[0235]** 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 Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (27,8 g, 85,5 mmol) y bromuro de p-metoxibencilo (7,98 ml, 39,5 mmol) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (200 mL) y la capa orgánica se lavó con agua (2 x 50 mL). La parte orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró al vacío. El crudo resultante se purificó por cromatografía en columna Isolera (eluyente: EtOAc al 10 %/PE; gel de sílice: 230-400 mesh) para producir el compuesto del título. **Rendimiento:** 64 % (16 g, sólido blanco).

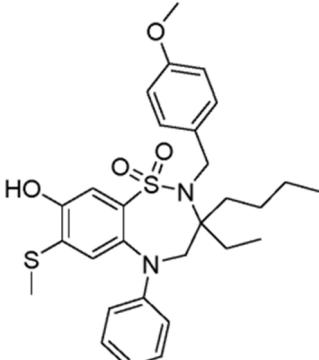
65 **[0236] CLEM:** (Método A) 587,2 (M+), Tr. 3,51 min, 92,94 % (máx.).

**Intermedio 14**

**3-butil-3-etil-8-hidroxi-2-(4-metoxibencil)-7-(metiltio)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido**

[0237]

5



10

15

20

25

[0238] A una solución agitada de 7-bromo-3-butil-3-etil-8-metoxi-2-(4-metoxibencil)-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), tiometóxido de sodio (9,5 g, 136,1 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 60 °C. Una vez completada la reacción (supervisada por CLEM), la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (200 mL) y la fase orgánica se lavó con agua (2 x 50 mL). La parte orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, luego se concentró al vacío y el crudo resultante se purificó mediante cromatografía en columna Isolera (eluyente: EtOAc al 10 %/PE; gel de sílice: 230-400 mesh) para producir el compuesto del título. **Rendimiento:** 65 % (9,2 g, sólido blanco).

30

[0239] **<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 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). **CLEM:** (Método E) 541,2 (M<sup>+</sup>+H), Tr. 2,86 min, 93,67 % (máx.).

**Intermedio 15**

35

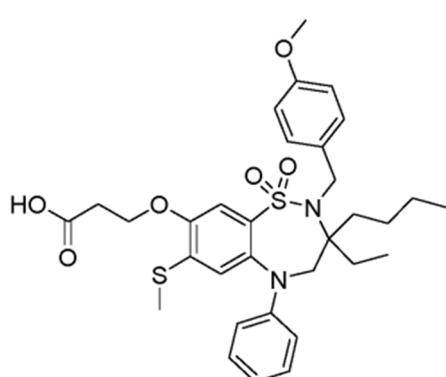
**Ácido 3-((3-butil-3-etil-2-(4-metoxibencil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)propanoico**

[0240]

40

45

50



55

60

[0241] A una solución agitada de 1,1-dióxido de 3-butil-3-etil-8-hidroxi-2-(4-metoxibencil)-7-(metiltio)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina (intermedio 14; 1 g, 1,85 mmol) en THF (3 mL) a 0 °C, *terc*-butóxido de potasio (208 mg, 1,85 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos. A continuación, se añadió gota a gota una solución de β-propiolactona (148 mg, 2,03 mmol) en THF (2 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con LCP diluido (1,5 N, 5 mL) y luego se diluyó con agua (5 mL). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 20 mL) y la capa orgánica combinada se lavó con agua (20 mL) y salmuera (20 mL) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro. La parte orgánica se filtró, se concentró al vacío y el material bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna Isolera (eluyente: 35 % EtOAc/PE; gel de sílice: 230-400 mesh) para proporcionar el compuesto del título. **Rendimiento:** 48 % (550 mg, sólido blanco).

65

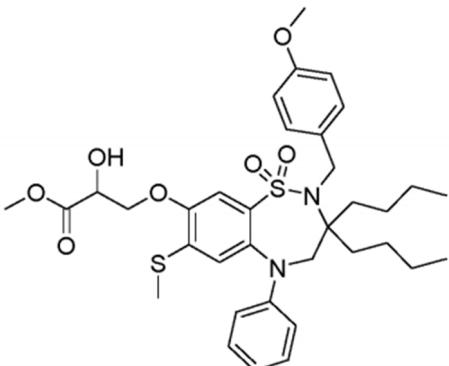
[0242] **CLEM:** (Método A) 613,3 (M<sup>+</sup>+H), Tr. 3,04 min, 91,99 % (máx.).

**Intermedio 16**

3-((3,3-dibutil-2-(4-metoxibencil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-hidroxipropanoato de metilo

5

[0243]



10

15

20

**[0244]** A una solución agitada de 3,3-dibutil-8-hidroxi-2-(4-metoxibencil)-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),  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (0,57 g, 1,76 mmol) y 2,3-epoxipropanoato de metilo (0,18 g, 1,76 mmol) y la mezcla de reacción se calentó durante 12 horas a 50 °C. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua (10 mL) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 15 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (15 mL) y salmuera (15 mL) y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro. La parte orgánica se filtró y se concentró al vacío. El material bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna Isolera (eluyente: EtOAc al 20 %/PE; gel de sílice: 230-400 mesh) para proporcionar el compuesto del título. **Rendimiento:** 33 % (200 mg, goma incolora).

**[0245] CLEM:** (Método A) 671,2 ( $\text{M}^++\text{H}$ ), Tr. 3,32 min, 44,28 % (máx.).

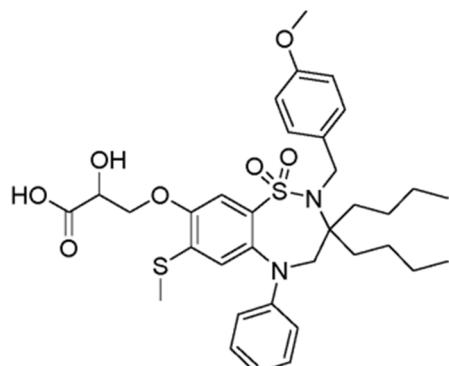
**Intermedio 17**

35

Ácido 3-((3,3-dibutil-2-(4-metoxibencil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-hidroxipropanoico

[0246]

40



45

50

55

**[0247]** A una solución de metil 3-((3,3-dibutil-2-(4-metoxibencil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-hidroxipropanoato (Intermedio 16; 200 mg, 0,31 mmol) en 1,4-dioxano (3 mL), LCP diluido (6 N, 3 mL) se añadió y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 80 °C. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua helada (5 mL) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 10 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (10 mL) y salmuera (10 mL) y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro. La parte orgánica se filtró y se concentró al vacío. El crudo resultante El material se envió al siguiente paso como tal sin ninguna purificación adicional. **Rendimiento:** 200 mg (goma cruda, incolora).

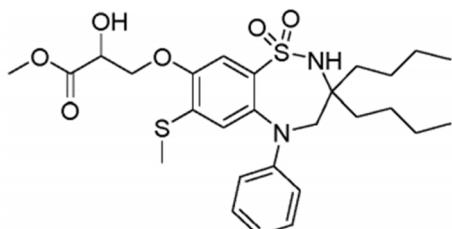
**[0248] CLEM:** (Método A) 657,2 ( $\text{M}^++\text{H}$ ), Tr. 3,0 min, 36,70 % (máx.).

65

**Intermedio 18**

**3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-hidroxipropanoato de metilo**

5 [0249]



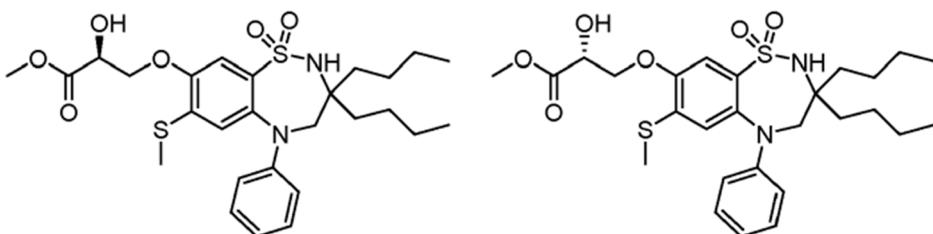
[0250] A una solución agitada de 1,1-dióxido de 3,3-dibutil-8-hidroxi-7-(metiltio)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina (0,63 g, 0,002 mmol) en DMF (9 mL) se añadió  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (0,92 g, 0,003 mmol) y 2,3-epoxipropanoato de metilo (1,28 g, 0,0126 mmol; se añadió en porciones), en 3 cantidades iguales en 72 horas), y la mezcla de reacción se agitó durante 72 horas a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con LCP diluido (1,5 N, 20 mL) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 50 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (20 mL) y salmuera (20 mL) y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro. La parte orgánica se filtró y se concentró al vacío. El material bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna Isolera (eluyente: EtOAc al 25 %/PE; gel de sílice: 230-400 mesh) para proporcionar el compuesto del título. **Rendimiento:** 28 % (220 mg, sólido blanco).

[0251] **CLEM:** (Método E) 550,8 ( $\text{M}^++\text{H}$ ), Tr. 3,22 min, 92,74 % (máx.). **CLAR:** (Método B) Tr. 6,15 min, 94,48 % (máx.).

30 **Intermedio 19**

**(S)-3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)oxi)-2-hidroxipropanoato de metilo y (R)-3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-hidroxipropanoato de metilo**

35 [0252]



[0253] Los dos enantiómeros de 3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-hidroxipropanoato de metilo racémico (Intermedio 18; 216 mg, 0,39 mmol) se separaron por SFC quirial (método A). El material se concentró al vacío a 40 °C. La primera fracción eluida correspondía al enantiómero 1 y la segunda fracción eluida correspondía al enantiómero 2. Se desconoce la configuración absoluta de los dos enantiómeros.

[0254] Después, cada una de las dos fracciones se trató individualmente para una purificación adicional. El residuo obtenido se acidificó con LCP diluido (1,5 N, pH ~4) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 5 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (10 mL) y salmuera (10 mL) y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro. La parte orgánica se filtró y se concentró al vacío a 40 °C para proporcionar un enantiómero purificado del compuesto del título.

[0255] Enantiómero 1: **Rendimiento:** 46 % (100 mg, goma incolora). **CLEM:** (Método E) 551,2 ( $\text{M}^++\text{H}$ ), Tr. 2,77 minutos, 98,09 % (máx.). **SFC quirial:** (Método A) Tr. 3,58 min, 99,10 % (máx.).

[0256] Enantiómero 2: **Rendimiento:** 41 % (90 mg, goma incolora). **CLEM:** (Método E) 551.1 ( $\text{M}^++\text{H}$ ), Tr. 2,77 min, 91,29 % (máx.). **SFC quirial:** (Método A) Tr. 4,59 min, 99,24 % (máx.).

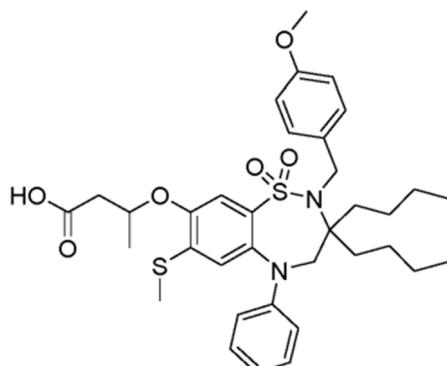
65 **Intermedio 20**

Ácido 3-((3,3-dibutil-2-(4-metoxibencil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-

il)oxi)butanoico

[0257]

5



10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

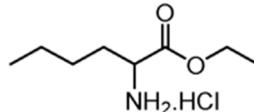
**[0258]** A una solución agitada de 3,3-dibutil-8-hidroxi-2-(4-metoxibencil)-7-(metiltio)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido (300 mg, 0,52 mmol) en THF (10 mL), *terc*-butóxido de potasio (65 mg, 0,58 mmol) y  $\beta$ -butirolactona (68 mg, 0,79 mmol) y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 60 °C. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con LCP diluido (1,5 N, 5 mL) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 10 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (10 mL) y salmuera (10 mL) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro. La parte orgánica se filtró y se concentró al vacío. El material bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna Isolera (eluyente: EtOAc al 40 %/PE; gel de sílice: 230-400 mesh) para producir el compuesto del título. **Rendimiento:** 72 % (250 mg, goma incolora).

**[0259] CLEM:** (Método E) 655,3 (M<sup>+</sup>+H), Tr. 3,03 min, 89,11 % (máx.).

### Intermedio 21

#### Clorhidrato de 2-aminohexanoato de etilo

**[0260]**



40

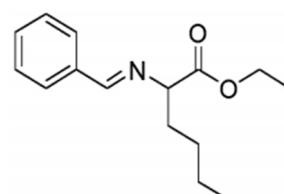
**[0261]** A una solución agitada de DL-Norleucina (100 g, 0,76 mol) en etanol (1 L), se añadió cloruro de tionilo (60,8 mL, 0,84 mol) a 0 °C y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 80 °C. Una vez completada la reacción, la mezcla de reacción se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título crudo que se usó como tal para el siguiente paso sin ninguna purificación adicional. **Rendimiento:** 97 % (145 g, sólido gomoso marrón).

**[0262] <sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  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).

### Intermedio 22

#### (E)-2-(bencilidenamino)hexanoato de etilo

**[0263]**



60

65

**[0264]** A una solución agitada de hidrocloruro de 2-aminohexanoato de etilo (Intermedio 21; 145 g, 0,74 mol) en DCM (1,5

5

L), se añadió trietilamina (124 ml, 1,2 mol) a 0 °C durante un período de 30 minutos. A continuación, se añadió en porciones sulfato de magnesio (89,2 g, 0,74 mol) 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 durante un período de 20 minutos y luego la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de celite y el filtrado se concentró al vacío. El crudo resultante se disolvió en éter de petróleo (1000 mL), se filtró nuevamente a través de celite y el filtrado se concentró al vacío para producir el compuesto del título. Este material bruto se envió como tal al siguiente paso sin más purificación. **Rendimiento:** 98 % (180 g, líquido marrón).

10 [0265] **<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 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).

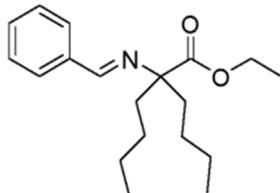
### Intermedio 23

#### (E)-2-(bencilidenamino)-2-butilhexanoato de etilo

15

[0266]

20



25

30 [0267] A una solución agitada de NaH (60 %, 29,1 g, 0,73 mol) en DMF (250 mL) a 0 °C se añadió una solución de (E)-2-(bencilidenamino) hexanoato de etilo (Intermedio 22; 180 g, 0,73 mol) en DMF (250 mL) durante un período de 30 minutos. La mezcla de reacción se agitó durante 1,5 horas a temperatura ambiente. Luego se añadió una solución de yoduro de n-butilo (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. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua (1000 mL) y la fase acuosa se extrajo con éter de petróleo (1000 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera (200 mL) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhídrico. La parte orgánica se concentró al vacío y el material crudo resultante se envió como tal al siguiente paso sin purificación adicional. **Rendimiento:** 95 % (210 g, líquido marrón).

35

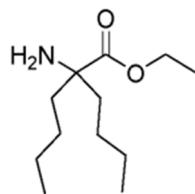
### Intermedio 24

#### 2-amino-2-butilhexanoato de etilo

40

[0268]

45



50

55 [0269] A una solución agitada de (E)-2-(bencilidenamino)-2-butilhexanoato de etilo (Intermedio 23; 210 g, 0,76 mol) en éter de petróleo (1000 mL), LCP diluido (1000 mL, 1,5 N) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó vigorosamente durante 16 horas a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la capa orgánica se separó y se lavó con EtOAc (2 x 100 mL).

60

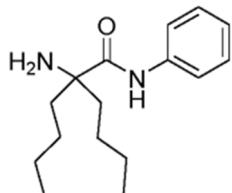
[0270] Luego, la capa acuosa se alcalinizó (pH ~10) utilizando una solución de hidróxido de sodio y se extrajo con DCM (2 x 1000 mL). La parte orgánica combinada se lavó con agua (2 x 1000 mL), salmuera (1000 mL) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhídrico. La parte orgánica se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título que se envió como tal al siguiente paso sin ninguna purificación adicional. **Rendimiento:** 52 % (85 g, líquido marrón).

[0271] **<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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).

65

**Intermedio 25****2-Amino-2-butil-N-fenilhexanamida****[0272]**

5



10

15

**[0273]** 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) gota a gota durante un período de 30 minutos y la mezcla de reacción se agitó durante 45 minutos de -25 °C a -30 °C. A continuación, se añadió a la mezcla de reacción una solución de 2-amino-2-butilhexanoato de etilo (intermedio 24; 45 g, 209 mmol) en THF (200 mL) a -78 °C y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a esa temperatura.

Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se inactivó a -78 °C con isopropanol (100 mL) y luego con agua helada (500 mL), y la mezcla de reacción se dejó en agitación durante 1 hora a temperatura ambiente. La parte acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 250 mL) y la capa orgánica combinada se lavó con agua (2 x 50 mL). La parte orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhídrico y se concentró al vacío para proporcionar el compuesto del título en bruto. El material bruto obtenido se disolvió en éter de petróleo (1000 mL), se lavó con metanol al 30 % en agua (2 x 250 mL) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhídrico. La parte orgánica se concentró al vacío y el crudo resultante se envió como tal al siguiente paso sin más purificación. **Rendimiento:** 60 g (crudo, líquido marrón).

20

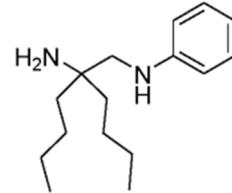
**[0274] CLEM:** (Método A) 263,3 (M+), Tr. 1,29 min, 95,84 % (máx.).

**Intermedio 26**

30

**2-Butil-N1-fenilhexano-1,2-diamina****[0275]**

35



40

45

50

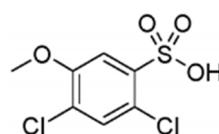
**[0276]** A una solución agitada de 2-amino-2-butil-N-fenilhexanamida (Intermedio 25; 100 g, 0,38 mol) en THF (1 L), complejo de sulfuro de dimetil borano (2 M en THF, 476 ml, 0,95 mol) a 0 °C y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 70 °C. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con metanol (300 mL) a 0 °C y la mezcla de reacción se calentó durante 2 horas a 70 °C. A continuación, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo obtenido se disolvió en EtOAc (1000 mL) y la capa orgánica se lavó con agua (2 x 300 mL) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhídrico. La parte orgánica se concentró al vacío y el material bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna Isolera (eluyente: 0-25 % de EtOAc en hexano; gel de sílice: 230-400 mesh) para producir el compuesto del título. **Rendimiento:** 39 % (37 g, líquido marrón).

**Intermedio 27****Ácido 2,4-dicloro-5-metoxibencenosulfónico**

55

**[0277]**

60



65

**[0278]** A una solución agitada de ácido clorosulfónico (60 mL) a 0 °C, se añadió en porciones 2,4-dicloroanisol (20 g, 113 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 3 horas entre 0 y 10 °C. Una vez completada la reacción (controlada por

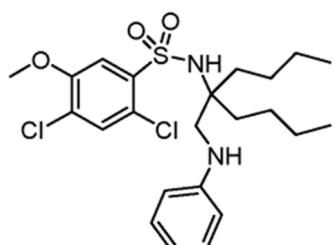
TLC), la mezcla de reacción se vertió sobre hielo picado con agitación vigorosa y el sólido obtenido se separó por filtración. El sólido se lavó varias veces con agua helada (50 mL), éter de petróleo (50 mL) y luego se secó al vacío para producir el compuesto del título. **Rendimiento:** 70 % (19 g, sólido blanquecino).

- 5 [0279] **CLEM:** (Método A) 255,0 ( $M^+ - H$ ), Tr. 2,66 min, 96,06 % (máx.).

#### Intermedio 28

##### 2,4-Dicloro-5-metoxi-N-(5-((fenilamino)metil)nonan-5-il)bencenosulfonamida

10 [0280]



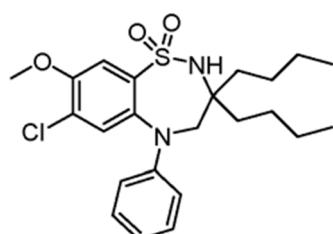
15 [0281] Una solución de ácido 2,4-dicloro-5-metoxibencenosulfónico (Intermedio 27; 10 g, 41,5 mmol) en  $SOCl_2$  (20 mL) se calentó durante 12 horas a 70 °C. Despues del consumo completo del material de partida, la mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo obtenido se disolvio en THF (50 mL). Se añadió una solución de trietilamina (17 mL, 124,7 mmol) en THF (100 mL) y luego 2-butil-N1-fenil-hexano-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. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua helada (30 mL) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 100 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (100 mL) y salmuera (100 mL) y se secó sobre  $Na_2SO_4$  anhidro. La parte orgánica se filtró y se concentró al vacío. El material bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna Isolera (eluyente: EtOAc al 25-35 %/PE; gel de sílice: 230-400 mesh) para proporcionar el compuesto del título. **Rendimiento:** 40 % (8 g, sólido blanquecino).

- 20 [0282] **CLEM:** (Método E) 487,1 ( $M^+ + H$ ), Tr. 2,93 min, 43,66 % (máx.).

#### Intermedio 29

##### 3,3-dibutil-7-cloro-8-metoxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido

25 [0283]



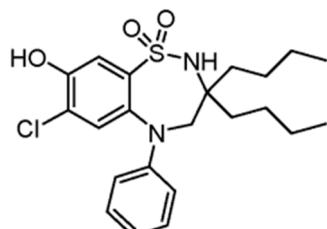
30 [0284] A una solución agitada de 2,4-dicloro-5-metoxi-N-(5-((fenilamino)metil)nonan-5-il)bencenosulfonamida (Intermedio 28; 4 g, 8,21 mmol) en DMF (20 mL),  $K_2CO_3$  anhidro (2,26 g, 16,42 mmol) y polvo de cobre (0,52 g, 8,21 mmol) y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 120 °C. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de celite y la capa de celite se lavó con DCM (10 mL). El filtrado se concentró al vacío y el material bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna Isolera (eluyente: 2-20 % EtOAc/PE; gel de sílice: 230-400 mesh) para proporcionar el compuesto del título. **Rendimiento:** 24 % (900 mg, sólido blanquecino).

- 35 [0285] **CLEM:** (Método E) 451,1 ( $M^+ + H$ ), Tr. 2,96 min, 34,15 % (máx.).

**Intermedio 30**

**3,3-dibutil-7-cloro-8-hidroxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido [0286]**

5



10

[0287] A una solución de 3,3-dibutil-7-cloro-8-metoxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotia-diazepina 1,1-dióxido (Intermedio 29; 0,9 g, 1,2 mmol) en DCM (4 mL) a -78 °C, se añadió  $\text{BBr}_3$  (1 M en DCM; 4 mL, 4 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 3 h entre -10 °C y 0 °C. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua helada (10 mL). La capa orgánica se lavó con agua (10 mL) y salmuera (10 mL). La parte orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y se concentró al vacío. El material bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna Isolera (eluyente: 0-20 % de EtOAc/PE; gel de sílice: 230-400 mesh) para proporcionar el compuesto del título. **Rendimiento:** 22 % (195 mg, goma amarilla).

15

[0288] **CLEM:** (Método E) 437,1 ( $\text{M}^++\text{H}$ ), Tr. 2,80 min, 53,01 % (máx.).

**Intermedio 31**

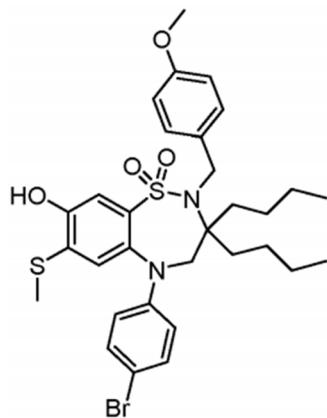
25

**1,1-dióxido de 5-(4-Bromofenil)-3,3-dibutil-8-hidroxi-2-(4-metoxibencil)-7-(metiltio)-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina**

30

[0289]

35



40

45

[0290] A una solución agitada de 1,1-dióxido de 3,3-dibutil-8-hidroxi-2-(4-metoxibencil)-7-(metiltio)-5-fenilo-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina (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. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se vertió en agua helada (20 mL), se agitó y se filtró. El sólido obtenido se purificó mediante cromatografía en columna Isolera (eluyente: EtOAc al 25 %/PE; gel de sílice: 230-400 mesh) para proporcionar el compuesto del título. **Rendimiento:** 82 % (2,8 g, sólido blanco).

55

[0291] **CLEM:** (Método B) 648.2 ( $\text{M}^++2$ ), Tr. 4,65 min, 67,27 % (máx.).

**Intermedio 32**

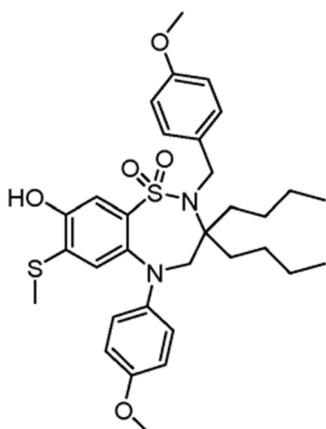
60

**3,3-dibutil-8-hidroxi-2-(4-metoxibencil)-5-(4-metoxifenil)-7-(metiltio)-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-1,1-dióxido de benzotiadiazepina**

de

[0292]

65



20 [0293] A una solución de 1,1-dióxido de 5-(4-bromofenil)-3,3-dibutil-8-hidroxi-2-(4-metoxibencil)-7-(metiltio)-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotriadiazepina (intermedio 31; 2,0 g, 3,09 mmol) en DMF (20 mL) a 0 °C, bromuro cuproso (44 mg, 0,31 mmol) se añadió, seguido de una solución recién preparada de metóxido de sodio (preparada *in situ* añadiendo sodio (0,35 g, 15,4 mmol) a metanol seco (10 ml)). A continuación, la mezcla de reacción se calentó durante 24 horas a 100 °C. Una vez completada la reacción (supervisada por UPLC), la mezcla de reacción se inactivó con LCP diluido (1,5 N, 10 mL) y la fase acuosa se extrajo con una mezcla 1:1 de EtOAc y PE (2 x 30ml). La capa orgánica combinada se lavó con agua (50 mL) y salmuera (50 mL) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro. La parte orgánica se filtró y se concentró al vacío. El material bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna Isolera (eluyente: EtOAc al 20 %/PE; gel de sílice: 230-400 mesh) para proporcionar el compuesto del título. **Rendimiento:** 81 % (1,5 g, sólido amarillo pálido).

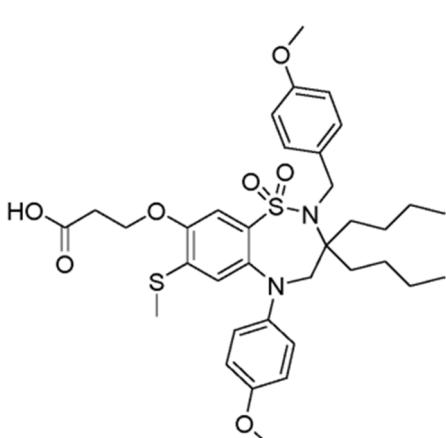
25

30 [0294] CLEM: (Método E) 599,3 (M<sup>+</sup>+H), Tr. 3,38 min, 99,50 % (máx.).

### 35 Intermedio 33

Ácido 3-((3,3-dibutyl-2-(4-metoxibenzo)benzotriazepin-8-il)oxy)propanoico

35 [0295]



55 [0296] A una solución de 3,3-dibutil-8-hidroxi-2-(4-metoxibenzo)-5-(4-metoxifenil)-7-(metiltio)-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotriadiazepina 1,1-dióxido (intermedio 32; 1,5 g, 2,64 mmol) en THF (20 mL), *terc*-butóxido de potasio (326 mg, 2,9 mmol) 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. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con LCP diluido (1,5 N, 20 mL) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 30 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (30 mL) y salmuera (30 mL) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro. La parte orgánica se filtró y se concentró al vacío. El material bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna Isolera (eluyente: 0-70 % EtOAc/PE; gel de sílice: 230-400 mesh) para proporcionar el compuesto del título. **Rendimiento:** 48 % (850 mg, sólido blanco).

60

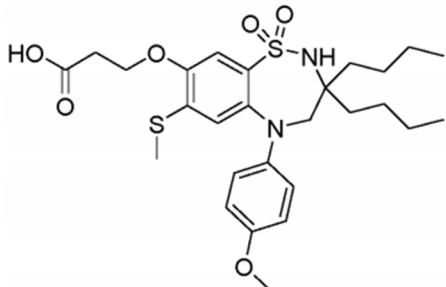
65 [0297] CLEM: (Método E) 670,8 (M<sup>+</sup>+H), Tr. 3,37 min, 94,99 % (máx.).

**Intermedio 34**

Ácido 3-((3,3-dibutil-5-(4-metoxifenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)oxi)propanoico

5

[0298]



20 [0299] A una solución de ácido 3-((3,3-dibutil-2-(4-metoxibenzoil)-5-(4-metoxifenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)propanoico (intermedio 33; 850 mg, 1,27 mmol) en tolueno (10 mL), trifenilamina (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 la mezcla de reacción se dejó en agitación durante 16 horas a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se concentró al vacío. El material bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna Isolera (eluyente: MeOH al 0-5 %/DCM; gel de sílice: 230-400 mesh) para producir el compuesto del título. **Rendimiento:** 92 % (650 mg, sólido blanquecino).

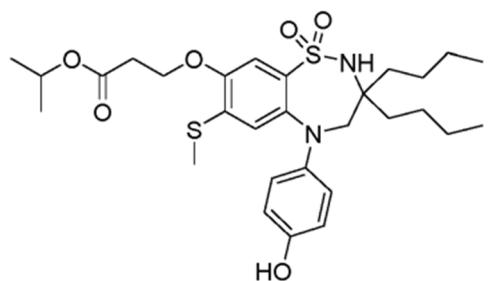
25

[0300] CLEM: (Método E) 550,8 (M<sup>+</sup>+H), Tr. 3,24 min, 94,98 % (máx.).

**Intermedio 35**

Isopropil3-((3,3-dibutil-5-(4-hidroxifenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)oxi)propanoato

35 [0301]



40 A una solución de ácido 3-((3,3-dibutil-5-(4-metoxifenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)propanoico (Intermedio 34; 300 mg, 0,54 mmol) en DCM (10 mL) a -78 °C, BBr<sub>3</sub> (1,1 mL, 1,09 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a -30 °C. Una vez completada la reacción (supervisada por UPLC), la mezcla de reacción se inactivó con alcohol isopropílico y se concentró al vacío. El material bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna Isolera (eluyente: MeOH al 0-5 %/DCM; gel de sílice: 230-400 mesh) para proporcionar el compuesto del título. **Rendimiento:** 150 mg (sólido blanquecino).

45

55 [0302] CLEM: (Método A) 578,8 (M<sup>+</sup>+H), Tr. 2,88 min, 83,38 % (máx.).

[0303] (Nota: durante la inactivación con alcohol isopropílico, se observó el producto de esterificación del compuesto deseado que se indicó mediante CLEM)

60

**Intermedio 36**

1,1-Dióxido de 3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-8-metoxi-2-(4-metoxibenzoil)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina

65

[0304]

5

10

15

20

25

30

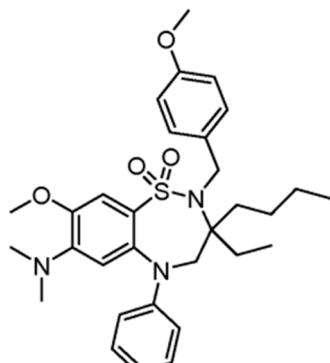
35

40

45

55

60



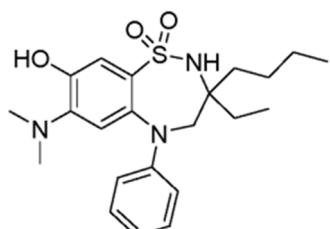
**[0305]** A una solución desgasificada de 1,1-dióxido de 7-bromo-3-butil-3-etil-8-metoxi-2-(4-metoxibencil)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina (intermedio 13; 3,5 g, 6,34 mmol) en 1,4-dioxano (35 mL) se añadieron *terc*-butóxido de sodio (1,2 g, 12,6 mmol), xantfos (0,073 g, 0,13 mmol) y Pd<sub>2</sub>dba<sub>3</sub> (0,058 g, 0,06 mmol) y la solución se desgasificó durante 10 minutos en atmósfera de N<sub>2</sub>. Se añadió *N,N*-dimetilamina (3,5 ml, 31,7 mmol) y la mezcla de reacción se calentó durante 48 horas a 100 °C. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se concentró y el residuo obtenido se diluyó con EtOAc (75 mL). La capa orgánica se lavó con agua (2 x 75 mL) y salmuera (75 mL), se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró al vacío. El crudo resultante se purificó por cromatografía en columna Isolera (eluyente: 30 % EtOAc/PE; gel de sílice: 230-400 mesh) para producir el compuesto del título. **Rendimiento:** 40 % (1,4 g, goma marrón).

**[0306]** <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 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). **CLEM:** (Método E) 552,1 (M<sup>+</sup>+H), Tr. 2,80 min, 81,8 % (máx.).

### Intermedio 37

#### 1,1-Dióxido de 3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-8-hidroxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina

##### [0307]



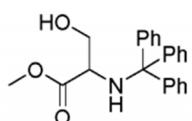
**[0308]** A una solución agitada de 1,1-dióxido de 3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-8-metoxi-2-(4-metoxibencil)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina (intermedio 36; 0,7 g, 1,22 mmol) en DMF (10 mL), metóxido de sodio (0,5 g, 6,32 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 100 °C. Una vez completada la reacción (controlada por TLC y CLEM), la mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo obtenido se diluyó con EtOAc (20 mL). La capa orgánica se lavó con agua (2 x 20 mL) y salmuera (20 mL), se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró al vacío. El crudo resultante se purificó por cromatografía en columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 70 %; gel de sílice: 230-400 mesh) para proporcionar el compuesto del título. **Rendimiento:** 60 % (0,4 g, sólido blanquecino).

**[0309]** **CLEM:** (Método E) 418,2 (M<sup>+</sup>+H), Tr. 2,14 min, 88,9 % (máx.).

### Intermedio 38

#### Tritilserinato de metilo

##### [0310]



[0311] A una solución agitada de clorhidrato de serinato de metilo (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. C. Luego se añadió cloruro de tritilo (1,67 g, 0,6 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua (10 mL) y la fase acuosa se extrajo con DCM (2 x 10 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (10 mL) y salmuera (10 mL) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhídrico. La parte orgánica se filtró y se concentró al vacío. El material bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 7 %; gel de sílice: 230-400 mesh) para proporcionar el compuesto del título. **Rendimiento:** 33 % (0,7 g, sólido blanco).

[0312] **<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 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).

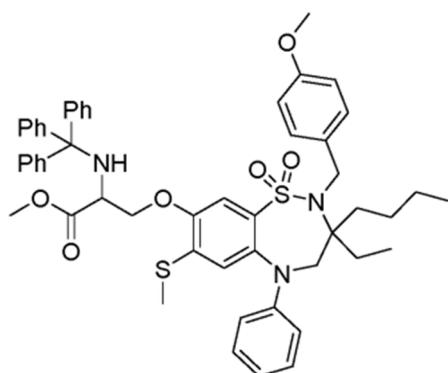
### Intermedio 39

[0313] **O-(3-butil-3-etil-2-(4-metoxibencil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)-N-tritilserinato de metilo.**

### [0313]

20

25



30

35

[0314] A una solución agitada de 3-butil-3-etil-8-hidroxi-2-(4-metoxibencil)-7-(metiltio)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-diódico (intermedio 14; 400 mg, 0,74 mmol) en tolueno (10 mL) a 0 °C, trifenilfosfina (388 mg, 1,48 mmol) y tritilserinato de metilo (intermedio 38; 333 mg, 0,88 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 5 minutos, luego se añadió gota a gota DIAD (225 mg, 1,11 mmol) a 0 °C y la mezcla de reacción se calentó durante 3 horas a 120 °C. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo obtenido se diluyó con agua (10 mL) y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 10 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (10 mL) y salmuera (10 mL) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhídrico. La parte orgánica se filtró y se concentró al vacío. El material bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna Isolera (eluyente: EtOAc al 10-25 %/PE; gel de sílice: 230-400 mesh) para proporcionar el compuesto del título. **Rendimiento:** 99 % (660 mg, sólido blanquecino).

40

[0315] **<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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).

50

### Intermedio 40

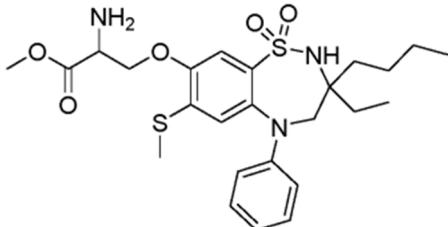
**O-(3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)serinato de metilo**

### [0316]

55

60

65



5 [0317] A una solución agitada de O-(3-butil-3-etil-2-(4-metoxibencil)-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)-N-tritilserinato de metilo (intermedio 39; 300 mg, 0,44 mmol) en tolueno (5 mL) a 0 °C, 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. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se vertió en agua helada (10 mL) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 10 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (10 mL) y salmuera (10 mL). A continuación, la parte orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhídrico, se filtró y se concentró al vacío. El material bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna Isolera (eluyente: MeOH/DCM al 25 %; gel de sílice: 230-400 mesh) para producir el compuesto del título. **Rendimiento:** 79 % (140 mg, sólido verde).

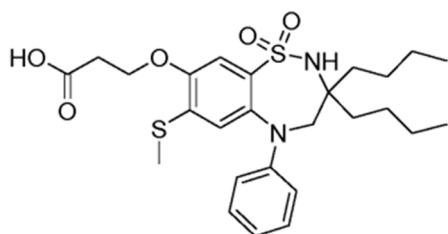
10 [0318] **<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 7,36-7,29 (m, 4H), 7,20-7,14 (m, 2H), 7,02-6,98 (m, 1H), 6,52 (s, 1H), 4,42 (s, 1H), 4,33 (s, 2H), 3,78-3,72 (m, 5H), 2,08 (s, 3H), 1,40-1,35 (m, 2H), 1,28-1,24 (m, 2H), 1,20-1,15 (m, 3H), 1,13-1,08 (m, 3H), 1,04-0,97 (m, 6H). **CLEM:** (Método E) 522,3 (M<sup>+</sup>+H), Tr. 2,51 min, 92,42 % (máx.).

#### Ejemplo 1

15 **Ácido 3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)propanoico**

[0319]

20



25

30 [0320] A una solución agitada de ácido 3-((3,3-dibutil-2-(4-metoxibencil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)propanoico (intermedio 2; 15 g, 23,41 mmol) en DCM seco (150 mL) a 0 °C, TFA (45 mL) y trietilsilano (45 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción (supervisada por CLEM), la mezcla de reacción se diluyó con agua helada (25 mL). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 100 mL). La capa orgánica combinada se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhídrico y se evaporó al vacío. El material bruto resultante se purificó mediante Prep-CLAR (Método D) para proporcionar el compuesto del título. **Rendimiento:** 47 % (5,8 g, sólido blanquecino).

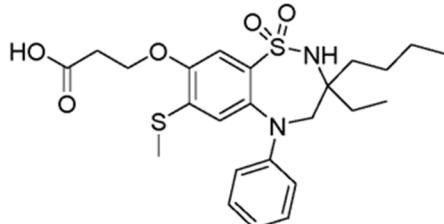
35 [0321] **<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12,44 (bs, 1H), 7,29 - 7,19 (m, 4H), 7,18 - 7,02 (m, 2H), 6,98 - 6,89 (m, 1H), 6,58 - 6,54 (m, 1H), 4,22 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 3,95 - 3,72 (m, 2H), 2,70 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 2,08 (s, 3H), 1,53 - 1,24 (m, 6H), 1,08 - 1,01 (m, 6H), 0,77 - 0,73 (m, 6H). **CLEM:** (Método D) 521,3 (M<sup>+</sup>+H), Tr. 2,92 min, 99,24 % (máx.). **CLAR:** (Método B) Tr. 6,22 min, 98,91 % (máx.).

#### Ejemplo 2

45 **Ácido 3-((3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotia-diazepina-8-il)oxi)propanoico**

[0322]

50



55

60 [0323] A una solución agitada de ácido 3-((3-butil-3-etil-2-(4-metoxibencil)-7-(metiltio)-1,1-dióxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)propanoico (intermedio 15; 550 mg, 0,9 mmol) en DCM (6 mL), TFA (2 mL) y trietilsilano (2 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se concentró al vacío. El material bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna Isolera (eluyente: EtOAc al 20-60 %/PE; gel de sílice: 230-400 mesh) para producir el compuesto del título. **Rendimiento:** 67 % (300 mg, sólido blanco).

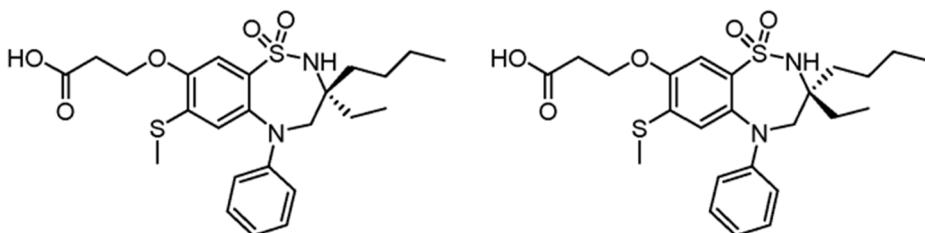
[0324] **<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 7,34-7,30 (m, 3H), 7,17 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 7,02 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 6,62 (s, 1H), 4,30 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 3,89 (s, 2H), 2,81 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,10 (s, 3H), 1,85-1,58 (m, 2H), 1,56-1,41 (m, 2H), 1,40-1,25 (m, 1H), 1,23-0,95 (m, 3H), 1,07-0,79 (m, 6H). **CLEM:** (Método A) 493,2 (M<sup>+</sup>+H), Tr. 2,65 min, 94,21 % (máx.). **CLAR:** (Método B) Tr. 5,62 min, 94,00 % (máx.).

5

### Ejemplos 3 y 4

Ácido (S)-3-((3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)propanoico y ácido (R)-3-((3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)propanoico

10 [0325]



15 [0326] Los dos enantiómeros de ácido 3-((3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)propanoico (300 mg, 0,61 mmol) se separó mediante SFC quirral (método F). El material se concentró al vacío a 40 °C. La primera fracción eluida correspondía al enantiómero 1 y la segunda fracción eluida correspondía al enantiómero 2. Se desconoce la configuración absoluta de los dos enantiómeros.

20 30 [0327] Después, cada una de las dos fracciones se trató individualmente para una purificación adicional. El residuo obtenido se acidificó con LCP diluido (1,5 N, pH ~4) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 15 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (15 mL) y salmuera (15 mL) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro. La parte orgánica se filtró y se concentró al vacío a 40 °C para proporcionar un enantiómero purificado del compuesto del título.

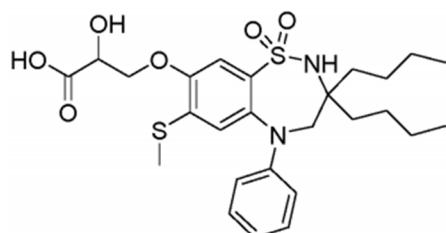
25 35 [0328] **Enantiómero 1:** Rendimiento: 25 % (75 mg, sólido marrón pálido). **<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12,42 (s, 1H), 7,28-7,20 (m, 4H), 7,09-7,07 (m, 1H), 6,93 (t, J = 6,8 Hz, 1H), 6,59 (s, 1H), 4,23 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 3,78 (bs, 2H), 2,77-2,69 (m, 2H), 2,09 (s, 3H), 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). **CLEM:** (Método E) 493,2 (M<sup>+</sup>+H), Tr. 2,54 min, 95,95 % (máx.). **CLAR:** (Método B) Tr. 5,62 min, 95,16 % (máx.). **SFC quiral:** (Método H) Tr. 5,11 min, 98,47 % (máx.).

40 45 [0329] **Enantiómero 2:** Rendimiento: 33 % (100 mg, sólido marrón pálido). **<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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). **CLEM:** (Método E) 493,2 (M<sup>+</sup>+H), Tr. 2,54 min, 93,60 % (máx.). **CLAR:** (Método B) Tr. 5,62 min, 92,78 % (máx.). **SFC quiral:** (Método H) Tr. 5,91 min, 97,35 % (máx.).

### Ejemplo 5

50 Ácido 3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-hidroxipropanoico

55 [0330]



60 65 [0331] A una solución agitada de ácido 3-((3,3-dibutil-2-(4-metoxibencil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-hidroxipropanoico (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.

5

Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua helada (5 mL) y la fase acuosa se extrajo con DCM (2 x 5 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (10 mL) y salmuera (10 mL) y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro. La parte orgánica se filtró, se concentró al vacío y el material bruto resultante se purificó mediante CLAR preparativa (método A) para proporcionar el compuesto del título. **Rendimiento:** 11 % (18 mg, sólido blanco).

10

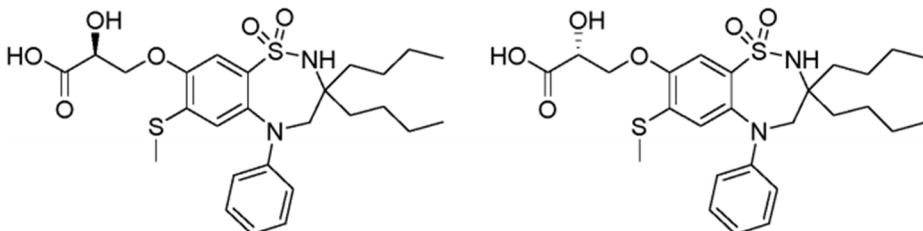
### Ejemplos 6 y 7

15

**Ácido (S)-3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-hidroxipropanoico y ácido (R)-3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-hidroxipropanoico**

[0333]

20



25

30

[0334] A una solución agitada del enantiómero 1 de 3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-hidroxipropanoato de metilo (Intermedio 19; 90 mg, 0,16 mmol) en 1,4-dioxano (2 mL), se añadió LCP diluido (6 N, 3 mL) y la mezcla de reacción se calentó durante 16 h a 75 °C. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua helada (2 mL) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 5 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (5 mL) y salmuera (5 mL) y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro. La parte orgánica se filtró, se concentró al vacío y el material bruto resultante se trituró con éter de petróleo para proporcionar el enantiómero 1 del compuesto del título.

40

[0335] El enantiómero 2 del compuesto del título se obtuvo siguiendo el mismo procedimiento, a partir de 80 mg del enantiómero 2 del Intermedio 19. Se desconoce la configuración absoluta de los dos enantiómeros.

45

[0336] Enantiómero 1: **Rendimiento:** 79 % (70 mg, sólido blanco).  **$^1\text{H RMN}$**  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  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). **CLEM:** (Método D) 537,2 ( $M^++\text{H}$ ), Tr. 2,86 min, 93,83 % (máx.). **CLAR:** (Método A) Tr. 5,43 min, 93,28 % (máx.). **SFC quiral:** (Método H) Tr. 3,34 min, 100 % (máx.).

50

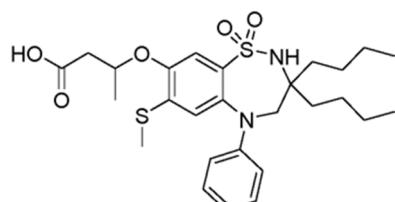
[0337] Enantiómero 2: **Rendimiento:** 64 % (50 mg, sólido blanco).  **$^1\text{H RMN}$**  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  7,30-7,22 (m, 4H), 7,13-7,11 (m, 2H), 6,97-6,95 (m, 1H), 6,56 (s, 1H), 4,27-4,22 (m, 2H), 4,16-4,12 (m, 1H), 3,83 (bs, 2H), 2,09 (s, 3H), 1,53-1,51 (m, 2H), 1,41-1,33 (m, 2H), 1,31-1,20 (m, 2H), 1,19-0,95 (m, 6H), 0,75 (t,  $J = 6,8$  Hz, 6H). **CLEM:** (Método D) 537,2 ( $M^++\text{H}$ ), Tr. 2,86 min, 96,22 % (máx.). **CLAR:** (Método A) Tr. 5,45 min, 95,09 % (máx.). **SFC quiral:** (Método H) Tr. 1,85 min, 100 % (máx.).

### Ejemplo 8

55

**Ácido 3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)butanoico**

[0338]



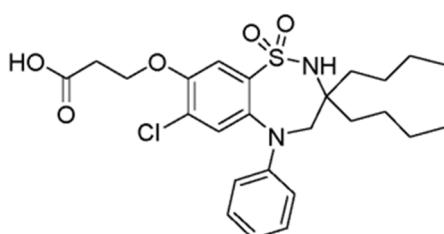
**[0339]** A una solución agitada de ácido 3-((3,3-dibutil-2-(4-metoxibencil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)butanoico (Intermedio 20; 250 mg, 0,38 mmol) en DCM (10 mL), TFA (0,75 mL, 3 vol) y trietilsilano (0,75 ml, 3 vol) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con agua helada (5 mL) y la fase acuosa se extrajo con DCM (2 x 5 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (10 mL) y salmuera (10 mL) y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro. La parte orgánica se filtró, se concentró al vacío y el material bruto resultante se purificó mediante CLAR preparatoria (Método A) para proporcionar el compuesto del título. **Rendimiento:** 24 % (50 mg, sólido blanco).

**[0340]**  $^1\text{H RMN}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  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). **CLEM:** (Método A) 535,3 ( $\text{M}^++\text{H}$ ), Tr. 2,95 min, 98,47 % (máx.). **CLAR:** (Método B) Tr. 6,29 min, 96,34 % (máx.).

#### Ejemplo 9

**Ácido 3-((3,3-dibutil-7-cloro-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)propanoico**

**[0341]**



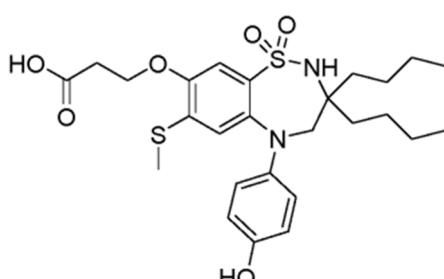
**[0342]** A una solución agitada de 1,1-dióxido de 3,3-dibutil-7-cloro-8-hidroxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina (intermedio 30; 200 mg, 0,45 mmol) en THF (3 mL) a 0 °C, *terc*-butóxido de potasio (56 mg, 0,5 mmol) Se añadió y la mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos. A continuación, se añadió gota a gota una solución de  $\beta$ -propiolactona (32 mg, 0,45 mmol) en THF (1 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 6 horas a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con LCP diluido (1,5 N, 2 mL) y luego se diluyó con agua (2 mL). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 5 mL) y la capa orgánica combinada se lavó con agua (5 mL) y salmuera (5 mL). La parte orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtró y se concentró al vacío. El material bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna Isolera (eluyente: MeOH al 3 %/DCM; gel de sílice: 230-400 mesh) para proporcionar el compuesto del título. **Rendimiento:** 20 % (45 mg, sólido blanco).

**[0343]**  $^1\text{H RMN}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  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). **CLEM:** (Método E) 509,1 ( $\text{M}^++\text{H}$ ), Tr. 2,78 min, 96,38 % (máx.). **CLAR:** (Método B) Tr. 6,18 min, 96,38 % (máx.).

#### Ejemplo 10

**Ácido 3-((3,3-dibutil-5-(4-hidroxifenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)oxi)propanoico**

**[0344]**



**[0345]** A una solución de 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 de isopropilo (intermedio 35; 120 mg, 0,20 mmol) en 1,4-dioxano (2 mL), LCP diluido (6 N, 4 mL) y la

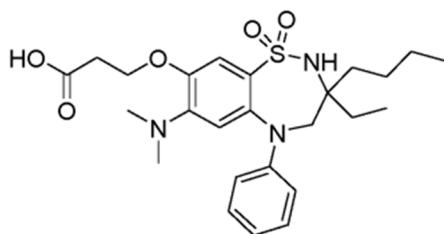
mezcla de reacción se calentó durante 12 horas a 70 °C. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se diluyó con agua helada (5 mL) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 5 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (5 mL) y salmuera (5 mL) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhídrico. La parte orgánica se filtró y se concentró al vacío. El material bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna Isolera (eluyente: EtOAc al 40-50 %/PE; gel de sílice: 230-400 mesh) para proporcionar el compuesto del título. **Rendimiento:** 54 % (60 mg, sólido blanco).

**[0346]** <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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). **CLEM:** (Método E) 537,2 (M<sup>+</sup>+H), Tr. 2,37 min, 98,62 % (máx.). **CLAR:** (Método B) Tr. 5,22 min, 98,80 % (máx.).

#### Ejemplo 11

**Ácido iloxi)propanoico**

**[0347]**



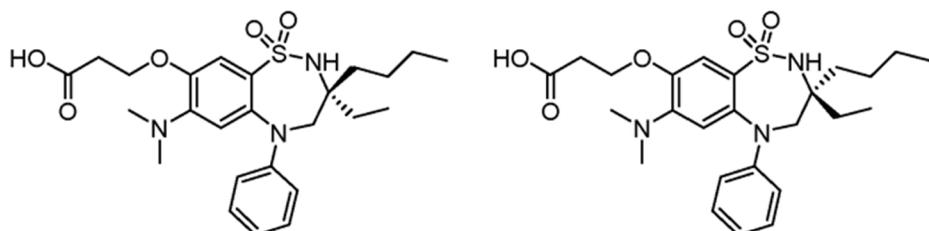
**[0348]** A una solución agitada de 3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-8-hidroxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina 1,1-dióxido (intermedio 37; 600 mg, 1,43 mmol) en THF (3 mL) a 0 °C, se añadió *terc*-butóxido de potasio (177 mg, 1,58 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos. A continuación, se añadió gota a gota una solución de β-propiolactona (103 mg, 1,43 mmol) en THF (2 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con LCP diluido (1,5 N, 5 mL) y se diluyó con agua (5 mL). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 20 mL) y la capa orgánica combinada se lavó con agua (20 mL) y salmuera (20 mL) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhídrico. La parte orgánica se filtró y se concentró al vacío. El material bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna Isolera (eluyente: MeOH al 3-5 %/DCM; gel de sílice: 230-400 mesh) y el material obtenido se volvió a purificar mediante CLAR preparatoria (Método A) para producir el compuesto del título. **Rendimiento:** 6 % (42 mg, sólido blanquecino).

**[0349]** <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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). **CLEM:** (Método E) 490,2 (M<sup>+</sup>+H), Tr. 2,41 min, 98,92 % (máx.). **CLAR:** (Método B) Tr. 4,28 min, 99,05 % (máx.).

#### Ejemplos 12 y 13

**Ácido (S)-3-((3-butil-7-(dimethylamino)-3-ethyl-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)propanoico y ácido (R)-3-((3-butil-7-(dimethylamino)-3-ethyl-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)propanoico**

**[0350]**



**[0351]** Se separaron los dos enantiómeros del ácido 3-((3-butil-7-(dimethylamino)-3-ethyl-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-

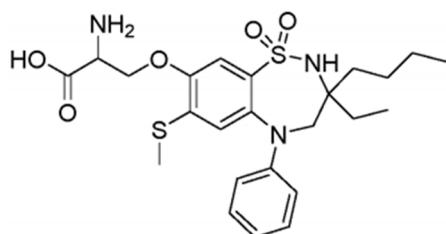
tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)propanoico (Ejemplo 11; 65 mg, 0,13 mmol) mediante SFC quiral (método I). El material se concentró al vacío a 40 °C. La primera fracción eluida correspondía al enantiómero 1 y la segunda fracción eluida correspondía al enantiómero 2. Se desconoce la configuración absoluta de los dos enantiómeros.

- 5 [0352] Después, cada una de las dos fracciones se trató individualmente para una purificación adicional. El residuo obtenido se acidificó con LCP diluido (1,5 N, pH ~4) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 5 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (10 mL) y salmuera (10 mL) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro. La parte orgánica se filtró y se concentró al vacío a 40 °C para proporcionar un enantiómero purificado del compuesto del título.
- 10 [0353] **Enantiómero 1:** Rendimiento: 6 % (5 mg, sólido blanquecino). **<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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). **CLEM:** (Método E) 490,1 (M<sup>+</sup>+H), Tr. 2,39 min, 98,52 % (máx.). **CLAR:** (Método B) Tr. 4,32 min, 98,57 % (máx.). **SFC quiral:** (Método M) Tr. 3,09 min, 98,77 % (máx.).
- 15 [0354] **Enantiómero 2: AS0649:** Rendimiento: 5 % (7 mg, sólido blanquecino). **<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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). **CLEM:** (Método E) 489,9 (M<sup>+</sup>+H), Tr. 2,38 min, 99,66 % (máx.). **CLAR:** (Método B) Tr. 4,28 min, 98,43 % (máx.). **SFC quiral:** (Método M) Tr. 4,25 min, 97,61 % (máx.).

#### Ejemplo 14

##### O-(3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-ilo)serina

25 [0355]



30 [0356] A una solución agitada de O-(3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-ilo)serinato de metilo (intermedio 40; 140 mg, 0,27 mmol) en 1,4-dioxano (2 mL), hidróxido de litio (23 mg, 0,53 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción (controlada por TLC), la mezcla de reacción se inactivó con LCP diluido (1,5 N, 2 mL) y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 5 mL). La capa orgánica combinada se lavó con agua (5 mL) y salmuera (5 mL) y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro. La parte orgánica se filtró y se concentró al vacío. El material bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna Isolera (eluyente: MeOH al 28 %/DCM; gel de sílice: 230-400 mesh) para proporcionar el compuesto del título. **Rendimiento:** 31 % (42 mg, sólido blanquecino).

40 [0357] **<sup>1</sup>H RMN** (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): 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). **CLEM:** (Método E) 508,3 (M<sup>+</sup>+H), Tr. 2,39 min, 98,34 % (máx.). **CLAR:** (Método B) Tr. 4,58 min, 97,26 s % (máx.).

#### ENsayos BIOLÓGICOS

55 **Protocolo de ensayo IBAT (h/m)**

60 [0358] Se sembraron 10.000 células (células que sobreexpresan IBAT humanas o de ratón) en una placa de 96 pocillos (Corning CLS3809) en 200 µL de medio MEM-alfa (Gibco 12571-063) suplementado con FBS al 10 % (Gibco 10438026) que contiene puromicina (Gibco A1113803) (10 µg/mL) e incubado a 37 °C en CO<sub>2</sub> al 5 % durante 48 horas. Después de la incubación, los medios se decantaron de los pocillos y las células se lavaron dos veces con 300 µL de medio MEM-alfa basal (sin FBS). Después de decantar el medio MEM-alfa basal cada vez, las placas se golpearon contra una toalla de papel para garantizar la eliminación máxima de los medios residuales.

65 [0359] Se añadieron diluciones de inhibidor de prueba (siendo la concentración de prueba más alta 10 µM, dilución en serie de 3 veces, 10 puntos) preparadas en DMSO (Sigma D2650) en la mezcla de incubación (manteniendo una concentración final de DMSO del 0,2 %) que contenía ácido 3H-taurocólico 0,25 µM (ARC ART-1368) y 5 µM de ácido

taurocólico frío (Sigma T4009). A continuación, se añadieron a los pocillos (por duplicado) 50 µL de mezcla de incubación que contenía inhibidores de la prueba y las placas se incubaron durante 20 minutos en una incubadora de CO<sub>2</sub> a 37 °C. Despues de la incubación, la reacción se detuvo manteniendo las placas en una mezcla de hielo y agua durante 2-3 minutos y luego la mezcla de incubación se aspiró por completo de los pocillos. Los pocillos se lavaron dos veces con 250 µL de ácido taurocólico 1 mM enfriado sin marcar disuelto en HBSS tamponado con HEPES (Gibco 15630080) (10 mM) (Gibco 14175079) (pH 7,4). Las placas se golpearon contra una toalla de papel despues de cada lavado para asegurar la máxima eliminación del tampón de bloqueo.

5 [0360] Se agregaron 100 µL de MicroScint-20 (PerkinElmer 6013621) a los pocillos y se mantuvieron durante la noche a temperatura ambiente antes de leer las placas en el contador de centelleo y luminiscencia de microplacas TopCount NXT™ de PerkinElmer bajo el protocolo de prueba 3H (establecido en 120 segundos de tiempo de lectura por pozo).

10 Protocolo de ensayo de LBAT (*h/m*)

15 [0361] Se sembraron 20.000 células (células que sobreexpresan LBAT humanas o de ratón) en una placa de 96 pocillos (Corning CLS3809) en 100 µL de medio MEM-alfa (Gibco 12571-063) suplementado con FBS al 10 % (Gibco 10438026) que contiene Geneticina (Gibco 10131-027) (1 mg/mL) e incubado a 37 °C en 5 % CO<sub>2</sub> durante 24 horas. Despues de la incubación, los medios se decantaron de los pocillos y las células se lavaron dos veces con 300 µL de medio MEM-alfa basal (sin FBS). Despues de decantar el medio MEM-alfa basal cada vez, las placas se golpearon contra una toalla de papel para garantizar la eliminación máxima de los medios residuales.

20 [0362] Para LBAT humano, la mezcla de incubación se preparó agregando diluciones de inhibidor de prueba (dilución en serie de 3 veces en DMSO (Sigma D2650), 10 puntos) en MEM-alfa (sin FBS) que contenía ácido 3H-taurocólico 0,3 mM (ARC ART -1368) y ácido taurocólico frío 7,5 µM (Sigma T4009) (manteniendo una concentración final de DMSO del 0,2 %). Para LBAT de ratón, la mezcla de incubación se preparó agregando diluciones de inhibidor de prueba (dilución en serie de 3 veces en DMSO, 10 puntos) en MEM-alfa (sin FBS) que contenía ácido 3H-taurocólico 0,3 µM y ácido taurocólico frío 25 µM manteniendo el 0,2 % concentración final de DMSO).

25 [0363] A continuación, se añadieron a los pocillos (por duplicado) 50 µL de mezcla de incubación que contenía inhibidores de prueba y las placas se incubaron durante 20 minutos en un incubador de CO<sub>2</sub> a 37 °C. Despues de la incubación, la reacción se detuvo manteniendo las placas en una mezcla de hielo y agua durante 2-3 minutos y luego la mezcla de incubación se aspiró por completo de los pocillos. Los pocillos se lavaron dos veces con 250 µL de ácido taurocólico 1 mM enfriado sin marcar disuelto en HBSS tamponado con HEPES (Gibco 15630080) (10 mM) (Gibco 14175079) (pH 7,4). Las placas se golpearon contra una toalla de papel despues de cada lavado para asegurar la máxima eliminación del tampón de bloqueo.

30 [0364] Se agregaron 100 µL de MicroScint-20 (PerkinElmer 6013621) a los pocillos y se mantuvieron durante la noche a temperatura ambiente antes de leer las placas en el contador de centelleo y luminiscencia de microplacas TopCount NXT™ de PerkinElmer bajo el protocolo de prueba 3H (establecido en 120 segundos de tiempo de lectura por pocillo, con placa de orientación normal).

35 *Ensayo de permeabilidad bidireccional (células Caco-2)*

40 [0365] Se sembraron células Caco-2 (Evotec) a una densidad de 70.000 células/pocillo en placas de inserción de cultivo celular Millicell® de 24 pocillos y se mantuvieron en una incubadora (37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>, 95 % HR) durante 21 días con cambio de medio en días alternos.

45 [0366] Se prepararon soluciones madre (10 mM) de los compuestos de prueba, atenolol (marcador de baja permeabilidad), propranolol (marcador de alta permeabilidad) y digoxina (sustrato para la vía de transporte de P-gp) en dimetilsulfóxido (DMSO). Se preparó una solución madre intermedia (1 mM) diluyendo 10 µL de solución madre maestra 10 mM con 90 µL de DMSO puro. Se preparó una solución madre de trabajo (10 µM) diluyendo 50 µL de 1 mM con 4950 µL de tampón FaSSIF. Despues de la adición de compuestos al FaSSIF, las muestras se sometieron a sonicación durante 2 horas y se centrifugaron a 4000 RPM durante 30 minutos a 37 °C. Los 4 mL de sobrenadante resultante se usaron directamente en el ensayo. La concentración final de DMSO en los experimentos de transporte fue del 1 %.

50 [0367] El día del ensayo, las monocapas de Caco-2 se lavaron dos veces con tampón de transporte (HBSS, pH 7,4) y se preincubaron durante 30 min (37 °C, 5 % de CO<sub>2</sub>, 95 % de HR) en una incubadora. La resistencia eléctrica de las monocapas se midió con un sistema Millicell® - ERS. Se seleccionaron para el ensayo monocapas con valores de resistencia eléctrica transepitelial (TEER) superiores a 350 ohm.cm<sup>2</sup>.

55 [0368] El ensayo se realizó en dirección de absorción (A2B) y dirección secretora (B2A). Los experimentos de transporte se iniciaron mediante la adición de tampón de ensayo de transporte (tampón FaSSIF preparado en HBSS) que consiste en compuestos al compartimento donante (cámara apical A-B; cámara basolateral B-A) en pocillos duplicados (*n* = 2). Se introdujo tampón HBSS libre de fármaco (pH 7,4) que contenía albúmina de suero bovino (BSA) al 1 % en los compartimentos del receptor (A-B-basolateral; B-A-apical). Los volúmenes de los compartimentos apical y basolateral fueron de 0,4 y 0,8 mL, respectivamente. Despues de agregar la solución de dosificación, las placas se incubaron en una

incubadora durante 120 minutos a 37 °C. Después de 120 minutos, se recogieron las muestras del donante y del receptor y se comparó la matriz (1:1, 30 µL de muestra de estudio + 30 µL de tampón en blanco) con el tampón opuesto. Matriz de muestras de dosificación emparejada (1:1, 30 µL de muestra de estudio + 30 µL de tampón en blanco) con el tampón opuesto. Las muestras se procesaron añadiendo acetonitrilo que contenía el estándar interno (60 ml de muestra de estudio + 200 ml de acetonitrilo que contenía el estándar interno - tolbutamida, 500 ng/mL). Las muestras se agitaron y centrifugaron a 4000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante obtenido (100 µL) se diluyó con 100 µL de agua y se transfirió a placas de 96 pocillos nuevas. La concentración de compuestos en las muestras se analizó mediante el método de espectrometría de masas en tandem de cromatografía líquida (CL-EM/EM) utilizando un método bioanalítico de grado de descubrimiento, según corresponda.

**[0369]** La permeabilidad aparente media ( $P_{app}$ ,  $\times 10^{-6}$  cm/s) de los compuestos de prueba, atenolol, propranolol y digoxina se calculó de la siguiente manera:

$$P_{app} = \frac{dq}{dt} \times \frac{1}{C_0} \times \frac{1}{A}$$

donde  $dq/dt$  = tasa de transporte (tasa de transporte del compuesto en el receptor compartimiento),  $C_0$  = concentración inicial en el compartimiento donante,  $A$  = área superficial de la membrana filtrante efectiva.

#### *Protocolo de ensayo basado en HepaRG*

**[0370]** Un vial criopreservado de células HepaRG diferenciadas (Biopredic International HPR116080) se descongela en HepaRG Thawing/Plating/General Purpose Medium (Biopredic International ADD670C) complementado con 200 mM Glutamax (Gibco 35050061) siguiendo el protocolo proporcionado por Biopredic International. Se siembran 70.000 células por pocillo en una placa de 96 pocillos (Corning CLS3809) en 100 µL de medio HepaRG Thawing/Plating/General Purpose Medium suplementado con 200 mM Glutamax y se incuba a 37 °C en CO<sub>2</sub> al 5 % durante 24 horas. Después de la incubación, el medio de siembra se reemplaza por medio de mantenimiento/metabolismo HepaRG (Biopredic International ADD620C) y se incuba durante 6 días, con reposición de medio de mantenimiento/metabolismo HepaRG nuevo cada 48 horas. Después de 7 días de incubación después de la siembra, el medio de incubación se decanta de los pocillos y las células se lavan dos veces con 250 ml de William's E Basal Media (Gibco 12551032). Después de decantar el medio basal E de William cada vez, las placas se golpean contra una toalla de papel para garantizar la eliminación máxima de los medios residuales. La mezcla de incubación se prepara añadiendo diluciones del inhibidor de la prueba (dilución en serie de 3 veces en DMSO (Sigma D2650)) en medio William's E (basal) que contiene ácido 3H-taurocólico 0,3 µM (ARC ART-1368) y ácido taurocólico frío 7,5 µM (Sigma T4009) (manteniendo una concentración final de DMSO del 0,2 %). A continuación, se añaden 50 µl de mezcla de incubación que contiene inhibidores de la prueba a los pocillos (por duplicado) y las placas se incuban durante 30 minutos en un incubador con CO<sub>2</sub> al 5 % a 37 °C. Después de la incubación, la reacción se detiene manteniendo las placas en una mezcla de hielo y agua durante 2-3 minutos y luego la mezcla de incubación se aspira por completo de los pocillos. Los pocillos se lavan dos veces con 250 µL de ácido taurocólico 1 mM sin marcar enfriado disuelto en HBSS tamponado con HEPES (Gibco 15630080) (10 mM) (Gibco 14175079) (pH 7,4). Las placas se golpean contra una toalla de papel después de cada lavado para garantizar la máxima eliminación del tampón de bloqueo.

**[0371]** Se añaden 100 µL de MicroScint-20 (PerkinElmer 6013621) a los pocillos y se mantienen durante la noche a temperatura ambiente antes de leer las placas en el contador de centelleo y luminiscencia de microplacas TopCount NXT™ de PerkinElmer bajo el protocolo de prueba 3H (establecido en 120 segundos de tiempo de lectura por pocillo, con placa de orientación normal).

#### *Preparación de diluciones de compuestos de prueba*

**[0372]** Todos los compuestos de prueba se proporcionaron en forma de polvo a temperatura ambiente. Se prepararon reservas de DMSO 10 mM de los compuestos de prueba, se dividieron en aliquotas y se almacenaron a -20 °C. A partir del stock de DMSO 10 mM 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 prueba. Se añadieron 0,5 µL de esta dilución en DMSO a 250 µL de medio basal libre de FBS que contenía ácido 3H-taurocólico y ácido taurocólico frío para preparar la mezcla de incubación.

#### *Estudios de biodisponibilidad*

**[0373]** Se usaron ratones macho (C57BL/6 o CD1) o ratas Wistar de 8-9 semanas de edad. Para cada compuesto de prueba, se usaron dos grupos de 3 animales cada uno. A un grupo se le administró una dosis intravenosa única de 1 mg/kg (vehículo 100 % DMSO) a través de la vena de la cola y al otro grupo se le administró una dosis oral única de 10 mg/kg a través de una aguja forzada. El grupo al que se le administró una dosis oral estuvo en ayunas durante la noche. Se recogieron 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 después de la administración oral. Se tomaron muestras de sangre de la vena safena. Se usó EDTA al 0,2 % como anticoagulante. Las muestras se analizaron mediante un método bioanalítico de grado de descubrimiento desarrollado para la estimación del compuesto de prueba en plasma, utilizando

un sistema CL-EM/EM.

### Resultados

- 5 [0374] Los datos biológicos para los compuestos de los ejemplos se muestran en la Tabla 8 a continuación.

Tabla 8

Ejemplo	hLBAT $\text{Cl}_{50}$ (nM)	HIBAT $\text{Cl}_{50}$ (nM)	Permeabilidad (Caco-2)		Biodisponibilidad ( %)
			$P_{app}$ A2B ( $\times 10^{-6}$ cm/seg)	ER	
1	2908	7	9,2	0,9	34 (C57BL/6) 59 (CD1) 98 (sal $\text{Na}^+$ ; 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			
14	342	6	0,0		

30 *Modelo PD: Evaluación del compuesto de ensayo sobre los niveles totales de ácidos biliares en ratones macho C57BL/6.*

[0375] Se utilizan ratones C57BL/6N Tac de 8-9 semanas de edad para estudiar el efecto de los moduladores de ácidos biliares sobre los niveles de ácidos biliares. Después de completar el período de cuarentena y aclimatación, los animales se aleatorizan en función del peso corporal en x grupos experimentales: (i) control de vehículo y (ii) compuesto de prueba y mg/kg p.o. una vez al día. Los animales se tratan con el compuesto de ensayo durante 7 días. El día 5 del estudio, los animales se alojan individualmente en jaulas frescas. El día 7, se recogen las heces de cada jaula, seguido de la extracción de sangre de cada animal por vía retroorbital. Los animales se sacrifican para recoger el hígado y el íleon terminal de cada animal para su posterior análisis. El peso corporal y el consumo de alimentos se miden dos veces por semana. Los perfiles de lípidos séricos se analizan en muestras de suero del día 7. Los ácidos biliares totales en suero se miden en las muestras de suero del día 7. La excreción de bilis fecal se mide en la muestra fecal del día 7. La expresión hepática de CYP7A1 y SHP se cuantifica en el muestras de hígado del día 7. Los triglicéridos hepáticos y el colesterol total se analizan en las muestras de hígado del día 7.

45 *Modelo de ácidos biliares en orina: evaluación de los compuestos de ensayo sobre los niveles de ácidos biliares en orina en ratones macho C57BL/6.*

[0376] Se utilizan ratones C57BL/6N Tac de 8-9 semanas de edad para estudiar el efecto de los moduladores de ácidos biliares sobre los niveles de ácidos biliares. Después de completar el período de cuarentena y aclimatación, los animales se aleatorizan en función del peso corporal en x grupos experimentales: (i) control de vehículo y (ii) compuesto de prueba y mg/kg p.o. una vez al día. Los animales se tratan con el compuesto de ensayo durante 7 días. El día 6 del estudio, los animales se transfieren a una jaula metabólica. El día 7, se recogen las heces y la orina de cada jaula metabólica, seguido de la extracción de sangre de cada animal por vía retroorbital. Los animales se sacrifican para recoger el riñón de cada animal para su posterior análisis. El peso corporal se mide dos veces por semana. Los ácidos biliares totales en suero se miden en muestras de suero del día 7. La excreción fecal de ácidos biliares se mide en la muestra fecal del día 7. La excreción urinaria de ácidos biliares se mide en la muestra del día 7. Expresión renal de ASBT, OSTa, OSTAb y se cuantifica MRP2 en las muestras del día 7.

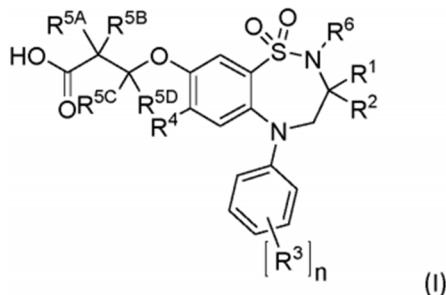
## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)

5

10

15



donde

20

R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son cada uno independientemente alquilo C<sub>1-4</sub>;

R<sup>3</sup> se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxi, alquilo C<sub>1-4</sub>, haloalquilo C<sub>1-4</sub>, alcoxi C<sub>1-4</sub>, haloalcoxi C<sub>1-4</sub>, ciano, nitro, amino, N-(alquil C<sub>1-4</sub>)amino, N,N-di(alquil C<sub>1-4</sub>)amino y N-(aril-alquil C<sub>1-4</sub>)amino;

25

n es un número entero 1, 2 o 3;

R<sup>4</sup> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxi, ciano, alquilo C<sub>1-4</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, alcoxi C<sub>1-4</sub>, cicloalquilogoxi C<sub>3-6</sub>, alquiltio C<sub>1-4</sub>, cicloalquiltio C<sub>3-6</sub>, amino, N-(alquil C<sub>1-4</sub>)amino y N,N-di(alquil C<sub>1-4</sub>)amino;

30

cada uno de R<sup>5A</sup>, R<sup>5B</sup>, R<sup>5C</sup> y R<sup>5D</sup> se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxi, amino y alquilo C<sub>1-4</sub>; y

R<sup>6</sup> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C<sub>1-4</sub>;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

35

2. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que R<sup>1</sup> es n-butilo.

3. Un compuesto según la reivindicación 1 o 2, en el que R<sup>2</sup> es n-butilo.

4. Un compuesto según la reivindicación 1 o 2, en el que R<sup>2</sup> es etilo.

40

5. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que R<sup>3</sup> se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxi, amino, ciano, haloalquilo C<sub>1-4</sub>, alcoxi C<sub>1-4</sub> y haloalcoxi C<sub>1-4</sub>.

45

6. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que R<sup>4</sup> se selecciona del grupo que consiste en halógeno, hidroxi, ciano, alquilo C<sub>1-4</sub>, alcoxi C<sub>1-4</sub>, alquiltio C<sub>1-4</sub>, amino, N-(alquilo C<sub>1-4</sub>)amino y N,N-di(alquilo C<sub>1-4</sub>)amino.

7. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que R<sup>5A</sup> y R<sup>5B</sup> se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxi, amino y metilo.

50

8. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que R<sup>6</sup> es hidrógeno o metilo.

9. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en:

55

Ácido 3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidrobenzo-1,2,5-tiadiazepin-8-il)oxi)propanoico; Ácido 3-((3-butil-3-etyl-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)propanoico;

Ácido (S)-3-((3-butil-3-etyl-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)oxi)propanoico;

Ácido (R)-3-((3-butil-3-etyl-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)oxi)propanoico;

Ácido 3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-hidroxipropanoico;

Ácido (S)-3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)oxi)-2-hidroxipropanoico;

65

Ácido (R)-3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)oxi)-2-hidroxipropanoico;

Ácido 3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)butanoico;  
 Ácido (S)-3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)oxi)butanoico;  
 Ácido (R)-3-((3,3-dibutil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)oxi)butanoico;  
 5 Ácido 3-((3,3-dibutil-7-cloro-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)propanoico;  
 Ácido 3-((3,3-dibutil-5-(4-hidroxifenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)oxi)propanoico;  
 10 Ácido 3-(3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)oxi)propanoico;  
 Ácido (S)-3-(3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)oxi)propanoico;  
 15 Ácido (R)-3-(3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)oxi)propanoico;  
 O-(3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)serina;  
 (S)-O-((R)-3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)serina;  
 (R)-O-((R)-3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)serina;  
 20 (S)-O-((S)-3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina-8-il)serina; y  
 (R)-O-((S)-3-butil-3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)serina;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

25 11. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para uso como medicamento.

12. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad cardiovascular o un trastorno del metabolismo de los ácidos grasos o un trastorno de la utilización de 30 la glucosa, como la hipercolesterolemia; trastornos del metabolismo de los ácidos grasos; diabetes mellitus tipo 1 y tipo 2; complicaciones de la diabetes, incluidas cataratas, enfermedades micro y macrovasculares, retinopatía, neuropatía, nefropatía y retraso en la cicatrización de heridas, isquemia tisular, pie diabético, arteriosclerosis, infarto de miocardio, síndrome coronario agudo, angina de pecho inestable, angina de pecho estable, ictus, enfermedad arterial periférica 35 enfermedad oclusiva, miocardiopatía, insuficiencia cardíaca, trastornos del ritmo cardíaco y reestenosis vascular; enfermedades relacionadas con la diabetes tales como resistencia a la insulina (alteración de la homeostasis de la glucosa), hiperglucemias, hiperinsulinemia, niveles sanguíneos elevados de ácidos grasos o glicerol, obesidad, dislipidemia, hiperlipidemia incluyendo hipertrigliceridemia, síndrome metabólico (síndrome X), aterosclerosis e hipertensión; y para aumentar los niveles de lipoproteínas de alta densidad.

40 13. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad o trastorno gastrointestinal, tal como estreñimiento (incluyendo estreñimiento crónico, estreñimiento funcional, estreñimiento idiopático crónico (CIC), estreñimiento intermitente/esporádico, estreñimiento secundario a diabetes mellitus, estreñimiento secundario a accidente cerebrovascular, estreñimiento secundario a enfermedad renal crónica, estreñimiento secundario a esclerosis múltiple, estreñimiento secundario a enfermedad de Parkinson, estreñimiento secundario a esclerosis sistémica, estreñimiento inducido por fármacos, síndrome del intestino irritable con estreñimiento (SII-C), síndrome del intestino irritable mixto (SII-M), estreñimiento funcional pediátrico y estreñimiento inducido por opioides); Enfermedad de Crohn; malabsorción primaria de ácidos biliares; síndrome del intestino irritable (SII); enfermedad inflamatoria intestinal (EII); inflamación ileal; y enfermedad por reflujo y complicaciones de la misma, tales como esófago de Barrett, esofagitis por reflujo biliar y gastritis por reflujo biliar.

50 14. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad hepática o trastorno, tal como un trastorno metabólico hereditario del hígado; errores congénitos de la síntesis de ácidos biliares; anomalías congénitas de las vías biliares; atresia biliar; atresia biliar posterior a Kasai; atresia biliar post-trasplante hepático; hepatitis neonatal; colestasis neonatal; formas hereditarias de colestasis; xantomatosis cerebrotendinosa; un defecto secundario de la síntesis de BA; síndrome de Zellweger; enfermedad hepática asociada a fibrosis quística; deficiencia de alfa1-antitripsina; síndrome de Alagilles (ALGS); síndrome de Byler; un defecto primario de la síntesis de ácidos biliares (BA); colestasis intrahepática familiar progresiva (PFIC) que incluye PFIC-1, PFIC-2, PFIC-3 y PFIC no especificada, PFIC posterior a la derivación biliar y PFIC posterior al trasplante de hígado; colestasis intrahepática recurrente benigna (BRIC) que incluye BRIC1, BRIC2 y BRIC no especificado, BRIC posterior a desviación biliar y BRIC posterior a trasplante de hígado; hepatitis autoinmune; cirrosis biliar primaria (CBP); fibrosis hepática; enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD); esteatohepatitis no alcohólica (EHNA); hipertensión portal; colestasis; colestasis del síndrome de Down; colestasis inducida por fármacos; colestasis intrahepática del embarazo (ictericia durante el embarazo); colestasis intrahepática; colestasis extrahepática; colestasis asociada a nutrición parenteral (PNAC); colestasis asociada a niveles bajos de fosfolípidos; síndrome de colestasis de linfedema 1 (LSC1); 55 colangitis esclerosante primaria (PSC); colangitis asociada a inmunoglobulina G4; colangitis biliar primaria; colelitiasis (cálculos biliares); litiasis biliar; coledocolitiasis; pancreatitis por cálculos biliares; enfermedad de Caroli; malignidad de los

conductos biliares; malignidad que causa obstrucción del árbol biliar; estenosis biliares; colangiopatía por SIDA; colangiopatía isquémica; prurito debido a colestasis o ictericia; pancreatitis; enfermedad hepática autoinmune crónica que conduce a colestasis progresiva; esteatosis hepática; hepatitis alcohólica; hígado graso agudo; hígado graso del embarazo; hepatitis inducida por fármacos; trastornos por sobrecarga de hierro; defecto congénito de la síntesis de ácidos biliares tipo 1 (BAS tipo 1); lesión hepática inducida por fármacos (DILI); fibrosis hepática; fibrosis hepática congénita; cirrosis hepática; histiocitosis de células de Langerhans (LCP); colangitis esclerosante ictiosis neonatal (NISCH); protoporfiria eritropoyética (EPP); ductopenia idiopática de la edad adulta (IAD); hepatitis neonatal idiopática (INH); escasez no sindrómica de conductos biliares interlobulares (NS PILBD); cirrosis infantil de indios norteamericanos (NAIC); sarcoidosis hepática; amilosis; enterocolitis necrotizante; toxicidades causadas por ácidos biliares séricos, incluidas alteraciones del ritmo cardíaco (p. ej., fibrilación auricular) en el contexto de un perfil anormal de ácidos biliares séricos, miocardiopatía asociada con cirrosis hepática ("colecardia") y atrofia muscular esquelética asociada con enfermedad hepática colestática; hepatitis viral (incluyendo hepatitis A, hepatitis B, hepatitis C, hepatitis D y hepatitis E); carcinoma hepatocelular (hepatoma); colangiocarcinoma; cánceres gastrointestinales relacionados con ácidos biliares; y colestasis causada por tumores y neoplasias del hígado, de las vías biliares y del páncreas; o para su uso en la mejora de la terapia con corticosteroides en la enfermedad hepática.

15. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para uso en el tratamiento o prevención de síndromes de hiperabsorción (incluyendo abetalipoproteinemia, hipobetalipoproteinemia familiar (FHBL), enfermedad de retención de quilomicrones (CRD) y sitosterolemia); hipervitaminosis y osteopetrosis; hipertensión; hiperfiltración glomerular; y prurito de insuficiencia renal; o para su uso en la protección contra daño renal asociado con enfermedades hepáticas o metabólicas.